

**PENGARUH SUHU DAN WAKTU PENYEDUHAN TEH RENDAH TANIN
TERHADAP KANDUNGAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI DAUN
*Sonneratia alba***

SKRIPSI

Oleh:
DEARTA DEBIANZA
NIM. 155080301111010



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

**PENGARUH SUHU DAN WAKTU PENYEDUHAN TEH RENDAH TANIN
TERHADAP KANDUNGAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI DAUN
*Sonneratia alba***

SKRIPSI

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

Oleh:
DEARTA DEBIANZA
NIM. 155080301111010



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

SKRIPSI

PENGARUH SUHU DAN WAKTU PENYEDUHAN TEH RENDAH TANIN TERHADAP KANDUNGAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI DAUN *Sonneratia alba*

Oleh :
DEARTA DEBIANZA
NIM. 155080301111010

telah dipertahankan didepan penguji
pada Tanggal 19 Juni 2019
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Mengetahui,
Ketua Jurusan
Manajemen Sumberdaya Perairan

Menyetujui,
Dosen Pembimbing



Dr. Ir. Muhammad Firdaus, MP.
NIP. 196809192005011001

Tanggal : 03 JUL 2019

Dr. Ir. Bambang Budi Sasmito, MS.
NIP. 195701191986011001

Tanggal : 03 JUL 2019

IDENTITAS TIM PENGUJI

**Judul : PENGARUH SUHU DAN WAKTU PENYEDUHAN
TEH RENDAH TANIN TERHADAP KANDUNGAN
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI DAUN
*Sonneratia alba***

Nama Mahasiswa : DEARTA DEBIANZA
NIM : 155080301111010
Program Studi : Teknologi Hasil Perikanan

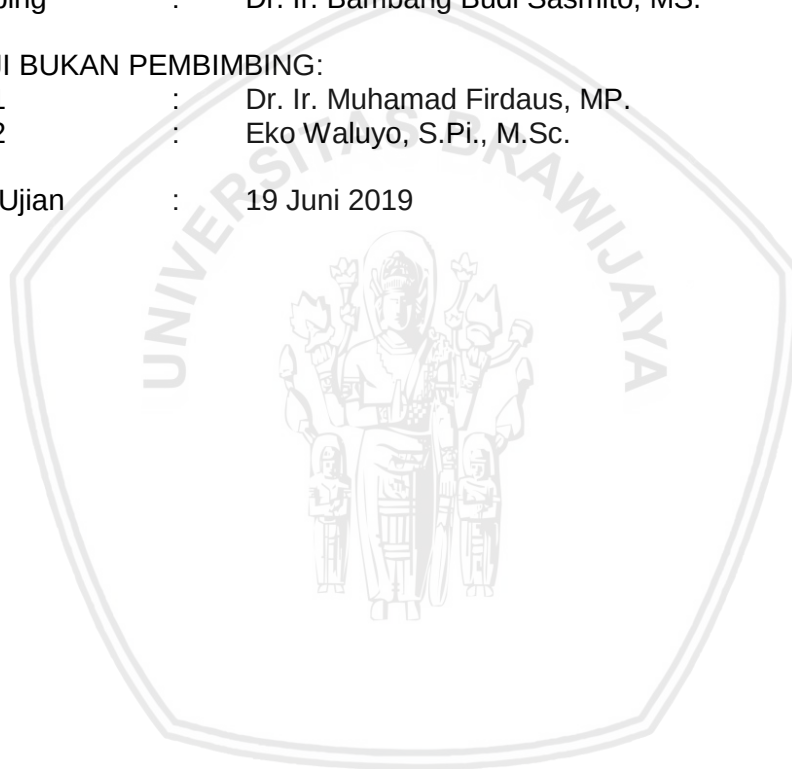
PENGUJI PEMBIMBING:

Pembimbing : Dr. Ir. Bambang Budi Sasmito, MS.

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING:

Penguji 1 : Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP.
Penguji 2 : Eko Waluyo, S.Pi., M.Sc.

Tanggal Ujian : 19 Juni 2019



PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam laporan 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 disebutkan dalam daftar pustaka.

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

Malang, Juni 2019

Mahasiswa

Dearta Debianza
NIM. 155080301111010

UCAPAN TERIMAKASIH

Dalam penyelesaian penulisan laporan skripsi ini tidak terlepas dari dukungan dan bantuan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Dr. Ir. Bambang Budi Sasmito, MS. selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan, arahan, dan motivasi dalam pengerjaan penelitian dan laporan skripsi ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
2. Orang tua dan adik tercinta yang selalu memberikan doa, motivasi, dan biaya selama penelitian dan penyelesaian laporan skripsi ini.
3. Muhammad Dikatama selaku orang yang selalu ada dan siap membantu.
4. Sahabat-sahabat Rukun Iman (Rafiq Aziz, Vanessa Astari, Vetty Izza, Wahyu Widia, Dewi Yunisa), kawan-kawan sepermainan di Malang (Sabrina, Koy, Cipong, Ayu, Rizal, Dimson, Perdana, Ka Aji, Irgi, Rei, Ardi dll.) keluarga jauh (MAFIA SuperTeam) yang telah memberikan motivasi, informasi, doa, semangat, dan dukungan serta bantuan verbal maupun non verbal selama proses penyusunan laporan.
5. Tim Antioksidan (Astuti dan Tamara) serta teman-teman THP 2015 yang telah memberikan dukungan dan do'a dalam pengerjaan laporan ini.

Malang, Juni 2019

Penulis

RINGKASAN

DEARTA DEBIANZA. Skripsi. Pengaruh Suhu dan Waktu Penyeduhan Teh Rendah Tanin Terhadap Kandungan Aktivitas Antioksidan dari Daun *Sonneratia alba* (Dr. Ir. Bambang Budi Sasmito, MS.)

Teh merupakan salah satu jenis minuman yang banyak digemari di Indonesia. Teh hijau memiliki potensi sebagai penyebab anemia karena diyakini mampu mengabsorpsi mineral sebagai bentuk zat besi. Hal ini dikaitkan dengan peranan tanin yang terdapat dalam kandungan teh. Tanin memiliki kekuatan untuk mengikat protein sehingga mempunyai kemampuan mengabsorpsi sari makanan. Produk teh saat ini telah mengalami banyak perkembangan, teh tidak hanya terbuat dari daun teh, namun juga dapat dibuat dari daun mangrove. Pada penelitian ini menggunakan daun *Sonneratia alba* sebagai daun teh alternative. Abu gosok merupakan bahan yang sangat potensial sebagai bahan penyerap zat racun yang ada pada tumbuhan mangrove dan keberadaannya cukup melimpah di Indonesia. Abu sekam padi selain sebagai absorben karena selain merupakan material berpori juga dapat berperan sebagai penghidrolisis serat kasar. Saat ini, banyak masyarakat yang kurang memperhatikan dan paham mengenai proses penyeduhan. Sehingga pada penelitian ini pula bertujuan untuk mengetahui suhu dan lama waktu terbaik penyeduhan daun teh mangrove *Sonneratia alba* terhadap aktivitas antioksidan dan kadar tanin.

Tujuan yang mendasari penelitian ini adalah menentukan konsentrasi abu sekam padi dan lama waktu perendaman terbaik yang dapat menurunkan kadar tanin, menentukan suhu dan lama waktu terbaik pada penyeduhan daun teh daun mangrove jenis *Sonneratia alba*, dan mengetahui pengaruh suhu dan lama waktu penyeduhan yang dapat memberikan kadar tanin dan aktivitas antioksidan. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2018 hingga Maret 2019 di Laboratorium Perekayasaan Hasil Perikanan, Laboratorium Nutrisi Ikan, Laboratorium Hidrobiologi, Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Uji organoleptik dilaksanakan di Laboratorium Organoleptik Fakultas Kesehatan Masyarakat Gedung C Universitas Airlangga. Kemudian untuk uji LC-MS dilaksanakan di Badan Reserse Kriminal Polri Pusat Laboratorium Forensik Jakarta Timur.

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode eksperimen. Adapun prosedur penelitian dibagi menjadi 3 tahap yaitu preparasi sampel, penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Preparasi sampel merupakan tahap awal penelitian dimana pada tahap ini dilakukan pembuatan teh dari daun mangrove (*Sonneratia alba*). Penelitian pendahuluan meliputi pencarian konsentrasi abu sekam padi dan lama perendaman air terbaik yang menghasilkan kadar tanin terendah. Rancangan penelitian yang digunakan pada penelitian pendahuluan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan 2 faktor dan 3 ulangan. Selanjutnya dilakukan penelitian utama yang meliputi penyeduhan teh daun mangrove (*Sonneratia alba*) dengan suhu dan lama waktu yang berbeda, serta dilakukan uji kadar tanin dan aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian utama adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan 2 faktor dan 3 ulangan. Kemudian dilakukan uji kadar air, kadar abu dan kadar serat kasar pada daun teh kering dan uji nilai pH, aktivitas antioksidan menggunakan metode FRAP, kadar katekin, uji fitokimia, identifikasi senyawa menggunakan metode LC-MS, dan uji

organoleptik oleh 15 panelis terlatih pada hasil suhu dan lama waktu penyeduhan terbaik.

Hasil penelitian pendahuluan didapatkan hasil positif pada uji kualitatif tanin pada semua perlakuan, sehingga dilakukan uji lanjutan yaitu uji kuantitatif kadar tanin. Hasil uji kuantitatif kadar tanin terbaik terdapat pada perlakuan perebusan dengan abu sekam padi dengan konsentrasi 15% dan perendaman dengan air selama 72 jam, yaitu 2,197%. Sehingga perlakuan tersebut yang digunakan untuk penelitian utama. Pada penelitian utama didapati hasil penyeduhan terbaik menggunakan suhu 100 °C selama 10 menit yang menghasilkan kadar tanin tertinggi sebesar 3,18% dan nilai IC₅₀ sebesar 96,5 yang termasuk kategori aktivitas antioksidan kuat. Kemudian pada analisis pendukung didapati hasil kadar air sebesar 3,43%, kadar abu sebesar 1,49%, kadar serat kasar sebesar 16,42%, nilai pH sebesar 6,02 - 6,75, aktivitas antioksidan menggunakan metode FRAP sebesar 0,105 mg/g AAE atau 105 ppm yang termasuk aktivitas antioksidan sedang, kadar katekin 0,46%. Pada uji fitokimia menunjukkan nilai positif terhadap alkaloid, flavonoid, fenol, saponin, tanin dan nilai negatif terhadap steroid dan triterpenoid. Kemudian, pada uji total fenol didapati nilai rata-rata sebesar 84,9444 mg/g GAE. Senyawa bioaktif yang teridentifikasi pada teh daun mangrove *Sonneratia alba* yang diseduh dengan suhu 100°C selama 10 menit terdapat 14 senyawa yang dapat diekstrak, yaitu 8-Azaguanine, Gallic Acid, 3-Phenylcoumarin, 6,7-Dimethoxy-1-Phenyl-1,2,3,4-Tetrahydroisoquinoline, Genistein, Caffeine, Rhamzanin, Theogallin, Nobiletin, Linaroside, Vitexin, Etisomicin, dan 7-Deoxycholate. Kemudian, untuk uji organoleptik dengan taraf kepercayaan 5% untuk uji skroring dan uji hedonik oleh 15 panelis terlatih untuk menilai teh daun mangrove *Sonneratia alba* dan teh hijau komersial dengan 3 metode pengujian. Pada uji skroring didapati hasil tidak berbeda nyata pada parameter aroma dan berbeda nyata pada parameter warna, rasa, dan tekstur. Pada uji hedonik didapati hasil tidak berbeda nyata pada parameter aroma dan rasa, namun berbeda nyata pada parameter warna dan tekstur. Pada uji segitiga didapati hasil berbeda nyata taraf kepercayaan 5%, 1% dan 0,1%, karena 15 panelis memberikan jawaban benar di semua parameter. Hal ini membuktikan adanya perbedaan terhadap rasa, aroma, tekstur, dan warna teh daun mangrove *Sonneratia alba* dengan teh komersial.

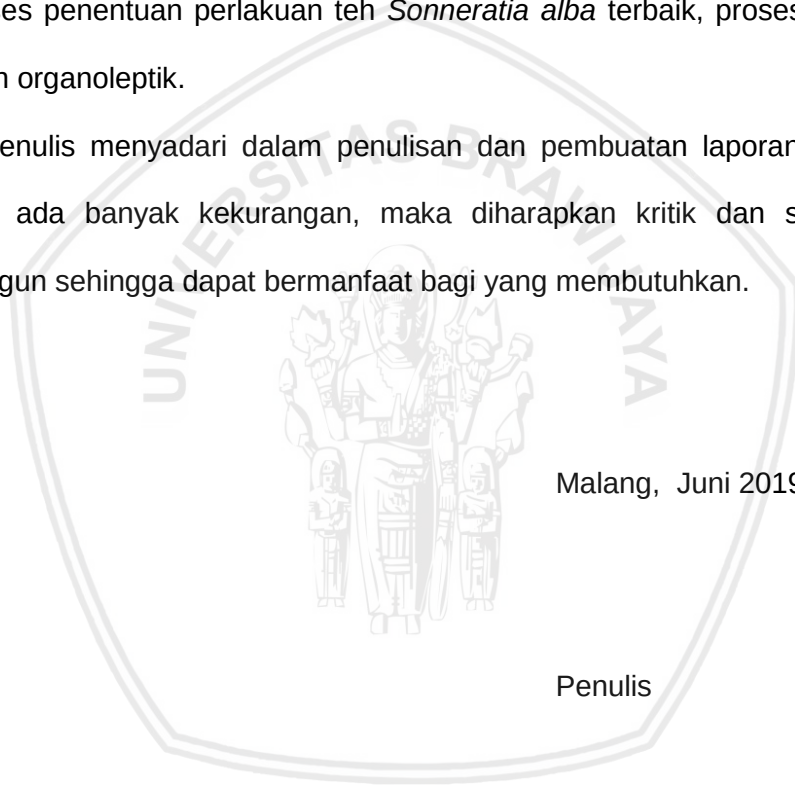
KATA PENGANTAR

Segala puji dan ucapan syukur kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat serta karunia-Nya sehingga penulis dapat menyajikan laporan skripsi yang berjudul Pengaruh Suhu dan Waktu Penyeduhan Teh Rendah Tanin Terhadap Kandungan Aktivitas Antioksidan dari Daun *Sonneratia alba*. Pada penulisan ini disajikan pokok-pokok bahasan yang terdiri bahan baku teh, proses pembuatan teh, proses penentuan perlakuan teh *Sonneratia alba* terbaik, proses pengujian kimia dan organoleptik.

Penulis menyadari dalam penulisan dan pembuatan laporan skripsi ini tentunya ada banyak kekurangan, maka diharapkan kritik dan saran yang membangun sehingga dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, Juni 2019

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	Error! Bookmark not defined.
IDENTITAS TIM PENGUJI	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
UCAPAN TERIMAKASIH.....	v
RINGKASAN	vi
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	4
1.4 Hipotesis	4
1.5 Kegunaan Penelitian	4
1.6 Tempat dan Waktu Penelitian.....	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Pedada Putih (<i>Sonneratia alba</i>).....	6
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	6
2.1.2 Karakteristik Biologi dan Habitat	8
2.1.3 Potensi Senyawa Bioaktif	9
2.2 Jenis dan Pengolahan Teh.....	10
2.3 Kandungan Teh.....	11
2.4 Manfaat Teh	12
2.5 Katekin($C_6H_6O_2$)	13
2.6 Tanin	15
2.7 Abu Sekam Padi.....	18
2.8 Antioksidan.....	20

2.9 Metode DPPH	24
2.10 Instrument Spektrofotometri UV-VIS.....	25
2.11 Metode FRAP.....	25
2.12 LC-MS (Liquid Chromatography-Mass Spectrometry)	27
2.13 Senyawa Bioaktif	28
2.14 <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT)	31

3.METODOLOGI 33

3.1 Materi Penelitian	33
3.1.1 Bahan Penelitian.....	33
3.1.2 Alat Penelitian.....	33
2.14 Metode Penelitian.....	34
3.2.1 Variabel Penelitian.....	34
3.2.2 Parameter Uji.....	35
3.3 Rancangan Penelitian	35
3.4 Prosedur Penelitian	37
3.4.1 Preparasi Sampel	37
3.4.2 Proses Pembuatan Teh	38
3.4.3 Penelitian Pendahuluan	39
3.4.4 Penelitian Utama	40
3.5 Parameter Pengujian.....	43
3.5.1 Kadar Air (SNI-3836:2013).....	43
3.5.2 Kadar Abu (SNI 3836:2013).....	44
3.5.3 Nilai pH	45
3.5.4 Kadar Serat Kasar (SNI 3836:2013)	46
3.5.5 Kadar Tanin	48
3.5.6 Aktivitas Antioksidan (DPPH).....	53
3.5.7 Aktivitas Antioksidan (FRAP)	55
3.5.8 Identifikasi Senyawa LC-MS	58
3.5.9 Kadar Katekin.....	59
3.5.10 Analisis Fitokimia	60
3.5.11 Analisis Total Fenol.....	65
3.5.12 Analisis Organoleptik.....	67
3.6 Analisis Data.....	69
3.7 Penentuan Perlakuan Terbaik	71

4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	73
4.1 Penelitian Pendahuluan.....	73
4.2. Penelitian Utama.....	75
4.2.1 Kadar Air.....	75
4.2.2 Kadar Abu.....	76
4.2.3 Kadar Serat Kasar	77
4.2.4 Kadar Tanin	77
4.2.5 Aktivitas Antioksidan (DPPH).....	80
4.2.6 Penentuan Suhu dan Lama Waktu Penyeduhan Terbaik.....	83
4.2.7 Aktivitas Antioksidan (FRAP)	84
4.2.8 Nilai pH (Derajat Keasaman)	86
4.2.6 Kadar Katekin.....	86
4.2.8 Analisis Fitokimia	87
4.2.9 Analisis Total Fenol	89
4.2.10 Identifikasi LC-MS	91
4.2.11 Uji Organoleptik	97
5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	102
5.1 Kesimpulan.....	102
5.2 Saran.....	102
DAFTAR PUSTAKA.....	103
LAMPIRAN.....	113

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Rancangan Percobaan pada Penelitian Pendahuluan	36
2. Rancangan Percobaan Pada Penelitian Utama	37
3. ANOVA RAL Faktorial.....	70
4. Uji Kualitatif Tanin pada Penelitian Pendahuluan.....	73
5. Kandungan Seduhan Teh Mangrove <i>Sonneratia alba</i> Rendah Tanin pada Suhu Terbaik Dari Hasil Analisis De Garmo	83
6. Uji Fitokimia Seduhan Teh Mangrove <i>Sonneratia alba</i> pada suhu 100°C selama 15 menit	88
7. Dugaan Senyawa Bioaktif pada Teh Daun Mangrove <i>Sonneratia alba</i> yang diseduh pada suhu 100°C selama 10 menit	92



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Pedada Putih (<i>Sonneratia alba</i>)	7
2. Struktur Kimia Katekin	14
3. Struktur Kimia Tanin	17
4. Abu Sekam Padi	20
5. Skema Proses Pembuatan Teh	39
6. Skema Penelitian Pendahuluan	40
7. Skema Analisis Penelitian Utama	42
8. Skema Analisis Kadar Air	43
9. Skema Analisis Kadar Abu	44
10. Skema Analisis Nilai pH.....	45
11. Skema Analisis Kadar Serat Kasar	47
12. Skema Analisis Kualitatif Tanin.....	50
13. Skema Analisis Kuantitatif Tanin.....	51
14. Skema Analisis Aktivitas Antioksidan.....	54
15. Skema Uji Aktivitas Antioksidan (FRAP).....	57
16. Skema Identifikasi Senyawa LC-MS	58
17. Skema Pengujian Kadar Katekin.....	60
18. Skema Analisis Alkaloid.....	61
19. Skema Analisis Tanin	62
20. Skema Analisis Steroid dan Triterpenoid	62
21. Skema Analisis Saponin	63
22. Skema Analisis Flavonoid	64
23. Skema Uji Fenol Hidrokuinon.....	64
24. Skema Analisis Total Fenol.....	66
25. Grafik %Tanin pada Uji Pendahuluan	73
26. Grafik %Tanin pada Penelitian Utama	79
27. Grafik Nilai IC ₅₀	81
28. Kromatogram penyeduhan teh daun mangrove <i>Sonneratia alba</i> dengan suhu 100°C selama 10 menit.....	91

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan Kadar Tanin (Penelitian Pendahuluan)	113
2. Perhitungan Kadar Air.....	119
3. Perhitungan Kadar Abu.....	120
4. Perhitungan Kadar Serat Kasar	121
5. Perhitungan Kadar Tanin (Penelitian Utama)	122
6. Perhitungan Pembuatan Larutan Blanko (DPPH)	128
7. Perhitungan Larutan Induk Teh dan Volume Pemipetan (DPPH).....	129
8. Perhitungan Aktivitas Antioksidan (DPPH).....	130
9. Tabel %Inhibisi dan Perhitungan Persamaan Regresi	132
10. Perhitungan Perlakuan Terbaik (de Garmo).....	139
11. Perhitungan Aktivitas Antioksidan (FRAP)	141
12. Perhitungan Kadar Katekin	144
13. Perhitungan Total Fenol.....	147
14. Spesifikasi dan Kondisi Alat LC-MS	150
15. Spektrum LC-MS	151
16. Perhitungan Organoleptik	154
17. Dokumentasi Proses Pembuatan Teh Daun Mangrove (<i>Sonneratia alba</i>).....	162
18. Dokumentasi Pengujian Kadar Air	164
19. Dokumentasi Pengujian Kadar Abu	166
20. Dokumentasi Pengujian Nilai pH.....	168
21. Dokumentasi Pengujian Kadar Serat Kasar	169
22. Dokumentasi Pengujian Kadar Tanin Kualitatif	172
23. Dokumentasi Pengujian Kadar Tanin Kuantitatif	174
24. Dokumentasi Pengujian Aktivitas Antioksidan (DPPH).....	176
25. Dokumentasi Pengujian Aktivitas Antioksidan (FRAP)	177
26. Dokumentasi Pengujian Kadar Katekin	179
27. Dokumentasi Pengujian Uji Alkaloid.....	180
28. Dokumentasi Pengujian Uji Flavonoid.....	181
29. Dokumentasi Pengujian Uji Fenol	182
30. Dokumentasi Pengujian Uji Saponin	183
31. Dokumentasi Pengujian Uji Steroid/Triterpenoid	184
32. Dokumentasi Pengujian Uji Tanin	185
33. Dokumentasi Pengujian Total Fenol	186

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Teh merupakan salah satu jenis minuman yang banyak digemari di Indonesia. Kebanyakan dewasa maupun anak-anak banyak mengonsumsi teh dan diperkirakan mereka mengonsumsi tak kurang dari 120 ml per harinya. Teh adalah jenis minuman non alkohol yang terbuat dari daun teh yang mengalami proses pengolahan tertentu. Produk teh yang beredar pada umumnya terbuat dari daun teh *Camellia sinensis*.

Teh hijau banyak dipasarkan dengan berbagai macam bentuk produk yang dapat mengatasi keberadaan radikal bebas di dalam tubuh, mulai dari produk minuman sampai suplemen makanan dengan berbagai kandungan senyawa bioaktif yang memiliki fungsi sebagai antikanker, antimikroba, menurunkan kolesterol darah, mengurangi gula darah, mencegah arthritis, mencegah kerusakan hati, mencegah gigi berlubang, mencegah resiko keracunan makanan, penurunan berat badan dan sebagai antioksidan (Ajiaksa, 2012).

Antioksidan berkemampuan memperlambat atau mencegah oksidasi molekul lain. Reaksi oksidasi dapat menghasilkan radikal bebas dan memicu reaksi rantai panjang yaitu menyebabkan kerusakan sel tubuh. Sekarang ini, pemakaian antioksidan makin berkembang ke arah pengobatan dan penyembuhan berbagai macam penyakit. Salah satunya adalah senyawa polifenol (Indrawati, 2015).

Daun teh mengandung 30-40% polifenol yang sebagian besar dikenal dengan katekin, kafein dan tanin. Komposisi daun teh terkenal sangat kompleks. Lebih dari 400 komponen kimiawi yang sangat bermanfaat dan telah diidentifikasi pada daun

teh. Teh hijau memiliki potensi sebagai penyebab anemia karena diyakini mampu mengabsorpsi mineral sebagai bentuk zat besi. Hal ini dikaitkan dengan peranan tanin yang terdapat dalam kandungan teh. Mineral makanan sebagai salah satu pembentuk zat besi bila bereaksi dengan tanin akan membentuk ikatan kompleks yang tidak larut dalam sistem pencernaan, akibat mineral makanan tidak akan berfungsi lagi dan dikeluarkan oleh tubuh dalam bentuk feses. Tanin memiliki kekuatan untuk mengikat protein sehingga mempunyai kemampuan mengabsorpsi sari makanan. Polifenol seperti tanin dalam teh kopi, sayuran tertentu, mengikat besi heme membentuk kompleks besi-tanin yang tidak larut sehingga zat besi tidak dapat diserap dengan baik. Produk teh saat ini telah mengalami banyak perkembangan, teh tidak hanya terbuat dari daun teh, namun juga dapat dibuat dari daun mangrove.

Menurut Kurniawan, *et al.* (2012), abu gosok merupakan bahan yang sangat potensial sebagai bahan penyerap zat racun yang ada pada tumbuhan mangrove dan keberadaannya cukup melimpah di Indonesia. Abu gosok merupakan sisa pembakaran tumbuhan seperti sekam padi. Abu sekam padi selain sebagai *absorben* karena selain merupakan material berpori juga dapat berperan sebagai penghidrolisis serat kasar. Abu sekam tersebut dapat menghambat laju oksidasi racun dan menetralkan asam yang bersifat karsinogenik pada bahan. Penurunan tanin secara adsorpsi menggunakan abu sekam padi lebih efektif karena karbon aktif dari abu sekam padi mempunyai kemampuan menyerap cairan sel dalam jaringan sehingga mempermudah keluarnya flavonoid pada bahan. Mekanisme penyerapan air oleh arang aktif terjadi melalui tiga tahap yaitu tahap pertama, substansi dalam hal ini molekul air ditarik keluar dari bahan oleh granula karbon, tahap kedua molekul air berpindah ke dalam pori-pori karbon dan akhirnya tahap

ketiga molekul karbon air akan diserap ke dinding bagian dalam karbon. Tujuan dari penelitian ini adalah mendapatkan konsentrasi pemberian abu sekam padi yang tepat pada daun mangrove jenis *Sonneratia alba* saat perebusan untuk menghasilkan daun teh mangrove dengan kadar tanin terendah. Dengan penelitian ini diharapkan akan banyak dikembangkan produk berbasis mangrove terutama bagi masyarakat disekitar tempat tersedianya bahan baku (Chrissanty, 2012).

Menurut SNI 01-1902-2000 bahwa syarat minimal kandungan kimia yang dapat larut dalam air adalah sekitar 32%. Sehingga dapat disimpulkan bahwa proses penyeduhan memiliki peranan yang cukup besar terhadap kualitas minuman teh. Misalnya terhadap warna dan rasa seduhan teh yang dihubungkan terhadap kemampuan air untuk mengekstrak komponen senyawa pada teh.

Selain itu banyak masyarakat yang kurang memperhatikan dan paham mengenai proses penyeduhan. Sehingga penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perlakuan penyeduhan terbaik pada daun teh mangrove *Sonneratia alba* dengan tiga variasi suhu dan lama waktu penyeduhan yang berbeda terhadap aktivitas antioksidan dan kadar tanin.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Konsentrasi abu sekam padi dan lama waktu perendaman manakah yang dapat menghasilkan kadar tanin terendah?
2. Adakah pengaruh suhu dan lama waktu penyeduhan teh daun mangrove jenis *Sonneratia alba*?
3. Suhu dan lama waktu penyeduhan manakah yang dapat menghasilkan air seduhan yang baik?

1.3 Tujuan

Tujuan yang mendasari penelitian ini adalah:

1. Menentukan konsentrasi abu sekam padi dan lama waktu perendaman terbaik yang dapat menurunkan kadar tanin.
2. Menentukan suhu dan lama waktu terbaik pada penyeduhan daun teh daun mangrove jenis *Sonneratia alba*.
3. Mengetahui pengaruh suhu dan lama waktu penyeduhan yang dapat memberikan kadar tanin dan aktivitas antioksidan terbaik.

1.4 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini adalah :

1. Terdapat pengaruh konsentrasi abu sekam padi dan lama waktu perendaman terhadap kadar tanin daun mangrove jenis *Sonneratia alba*.
2. Terdapat pengaruh suhu dan lama waktu penyeduhan terhadap kadar tanin dan aktivitas antioksidan daun jenis *Sonneratia alba*.

1.5 Kegunaan Penelitian

Penelitian ini memiliki kegunaan untuk mengetahui konsentrasi abu sekam padi serta suhu dan lama waktu penyeduhan daun teh mangrove jenis *Sonneratia alba* terhadap aktivitas antioksidan yang memiliki kadar tanin rendah sehingga dapat memberikan informasi yang berguna bagi masyarakat, mahasiswa, lembaga keilmuan maupun perguruan tinggi terkait potensi antioksidan mangrove *Sonneratia alba*.

1.6 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Perekayasaan Hasil Perikanan, Laboratorium Nutrisi Ikan, Laboratorium Hidrobiologi, Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Badan Reserse Kriminal Polri Pusat Laboratorium Forensik Jakarta Timur, dan Laboratorium Organoleptik Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Airlangga. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2018 - Maret 2019.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pedada Putih (*Sonneratia alba*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Mangrove menjadi salah satu ekosistem pesisir yang penting selain terumbu karang dan padang lamun. Hal ini karena mangrove memiliki fungsi ekologis yakni sebagai pelindung alami pantai dari abrasi, mempercepat sedimentasi, mengendalikan intrusi air laut, dan melindungi daerah dibelakang mangrove dari gelombang tinggi dan angin kencang, tempat memijah, mencari makan, dan berlindung bagi ikan, udang, kepiting dan biota laut lainnya. Ekosistem mangrove memiliki fungsi ekonomi yakni sebagai bahan makanan, minuman, obat-obatan, pewarna alami, dan sebagai obyek ekowisata (Welly, *et al.* 2010).

Mangrove jenis *Sonneratia alba* memiliki nama lokal seperti pedada, perepat, pidada, bogem, beropak dan sopo. Pohon ini memiliki morfologi dengan kulit kayu berwarna putih tua hingga cokelat dengan celah logitudinal dan halus. Pohon ini tumbuh tersebar dalam zona tutupan mangrove dan memiliki ketinggian hingga 15 meter. Bagian akar pohon berbentuk kabel di bawah tanah dan muncul dipermukaan sebagai akar nafas berbentuk kerucut tumpul mencapai 25 cm, sedangkan daunnya berkulit dan memiliki kelenjar yang tidak berkembang di bagian pangkal ganggang daun. Gagang daun memiliki panjang hingga 6-15 mm. Secara morfologi bentuk daun membundar seperti telur terbalik dengan ukuran 5-12,5 x 3-9 cm. Ciri lain dari pohon mangrove (*Sonneratia alba*) bagian buahnya seperti bola dengan ujung yang bertangkai dan bagian dasarnya terbungkus kelopak bunga (Ruslia, *et al.* 2006).

Sonneratia alba memiliki sistem perakaran yang unik dengan tipe akar cakar. Akar ini dilengkapi dengan bagian pneumatophore atau akar napas yang muncul dipermukaan tanah. Fungsinya untuk mengambil oksigen dari udara dan bertahan pada substrat berlumpur, sedangkan daunnya berbentuk bulat dengan fungsi sebagai bahan organik yang membantu proses penyediaan nutrisi perairan (Saparinto, 2007).

Menurut Hamsah (2013), kedudukan taksonomi pedada putih adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Myrtales
Famili : Lythraceae
Genus : *Sonneratia*
Spesies : *Sonneratia alba*



Gambar 1. Pedada Putih (*Sonneratia alba*) (Dokumentasi Pribadi)

2.1.2 Karakteristik Biologi dan Habitat

Menurut Departemen Kelautan dan Perikanan (2004), Ekosistem mangrove merupakan suatu ekosistem peralihan antara darat dan laut. Terdapat di daerah tropik atau subtropik disepanjang pantai yang terlindung dan dimuara sungai yang merupakan komunitas tumbuhan pantai yang didominasi oleh beberapa jenis pohon mangrove. Tumbuhan ini mampu tumbuh dan berkembang pada daerah pasang surut sesuai dengan toleransi terhadap salinitas, lama penggenangan, substrat dan morfologi pantainya. Mangrove dapat dijumpai pada daerah sepanjang muara sungai atau daerah yang banyak dipengaruhi oleh faktor aliran sungai (fluvio-marine) dan daerah yang biasanya lebih didominasi faktor laut (marino-fluvial).

Berdasarkan zonasi mangrove, jenis *Sonneratia alba* mendominasi areal yang dipengaruhi oleh air laut. Dimana jenis ini ko-dominan pada areal pantai yang selalu tergenang atau termasuk dalam mangrove zona terbuka. *Sonneratia alba* yang memiliki komposisi floristik dari komunitas di zona terbuka ini sangat bergantung pada jenis substrat yang ada, dimana substrat yang dibutuhkan oleh jenis ini adalah cenderung pada daerah berpasir. Tidak hanya itu, jenis ini juga biasa ditemukan pada daerah mangrove payau ke arah pantai dan biasanya bersama dengan *Nypa* (Ruslia, *et al.* 2006).

Mangrove jenis *Sonneratia* hidup pada tanah yang rendah kandungan asamnya, hal ini disebabkan bentuk akarnya yang tumpul dan memiliki akar napas (*pneumatophore*) sehingga pada vegetasinya mangrove jenis ini termasuk dalam vegetasi mangrove inti. *Sonneratia alba* sering dijumpai tumbuh bersama dengan *Sonneratia caseolaris*, sehingga sulit dibedakan. Salah satu yang membedakan adalah bunganya. Namun beberapa dapat tumbuh dengan

salinitas tinggi seperti *Sonneratia* sp. Yang dapat hidup hingga salinitas 44 ppt, sedangkan suhu yang dibutuhkan tumbuhan mangrove ini adalah 28-30°C (Saparinto, 2007).

2.1.3 Potensi Senyawa Bioaktif

Pemanfaatan berbagai jenis tumbuhan mangrove (terutama jenis pohon marga *Rhizophora*, *Bruguiera*, *Avicennia* dan *Sonneratia*) secara tradisional oleh masyarakat pesisir di Indonesia telah lama berlangsung sejak beberapa abad yang lalu. Pemanfaatan secara tradisional dari berbagai jenis tumbuhan mangrove ini merupakan pemanfaatan tingkat awal dari sumberdaya mangrove berdasarkan pengetahuan lokal yang sampai saat ini tidak terdokumentasikan secara baik (Oktavianus, 2013). Mangrove *Sonneratia alba* merupakan salah satu spesies tumbuhan mangrove yang telah lama dimanfaatkan oleh masyarakat di Sulawesi Selatan sebagai pengawet minuman atau makanan dan obat anti luka (Herawati, *et al.* 2011).

Jika ditinjau secara umum, tanaman mangrove mengandung banyak senyawa kimia seperti tanin, saponin, steroid, alkaloid, flavonoid, benzoquinone, naphthoquinone, naphthofurans, flavonoid, polyfenol, rotenone, flavoglican, sesquiterpene, di-triterpene, limonoid, minyak esensial, sterols, karbohidrat, o-metil-inositol, gula, iridoid glikosida, alkaloid dan asam amino bebas, feromon, gibberellin, forbol ester, keterosiklik oksigen, senyawa sulfur, lemak dan hidrokarbon, alkohol alipatik rantai panjang dan lemak jenuh, asam lemak bebas termasuk PUFAs (Akhyar, 2010).

2.2 Jenis dan Pengolahan Teh

Berdasarkan proses pengolahannya, produk teh dibagi menjadi 4 jenis yaitu teh hijau, teh hitam, teh putih dan teh oolong. Dengan demikian, jenis teh memiliki varietas yang berbeda-beda. Varietas tersebut dibagi berdasarkan tempat tanaman tersebut ditemukan dan ditumbuh kembangkan sesuai dengan jenis dan varietasnya.

Berdasarkan bentuk fisiknya dan proses pengolahannya teh dibedakan menjadi empat jenis, diantaranya:

1. Teh hitam merupakan hasil pengolahan pucuk daun teh yang mengalami tahap fermentasi, melalui tiga jenis tahapan, diantaranya tradisional, konvensional dan modern. Selain itu, proses pengolahan dimulai dari pengangkutan pucuk segar, pelayuan, penggilingan dan sortasi basa, fermentasi, pengeringan, sortasi kering, penyimpanan serta pengemasan (Silaban, 2005).
2. Teh hijau merupakan hasil pengolahan teh tanpa melalui teknik fermentasi, sekedar melalui proses pengeringan daun setelah dipetik. Tahapan pengolahannya dimulai dari pelayuan, penggulungan, pengeringan sortasi dan grading serta pengemasan. Metode paling umum digunakan adalah metode penguapan sebelum dikeringkan (Daroini, 2006).
3. Teh oolong merupakan daun teh yang telah dilayukan kemudian dipanaskan dengan panas api atau udara, difermentasi terlebih dahulu kemudian dimasukkan kedalam mesin penggiling, setelah itu dilakukan proses penggulungan untuk menghentikan proses fermentasi (Daroini, 2006).

4. Teh putih merupakan selaput lapisan berwarna putih lempengan putih yang terbuat dari kuncup teh atau daun teh yang belum mekar. Jenis teh ini merupakan jenis teh yang langkah sekaligus paling mahal didunia. Teh putih terbaik dibuat dari tunas dan dua daun teh termuda. Teh ini dihasilkan dari pucuk daun teh yang tidak mengalami proses oksidasi dan sebelum dipetik teh dilindungi dari sinar matahari untuk mencegah pembentukan klorofil. Proses produksinya dilakukan secara tradisional hanya meliputi pelayuan dan pengeringan segera setelah proses pemetikan dilakukan. Hal tersebut merupakan salah satu faktor penentu terhadap kualitas kandungan senyawa antioksidan dalam teh (Sandiantoro, 2012).

2.3 Kandungan Teh

Menurut Heroniaty (2012), daun teh mengandung komponen senyawa volatil sebanyak 404 macam pada teh hitam dan sekitar 203 pada teh hijau. Komponen senyawa volatil tersebut berfungsi untuk memberi cita rasa yang khas pada minuman teh. Komponen aktif yang terkandung dalam teh baik yang volatile maupun nonvolatil seperti polifenol, alkaloid maupun flavonoid merupakan komponen penting pada daun teh karena kandungan tersebut yang sangat berpengaruh terhadap kesehatan. Selain itu, teh mengandung senyawa-senyawa alami lain. Teh menghasilkan metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid, dan saponin. Komposisi bahan aktif dalam daun teh lainnya adalah kafein, theophylline, theobromine, lemak, saponin, minyak esensial, karoten, vitamin C, A, B1, B2, B12, P. Kandungan

metabolit sekunder pada daun teh akan semakin meningkat seiring dengan peningkatan usia tanaman dan proses pengolahannya (Noriko, 2008).

Menurut Lubis, *et al.* (2016), teh memiliki kandungan senyawa kimia yang dapat mengalami proses perubahan-perubahan secara kimiawi selama proses pengolahannya. Sehingga pelaku industri harus mengetahui hal tersebut terutama pelaku industri teh misalnya para petani dan pengusaha teh. Dengan demikian, produk teh yang dihasilkan memiliki tingkatan produksi dengan cita rasa dan aroma serta memiliki khasiat yang lebih khas. Hal tersebut akan meningkatkan mutu dan kualitas dari produk teh sehingga dapat bersaing dengan teh produksi luar negeri dengan kandungan metabolit yang lebih bagus (Towaha dan Balittri, 2013).

Menurut Senthilkumar, *et al.* (2015), kandungan senyawa metabolit sekunder dalam teh hijau sangatlah kompleks yaitu protein (15-20%); asam amino seperti tanin, asam aspartat, tirosin, triptofan, glisin, serin, valin, leusin, arginine (1-4%), karohidrat seperti selulosa, pektin, glukosa, fruktosa, sukrosa (5-7%), lemak dalam bentuk asam linoleat dan asam linolena. Sterol dalam bentuk stigmasterol dan teofilin, pigmen seperti karotenoid dan klorofil, senyawa volatil seperti aldehida, alkohol, lakton, ester dan hidrokarbon, mineral dan elemen lain seperti Ca, Mg, Mn, Fe, Cu, Zn, Mo, Se, Na, P, Co, Sr, Ni, K, F dan Al (5%) serta kandungan senyawa alami lainnya.

2.4 Manfaat Teh

Menurut Martinus, *et al.* (2015), bila dibandingkan dengan jenis minuman lain, teh ternyata lebih banyak manfaatnya. Manfaat yang dihasilkan dari minuman teh adalah memberikan rasa segar, dapat memulihkan kesehatan badan dan

terbukti tidak menimbulkan dampak negatif. Khasiat yang dimiliki oleh minuman teh berasal dari kandungan zat bioaktif yang terdapat dalam daun teh. Teh hijau memiliki khasiat yang sangat berpengaruh bagi kesehatan manusia, diantaranya antioksidan, mempertahankan berat tubuh idelal, mereduksi kolesterol, menurunkan LDL (Low Density Lipoprotein), meningkatkan HDL (High Density Lipoprotein), mengurangi kadar gula darah, menurunkan tekanan darah, stress, antikanker, dan anti-trombosis (Hartoyo, 2003).

Menurut Sundari (2009), terdapat banyak manfaat teh bagi kesehatan tubuh yang secara tidak langsung akan sangat berpengaruh. Berikut beberapa manfaat teh adalah untuk menghambat pembentukan kanker, mencegah penyakit jantung dan stroke, mencegah serangan influenza, dapat memperkuat gigi, melawan bakteri dalam mulut, serta mencegah osteoporosis, melawan keracunan makanan pada saluran pencernaan, menurunkan kadar kolesterol, glukosa darah dan mengurangi kerusakan hati.

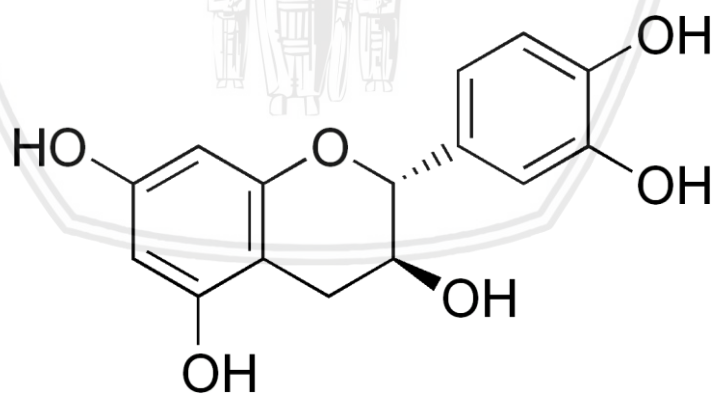
2.5 Katekin($C_6H_6O_2$)

Menurut Khomaeni (2015), Katekin merupakan senyawa metabolit sekunder yang paling utama pada daun teh. Pucuk dan daun muda tanaman teh mengandung senyawa katekin sebanyak 70-80%. Katekin merupakan senyawa flavanoid utama yang terkandung dalam daun muda tanaman teh sekitar 25-30% dari berat kering.

Menurut Andasuryani, *et al.* (2014), pada proses oksidasi enzimatis katekin mengalami proses oksidasi yang akan terurai menjadi senyawa theaflavin yang berfungsi memberi warna kuning dan senyawa thearubigin yang berperan memberi warna merah kecoklatan. Kandungan katekin akan mengalami proses penurunan

yang disebabkan proses pelayuan, oksidasi enzim, penggilingan dan pengeringan yang pada dasarnya senyawa ini akan memberikan cita rasa khas pada teh. Katekin memiliki dua gugus fenol (cincin A dan B) dengan satu gugus hidropiran (cincin C).

Menurut Wulaningsih (2008), Flavanol atau yang dikenal dengan katekin yang memiliki kandungan berat 20-30% dari daun teh yang sudah kering. Flavanol biasanya ditemukan dalam bentuk *glycosidic* karena bentuk yang *non-glycosidic* tidak dapat larut dalam air. Selain itu, karena sifatnya yang hidrofilik menyebabkan katekin termasuk komponen yang memiliki peranan mengatur kelarutan teh. Kadar flavanoid tertinggi dapat dilihat dari intensitas warna yang dihasilkan, warna yang lebih pekat menunjukkan kadar flavanoid yang tinggi dengan aktivitas antioksidan yang tinggi pula. Gugus hidroksil fenolik yang dimiliki oleh katekin merupakan donor elektron yang potensial untuk berikatan dengan radikal bebas. Selain itu, gugus hidroksil fenolik juga berperan sebagai penghidrolisis lemak (Priyanto, 2014).



Gambar 2. Struktur Kimia Katekin (Google Image, 2019)

2.6 Tanin

Menurut Bungsu (2012), Tanin dinamakan juga asam tanat dan asam galotanat, ada yang tidak berwarna tetapi ada juga yang berwarna kuning atau coklat. Asam tanat mempunyai berat molekul 1701. Tanin terdiri dari 9 molekul asam galat dan molekul glukosa. Tanin merupakan senyawa substrat kompleks yang berada pada beberapa tanaman. Tanin memiliki campuran polifenol yang sulit untuk dipisahkan karena substrat ini sulit untuk mengkristal, mudah teroksidasi dan berpolimerisasi dalam larutan dan kelarutannya dalam pelarut yang sangat rendah. Oleh karena itu untuk memisahkan atau mengisolasi senyawa tanin sangat sulit. Tanin juga dapat meyamak kulit dengan cara mengikat protein menjadi tahan terhadap enzim proteolitik. Tanin terbagi menjadi dua kelas secara kimia yaitu berdasarkan adanya gugus feolik yang tercakup pada tiap kelas. Kelas pertama terdiri asam *gallic* yang berhubungan dengan ikatan *polyhidrik* yang merupakan esterifikasi dari glukosa, sedangkan kelas kedua menunjukkan yang merupakan *nonhydrooable* yang juga mengandung gugus fenol tetapi jarang yang berikatan dengan karbohidrat dan protein atau lebih dikenal dengan kelas yang terkondensasi dan kelas yang terhidrolisis.

Selain senyawa yang berperan dalam meningkatkan penyerapan, telah teridentifikasi beberapa senyawa yang dapat mengganggu atau menghambat penyerapan zat besi. Senyawa tersebut mampu berikatan dengan zat besi membentuk senyawa kompleks yang bersifat tidak larut sehingga tidak bisa diserap melintasi dinding usus. Senyawa-senyawa yang termasuk sebagai inhibitor penyerapan zat besi antara lain: tanin, fitat dan serat pangan. Tanin yang banyak terdapat didalam teh merupakan inhibitor potensial karena dapat

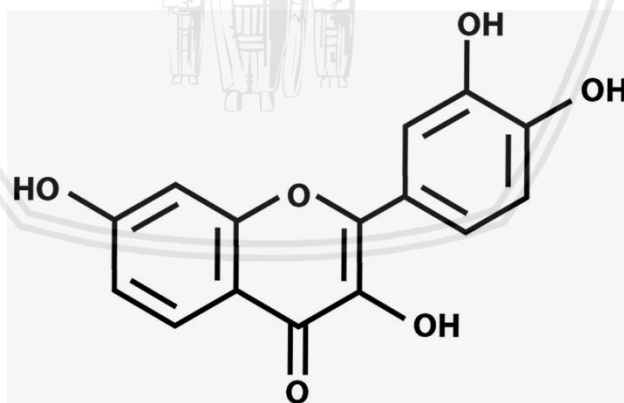
mengikat zat besi secara kuat membentuk Fe-tanat yang bersifat tidak larut. Fitat pada kulit sereal diketahui dapat menghambat penyerapan zat besi. Selain itu, serat pangan juga dapat menghalangi penyerapan zat besi dan beberapa mineral lainnya. Meskipun demikian, efek serat pangan terhadap penyerapan zat besi masih relative kecil dibandingkan tanin dan fitat (Schmidl dan Labuza, 2000).

Menurut Noriko (2008), Senyawa tanin termasuk salah satu senyawa penting yang terdapat pada daun teh yang dapat diidentifikasi menggunakan alat kromatografi yang ditandai dengan adanya bercak kuning atau kecoklatan. Tetapi pada pengolahan teh, senyawa tanin tidak berwarna sehingga proses identifikasi dapat diketahui dengan memperhatikan rasa, warna dan aroma. Senyawa tanin termasuk senyawa yang memiliki campuran polifenol sehingga dapat juga bertindak sebagai agen pengkelat logam jika ada kesesuaian pola substitusi dan pH. Hal tersebut disebabkan karena adanya pengaruh fenolik sehingga tanin dapat terhidrolisis. Senyawa tanin ini tergolong dalam senyawa yang sulit mengkristal, mudah teroksidasi dan berpolimerisasi dalam pelarut dan juga memiliki kelarutan yang sangat rendah sehingga senyawa tanin sangat sulit untuk diisolasi.

Salah satu jenis teh yang mengandung kadar tanin yang lebih banyak yaitu teh hijau karena teh hijau dapat melarutkan kadar tanin yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan teh hitam. Senyawa tanin termasuk dalam golongan flavonoid yang bermanfaat bagi tubuh sebagai nutrisi dan dapat bertindak sebagai antioksidan (Nugraha, 1999).

Proses fermentasi pada teh hitam dapat mengubah sebagian tanin menjadi senyawa turunan yaitu *tehoflavin* dan *teharubigin*. Dengan terbentuknya senyawa turunan maka kadar tanin dalam daun teh akan berkurang sehingga

kadar tanin dalam teh hitam lebih rendah dari teh hijau karena memiliki kandungan tanin yang lebih tinggi maka teh hijau dapat melarutkan tanin lebih banyak dari teh hitam sehingga kadar tanin dalam air hasil pencelupan teh hijau lebih tinggi jika dibandingkan dengan kadar tanin dari air hasil pencelupan teh hitam. Perbedaan kadar komposisi kimia daun teh dipengaruhi oleh faktor lingkungan (saat penanaman) seperti suhu, kelembapan dan tinggi rendahnya permukaan tanah. Selain itu, perbedaan tersebut juga disebabkan oleh adanya perbedaan ukuran dan jumlah ukuran partikel bahan. Tanin merupakan senyawa golongan *flavonoid* dimana senyawa ini bukan merupakan salah satu nutrisi yang dibutuhkan oleh tubuh. Akan tetapi keberadaan tanin dalam tubuh sangat bermanfaat yaitu berperan sebagai antioksidan. Katekin merupakan penyusun tanin dimana katekin ini mempunyai sifat antioksidatif yang berperan dalam melawan radikal bebas yang sangat berbahaya bagi tubuh karena dapat menimbulkan berbagai penyakit, salah satunya yaitu kanker (Bungsu, 2012).



Gambar 3. Struktur Kimia Tanin (Google Image, 2019)

2.7 Abu Sekam Padi

Abu gosok merupakan bahan yang sangat potensial sebagai bahan penyerap zat racun yang ada pada tumbuhan mangrove dan keberadaannya cukup melimpah di Indonesia. Abu gosok merupakan sisa pembakaran tumbuhan seperti sekam padi. Abu sekam padi selain sebagai *absorben* karena selain merupakan material berpori juga dapat berperan sebagai penghidrolisis serat kasar. Abu sekam tersebut dapat menghambat laju oksidasi racun dan menetralkan asam yang bersifat karsinogenik pada bahan (Kurniawan, *et al.* 2012).

Menurut Chrissanty (2012), Penurunan tanin secara adsorpsi menggunakan abu sekam padi lebih efektif karena karbon aktif dari abu sekam padi mempunyai kemampuan menyerap cairan sel dalam jaringan sehingga mempermudah keluarnya flavonoid pada bahan. Mekanisme penyerapan air oleh arang aktif terjadi melalui tiga tahap: tahap pertama, substansi dalam hal ini molekul air ditarik keluar dari bahan oleh granula karbon, tahap kedua molekul air berpindah kedalam pori-pori karbon dan akhirnya tahap ketiga molekul karbon air akan diserap kedinding bagian dalam karbon.

Abu gosok diketahui dapat menyerap cairan sel, mengikat racun dan mengikat zat antinutrisi. Hal inilah yang menjadi awal pemikiran serta adanya kemungkinan bahwa abu gosok diharapkan mampu untuk mengurangi kadar tanin dengan jumlah yang cukup besar pada buah *Avicennia marina*, buah mangrove tersebut layak untuk dikonsumsi (Perdana, *et al.* 2012).

Menurut Sjostrom (1981), Tanin adalah suatu senyawa polifenol dan dari struktur kimianya dapat digolongkan menjadi dua macam, yaitu tanin terhidrolisis (*hidrolizable tannin*) dan tanin terkondensasi (*condensed tannin*). Tanin

terhidrolisis merupakan senyawa ester dari gula sederhana dengan satu atau lebih polifenol asam karboksilat, mudah mengalami hidrolisis dengan asam, basa, atau enzim. Senyawa ini dapat terpecah menjadi asam galat jika dilarutkan dalam air. Tanin terkondensasi (*condensed tannins*) menghasilkan asam klorida. Tanin jenis ini kebanyakan terdiri dari polimer flavonoid dan merupakan senyawa fenol (Hagerman, 2002). Tanin dihasilkan oleh tumbuhan hijau baik tumbuhan tingkat tinggi maupun tingkat rendah dengan kadar dan kualitas yang berbeda-beda.

Menurut Markham (1988), sebagian besar flavonoid yang berasal dari hasil biosintesa (2% dari seluruh karbon yang difotosintesis oleh tumbuhan) diubah menjadi tanin sehingga flavonoid tersebut merupakan salah satu fenol alam yang terbesar. Cara untuk mengurangi kadar tanin adalah perebusan dengan menambahkan bahan aktif yang baik terbuat dari material biologi (organik). Abu hasil pembakaran sekam padi merupakan sumber kalium dan mengandung silika atau karbon. Menurut Chen dan Chang (1991) hasil pembakaran sekam padi menunjukkan kandungan SiO_2 mencapai 80-90% dan 15 % berat abu akan diperoleh dari total berat sekam padi yang dibakar.



Gambar 4. Abu Sekam Padi (Dokumentasi Pribadi)

2.8 Antioksidan

Menurut Ananda (2009), Antioksidan merupakan senyawa yang terdapat secara alami pada bahan pangan. Senyawa ini berfungsi untuk melindungi bahan pangan dari kerusakan karena terjadinya reaksi oksidasi lemak atau minyak yang menjadikan bahan pangan berasa dan beraroma tengik. Antioksidan dapat membatasi efek dari reaksi oksidasi dalam tubuh. Efek yang diberikan oleh antioksidan terhadap tubuh dapat secara langsung mereduksi radikal bebas dalam tubuh dan secara tidak langsung dapat mencegah terjadinya pembentukan efek radikal terhadap ketahanan daya tahan tubuh.

Menurut Andriani (2007), antioksidan dapat menetralkan radikal bebas dengan cara menerima atau mendonorkan satu elektron untuk menghilangkan kondisi elektron tidak berpasangan. Fungsi antioksidan yaitu untuk menetralkan radikal bebas, sehingga tubuh terlindungi dari berbagai macam penyakit degeneratif dan kanker. Fungsi senyawa antioksidan yaitu untuk membantu menekan proses penuaan yang berhubungan dengan kondisi dan keadaan tubuh.

Antioksidan dapat menunda, memperlambat dan mencegah terjadinya proses oksidasi dalam tubuh. Berdasarkan fungsinya bagi tubuh, antioksidan dibagi menjadi tiga, yaitu antioksidan primer, sekunder dan tersier. Antioksidan primer bekerja untuk mencegah pembentukan senyawa radikal baru, seperti mengubah radikal bebas yang ada menjadi suatu molekul yang dampak negatifnya lebih kecil sebelum senyawa radikal bebas bereaksi. Contoh antioksidan primer adalah *Superoksida Dismutase*, *Glutation Peroksidase* dan protein pengikat logam. Antioksidan sekunder bekerja dengan cara mengkelat logam yang bertindak sebagai pro-oksidan, menangkap radikal dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Contoh antioksidan sekunder adalah vitamin E, vitamin C, β -caroten. Antioksidan tersier bekerja memperbaiki kerusakan biomolekul yang disebabkan radikal bebas. Contoh antioksidan tersier adalah enzim-enzim yang memperbaiki DNA dan metionin sulfida reduktase (Ananda, 2009).

Menurut Indrawati (2015), Reaksi oksidasi dapat menghasilkan radikal bebas dan memicu reaksi rantai panjang, sehingga dapat menyebabkan kerusakan sel tubuh. Pemakaian antioksidan makin berkembang serta mengalami peningkatan kearah pengobatan dan penyembuhan berbagai penyakit. Radikal bebas yaitu produk samping dari sebuah proses biokimiawi didalam tubuh yang karena bersifat karsinogenik. Secara eksogen radikal bebas dapat berasal dari polusi lingkungan, radiasi sinar ultraviolet, makanan, injeksi (obat-obatan) dan melalui penyerapan kulit. Radikal bebas merupakan sumber berbagai penyakit seperti kanker kulit, diabetes mellitus, gagal ginjal, penyakit kardiovaskuler, katarak dan penuaan dini. Teh memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi memiliki total fenol yang tinggi, sedangkan sampel teh yang memiliki aktivitas antioksidan rendah memiliki total fenol yang rendah.

Menurut Suhardini dan Zubaidah (2016), Fenol merupakan antioksidan yang efektif karena dapat bereaksi dengan radikal intermediet menghasilkan radikal fenolik yang stabil dan tidak reaktif. Pembentukan radikal yang tidak reaktif tersebut, mengakhiri proses oksidasi radikal yang tidak dikehendaki dalam tubuh. Salah satu kandungan dalam teh yaitu flavonoid merupakan salah satu antioksidan alami. Senyawa fenolik dan flavanoid ini merupakan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam teh, baik pada daun maupun batang teh. Kandungan senyawa tersebut merupakan suatu senyawa yang dapat menghambat dan mencegah peningkatan radikal bebas. Selain itu, senyawa flavanoid ini juga sangat berperan penting dalam proses penetralan senyawa atau zat-zat kimia dalam tubuh melalui tahapan metabolisme (Rohman, *et al*, 2007).

Sistem antioksidan dalam tubuh mengontrol reaktivitas radikal bebas, secara berkelanjutan dibentuk sendiri oleh sel tubuh. Tetapi dalam keadaan tertentu tubuh tidak dapat mengatasinya sendiri sehingga tubuh memerlukan zat-zat antioksidan dari luar tubuh untuk mencegah terjadinya reaksi reaktif radikal bebas tersebut. Antioksidan mampu menangkal atau meredam dampak negatif oksidan dalam tubuh, bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat dihambat dan dinetralkan oleh senyawa metabolit yang terkandung dalam suatu tumbuhan tertentu dengan beragam manfaat dalam bidang kesehatan.

Menurut Kumalaningsih (2006), Berdasarkan fungsi senyawa antioksidan dapat diklasifikasikan dalam 5 tipe sebagai berikut:

- 1) Antioksidan Primer

Antioksidan ini berfungsi untuk mencegah terbentuknya radikal bebas baru karena ia dapat merubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang berkurang dampak negatifnya, yaitu sebelum bereaksi (Kumalaningsih, 2006). Contoh antioksidan ini adalah flavonoid, tokoferol dan asam ascorbat yang dapat memutus reaksi rantai radikal bebas melalui donor elektron peoksil radikal dari asam lemak dan menghentikan tahap propagasi, enzim glutathion peroksidase yang bertindak sebagai antioksidan reaksi reduksi oksidasi lemak dan fosfolipid hidroperoksida.

2) Antioksidan Sekunder

Yaitu senyawa yang mempunyai kemampuan untuk mendekomposisi hidroperoksida menjadi produk akhir yang stabil. Pada umumnya tipe antioksidan ini berfungsi menangkap senyawa serta mencegah terjadinya reaksi berantai. Contoh antioksidan sekunder adalah vitamin E, vitamin C, betakaroten, asam urat, bilirubin dan albumin.

3) Antioksidan Tersier

Merupakan senyawa yang memperbaiki sel-sel dan jaringan yang rusak karena serangan radikal bebas. Biasanya yang termasuk kelompok ini adalah jenis enzim misalnya metionin sulfoksidan reduktase yang dapat memperbaiki DNA dalam inti sel. Enzim tersebut bermanfaat untuk perbaikan DNA pada penderita kanker.

4) Penangkan Oksigen

Yaitu senyawa-senyawa yang berperan sebagai pengikat oksigen sehingga tidak mendukung reaksi oksidasi. Dalam hal ini senyawa tersebut akan mengadakan reaksi dengan senyawa oksigen yang berada dalam sistem

sehingga jumlah oksigen akan berkurang. Contoh senyawa-senyawa kelompok ini adalah vitamin C (asam askorbat).

5) Senyawa Pengkhelat

Kemampuan antioksidan dalam mengkhelat ion logam transisi melalui reaksi langsung dan tak langsung dari reduksi oksidasi logam yang dapat mengkatalisis logam menjadi radikal bebas.

IC_{50} merupakan konsentrasi larutan substrat atau sampel yang mampu mereduksi aktivitas DPPH sebesar 50% atau IC_{50} dapat dikatakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak (ppm) yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan dapat dibagi menjadi beberapa kategori, yaitu jika $IC_{50} < 50$ ppm daya antioksidan sangat kuat, IC_{50} 50-100 ppm daya antioksidan kuat, IC_{50} 101-150 ppm daya antioksidan sedang, IC_{50} 150-200 ppm daya antioksidan lemah dan $IC_{50} > 200$ ppm daya antioksidan sangat lemah (Siswarni *et al.*, 2017).

2.9 Metode DPPH

DPPH merupakan radikal bebas yang stabil dalam larutan berair atau larutan dalam metanol yang pada prinsip dasarnya berkemampuan untuk mengalami reaksi menangkap hidrogen dari senyawa antioksidan. DPPH mampu menerima elektron atau radikal hidrogen dari senyawa lain, sehingga membentuk molekul diamagnetic yang lebih stabil (Winata, 2011).

Analisis aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan alat spektrofotometer UV-VIS. DPPH digunakan karena merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu ruang. Interaksi antioksidan dengan DPPH, baik secara

transfer elektron akan menetralkan karakter dan reaksi radikal bebas dari DPPH itu sendiri. Sehingga dapat dibuktikan bahwa melalui senyawa antioksidan yang terkandung dalam teh sangatlah bermanfaat untuk menstabilkan radikal bebas dalam tubuh (Rohkyani, 2015).

2.10 Instrument Spektrofotometri UV-VIS

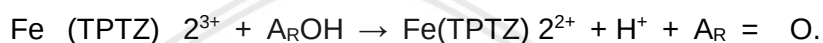
Spektrofotometer UV-VIS merupakan rangkaian alat yang sangat beragam mulai dari yang manual spektronik 20 sampai yang digital atau yang dihubungkan dengan peralatan komputer. Spektrofotometer UV disatukan dengan Visble (sinar tampak), sehingga pemakaiannya dapat disesuaikan. Secara umum komponen-komponen spektrofotometer baik yang sinar tunggal maupun yang sinar ganda yaitu sumber radisasi (cahaya), monokromator, sel atau tempat sampel dan detektor. Detektor inilah yang dihubungkan dengan rangkaian alat computer (Sitorus, 2009).

2.11 Metode FRAP

Menurut Hamid (2016), Fe atau zat besi merupakan salah satu mineral yang dibutuhkan oleh tubuh. Dalam tubuh, zat besi berada dalam 3 bentuk utama, yaitu ion Fe^{3+} (Ferri), Fe^{2+} (Ferro), dan besi heme. Ion besi merupakan salah satu zat prooksidan dalam tubuh karena ferri dapat mengoksidasi senyawa lain dan berpotensi memunculkan radikal bebas baru.

Menurut Pratiwi (2017), Metode FRAP merupakan salah satu metode untuk mengukur aktivitas senyawa antioksidan berdasarkan kemampuannya dalam mereduksi Fe^{3+} . Pengukuran dilakukan berdasarkan reaksi reduksi senyawa kompleks Fe^{3+} dan senyawa 2,3,5-triphenyl-1,3,4-triaza-2-azoniacyclopenta-1,4-

dienechloride (TPTZ) menjadi bentuk Ferro (Fe^{2+}) pada pH rendah. Reaksi reduksi tersebut diamati dengan memonitor perubahan absorbansi. Pada pH rendah, ketika senyawa ferri tereduksi menjadi senyawa ferro, warna biru akan terbentuk. Warna biru tersebut dapat diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 593 (Benzie dan Strain, 1996). Metode FRAP menggunakan $\text{Fe}(\text{TPTZ})_2^{3+}$ kompleks besi-ligan 2,4,6-tripiridil-triazin sebagai pereaksi. Kompleks biru $\text{Fe}(\text{TPTZ})_2^{3+}$ akan berfungsi sebagai zat pengoksidasi dan akan mengalami reduksi menjadi $\text{Fe}(\text{TPTZ})_2^{2+}$ yang berwarna kuning dengan reaksi berikut:



Menurut Pratama, *et al.* (2018), Pengujian aktivitas antioksidan metode FRAP menggunakan kompleks kalium ferrisianida ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$). Dalam penentuan daya reduksi, reduktor (antioksidan) dalam sampel yang mereduksi Fe^{3+} kompleks Kalium Ferrisianida ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) menjadi Fe^{2+} (bentuk ferro). Reaksinya adalah sebagai berikut: $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6] \rightarrow \text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ dan $\text{Fe}^{3+} + \text{e}^- \rightarrow \text{Fe}^{2+}$. Larutan standar yang digunakan adalah Asam Askorbat. Asam Askorbat digunakan sebagai pembanding karena memiliki gugus hidroksil bebas yang bertindak sebagai penangkap radikal bebas dan jika mempunyai gugus polihidroksil akan meningkatkan aktivitas antioksidan. Selama proses pengerjaan dilakukan penambahan TCA yang bertujuan agar kompleks Kalium Ferrisianida mengendap. Penambahan FeCl_3 dalam reagen yaitu untuk membentuk senyawa kompleks berwarna hijau sampai biru, sedangkan penambahan buffer fosfat adalah karena buffer ini memiliki pH efektif 6,4-7,4. Dimana telah diketahui bahwa kompleks ini stabil pada pH asam, maka digunakan pH 6,6 dalam penelitian ini. Penggunaan pH rendah dimaksudkan untuk memudahkan proses reduksi Fe^{3+} .

Oleh karena itu, semakin tinggi absorbansi yang diperoleh, semakin banyak senyawa ferri yang tereduksi. Perbedaan mekanisme pada metode FRAP dan DPPH adalah metode FRAP hanya berdasarkan mekanisme inhibisi dengan transfer elektron saja, sementara pada uji DPPH, mekanisme inhibisi yang terjadi dapat berupa transfer elektron maupun transfer atom hydrogen (Pratiwi, 2017).

2.12 LC-MS (Liquid Chromatography-Mass Spectrometry)

Liquid chromatography mass spectrometry (LCMS) merupakan suatu teknik analisis kimia yang mempunyai kemampuan pemisahan yang sangat bagus karena mempunyai sensitivitas dan spesifisitas yang sangat tinggi karena teknik ini menggunakan kombinasi andem kromatografi cair dan spektroskopi massa. Metode ini umum digunakan pada studi farmakokinetika terutama dalam hal pengembangan obat (Khairan *et al.*, 2009). Kelebihan dari LC-MS ini menurut Vogeser dan Seger (2008), antara lain:

- Spesifik. Hasil analisis yang dihasilkan khas dan spesifik dengan penggunaan spektrometer massa sebagai detektornya.
- Aplikasi yang luas dengan sistem yang mudah. Tidak seperti GC-MS, penggunaan LC-MS tidak terbatas untuk molekul volatil sehingga mampu mengukur sampel yang sangat polar.
- Fleksibel. Pengujian yang berbeda dapat dikembangkan dengan tingkat fleksibilitas yang tinggi dalam waktu yang singkat.
- Kaya akan informasi. Sejumlah data kuantitatif maupun kualitatif dapat diperoleh. Hal ini dikarenakan seleksi ion yang sangat cepat dengan berbagai parameter.

2.13 Senyawa Bioaktif

Untuk menentukan ada atau tidaknya senyawa bioaktif perlu dilakukan pengujian fitokimia. Uji fitokimia termasuk sebagai salah satu uji kualitatif yang berfungsi untuk mengetahui senyawa kimia yang terkandung dalam suatu bahan. Uji fitokimia dapat digunakan untuk membuktikan ada tidaknya senyawa kimia tertentu dalam bahan yang nantinya akan dikaitkan dengan aktivitas biologisnya (Artini, *et al.* 2013). Uji fitokimia biasanya dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa bioaktif yang terdapat pada bahan yang akan diambil metabolit sekundernya (Nimah, *et al.* 2012). *Sonneratia alba* diindikasikan memiliki beberapa senyawa metabolit sekunder didalamnya, maka diperlukan pengujian untuk menentukan senyawa apa saja yang terkandung didalamnya. Pengujian senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam sampel daun *Sonneratia alba*, dapat diindikasikan memiliki kandungan fenol, saponin, triterpenoid, dan tanin (Yushar, 2012).

- **Alkaloid**

Alkaloid merupakan senyawa yang bersifat polar dan termasuk salah satu metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman dan dapat ditemukan di bagian ranting, daun, kulit batang dan biji. Alkaloid memiliki beberapa peran penting dalam bidang kesehatan diantaranya sebagai pemicu sistem saraf, mengurangi rasa sakit, menaikkan tekanan darah, obat penenang, obat penyakit dan antimikroba (Aksara, *et al.* 2013). Alkaloid umumnya mencakup senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen dan merupakan grup terbesar dari senyawa metabolit yang ada pada produk alami (Salamah, *et al.* 2008).

Secara umum, senyawa alkaloid diekstrak menggunakan beberapa pelarut guna menghilangkan kandungan lemak yang tercampur didalamnya. Kemudian ekstraknya akan dibasakan dengan larutan NH_3 10% dan Al_2O_3 . Campuran ini nantinya akan dipisahkan dengan kromatografi kolom dan akan memberikan warna fluoresensi biru atau kuning (Widi dan Indriati, 2007)..

- **Tanin**

Tanin merupakan salah satu senyawa fenol yang mempunyai berat molekul yang besar terdiri dari gugus hidroksi dan beberapa gugus seperti karboksil yang berfungsi membentuk susunan protein agar kuat dan efektif. Berdasarkan jenisnya, tanin dibagi menjadi dua jenis yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Kedua jenis tanin ini banyak ditemukan dalam tumbuhan, namun jenis tanin terkondensasi dideteksi paling dominan pada tanaman (Hayati *et al.*, 2010). Golongan tanin merupakan senyawa fenolik yang cenderung larut dalam air dan pelarut polar (Artini. *et al*, 2013). Tanin dapat membentuk senyawa kompleks dengan makromolekul lainnya karena termasuk ke dalam senyawa fenolik (Jayanegara dan Sofyan, 2008).

- **Steroid dan Triterpenoid**

Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C_{30} asiklik, yaitu skualena (Nurjanah *et al.*, 2012). Triterpenoid merupakan senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena dan umumnya dipisahkan dengan pelarut non polar (Savitri *et al.*, 2013). Triterpenoid dan steroid merupakan senyawa bioaktif yang memiliki fungsi sebagai antijamur (Lutfiyanti *et al.*, 2012). Hasil penelitian Kurniawati *et al.* (2005),

mengatakan bahwa triterpenoid atau steroid merupakan kandungan utama pegagan yang terdiri atas asiatikosida, sentelosida, madekasosida, brahmosida dan brahminosida (glikosida saponin), asam *asiaticentoic*, asam *centellic*, asam *centoic*, dan asam *madekasat*.

- **Saponin**

Saponin merupakan senyawa tumbuhan yang termasuk kedalam golongan terpenoid. Adanya saponin dapat dideteksi dengan adanya busa karena saponin bersifat seperti sabun. Saponin juga merupakan senyawa aktif permukaan yang tergolong sebagai glikosida triterpena (Mustikasari dan Ariyani, 2008). Saponin berasa pahit, berbusa dalam air dan bersifat antimikroba (Karlina *et al.*, 2013). Saponin merupakan glukosida yang larut dalam air dan etanol, tetapi tidak larut dalam eter. Saponin bekerja sebagai antibakteri dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga saponin termasuk dalam kelompok antibakteri (Darsana *et al.*, 2012).

- **Flavonoid**

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol yang mempunyai kecenderungan untuk mengikat protein (Poeloengan dan Praptiwi, 2010). Flavonoid juga merupakan salah satu senyawa antioksidan golongan fenolik alam yang terbesar dan terdapat dalam semua tumbuhan (Azizah *et al.*, 2014).

Flavonoid diketahui memiliki peran sebagai antioksidan. Caranya adalah dengan mendonorkan salah satu atom hidrogennya. Disamping itu ada cara lain yaitu dengan kemampuan mengkelat logam, sehingga nantinya akan membentuk senyawa glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon (Redha, 2010).

2.14 *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*

Salah satu metode toksisitas *in vitro* yang sering digunakan adalah metode *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. Metode BSLT biasa digunakan karena prosesnya memiliki keunggulan analisis dengan cepat dan murah untuk mengetahui tingkat toksisitas dari ekstrak bahan dengan larva udang *Artemia salina* Leach sebagai objeknya. Keunggulan lainnya adalah prosedurnya yang cukup sederhana, tidak membutuhkan biaya yang besar, serta hasilnya dapat dipercaya (Frengki *et al.*, 2014).

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) merupakan metode pengujian toksisitas suatu bahan yang pertama kali digunakan oleh Michael, dkk pada tahun 1956. Cara menghitung tingkat toksisitas suatu bahan dengan metode BSLT didasarkan pada prinsip tingkat mortalitas larva *A.salina* yang dinyatakan dalam nilai LC_{50} (*lethal concentration*). Nilai LC_{50} dihitung menggunakan grafik regresi yang nantinya di analisis menggunakan analisis probit (Sukandar *et al.*, 2008). Metode ini dikenal sebagai metode yang cepat, mudah, murah, dan hasilnya dapat dipertanggung jawabkan (Indrayani *et al.*, 2006). Caranya adalah dengan mengambil larva *A. salina* ke dalam ekstrak tanaman yang akan diuji toksisitasnya dalam berbagai konsentrasi dan diamati selama 24 jam (Sarah *et al.*, 2017).

Menurut Eriani dan Usman (2017), Hasil uji BSLT terhadap ekstrak daun mangrove *Sonneratia alba* yang telah dilakukan maka dapat dilihat pada tabel pengamatan bahwa semakin tinggi konsentrasi yang diujikan maka cenderung semakin banyak larva *Artemia salina* yang mati sesuai dengan pernyataan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka sifat toksiknya akan semakin tinggi. pengujian dengan metode BSLT mangrove daun sonneratia alba terhadap larva *Artemia salina* di dapatkan hasil LC_{50} yaitu sebesar 441,67 ppm. Suatu ekstrak

dinyatakan bersifat toksik menurut metode BSLT jika memiliki LC_{50} kurang dari 100 $\mu\text{g/mL}$. Pada penelitian ini didapatkan hasil nilai LC_{50} yaitu diatas 100 $\mu\text{g/mL}$ maka hasil pengujian ekstrak daun mangrove *Sonneratia alba* dapat dikatakan bersifat toksik lemah. Sehingga aman jika digunakan sebagai bahan baku pembuatan teh.



3.METODOLOGI

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah daun mangrove *Sonneratia alba* yang diperoleh dari Kawasan Konservasi Mangrove Probolinggo, air, dan abu sekam padi. Bahan-bahan yang digunakan untuk analisis antara lain gas, kertas timbang, alkohol, aquades, H_2SO_4 , NaOH , K_2SO_4 10 %, kertas pH, asam tanat, aquabidestilata, reagen folin denis, Na_2CO_3 , FeCl_3 (Ferriklorida), Kalium Heksasianoferrat (III), HCl , DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*), methanol p.a, pereaksi Mayer, kloroform, asam asetat anhidrat, Magnesium, asam galat, Folin Ciocelteau, kertas label, tissue, *plastic wrap*, *alumunium foil*, alat tulis.

3.1.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain digunakan untuk pembuatan teh yaitu pisau, gelas, kompor, panci, gunting, talenan, baskom, blender, *beaker glass* 500 mL, timbangan analitik, spatula, sendok, oven, loyang dan *crushable tang*. Alat-alat yang digunakan untuk analisis antara lain *beaker glass* 500 mL, *beaker glass* 250 mL, *beaker glass* 100 mL, *beaker glass* 50 mL, Erlenmeyer 500 mL, Erlenmeyer 250 mL, Erlenmeyer 100 mL, Erlenmeyer 50 mL, labu tentukur 50 mL, labu tentukur 25 mL, labu tentukur 10 mL, spatula, gelas ukur 100 mL, pipet volume 10 mL, bola hisap, corong, mortal dan alu, pipet serologis, spektrofotometer UV-VIS, botol vial, *crushable tank*, plat tetes, pipet tetes, pipet volume 1 mL, statif, pendingin

balik, *hot plate*, *magnetic stirrer*, oven, inkubator, timbangan analitik 10^{-2} , timbangan analitik 10^{-1} , cawan porselein, tanur (tungku pengabuan), instrument LC-MS.

2.14 Metode Penelitian

Metode penelitian dapat dikatakan sebagai cara sistematis untuk menyusun ilmu pengetahuan. Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen. Metode eksperimen merupakan salah satu metode penelitian ilmiah dimana peneliti memanipulasi satu atau lebih variabel bebas dan melakukan pengamatan terhadap variabel-variabel terikat dengan membandingkannya terhadap kelompok kontrol yang tidak dimanipulasi atau diberi perlakuan. Penelitian eksperimen berfungsi untuk menguji hipotesis yang dirumuskan dan biasanya digunakan pada bidang eksak atau sains (Suryana, 2010).

Tujuan dari metode penelitian eksperimen adalah untuk mengetahui hubungan sebab akibat dengan cara memberikan perlakuan dan membandingkan hasilnya dengan perlakuan lainnya. Biasanya dalam penelitian eksperimen hasilnya dibandingkan dengan perlakuan kontrol.

3.2.1 Variabel Penelitian

Variabel adalah gambaran di suatu benda yang menjadi obyek penelitian yang mempunyai bermacam-macam nilai. Variabel terdiri dari variabel bebas yaitu variabel yang diselidiki pengaruhnya dan variabel tergantung yaitu variabel yang diramalkan akan muncul sebagai pengaruh variabel bebas (Nasir, 1988).

Variabel bebas dari penelitian pendahuluan adalah konsentrasi perebusan abu sekam padi (5% ; 10% ; 15%) dan lama perendaman sampel dengan air (24 jam, 48 jam, dan 72 jam) (Modifikasi Chrissanty, 2012 dan Soenardjo dan Supriyantini,

2017). Untuk variabel bebas penelitian utama adalah suhu dan lama waktu penyeduhan berbeda menggunakan hasil dari penelitian pendahuluan. Suhu yang digunakan yaitu 70°C, 85°C dan 100°C, sedangkan waktu yang digunakan adalah 5 menit, 10 menit dan 15 menit. Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar tanin, aktivitas antioksidan serta nilai IC_{50} yang diperoleh dari pengujian aktivitas antioksidan sampel dengan metode DPPH, kadar air, kadar abu, kadar serat kasar, total fenol, senyawa LC-MS, Analisis fitokimia, dan Analisis organoleptik.

3.2.2 Parameter Uji

Parameter uji yang digunakan adalah parameter uji kualitatif dan kuantitatif yang diperoleh dari hasil uji kadar tanin dan katekin. Selain itu parameter uji dalam penelitian ini juga terdiri atas perhitungan kadar tanin, aktivitas antioksidan dan nilai IC_{50} . Pada perlakuan terbaik dilakukan uji LC-MS untuk mengetahui dan mengidentifikasi senyawa bioaktif yang berperan sebagai antioksidan, kadar air, kadar abu, kadar serat kasar, total fenol, Analisis fitokimia, dan Analisis organoleptik.

3.3 Rancangan Penelitian

Metode analisis data pada penelitian ini dilakukan sebanyak dua kali yaitu pada penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Metode yang digunakan pada penelitian pendahuluan dan utama sama yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana. Pada penelitian pendahuluan didapatkan pengulangan sebanyak 3 kali yang diperoleh dari rumus berikut:

n = perlakuan; r = ulangan

$$\begin{aligned} n(r-1) &\geq 15 \\ 12(r-1) &\geq 15 \\ 12r-12 &\geq 15 \\ 12r &\geq 27 \\ r &= 2,25 \\ &= 3 \end{aligned}$$

Jadi, pada penelitian ini menggunakan r (ulangan) sebanyak 3 kali.

Tabel 1. Rancangan Percobaan pada Penelitian Pendahuluan

Perlakuan		Ulangan		
Konsentrasi Abu Sekam Padi	Lama Waktu Perendaman Air (jam)	I	II	III
5%	0	A1	A2	A3
	24	B1	B2	B3
	48	C1	C2	C3
	72	D1	D2	D3
10%	0	E1	E2	E3
	24	F1	F2	F3
	48	G1	G2	G3
	72	H1	H2	H3
15%	0	I1	I2	I3
	24	J1	J2	J3
	48	K1	K2	K3
	72	L1	L2	L3

Pada penelitian utama didapatkan pengulangan sebanyak 3 kali yang diperoleh dari rumus berikut:

n = perlakuan; r = ulangan

$$\begin{aligned} n(r-1) &\geq 15 \\ 9(r-1) &\geq 15 \\ 9r-9 &\geq 15 \\ 9r &\geq 18 \\ r &= 2,66 \\ &= 3 \end{aligned}$$

Jadi, pada penelitian menggunakan r (ulangan) sebanyak 3 kali.

Tabel 2. Rancangan Percobaan Pada Penelitian Utama

Perlakuan		Ulangan		
Suhu Penyeduhan (°C)	Lama Waktu Penyeduhan (menit)	I	II	III
70	5	A1	A2	A3
	10	B1	B2	B3
	15	C1	C2	C3
85	5	D1	D2	D3
	10	E1	E2	E3
	15	F1	F2	F3
100	5	G1	G2	G3
	10	H1	H2	H3
	15	I1	I2	I3

3.4 Prosedur Penelitian

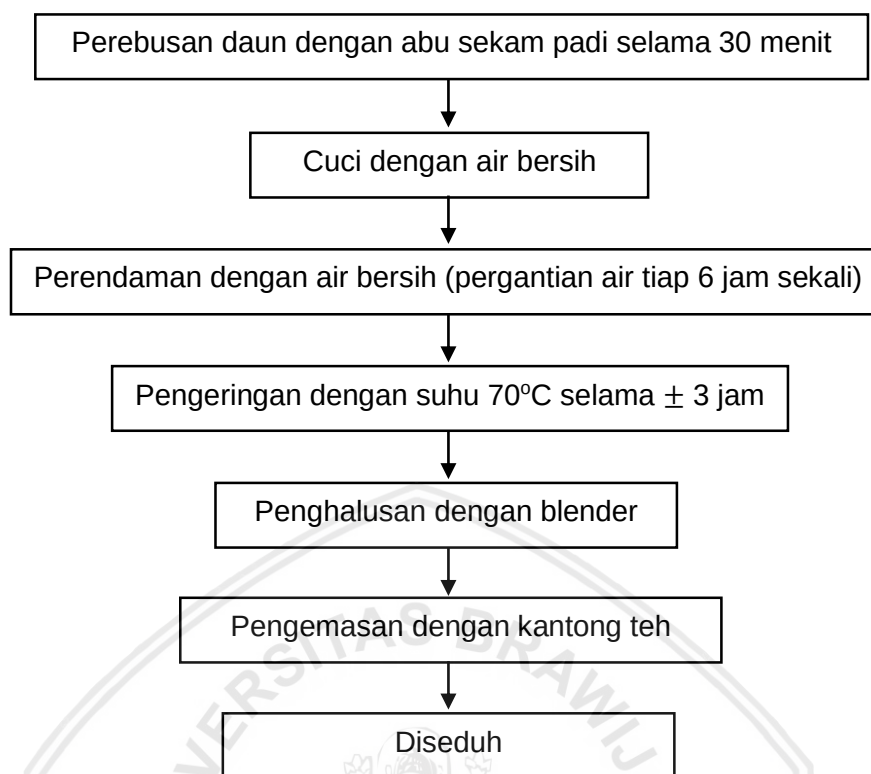
Adapun prosedur penelitian dibagi menjadi 3 tahap yaitu preparasi sampel, penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Preparasi sampel merupakan tahap awal penelitian dimana pada tahap ini dilakukan pembuatan teh dari Daun Mangrove (*Sonneratia alba*). Penelitian pendahuluan meliputi pencarian konsentrasi abu sekam padi dan lama perendaman air terbaik yang menghasilkan kadar tanin terendah. Selanjutnya dilakukan penelitian utama yang meliputi penyeduhan teh dari daun mangrove (*Sonneratia alba*) dengan suhu dan lama waktu yang berbeda, serta dilakukan pengujian.

3.4.1 Preparasi Sampel

Daun Mangrove (*Sonneratia alba*) disortir sesuai keinginan. Kategori daun yang diinginkan adalah daun yang berwarna hijau segar dan berukuran ± 6 cm yang diperoleh dari Kawasan Konservasi Mangrove Probolinggo, Jawa Timur. Sampel yang sudah disortir kemudian di cuci untuk menghilangkan sisa-sisa kotoran yang masih menempel pada daun. Kemudian dilakukan proses pembuatan teh.

3.4.2 Proses Pembuatan Teh

Pembuatan teh dari daun mangrove (*Sonneratia alba*) (Modifikasi Soenardjo dan Supriyantini, 2017) dilakukan dengan cara merebus daun dengan abu sekam padi dan air dengan perbandingan daun dan air 1:20 (b/v) selama 30 menit dengan api sedang. Kemudian daun di cuci dengan air bersih. Tujuan dari proses ini adalah untuk menghilangkan sisa-sisa abu sekam padi. Setelah itu daun mangrove yang sudah direbus direndam dengan air bersih dengan perbandingan 1:8 (b/v) dengan pergantian air setiap 6 jam sekali. Selanjutnya daun yang sudah direndam, dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 70°C selama ± 3 jam sampai sampel kering rapuh. Menurut Febrian (2015) produk teh daun kedondong terbaik dilakukan pengeringan dengan suhu 70°C selama 180 menit. Setelah kering dilakukan proses penghalusan menggunakan blender. Kemudian serbuk teh yang sudah halus dikemas menggunakan kantong teh berukuran 5,5 cm x 6,5 cm, tiap kantong berisi satu sendok teh daun kering atau setara dengan $\pm 2,5 - 3$ g. Kemudian kantong teh yang telah terisi daun kering di jahit menggunakan benang. Kantong teh dan benang yang digunakan adalah yang berkualitas food grade. Kemudian teh dikemas menggunakan wadah tertutup. Setelah itu dilakukan proses penyeduhan. Berikut diagram alir proses pembuatan teh dari daun mangrove (*Sonneratia alba*) yang dapat dilihat pada **Gambar 5.**

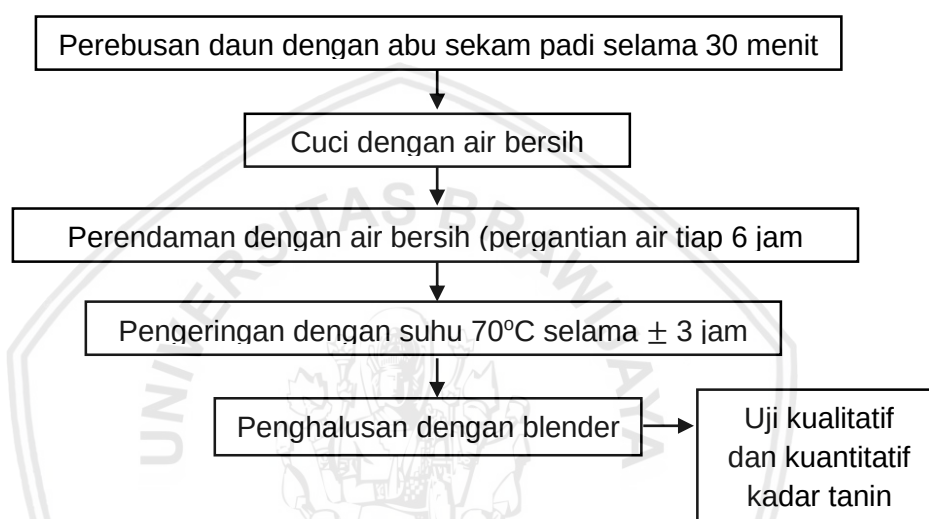


Gambar 5. Skema Proses Pembuatan Teh Hijau

3.4.3 Penelitian Pendahuluan

Pada penelitian pendahuluan (Modifikasi Soenardjo dan Supriyantini, 2017) ini bertujuan untuk mencari konsentrasi abu sekam padi dan lama perendaman air terbaik yang menghasilkan kadar tanin terendah untuk digunakan pada penelitian utama. Pembuatan teh dari daun mangrove (*Sonneratia alba*) dilakukan dengan cara merebus daun dengan abu sekam padi (5%; 10%; 15%) dan air dengan perbandingan daun dan air 1:20 (b/v) selama 30 menit dengan api sedang. Kemudian daun di cuci dengan air bersih. Tujuan dari proses ini adalah untuk menghilangkan sisa-sisa abu sekam padi. Setelah itu daun mangrove yang sudah direbus direndam dengan air bersih (24 jam, 48 jam dan 72 jam) dengan perbandingan 1:8 (b/v) dengan pergantian air setiap 6 jam sekali. Selanjutnya daun yang sudah direndam, dikeringkan

menggunakan oven dengan suhu 70°C selama ± 3 jam sampai sampel kering rapuh. Menurut Febrian (2015) produk teh daun kedondong terbaik dilakukan pengeringan dengan suhu 70°C selama 180 menit. Setelah kering dilakukan proses penghalusan menggunakan blender. Kemudian dilakukan uji kualitatif dan kuantitatif kadar tanin. Kadar tanin yang terendah akan digunakan untuk penelitian utama. Skema penelitian pendahuluann dapat dilihat pada **Gambar 6**.

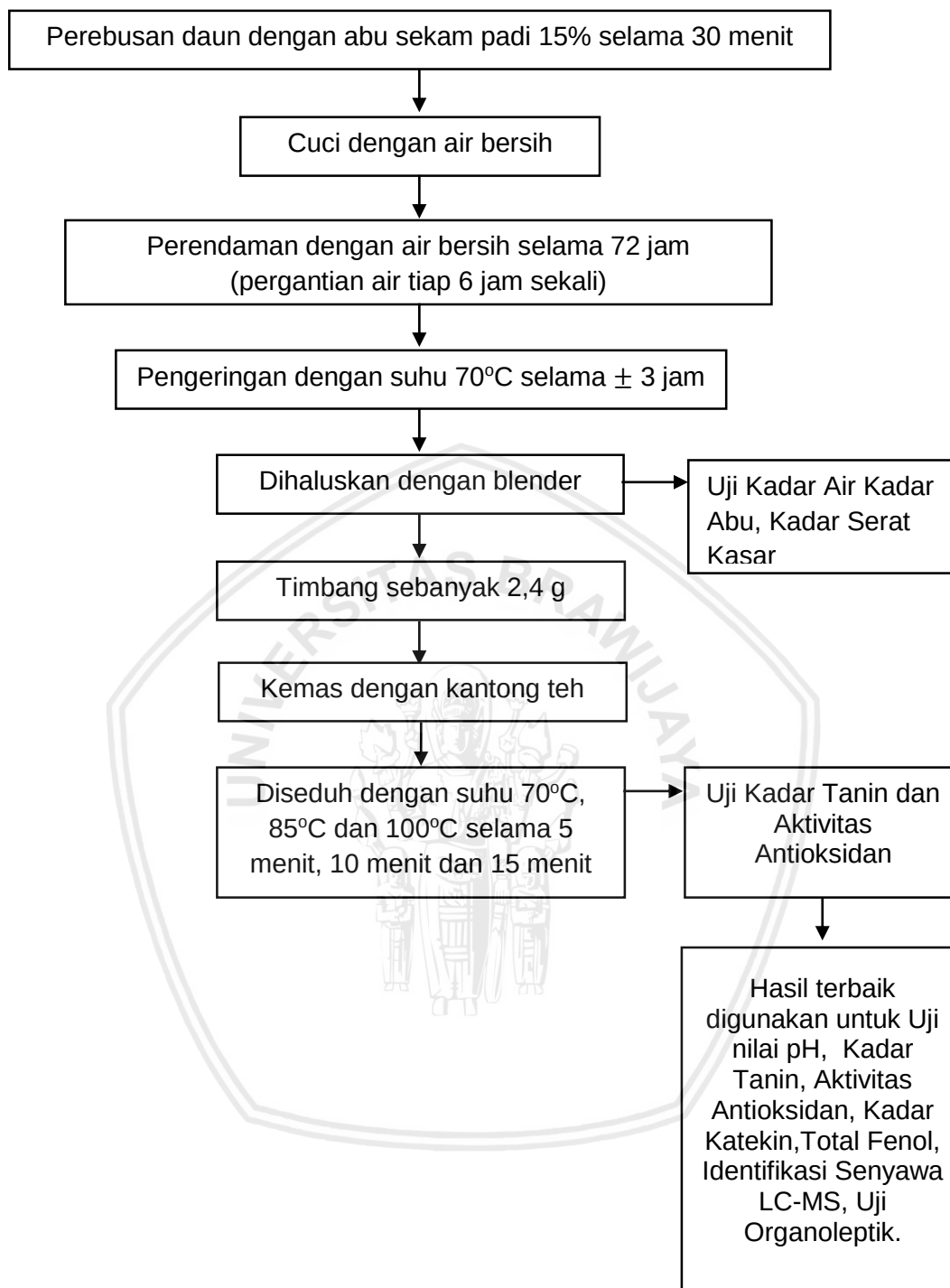


Gambar 6. Skema Penelitian Pendahuluan

3.4.4 Penelitian Utama

Pembuatan teh dari daun mangrove (*Sonneratia alba*) (Modifikasi Soenardjo dan Supriyantini, 2017) dilakukan dengan cara merebus daun dengan abu sekam padi 15% (b/b) dan air dengan perbandingan 1:20 (b/v) selama 30 menit dengan api sedang. Kemudian daun di cuci dengan air bersih. Tujuan dari proses ini adalah untuk menghilangkan sisa-sisa abu sekam padi. Setelah itu daun mangrove yang sudah direbus direndam dengan air bersih selama 72 jam dengan perbandingan 1:8 (b/v) dengan pergantian air setiap 6 jam sekali. Selanjutnya daun yang sudah direndam,

dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 70°C selama $\pm$ 3 jam sampai sampel kering rapuh. Menurut Febrian (2015) produk teh daun kedondong terbaik dilakukan pengeringan dengan suhu 70°C selama 180 menit. Setelah kering dilakukan proses penghalusan menggunakan blender. Kemudian serbuk teh yang sudah halus dikemas menggunakan kantong teh berukuran 5,5 cm x 6,5 cm, tiap kantong teh diisi sebanyak 2,4 g bubuk teh kemudian diseduh dengan 140 mL air, cara ini yang mengacu pada SNI 3836:2013 tentang teh. Kemudian kantong teh yang telah terisi daun kering di *sealer* menggunakan *food sealer* bersamaan dengan benang teh. Kantong teh dan benang yang digunakan adalah yang berkualitas food grade. Kemudian teh dikemas menggunakan wadah tertutup. Setelah itu dilakukan proses penyeduhan. Proses penyeduhan dilakukan dengan suhu 70°C, 85°C dan 100°C selama 5 menit, 10 menit dan 15 menit. Suhu 70°C digunakan karena merupakan suhu air hangat pada dispenser. Sebagian masyarakat Indonesia melakukan penyeduhan teh dengan menggunakan air panas pada dispenser dan sebagian lagi menggunakan air yang dimasak hingga mendidih. Suhu 100°C merupakan suhu dimana air mendidih. Sementara untuk suhu 85°C digunakan karena merupakan suhu yang terletak diantara keduanya. Kemudian dilakukan Analisis Kadar Tanin dan Aktivitas Antioksidan. Hasil Kadar Tanin dan Aktivitas Antioksidan terbaik akan diuji Kadar Katekin, Total Fenol, Uji LC-MS, Uji Kadar Proksimat dan Uji Organoleptik. Skema penelitian utama dapat dilihat pada **Gambar 7**.

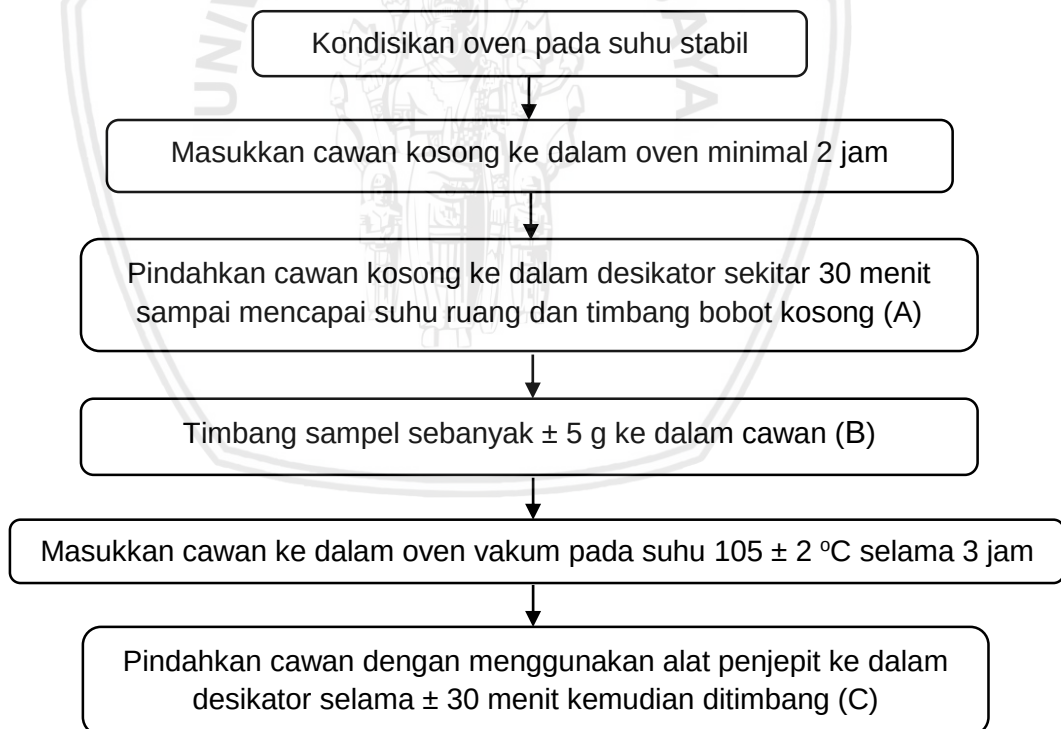


Gambar 7. Skema Analisis Penelitian Utama

3.5 Parameter Pengujian

3.5.1 Kadar Air (SNI-3836:2013)

Untuk uji kadar air pertama-tama yang harus dilakukan adalah preparasi cawan terlebih dahulu. Cawan yang akan digunakan dioven selama 2 jam pada suhu (105 ± 2) °C, setelah itu dimasukkan kedalam desikator selama 30 menit. Kemudian timbang cawan sebagai A. Timbang sampel yang akan diuji kadar air nya sebanyak 5 g dan masukkan kedalam cawan (B). Cawan yang telah berisi sampel, kemudian dioven selama 3 jam pada suhu (105 ± 2) °C dengan cawan terbuka, jika sudah selesai dioven tutup cawan dan masukkan cawan kedalam desikator selama 30 menit dan timbang sebagai C, hitung % kadar air. Lakukan pekerjaan secara duplo. Skema pengujian kadar air dapat dilihat pada **Gambar 8**.



Gambar 8. Skema Analisis Kadar Air

Rumus Perhitungan Kadar Air:

$$\frac{B-C}{B-A} \times 100\%$$

Keterangan:

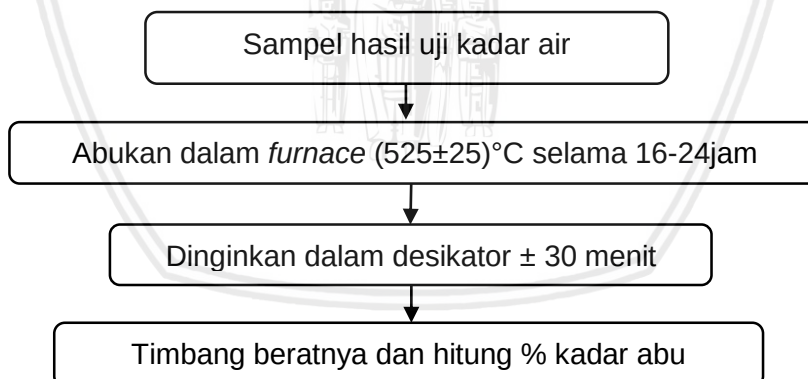
A = Berat cawan kosong (g)

B = Berat cawan+sampel (g)

C = Berat cawan+sampel setelah dipanaskan (g)

3.5.2 Kadar Abu (SNI 3836:2013)

Dalam pengujian kadar abu pada produk teh kering yang mengacu pada SNI 3836:2013, menggunakan sampel hasil kadar air yang sebelum nya dipakai. Pertama cawan yang berisi sampel diabukan pada suhu $525 \pm 25^\circ\text{C}$ selama 16-24 jam sampai terbentuk abu berwarna putih. Lalu suhu di turunkan dan cawan abu didinginkan selama 30 menit dan di timbang berat Kadar Abu. Lakukan pekerjaan secara duplo. Skema kerja pengujian kadar abu dapat dilihat pada **Gambar 9**.



Gambar 9. Skema Analisis Kadar Abu

Rumus Perhitungan Kadar Abu

$$\frac{C-A}{B-A} \times 100\%$$

Keterangan:

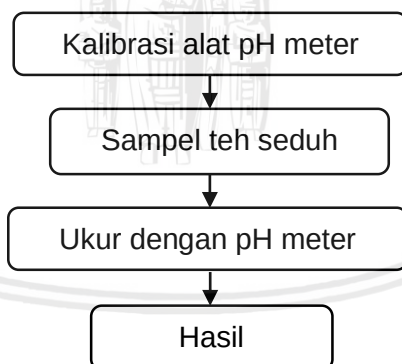
A = Berat cawan kosong (g)

B = Berat cawan+sampel sebelum diabukan (g)

C = Berat cawan+sampel setelah diabukan (g)

3.5.3 Nilai pH

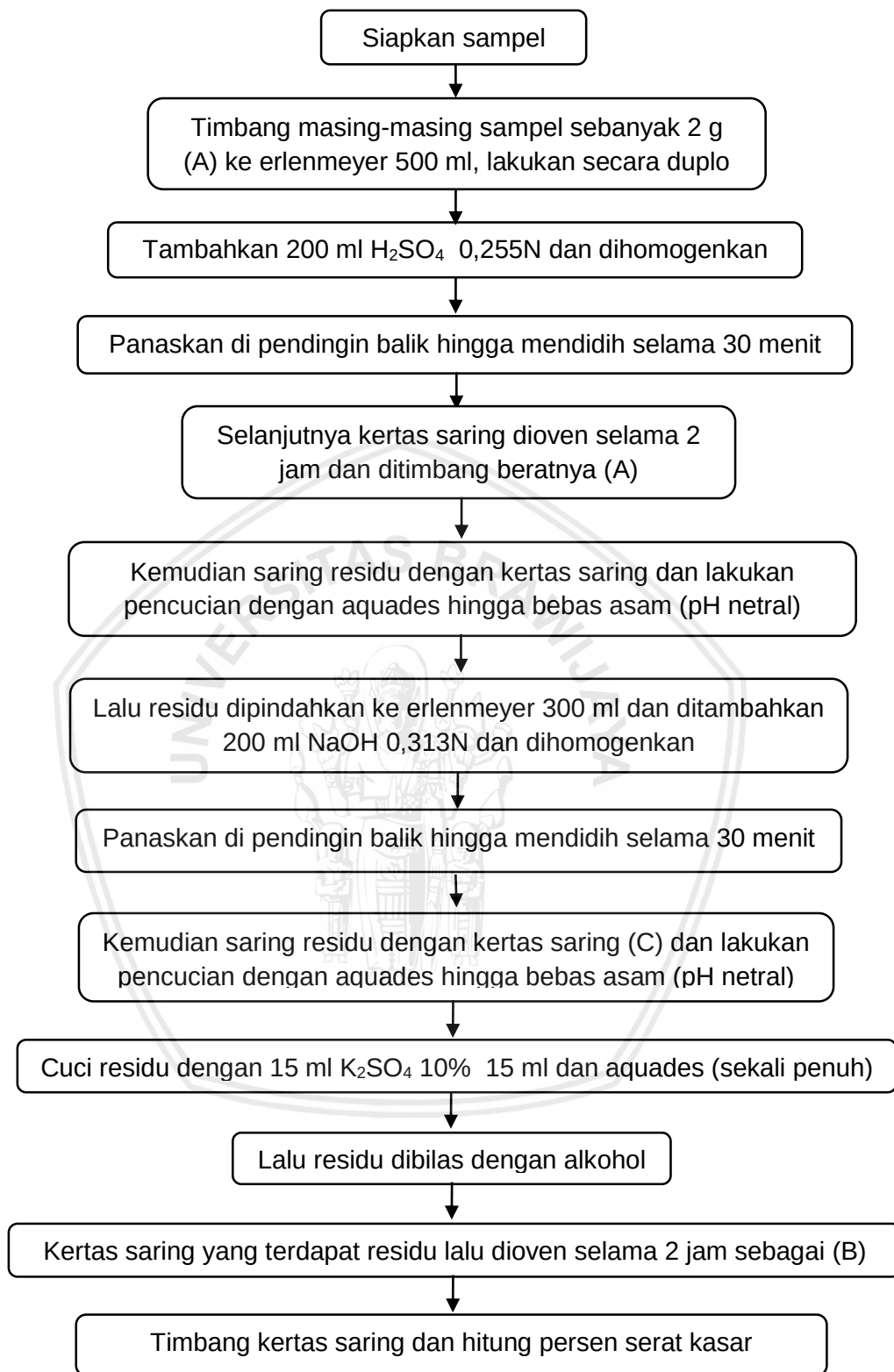
Dalam pengujian nilai pH siapkan teh yang sudah di seduh. Sebelum alat pH meter digunakan untuk mengukur pH, sebelumnya tera kepekaan jarum penunjuk pH meter dengan larutan buffer pH 4 dan larutan buffer ph 7. Besarnya pH adalah pembacaan jarum petunjuk pH setelah bergerak selama 1 menit. Skema kerja pengujian nilai pH dapat dilihat pada **Gambar 10**.



Gambar 10. Skema Analisis Nilai pH

3.5.4 Kadar Serat Kasar (SNI 3836:2013)

Pada pengujian kadar serat kasar, alat dan bahan yang perlu disiapkan yaitu: erlenmeyer 500 mL, timbangan analitik, kertas timbang, corong, pendingin balik, kertas saring, alkohol, aquades, H_2SO_4 0,255N, NaOH 0,313N, K_2SO_4 10 %, kertas pH, sampel. Langkah pertama yang dilakukan, yaitu menimbang masing-masing sampel sebanyak 2 g ke erlenmeyer 500 mL. Selanjutnya sampel ditambahkan 200 mL H_2SO_4 0,255N dan dipanaskan dengan pendingin balik selama 30 menit (proses mendidih). Selanjutnya sampel disaring dan residu dicuci dengan aquades panas hingga pH netral serta dilakukan pengecekan pH menggunakan kertas pH. Sebelumnya, dilakukan pengovenan kertas saring selama 2 jam dan dicatat beratnya. Setelah pH sampel netral, lalu residu diambil dan dimasukkan ke erlenmeyer 500 mL dan ditambahkan 200 mL NaOH 0,313N. Kemudian sampel dipanaskan dengan pendingin balik selama 30 menit (proses mendidih). Selanjutnya sampel disaring dan residu dicuci dengan aquades panas hingga pH netral dilakukan pengecekan pH menggunakan kertas pH. Lalu sampel dicuci dengan K_2SO_4 10 % sebanyak 15 mL dan dicuci dengan aquades, lalu dibilas dengan alkohol 15 mL. Kemudian kertas saring yang terdapat residu dioven selama 2 jam dan dihitung beratnya. Lalu dilakukan perhitungan persen kadar serat kasar. Skema kerja pengujian kadar serat kasar dapat dilihat pada **Gambar 11**.



Gambar 11. Skema Analisis Kadar Serat Kasar

Rumus Perhitungan %Kadar Serat Kasar:

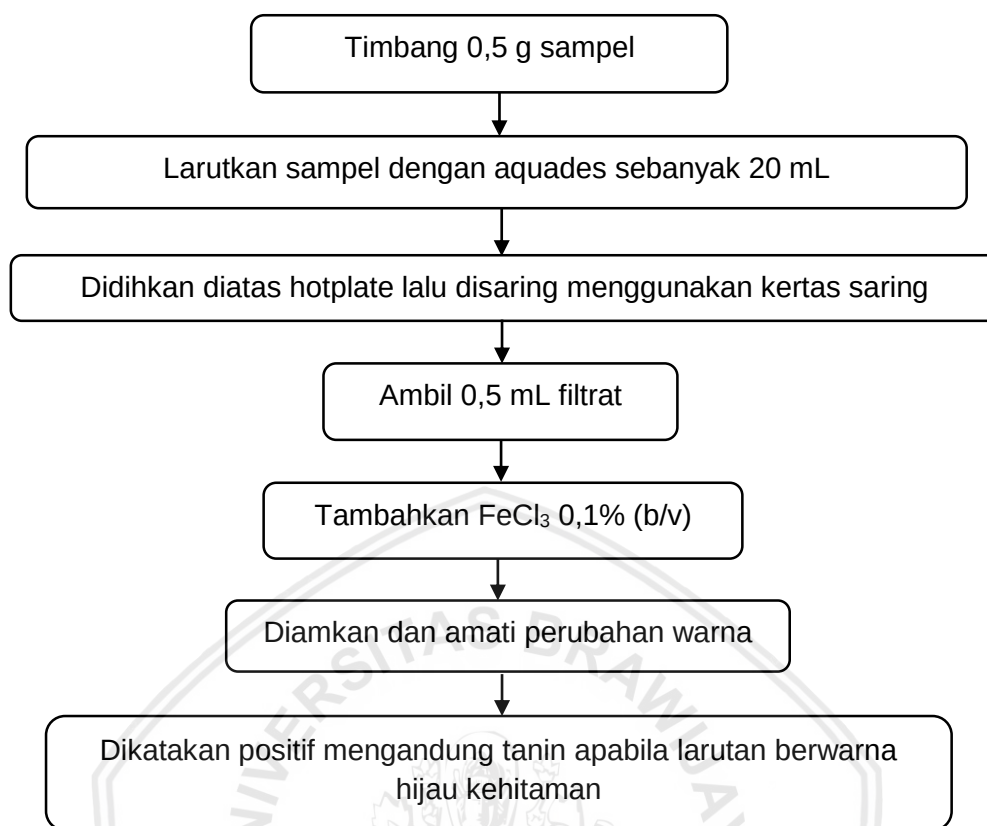
$$\% \text{ Kadar serat kasar} = \frac{\text{berat kertas residu} - \text{berat kertas saring}}{\text{berat sampel}} \times 100 \%$$

3.5.5 Kadar Tanin

Sebelum dilakukan uji penetapan kadar tanin, langkah pertama yang dilakukan adalah membuat larutan baku standar asam tanat. Penetapan panjang gelombang maksimum bertujuan untuk mengetahui besarnya panjang gelombang yang dibutuhkan larutan asam tanat untuk mencapai serapan maksimum. Larutan baku asam tanat berfungsi untuk mencapai serapan konstan sehingga dapat dilakukan pembuatan kurva baku yang bertujuan untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi asam tanat dengan serapan (Andryani, *et al.* 2010). Menurut Mukhriani, *et al.* (2014), pembuatan larutan standar asam tanat 1000 ppm dengan cara melarutkan 0,1 g asam tanat dalam 100 mL aquades. Larutan standar ini harus selalu dibuat baru setiap kali akan dilakukan pengujian. Kemudian dilakukan pembuatan seri pengenceran 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm. Lalu, ambil 1 mL dari seri pengenceran dan dimasukkan kedalam wadah labu tentukur 10 mL yang berisi 7,5 mL aquabidestilata kedalam labu tersebut. Aquabidest (Aqua Bidestilata) yaitu air yang dihasilkan dari proses destilasi/penyulingan bertingkat (2x proses destilasi/penyulingan) dan mengandung mineral lebih sedikit dari aquadest. Kemudian ditambahkan 0,5 mL pereaksi folin denis dan diamkan selama 3 menit. Folin denis berfungsi sebagai oksidator dan tanin sebagai reduktor. Reagen folin denis merupakan reagen pembentuk warna. Folin denis sebagai oksidator, tanin yang

teroksidasi akan mengubah fosmolibdat dalam folin denis menjadi fosmolibdenim yang berwarna biru yang dapat menyerap sinar pada daerah panjang gelombang ultraviolet *visible* (Andryani, *et al.* 2010). Lalu tambahkan 1 mL larutan Na_2CO_3 jenuh, diinkubasi selama 15 menit. Fungsi penambahan reagen Na_2CO_3 adalah untuk menciptakan suasana yang basa pada sampel sehingga senyawa fenolik (tanin) dapat bereaksi dengan reagen Folin Denis karena reaksi tersebut hanya terbentuk dalam suasana basa (Diniatik, *et al.* 2007). Kemudian serapannya dibaca pada panjang gelombang 420nm.

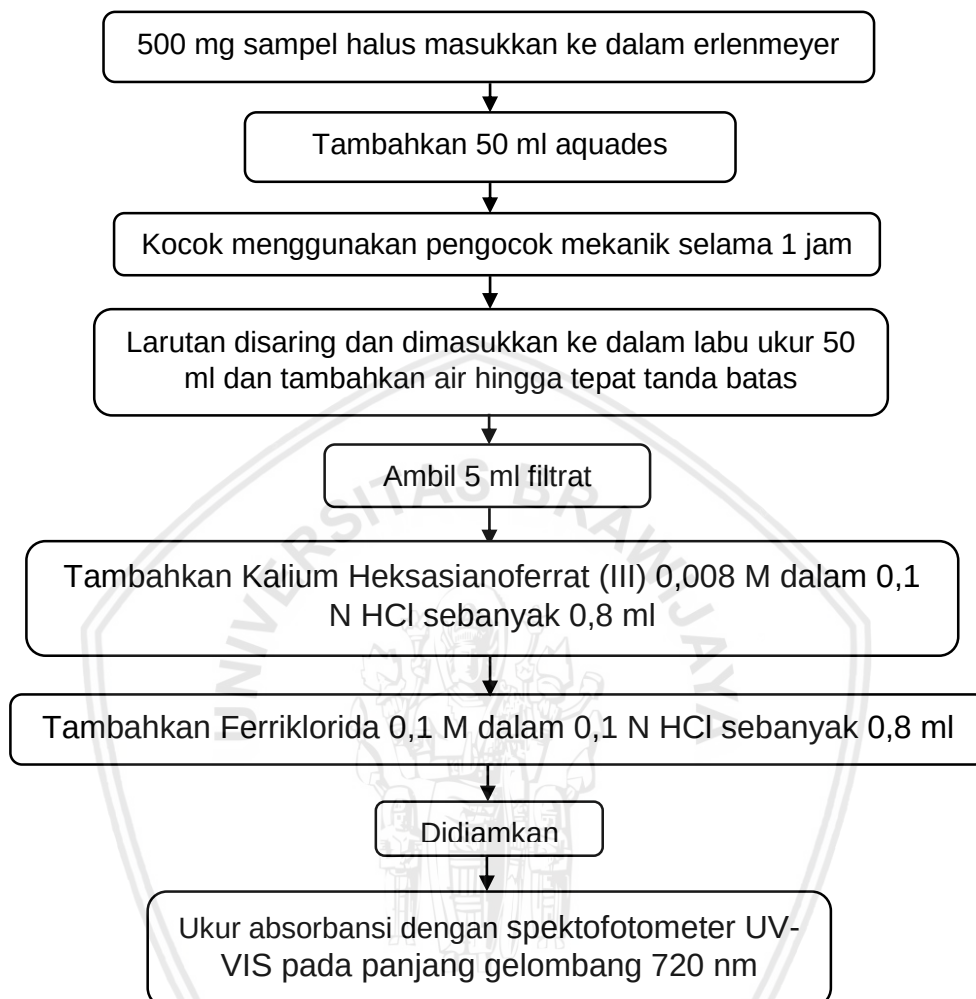
Menurut Indarto (2015), terdapat dua pengujian kadar tanin yaitu secara kualitatif dan kuantitatif. Uji kualitatif dilakukan dengan cara menimbang 0,5 g sampel yang sudah dihaluskan, kemudian ditambahkan 20 mL aquades kemudian dididihkan dan disaring. Setelah itu ambil 0,5 mL filtrat dan ditambahkan FeCl_3 (Ferriklorida) 0,1% (b/v) dan diamati terjadinya perubahan warna. Skema kerja uji kadar tanin secara kualitatif dapat dilihat pada **Gambar 12**.



Gambar 12. Skema Analisis Kualitatif Tanin

Menurut Indarto (2015), Uji kuantitatif kadar tanin dilakukan dengan cara menimbang 500 mg sampel yang sudah dihaluskan, kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer. Kemudian ditambahkan aquades sebanyak 50 mL dan dihomogenkan dengan menggunakan pengocok mekanik selama satu jam. Setelah itu larutan disaring dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL dan ditambahkan air hingga tepat tanda batas. Kemudian dipipet 5 mL filtrat, masukkan kedalam botol vial. Kemudian tambahkan Kalium Heksasianoferat (III) 0,008 M dalam 0,1N HCl sebanyak 0,8 mL dan Ferriklorida 0,1 M dalam 0,1 N HCl sebanyak 0,8 mL. Kemudian didiamkan, setelah itu diukur serapannya dengan menggunakan

spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 420 nm. Skema kerja uji Kadar Tanin secara kuantitatif dapat dilihat pada **Gambar 13**.



Gambar 13. Skema Analisis Kuantitatif Tanin

Rumus Perhitungan Persen Kadar Tanin:

$$\text{ppm} = \frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times \frac{100}{\text{Vol. sampel}} \times 1.000$$

$$\% \text{Tanin} = \frac{\text{ppm}}{10.000}$$

Pada analisis kadar tanin, akuades berfungsi sebagai pelarut yang ditambahkan bersamaan dengan penambahan Na_2CO_3 . Selain itu pada uji folin denis, aquades bersama metanol dengan perbandingan (1:2) dapat digunakan sebagai pelarut tanin yang lebih efektif dibandingkan dengan hanya metanol saja (Irianty dan Verawati, 2012). Menurut Musdalifah (2016), Penambahan Kalium Heksasianoferrat (III) bertujuan untuk mengoksidasi besi (II) menjadi besi (III) sehingga terbentuk heksasianoferat (II). Selain itu, sianida (CN) dapat berfungsi sebagai gugus kromofom yang bertujuan untuk memekatkan warna. Ilustrasi reaksi dapat dilihat sebagai berikut $\text{Fe}^{2+} + [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} \rightarrow [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$. Kemudian ion tersebut bergabung membentuk endapan biru turnbull $4\text{Fe}^{3+} + 3[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-} \rightarrow [\text{Fe}_4(\text{CN})_6]_3$. Sebelum melakukan pengukuran absorbansi, larutan disaring terlebih dahulu untuk mempermudah dalam proses pengukuran, sedangkan penambahan FeCl_3 (Ferriklorida) bertujuan membentuk kompleks berwarna hijau atau biru. Daya reduksi merupakan indikator potensi suatu senyawa antioksidan. Daya reduksi dalam hal ini diukur dari kemampuan suatu antioksidan untuk mengubah Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} . Senyawa yang mempunyai daya reduksi kemungkinan dapat berperan sebagai antioksidan karena dapat menstabilkan radikal dengan mendonorkan elektron atau hydrogen sehingga senyawa berubah menjadi lebih stabil. Pada saat pengujian dilakukan penambahan HCl dengan tujuan karena alkaloid bersifat basa sehingga biasanya diekstrak dengan pelarut yang mengandung asam.

3.5.6 Aktivitas Antioksidan (DPPH)

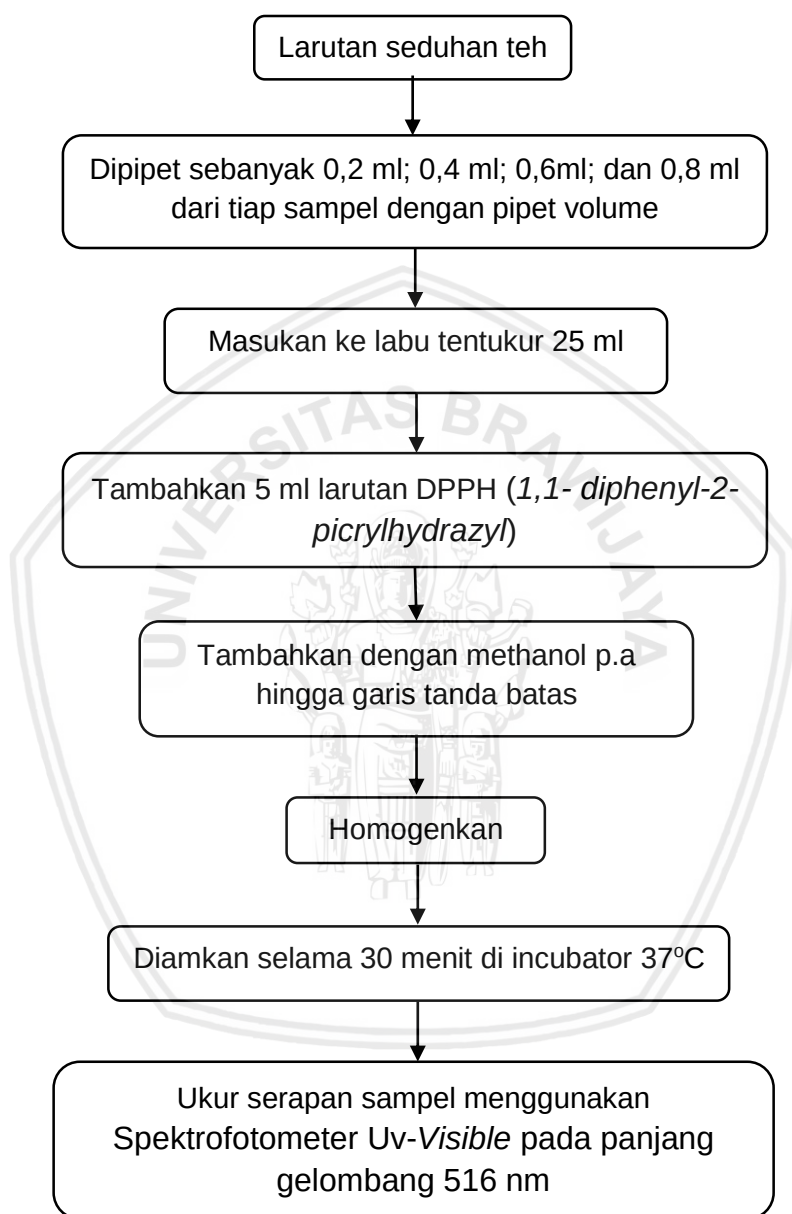
Menurut Rahayu (2018), langkah pertama yang harus disiapkan adalah membuat Larutan blanko DPPH 0,5 mM dengan cara menimbang 20 mg serbuk DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) yang dilarutkan dengan methanol hingga 100 mL. Larutan Blanko C 40 µg/mL dengan cara mengambil larutan DPPH 0,5 mM sebanyak 5 mL, lalu masukkan kedalam labu tentukur 25 mL, lalu tambahkan methanol p.a sampai garis tanda batas. Kemudian siapkan larutan seduhan teh, dengan cara yang mengacu pada SNI 3836:2013 tentang teh yaitu timbang sebanyak 2,4 g dalam 140 mL air.

Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dilakukan dengan cara mengukur panjang gelombang serapan maksimum DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) dengan cara menghomogenkan larutan DPPH konsentrasi 40 µg/mL dengan vortex, lalu diukur serapannya pada panjang gelombang 400-800 nm yang merupakan panjang gelombang sinar tampak (Gandjar dan Rohman, 2017). Selanjutnya penentuan operating time yaitu larutan DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) dengan konsentrasi 40 µg/mL, dihomogenkan dan diukur absorbansinya pada menit ke 0 sampai menit ke 60 pada gelombang maksimum yang sudah ditentukan (Alfian dan Susanti, 2012).

Kemudian dilakukan pengujian aktivitas antioksidan seduhan air teh dengan cara mengambil 0,2 mL; 0,4 mL; 0,6mL; dan 0,8 mL dari tiap sampel, kemudian masukkan kedalam labu tentukur 25 mL (untuk mendapatkan konsentrasi 137,142 µg/mL, 274,285 µg/mL, 411,428 µg/mL, dan 548,571 µg/mL). Ke dalam masing-masing labu tentukur ditambahkan 5 mL larutan DPPH (*1,1- diphenyl-2-picrylhydrazyl*) 0,5 mM, lalu dicukupkan dengan metanol sampai garis tanda, dihomogenkan dengan vortex, lalu didiamkan selama 30 menit, kemudian diukur serapannya menggunakan

Spektrofotometer UV-Visible pada panjang gelombang 516 nm (Molyneux, 2004).

Skema pengujian kadar antioksidan dapat dilihat pada **Gambar 14**.



Gambar 14. Skema Analisis Aktivitas Antioksidan

Kemudian tentukan persen pemerangkapan radikan bebas dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Persen Inhibisi (\%)} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

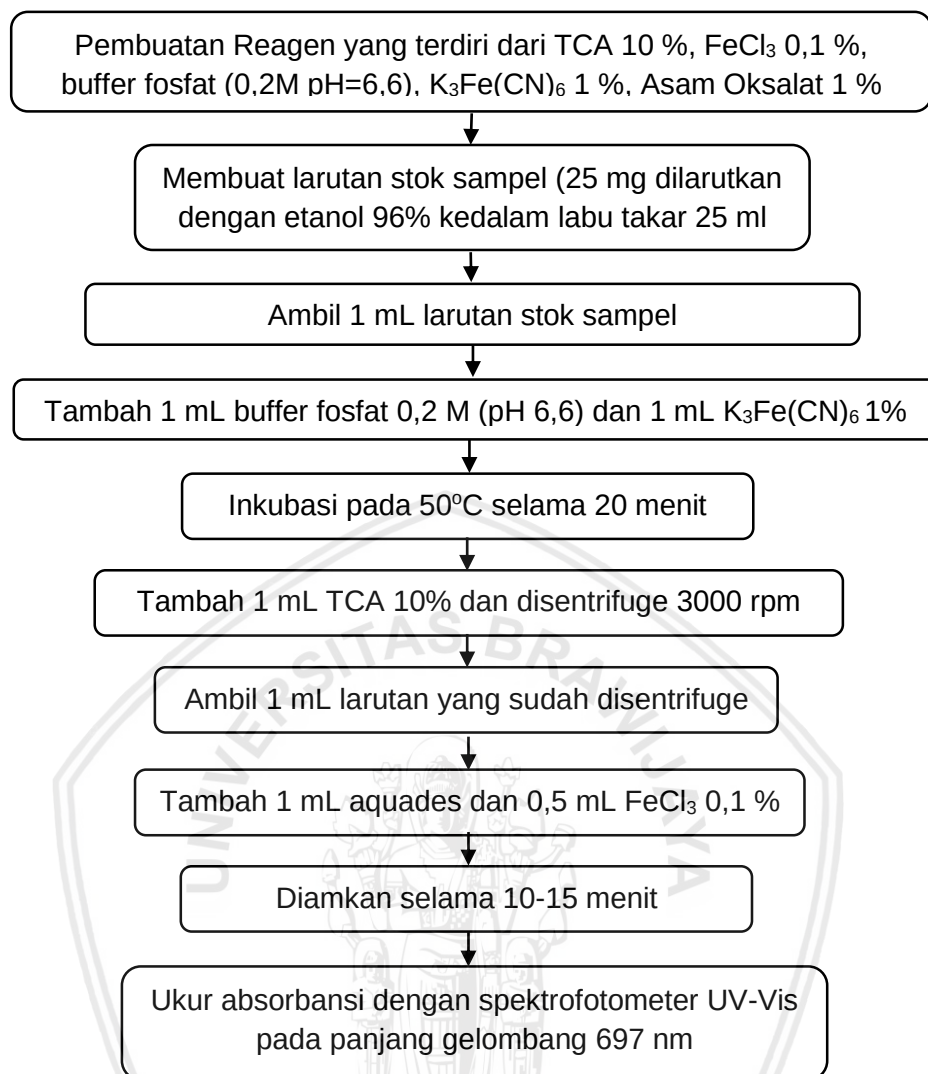
3.5.7 Aktivitas Antioksidan (FRAP)

Menurut Pratama, *et al.* (2018), Metode ini diawali dengan menyiapkan larutan TCA 10 %, FeCl_3 0,1 %, buffer fosfat (0,2M pH=6,6), etanol 96 %, $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 1 %, Asam Oksalat 1 %, standar Asam Askorbat, aquades, dan sampel. Larutan TCA (Asam Trikloroasetat) 10 % dibuat dengan melarutkan 10 g TCA dengan aquades sebanyak 100 mL. Larutan FeCl_3 (Ferri Klorida) 0,1% dibuat dengan melarutkan 0,1 g FeCl_3 dengan aquades sebanyak 100 mL. Larutan Buffer Fosfat 0,2 M pH 6,6 dibuat dengan melarutkan 2 g NaOH dengan aquades bebas CO_2 hingga tepat 250 mL dalam labu takar dan larutkan 6,8 g KH_2PO_4 dengan aquades bebas CO_2 hingga tepat 250 mL dalam labu takar. Kemudian dipipet sebanyak 16,4 mL NaOH dimasukkan dalam labu takar dan dicampurkan 50 mL KH_2PO_4 , selanjutnya diukur sampai pH 6,6 menggunakan pH meter tambahkan aquades bebas CO_2 hingga 200 mL. Larutan $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (Kalium Ferrisianida) 1 % dibuat dengan melarutkan 1 g $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ dengan aquades dalam labu takar 100 mL. Larutan Asam Oksalat 1 % dibuat dengan melarutkan 1 g Asam Oksalat dengan aquades bebas CO_2 dalam labu takar 100 mL. Larutan Stok Standar Asam Askorbat 1000 ppm dibuat dengan melarutkan 25 mg Asam Askorbat yang dilarutkan dengan Asam Oksalat 1% dalam labu ukur 25 mL hingga tepat tanda batas. Selanjutnya dari larutan stok 1000 ppm diambil masing-masing 0,5 mL, 0,6 mL, 0,7 mL, 0,8 mL, 0,9 mL dan 1 mL kedalam labu ukur 10 mL dan tambahkan Asam Oksalat 1% hingga tepat tanda batas dan homogenkan.

Konsentrasi larutan standar 1000 ppm asam askorbat yaitu 50 ppm, 60 ppm, 70 ppm, 80 ppm, 90 ppm, dan 100 ppm.

Kemudian tentukan panjang gelombang maksimum dengan mengukur absorbansi larutan standar Asam Askorbat pada konsentrasi 70 ppm yang diambil sebanyak 1 mL, tambahkan, buffer fosfat 0,2 M (pH 6,6) sebanyak 1 mL dan kalium ferrisianida 1 % sebanyak 1 mL. Kemudian larutan tersebut diinkubasi pada 50°C selama 20 menit. Setelah selesai diinkubasi ditambahkan 1 mL larutan TCA 10% dan disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm. Kemudian ambil 1 mL larutan yang sudah disentrifuge dan tambahkan 1 mL aquades dan 0,5 mL FeCl_3 0,1 %. Larutan tersebut didiamkan selama 10-15 menit dan ukur absorbansinya pada setiap panjang gelombang dalam kisaran 650-730 nm dengan menggunakan Spektrofotometer UV-VIS.

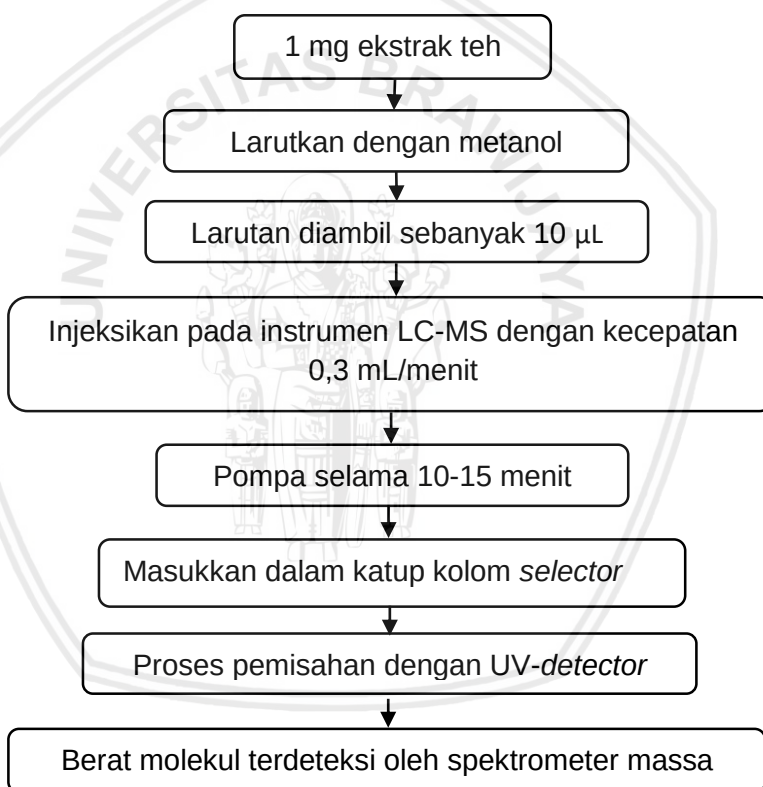
Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode FRAP dilakukan dengan cara menyiapkan larutan stok yang dibuat dengan konsentrasi 1000 ppm pada sampel teh mangrove. Timbang sampel sebanyak 25 mg dan larutkan dengan etanol 96% kedalam labu takar 25 mL hingga tepat tanda batas. Kemudian larutan sampel diambil sebanyak 1 mL, ditambah dengan 1 mL buffer fosfat 0,2 M (pH 6,6) dan 1 mL $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 1%. Larutan tersebut diinkubasi pada 50°C selama 20 menit. Setelah itu, tambahkan 1 mL TCA 10% dan disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm. Kemudian ambil 1 mL larutan yang sudah disentrifuge dan tambahkan 1 mL aquades dan 0,5 mL FeCl_3 0,1 %. Larutan tersebut didiamkan selama 10-15 menit dan ukur absorbansinya pada setiap panjang gelombang maksimum dengan menggunakan Spektrofotometer UV-VIS. Nilai FRAP dinyatakan mg equivalen asam askorbat / mg sampel. Skema pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode FRAP dapat dilihat pada **Gambar 15**.



Gambar 15. Skema Uji AKtivitas Antioksidan (FRAP)

3.5.8 Identifikasi Senyawa LC-MS

Dalam pengujian LC-MS (Modifikasi Maharani, *et al.* 2016) dibutuhkan sebanyak 1 mg teh mangrove *Sonneratia alba* yang kemudian dilarutkan dalam methanol. Lalu larutan diambil sebanyak 10 μ L dan diinjeksikan pada instrumen LC-MS dengan kecepatan 0,3 mL/menit. Kemudian dipompa selama 10-15 menit dan dimasukkan kedalam katup kolom *selector*. Lalu dilakukan proses pemisahan dengan *UV-detector* sehingga berat molekul terdeteksi dari spektrometer massa. Skema kerja LC-MS dapat dilihat pada **Gambar 16**.

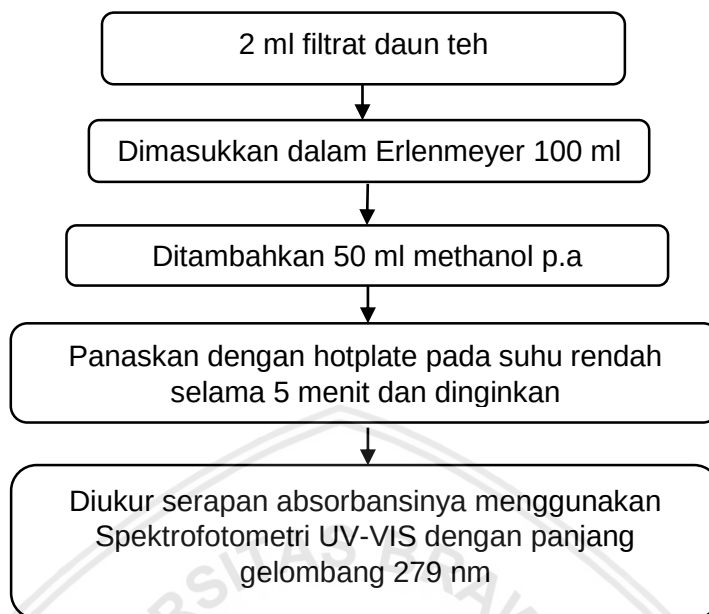


Gambar 16. Skema Identifikasi Senyawa LC-MS

3.5.9 Kadar Katekin

Menurut Musdalifah (2016), untuk menguji kadar katekin langkah pertama yang dilakukan adalah membuat larutan baku katekin 100 mg/L konsentrasi 100 ppm dengan cara menimbang 0,1 g katekin kedalam gelas kimia 100 mL, lalu dilarutkan dengan aquades secukupnya. Setelah itu, dimasukkan kedalam labu takar 100 mL dan encerkan dengan aquades hingga tanda batas lalu dihomogenkan. Kemudian membuat standar 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm dan 25 ppm. Katekin konsentrasi 100 ppm dipipet berturut-turut sebanyak 5 mL, 10 mL, 15 mL, 20 mL dan 25 mL. Lalu dimasukkan kedalam labu takar 100 mL diencerkan hingga tanda batas, kemudian dihomogenkan. Lalu dipanaskan selama 5 menit. Dinginkan lalu ukur dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum.

Penentuan kadar katekin dalam ekstrak daun mangrove *Sonneratia alba* pada suhu penyeduhan 70°C, 85°C dan 100°C dengan variasi waktu penyeduhan 5, 10 dan 15 menit. Filtrat teh dipipet sebanyak 2 mL ditambah 50 mL methanol p.a, kemudian dilakukan pemanasan selama 5 menit. Larutan diukur dengan menggunakan spektrofotometri UV-VIS dengan panjang gelombang 279 nm. Prosedur yang sama juga dilakukan pada suhu penyeduhan 85°C dan 100°C. Skema pengujian kadar katekin dapat dilihat pada **Gambar 17**.



Gambar 17. Skema Pengujian Kadar Katekin

Menurut Husni dan Puspaningrum (2017) Perhitungan %Kadar Katekin dengan memasukkan ke dalam persamaan berikut:

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{\text{Absorbansi sampel-a}}{b}$$

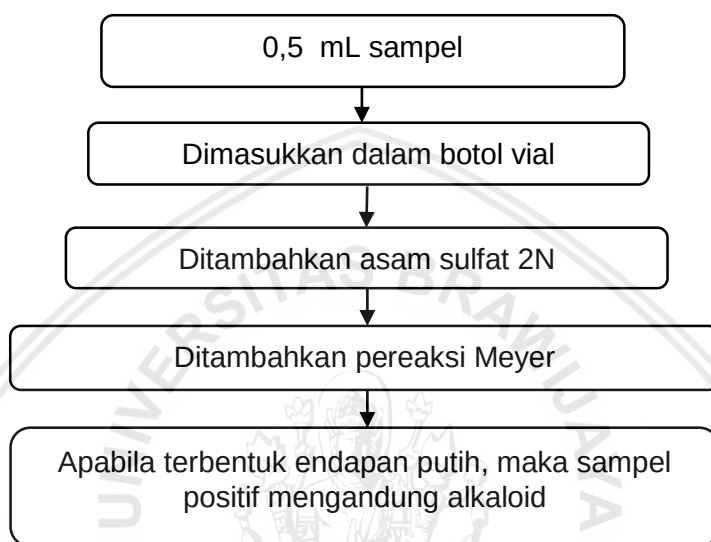
$$\% \text{Katekin} = \frac{\text{konsentrasi (ppm)} \cdot \frac{\text{Vol. sampel}}{1000} \cdot \text{Faktor Pengenceran}}{\text{sampel (gr)}} \times 100$$

3.5.10 Analisis Fitokimia

Menurut Detha dan Datta (2017), Uji fitokimia dilakukan secara kualitatif untuk mengetahui adanya kandungan senyawa aktif dalam tanaman. Uji fitokimia meliputi uji alkaloid, tanin, steroid dan triterpenoid, saponin, fenol dan flavonoid.

• Uji Alkaloid

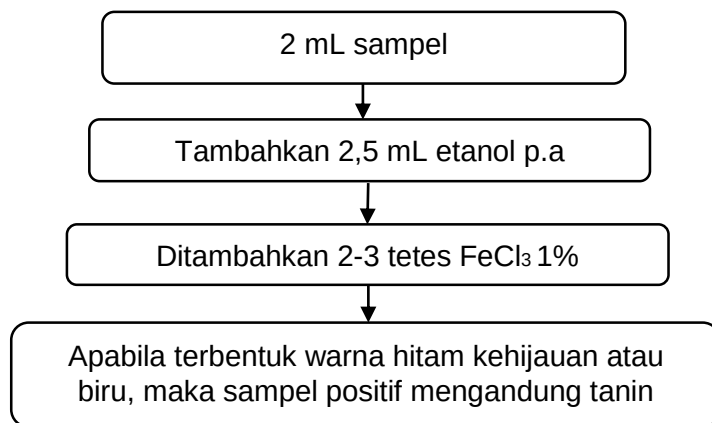
Teh daun mangrove diuji kandungan senyawa alkaloid menggunakan metode Meyer yaitu mereaksikan sampel dengan asam dan pereaksi Meyer. Hasil positif pada uji alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna putih. Pengujian alkaloid dari teh daun mangrove dapat dilihat pada **Gambar 18**.



Gambar 18. Skema Analisis Alkaloid

• Uji Tanin

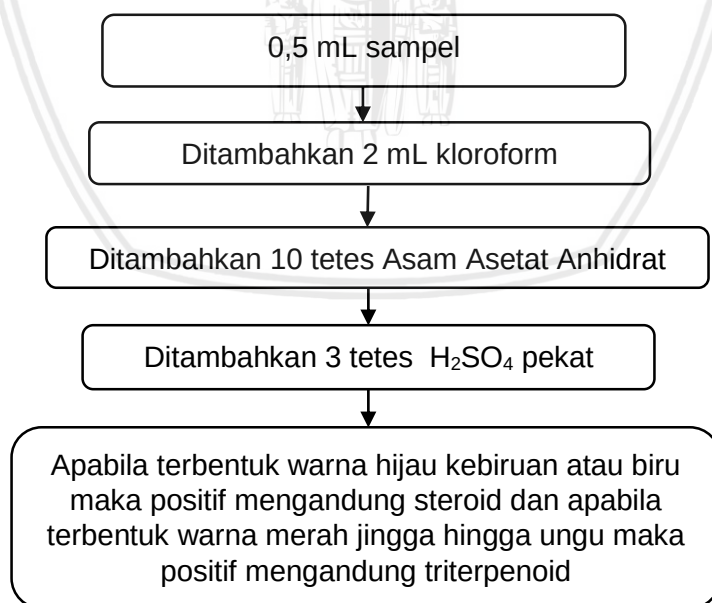
Teh daun mangrove diambil sebanyak 2 mL dan ditambahkan etanol p.a sampai sampel terendam. Larutan tersebut kemudian diambil 1 mL dan dipindahkan kedalam botol vial dan ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%. Hasil positif dari uji tanin ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kehijauan atau biru. Pengujian tanin dari teh daun mangrove dapat dilihat pada **Gambar 19**.



Gambar 19. Skema Analisis Tanin

• Uji Steroid dan Triterpenoid

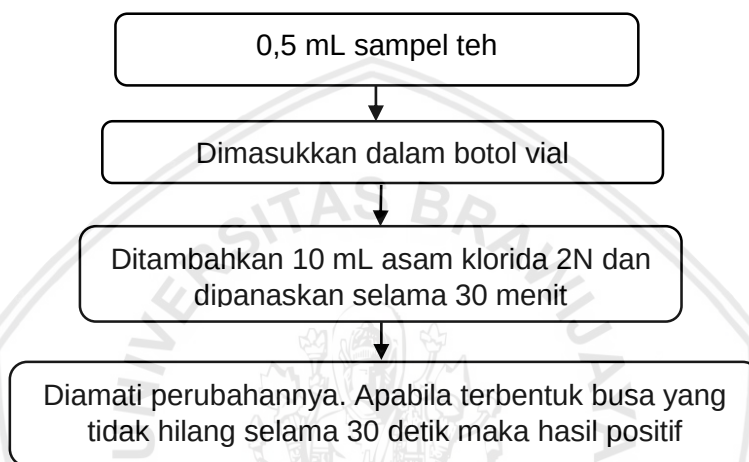
Identifikasi senyawa steroid dan triterpenoid menggunakan uji Lieberman-Burchard (Asam Anhidrida Asetat- H_2SO_4). Sebanyak 0,5 mL teh daun mangrove dilarutkan dalam 2 mL kloroform. Kemudian ditambahkan 10 Asam Asetat Anhidrat dan meneteskan campuran dengan 3 tetes H_2SO_4 pekat. Pengujian steroid dan triterpenoid dari teh daun mangrove dapat dilihat pada **Gambar 20**.



Gambar 20. Skema Analisis Steroid dan Triterpenoid

• Uji Saponin

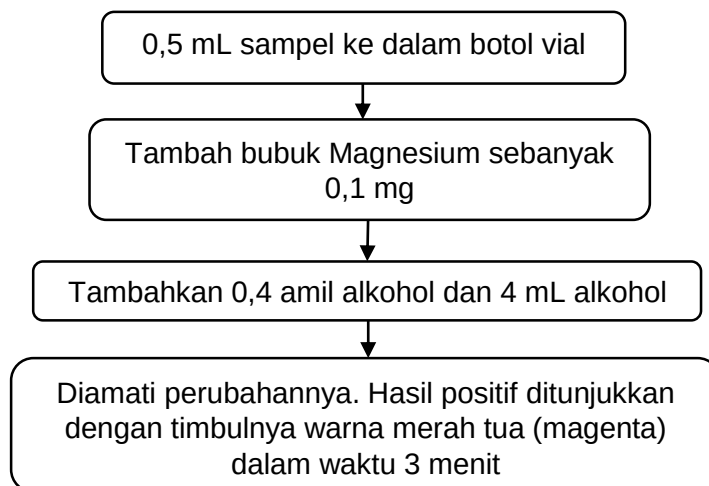
Uji saponin dilakukan dengan metode Forth. Teh daun mangrove sebanyak 0,5 mL dimasukkan kedalam botol vial. Kemudian ditambahkan 10 mL Asam Klorida 2N dan lalu dipanaskan selama 30 menit. Apabila terbentuk busa (tidak hilang selama 30 detik) maka hasil positif menunjukkan adanya saponin. Pengujian saponin dari teh daun mangrove dapat dilihat pada **Gambar 21**.



Gambar 21. Skema Analisis Saponin

• Uji Flavonoid

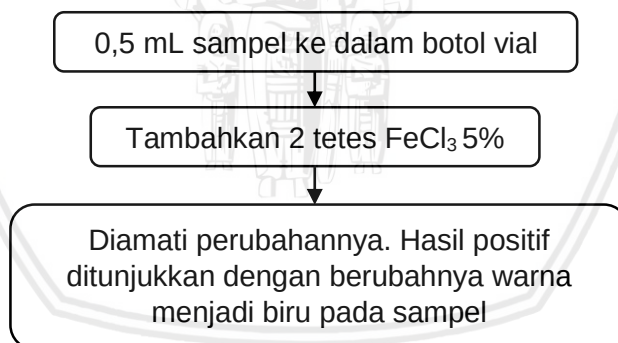
Teh daun mangrove diambil sebanyak 0,5 mL ditambah bubuk Magnesium sebanyak 0,1 mg. Lalu tambahkan 0,4 mL alkohol dan 4 mL alkohol. Hasil positif ditunjukkan dengan timbulnya warna merah tua (magenta) dalam waktu 3 menit. Pengujian flavonoid dari teh daun mangrove dapat dilihat pada **Gambar 22**.



Gambar 22. Skema Analisis Flavonoid

- **Uji Fenol Hidrokuinon**

Pengujian Fenol Hidrokuinon dilakukan dengan cara mengambil 0,5 mL sampel diberi 2 tetes FeCl_3 5% dan amati perubahan warna. Hasil positif ditunjukkan dengan berubahnya warna menjadi biru pada sampel.



Gambar 23. Skema Uji Fenol Hidrokuinon

3.5.11 Analisis Total Fenol

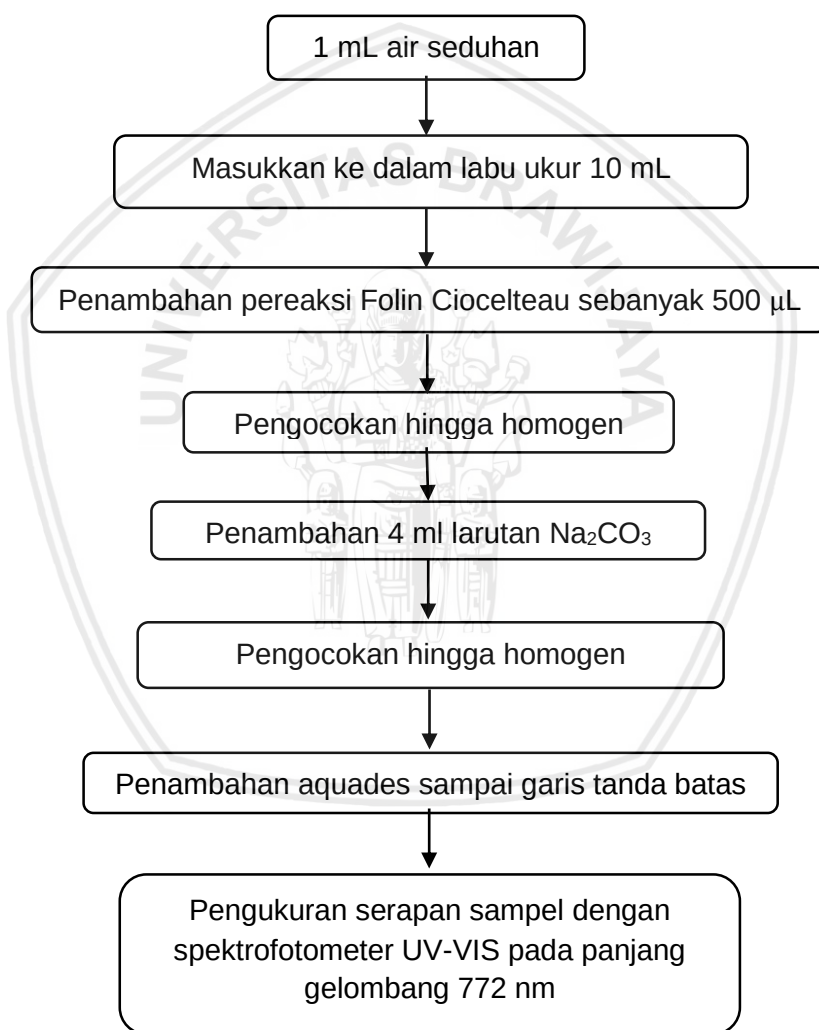
Langkah pertama yang disiapkan larutan asam galat 1000 $\mu\text{g/mL}$ dengan cara menimbang 10 mg asam galat dan dilarutkan dengan methanol p.a 10 mL hingga diperoleh konsentrasi larutan induk dan larutan Na_2CO_3 10% dengan cara melarutkan 10 g Na_2CO_3 yang dilarutkan dengan 100 mL aquades dan dididihkan hingga serbuk Na_2CO_3 larut dan didiamkan selama 24 jam (Alfian dan Susanti, 2012).

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat dengan cara melarutkan 0,3 mL larutan asam galat berkonsentrasi 30 $\mu\text{g/mL}$ dengan 1,5 mL reagen Folin Ciocalteau (1:10) dan dihomogenkan, lalu didiamkan selama 3 menit. Kemudian tambahkan 1,2 mL larutan Na_2CO_3 10%, dikocok hingga homogen dan didiamkan kembali pada suhu kamar kemudian diukur pada panjang gelombang 600-800 nm (Alfian dan Susanti, 2012).

Penentuan Kurva Kalibrasi Asam Galat dengan memipet 0,25; 0,5; 0,75; 1; 1,25 mL larutan induk asam galat ke dalam labu tentukur 10 mL lalu encerkan menggunakan aquades sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 25, 50, 75, 100, 125 $\mu\text{g/mL}$ asam galat. Kemudian ditambah 1,5 mL reagen Folin Ciocalteau dan dihomogenkan. Larutan tersebut didiamkan selama 3 menit, kemudian masing-masing larutan tersebut ditambahkan 1,2 mL larutan Na_2CO_3 10% (b/v) lalu dihomogenkan dan didiamkan pada suhu kamar. Semua larutan tersebut kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang absorbansi maksimum, kemudian dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi asam galat ($\mu\text{g/mL}$) dengan absorbansi (Alfian dan Susanti, 2012).

Kemudian dilakukan pengujian polifenol total seduhan teh dengan cara mengambil 1 mL menggunakan pipet volume ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan pereaksi Folin Ciocelteau sebanyak 500 μL dan dikocok hingga

homogen. Kemudian ditambahkan 4 mL larutan Na_2CO_3 (b/v) dan homogenkan selama satu menit. Kemudian encerkan larutan tersebut menggunakan aquadest sampai tanda batas dan ukur serapan sampel dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang maksimum. Hasil pengukuran ini dinyatakan sebagai berat setara dengan asam galat tiap berat sampel (Alfian dan Susanti, 2012). Skema pengujian total polifenol dapat dilihat pada **Gambar 24**.



Gambar 24. Skema Analisis Total Fenol

Kemudian dilakukan analisis total polifenol (gram ekivalen asam galat) dengan memasukkan ke dalam perasamaan berikut:

$$\text{Fenol Total} = \frac{x \text{ (ppm)} \cdot \text{volume sampel (ml)} \cdot \text{Faktor Pengenceran}}{\text{sampel (gr)}}$$

3.5.12 Uji Organoleptik

Pada penelitian ini dilakukan dua metode pengujian sensori yaitu uji hedonik dan uji skoring. Berdasarkan SNI 01-2346.67.240:2006, Metode uji skoring untuk menentukan tingkatan mutu berdasarkan skala angka 1 (satu) sebagai nilai terendah dan angka 7 (tujuh) sebagai nilai tertinggi dengan menggunakan standar penilaian. Berdasarkan SNI 01-2346.67.240:2006, Metode uji hedonik digunakan untuk mengidentifikasi spesifikasi organoleptik atau sensori suatu produk dalam bentuk uraian pada lembar penilaian. Tujuan penilaian sifat organoleptik untuk menganalisis jenis-jenis rangsangan. Uji organoleptik antara lain berfungsi untuk mengetahui penerimaan jenis produk pangan (Desrosier, 1988).

Penilaian organoleptik dapat dikelompokkan menjadi dua yakni uji hedonik dan uji mutu hedonik. Uji hedonik disebut juga uji kesukaan karena panelis diminta tanggapan pribadinya tentang kesukaan atau ketidaksukaan terhadap produk yang diuji. Uji mutu hedonik disebut juga dengan pengujian mutu karena panelis diminta memberikan penilaian terhadap produk dengan parameter penilaian yang telah ditetapkan sebelumnya. Uji hedonik menggunakan panelis tak terlatih, karena apabila menggunakan panelis terlatih akan menimbulkan bias yang cukup besar. Dalam uji hedonik, semakin banyak panelis akan menghasilkan data yang semakin baik karena menyangkut tingkat kesukaan (Kartika, *et al.* 1988). Sebaliknya, uji mutu hedonik lebih

baik menggunakan panelis terlatih karena lebih terampil dalam menganalisis mutu dari produk yang diuji.

Uji triangle atau uji segitiga adalah suatu metode yang bertujuan untuk menetapkan apakah ada perbedaan sifat sensorik atau organoleptik antara dua contoh. Dimana terdapat tiga sampel pada uji triangle dan dua dari tiga sampel tersebut sama. Panelis diminta untuk memilih satu diantara tiga sampel yang berbeda dari dua yang lain. Dalam uji ini tidak ada sampel baku atau sampel pembanding (Soekarto, 1985). Perbedaan dalam uji triangle tidak terarah, tidak perlu disertai pernyataan sifat yang satu lebih dari yang lainnya, cukup menyatakan ada perbedaan atau tidak. Pengujian ini lebih banyak digunakan karena lebih peka jika dibandingkan dengan uji berpasangan. Dalam pengujian ini kepada masing-masing panelis disajikan secara acak tiga sampel produk dengan kode berbeda dimana dua dari ketiga produk sama. Panelis diminta memilih satu diantara tiga sampel mana yang mempunyai perbedaan (Soekarto, 1985). Uji triangle ini ada yang bersifat sederhana, artinya hanya untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan dua macam sampel, tetapi ada yang sifatnya lebih terarah, untuk mengetahui sejauh mana perbedaan antara dua sampel tersebut. Pengujian ini menggunakan tiga sample berkode secara acak. Dua dari tiga sampel tersebut sama dan sample yang ketiga berbeda. Panelis diminta memilih satu diantara tiga sample yang berbeda dari dua sampel yang lain. Dalam uji ini tidak ada sampel baku atau pembanding (Kartika, *et al.* 1988). Sampel teh daun mangrove akan dilakukan 3 pengujian organoleptik yaitu uji skoring dengan parameter kenampakan, bau, warna, tekstur, dan rasa. Kemudian uji hedonik dengan parameter kenampakan, bau, warna,

tekstur dan rasa. Lalu uji *triangle test* untuk menilai ada atau tidaknya perbedaan. Penilaian organoleptik ini diuji oleh 15 panelis terlatih.

3.6 Analisis Data

Analisis data yang digunakan pada penelitian ini yaitu menggunakan analisis variasi atau sidik ragam (*Analysis of variance*). Analisis varian merupakan suatu cara untuk menguraikan ragam total menjadi komponen ragam. Analisis ini berfungsi untuk mengetahui pengaruh dari setiap perlakuan-perlakuan yang telah dilakukan. Data-data pengujian diolah menggunakan tabel ANOVA (Analisis Sidik Ragam) 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 Tukey pada taraf 5% menggunakan aplikasi SPSS 17.

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + \Sigma_{ijk}$$

Keterangan :

$i = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8$ (perlakuan)

$j = 1, 2, 3$ (ulangan)

Y_{ij} = Hasil pengamatan faktor pada taraf ke- i dan, faktor B pada taraf ke- j , dan ulangan ke- k

μ = Rataan umum

A_i = Pengaruh faktor A pada taraf ke- i

B_j = Pengaruh faktor B pada taraf ke- j

AB_{ij} = Interaksi faktor A pada taraf ke- i dan faktor B pada taraf ke- j

Σ_{ij} = Pengaruh galat pada faktor ke- i , faktor B pada taraf ke- j dan ulangan ke- k

Tabel 3. ANOVA RAL Faktorial

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F table	
					5%	1%
A	(a-1)	JKA	KTA	KTA/KTG		
B	(b-1)	JKB	KTB	KTB/KTG		
AB	(a-1)(b-1)	JKAB	KTAB	KTAB/KTG		
Galat	(ab)(u-1)	JKG	KTG			
Total	(abu)-1	JKT				

Perhitungan analisis sidik ragam adalah sebagai berikut:

$$\begin{aligned}
 FK &= \text{Faktor Koreksi} & KTB &= \text{Kuadrat Tengah Faktor B} \\
 &= \frac{Y^2_{00}}{i,j,k} & &= \frac{JKB}{dbB} \\
 JKT &= \text{Jumlah Kuadrat Total} & KTAB &= \text{Kuadrat Tengah Faktor AB} \\
 &= \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^r \sum_{k=1}^r Y^2_{ij(k)} - FK & &= \frac{JKAB}{dbAB} \\
 JKA &= \text{Jumlah Kuadrat Faktor A} & KTG &= \text{Kuadrat Tengah Galat} \\
 &= \sum_{i=1}^a \frac{Y^2_{00(k)}}{i} - FK & &= \frac{JKG}{dbG} \\
 JKB &= \text{Jumlah Kuadrat Faktor B} & FhA &= \text{F hitung Faktor A} \\
 &= \sum_{j=1}^b \frac{Y^2_{00(o)}}{j} - FK & &= \frac{KTA}{KTG} \\
 JKAB &= \text{Jumlah Kuadrat Faktor AB} & FhB &= \text{F hitung Faktor B} \\
 &= \sum_{i=1}^a \frac{Y^2_{00(k)}}{i,j} - FK & &= \frac{KTG}{KTG} \\
 JKG &= \text{Jumlah Kuadrat Galat} & FhAB &= \text{F hitung Faktor AB} \\
 &= JKT - JKA - JKAB - JKAB & &= \frac{KTAB}{KTG} \\
 KTA &= \text{Kuadrat Tengah Faktor A} & & \\
 &= \frac{JKA}{dbA} & &
 \end{aligned}$$

Untuk metode statistik pada uji organoleptik menggunakan uji parametrik dua sampel yang tidak berpasangan (Independent Sample T-Test). Nampun untuk menggunakan uji T ada beberapa syarat yang harus dipenuhi, yaitu data yang di

uji adalah data kuantitatif, data harus berdistribusi normal pada uji normalitas, data harus homogen, dan data yang di uji dalam jumlah sedikit. Jika pada uji normalitas menghasilkan data yang tidak berdistribusi normal maka bisa mengganti uji statistik menjadi uji non parametrik, Uji Mann-Whitney.

Uji Mann-Whitney U Test merupakan uji statistik non parametrik yang digunakan pada data ordinal atau interval, apabila data tersebut tidak memenuhi satu atau lebih uji prasyarat hipotesis. Sama halnya dengan uji T, Uji Mann-Whitney U Test juga dapat digunakan untuk menganalisis ada tidaknya perbedaan antara rata-rata (mean) dua yang saling independent. Untuk menentukan diterima atau ditolaknya suatu hipotesis maka pada uji Mann-Whitney U Test dapat dilihat dari kriteria berikut:

- 1) Jika $Z_{hitung} < Z_{tabel}$ atau $P > 0,05$ maka H_0 diterima dan H_1 ditolak
- 2) Jika $Z_{hitung} > Z_{tabel}$ atau $P < 0,05$ maka H_0 ditolak dan H_1 diterima

3.7 Penentuan Perlakuan Terbaik (de Garmo, et al. 1984)

Uji pembobotan dilakukan untuk menentukan perlakuan terbaik. Ujipembobotan ini menggunakan teknik *additive weighting* dengan langkah-langkah sebagai berikut:

1. Masing-masing parameter diberikan bobot variabel dengan angka 0- 1. Besar bobot ditentukan berdasar tingkat kepentingan parameter.
2. Bobot normal tiap parameter ditentukan dengan cara membagi bobot variabel dengan bobot total ($BN = BV/B.total$)
3. Menghitung nilai efektifitas dengan rumus:

$$N \text{ Efektifitas} = (\text{Nilai perlakuan} - \text{Nilai terburuk}) / (\text{Nilai terbaik} - \text{Nilai terburuk})$$

4. Nilai hasil masing-masing parameter ditentukan dari hasil perkalian antara efektifitas dan bobot normal ($NH = NE \times BN$)
5. Nilai total semua kombinasi perlakuan dihitung dengan menjumlahkan semua nilai hasil masing-masing parameter.
6. Nilai total terbesar menunjukkan hasil perlakuan terbaik.



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

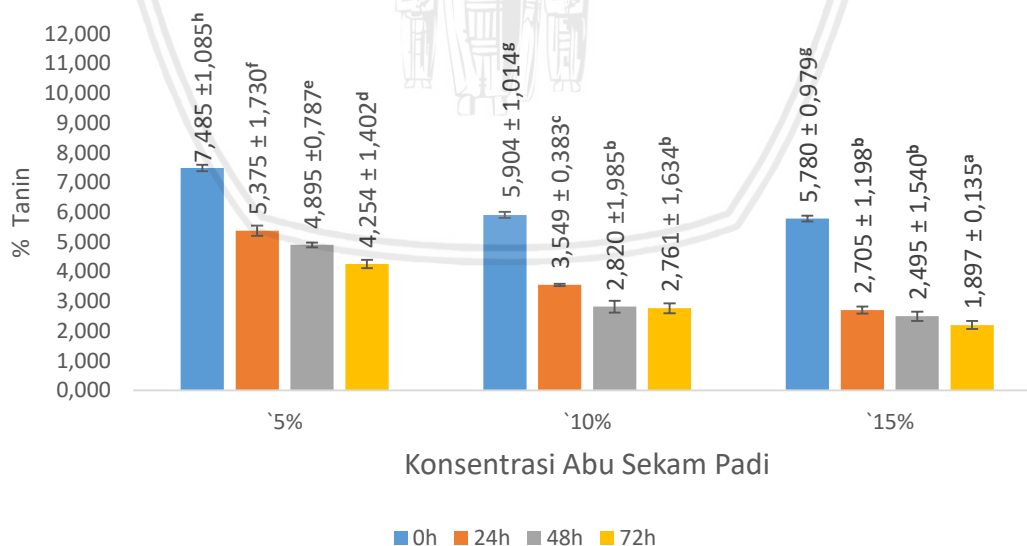
4.1 Penelitian Pendahuluan

Pada penelitian pendahuluan dilakukan pengujian tanin secara kualitatif untuk mengetahui ada atau tidaknya senyawa tanin pada sampel. Hasil pengujian tanin secara kualitatif bisa dilihat pada **Tabel 4**.

Tabel 4. Uji Kualitatif Tanin pada Penelitian Pendahuluan

Perlakuan	Konsentrasi Abu Sekam Padi (%)		
Lama Waktu Perendaman	5	10	15
0 jam	+	+	+
24 jam	+	+	+
48 jam	+	+	+
72 jam	+	+	+

Berdasarkan tabel diatas dapat dilihat bahwa pada sampel di semua perlakuan menunjukkan hasil positif terhadap tanin. Oleh karena itu, dilakukan uji kimia lanjutan yaitu uji kadar kuantitatif tanin yang bisa dilihat pada **Gambar 25**.



Gambar 25. Grafik %Tanin pada Uji Pendahuluan

Pada penelitian pendahuluan didapatkan hasil rata-rata uji kadar tanin secara kuantitatif terendah diperoleh dengan perlakuan perebusan sampel dengan abu sekam padi berkonsentrasi 15% dan perendaman dengan air selama 72 jam sebesar 1,897%, sedangkan hasil kadar tanin tertinggi diperoleh dengan perlakuan perebusan sampel dengan abu sekam padi berkonsentrasi 5% tanpa perendaman dengan air sebesar 7,485%.

Kadar persen tanin yang didapat lalu dianalisis dengan uji ANOVA (*Analysis of Variance*) menggunakan rancangan percobaan acak lengkap faktorial pada taraf kepercayaan 5% ($P > 0,05$). Hasil dari perhitungan ANOVA (*Analysis of Variance*) serta uji lanjut Tukey dari persen kadar tanin seduhan teh mangrove *Sonneratia alba* dapat dilihat pada **Lampiran 1**. Pada penelitian ini, uji statistik menunjukkan bahwa faktor konsentrasi, lama waktu perendaman air dan faktor interaksi keduanya mempengaruhi kadar tanin pada sampel ($P < 0,05$). Untuk itu perlu diadakannya uji lanjut. Pada hasil uji statistik menggunakan Uji Tukey didapatkan hasil faktor konsentrasi abu sekam padi 5%, 10%, dan 15% berbeda nyata dan faktor lama perendaman 0 jam, 24 jam, 48 jam, dan 72 jam berbeda nyata. Berdasarkan grafik diatas, dapat dilihat bahwa pada perlakuan perebusan daun dengan abu sekam padi dengan konsentrasi 15% dan dilakukan perendaman dengan air selama 72 jam berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Sehingga perlakuan inilah yang akan digunakan untuk persiapan bahan baku pada pembuatan teh daun mangrove pada penelitian utama.

Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian Soenardjo dan Supriyantini (2017) bahwa semakin tinggi kadar abu sekam padi dan semakin lama waktu perendaman maka dapat menurunkan kadar tanin lebih rendah. Pada perlakuan perebusan sampel dengan abu sekam padi berkonsentrasi 15% dan perendaman dengan air

selama 72 jam terbukti lebih efektif, karena saat perebusan dan perendaman terjadi proses difusi dan osmosis. Proses difusi ini terjadi pada saat perebusan dengan kadar abu. Semakin tinggi kadar abu semakin rendah kadar tanin. Difusi pada saat perendaman terjadi dengan larutnya sisa zat yang ada pada buah. Hal ini ditandai dengan kondisi air yang berubah warna atau berbuih. Diduga salah satu zat yang larut ini adalah tanin karena sifat tanin sendiri yang mudah larut dalam air. Sebaliknya osmosis adalah proses perpindahan atau pergerakan zat dari larutan yang konsentrasi rendah menuju larutan yang konsentrasi tinggi, melalui membrane selektif permeabel atau semi permeable. Proses osmosis terjadi saat proses perebusan dimana zat yang ada pada buah akan keluar terbawa air, sedangkan pada proses perendaman air konsentrasi larutan rendah akan berpindah ke dalam buah yang konsentrasi larutan tinggi, sehingga kandungan air buah tinggi dan sedikit mengembang.

4.2. Penelitian Utama

4.2.1 Kadar Air

Kadar air sangat berpengaruh terhadap daya awet bahan pangan dan merupakan salah satu sebab terjadinya kerusakan pada bahan pangan. Kandungan air dalam pengolahan pangan sering dikeluarkan atau dikurangi dengan cara penguapan atau pengeringan. Keawetan bahan pangan erat kaitannya dengan kadar air yang dikandungnya. Air yang terkandung dalam bahan pangan merupakan media yang baik untuk mendukung pertumbuhan dan aktivitas mikroba perusak pangan, pendahnya kadar air dalam bahan pangan diharapkan dapat memperpanjang masa simpannya (Winarno, 2004).

Pada penelitian ini didapati nilai rata-rata kadar air dari teh daun mangrove *Sonneratia alba* pada pelakuan perebusan sampel dengan abu sekam padi berkonsentrasi 15% dan perendaman dengan air selama 72 jam diperoleh rata rata 3,43% (**Lampiran 2**). Hasil ini sudah sesuai dengan SNI 3945:2016 tentang Teh Hijau bahwa kadar air maksimal pada produk teh maksimal 8%.

4.2.2 Kadar Abu

Abu merupakan residu anorganik yang didapat dengan cara mengabukan komponen-komponen dalam bahan pangan. Jumlah dan komposisi abu dalam mineral tergantung pada jenis bahan pangan serta metode Analisis yang digunakan. Abu dan mineral dalam bahan pangan umumnya berasal dari bahan pangan itu sendiri (*indigenous*).

Sebagian besar bahan makanan, yaitu sekitar 96% terdiri dari bahan organik dan air. Sisanya terdiri dari unsur mineral. Unsur mineral juga dikenal sebagai zat anorganik atau kadar abu. Pada proses pembakaran, bahan-bahan organik terbakar tetapi zat anorganiknya tidak, karena itulah disebut abu. Penentuan kadar abu dimaksudkan untuk mengetahui kandungan komponen yang tidak mudah menguap (komponen anorganik/garam mineral) yang tetap tinggal pada pembakaran dan pemijaran senyawa organik (Winarno, 1997).

Pada penelitian ini didapati nilai rata-rata kadar abu dari teh daun mangrove *Sonneratia alba* pada pelakuan perebusan sampel dengan abu sekam padi berkonsentrasi 15% dan perendaman dengan air selama 72 jam diperoleh rata rata 1,49% (**Lampiran 3**). Hasil ini sudah sesuai dengan SNI 3945:2016 tentang Teh Hijau bahwa kadar abu total maksimal pada produk teh maksimal 4-8%.

4.2.3 Kadar Serat Kasar

Pada penelitian ini didapati nilai rata-rata kadar serat kasar dari teh daun mangrove *Sonneratia alba* pada pelakuan perebusan sampel dengan abu sekam padi berkonsentrasi 15% dan perendaman dengan air selama 72 jam diperoleh rata rata 16,42% (**Lampiran 4**). Hasil penelitian ini sesuai dengan kandungan serat kasar pada SNI 3945:2016 tentang Teh Hijau bahwa kadar serat kasar maksimal pada produk teh maksimal 16,5 %.

Peran utama dari serat dalam makanan adalah pada kemampuannya mengikat pektin, selulosa, dan air. Dengan adanya serat, membantu mempercepat sisa makanan melalui saluran pencernaan untuk disekresikan keluar. Tanpa bantuan serat, feses dengan kandungan air rendah akan lebih lama tinggal dalam saluran usus dan mengalami kesukaran melalui usus untuk dapat diekskresikan keluar karena gerakan-gerakan peristaltik usus besar menjadi lebih lamban. Istilah dari serat makanan (*dietary fiber*) harus dibedakan dengan istilah serat kasar (*crude fiber*) yang biasa digunakan dalam analisis proksimat bahan pangan. Serat kasar adalah bagian dari pangan yang tidak dapat dihidrolisis oleh bahan-bahan kimia yang digunakan untuk menentukan kadar serat kasar yaitu asam sulfat (H_2SO_4 1,25%) dan natrium hidroksida (NaOH 3,25%), sedangkan serat makanan adalah bagian dari bahan yang tidak dapat dihidrolisis oleh enzim pencernaan.

4.2.4 Kadar Tanin

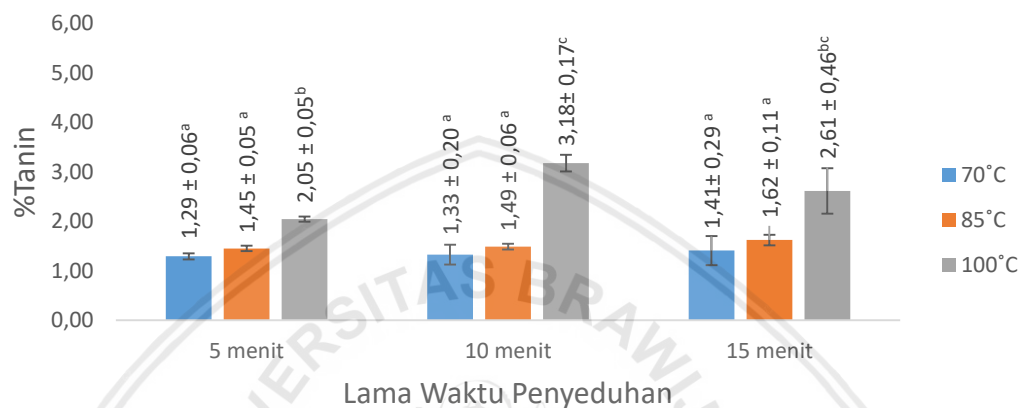
Menurut Nugraga (1999), Salah satu jenis teh yang mengandung kadar tanin yang lebih banyak yaitu teh hijau karena teh hijau dapat melarutkan kadar tanin yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan teh hitam. Senyawa tanin termasuk dalam

golongan flavonoid yang bermanfaat bagi tubuh sebagai nutrisi dan dapat bertindak sebagai antioksidan. Tanin yang banyak terdapat di dalam teh merupakan inhibitor potensial karena dapat mengikat zat besi secara kuat membentuk Fe-tanat yang bersifat tidak larut. Senyawa tersebut mampu berikatan dengan zat besi membentuk senyawa kompleks yang bersifat tidak larut sehingga sulit atau tidak bisa diserap melintasi dinding usus.

Persen Kadar Tanin dari seduhan teh mangrove *Sonneratia alba* dihitung dari hasil ppm yang didapat nilai absorbansi dibagi 10.000. Kadar persen tanin yang didapat lalu dianalisis dengan uji ANOVA (*Analysis of Variance*) menggunakan rancangan percobaan acak lengkap faktorial pada taraf kepercayaan 5% ($P>0,05$). Hasil dari perhitungan ANOVA (*Analysis of Variance*) serta uji lanjut Tukey dari persen kadar tanin seduhan teh mangrove *Sonneratia alba* dapat dilihat pada **Lampiran 5**. Rata-rata persen kadar tanin seduhan teh mangrove *Sonneratia alba* dapat dilihat pada **Gambar 26**.

Pada penelitian ini, uji statistik menunjukkan bahwa faktor suhu tidak mempengaruhi kadar tanin pada sampel ($P>0,05$), sedangkan faktor lama waktu dan faktor interaksi suhu dan lama waktu penyeduhan mempengaruhi kadar tanin pada sampel ($P<0,05$). Untuk itu perlu diadakannya uji lanjut. Pada hasil uji statistik menggunakan Uji Tukey didapati hasil faktor suhu 75 °C dan 85 °C tidak berbeda nyata, namun berbeda nyata dengan suhu 100 °C. Lalu, faktor waktu pada semua perlakuan (5 menit, 10 menit dan 15 menit) menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata, sedangkan untuk faktor interaksi suhu dan lama waktu penyeduhan didapati hasil penyeduhan 70°C selama 5 menit, 70°C selama 10 menit, 70°C selama 15 menit, 85°C selama 5 menit, 85°C selama 10 menit, dan 85°C selama 15 menit menunjukkan hasil tidak berbeda nyata. Pada penyeduhan 100°C selama

15 menit dan 100 °C selama 15 menit menunjukkan hasil tidak berbeda nyata. Pada penyeduhan 100°C selama 10 menit dan 100°C selama 15 menit menunjukkan hasil tidak berbeda nyata. Namun pada penyeduhan 100 °C selama 5 menit dan 100°C selama 10 menit menunjukkan hasil yang berbeda nyata (**Lampiran 5**).



Gambar 26. Grafik %Tanin pada Penelitian Utama

Pada grafik diatas dapat terlihat adanya peningkatan kadar tanin dari suhu penyeduhan 70°C selama 5 menit hingga 100°C selama 10 menit. Hal ini diduga karena senyawa tanin mengalami degradasi atau kerusakan karena waktu ekstraksi yang terlalu lama akan mengakibatkan terjadinya pemaparan O₂ semakin banyak, sementara terdapat beberapa komponen fenol yang bersifat termosensitif seperti tanin. Menurut Escribiano dan Santos (2002) menyatakan bahwa semakin tinggi suhu pelarut dapat meningkatkan efisiensi dari proses ekstraksi karena panas meningkatkan permeabilitas dinding sel, meningkatkan kelarutan dan difusi dari senyawa yang diekstrak dan mengurangi viskositas pelarut, namun jika suhu terlalu tinggi dapat mendegradasi senyawa polifenol. Hal tersebut didukung oleh data penelitian pada perlakuan suhu 100 °C selama

15 menit mengalami penurunan kadar tanin. Menurut Fajrina, *et al.* (2017), daun teh celup murni hanya berkisar antara 5%-15%. Sehingga, didapati hasil penyeduhan terbaik menggunakan suhu 100 °C selama 10 menit yang menghasilkan kadar tanin tertinggi sebesar 3,18%, karena pada kadar tanin teh celup daun mangrove *Sonneratia alba* ini tidak melebihi standar maksimal kadar tanin dalam bahan makanan yaitu 560 mg/kg berat badan per hari.

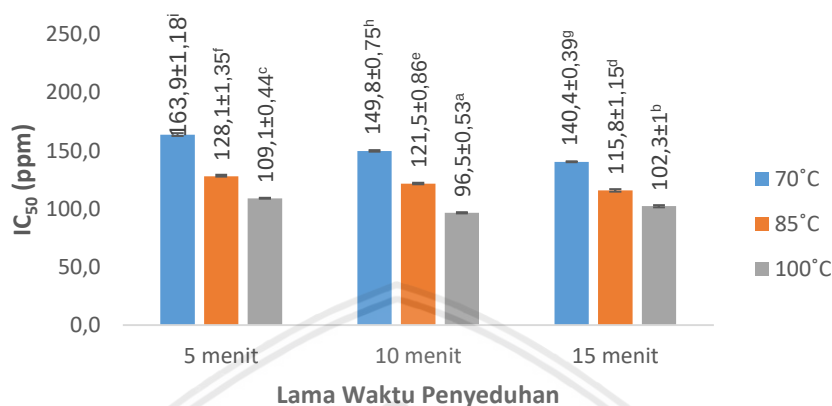
Pada pemanasan dengan suhu yang semakin tinggi akan diperoleh kadar tanin dalam jumlah besar tetapi kualitas tanin yang dihasilkan kurang baik karena komponen non-tanin yang terlarut juga semakin besar, sedangkan penyeduhan dengan suhu yang terlalu rendah dan waktu pemanasan yang terlalu singkat kurang efisien karena kelarutan tanin belum mencapai titik optimal. Apabila terbentuk ikatan hidrogen antar tanin dengan protein, terutama pada pH mendekati isoelektrik (4-5) kemungkinan yang terjadi adalah protein mengalami denaturasi, sehingga enzim menjadi inaktif (Nindyasari, 2012).

4.2.5 Aktivitas Antioksidan (DPPH)

Analisis aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan alat spektrofotometer UV-VIS. DPPH digunakan karena merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu ruang. Interaksi antioksidan dengan DPPH, baik secara transfer elektron akan menetralkan karakter dan reaksi radikal bebas dari DPPH itu sendiri. Sehingga dapat dibuktikan bahwa melalui senyawa antioksidan yang terkandung dalam teh sangatlah bermanfaat untuk menstabilkan radikal bebas dalam tubuh (Rokyani, 2015).

Uji aktivitas antioksidan dilakukan pada setiap sampel seduhan teh mangrove *Sonneratia alba*. Data dan hasil aktivitas antioksidan seduhan teh mangrove

Sonneratia alba dapat dilihat pada **Lampiran 8**. Rata-rata aktivitas antioksidan dari masing-masing seduhan teh mangrove *Sonneratia alba* dapat dilihat pada **Gambar 27**.



Gambar 27. Grafik Nilai IC₅₀

Berdasarkan grafik nilai IC₅₀ didapati hasil bahwa suhu dan lama waktu penyeduhan pada semua perlakuan berbeda nyata (**Lampiran 9**). Pada suhu penyeduhan 70°C, 85 °C, dan 100 °C rata-rata nilai IC₅₀ yang dihasilkan secara berurut-turut adalah 151.731; 121.811; dan 102.630. Hal ini menunjukkan bahwa pada suhu 100 °C menunjukkan aktivitas antioksidan lebih baik dibandingkan dengan suhu 70 °C dan 85 °C, sedangkan pada waktu penyeduhan 5 menit, 10 menit, dan 15 menit rata-rata aktivitas antioksidan yang dihasilkan secara berturut-turut adalah 133.683; 122.957; dan 119.532. Hal ini menunjukkan bahwa pada penyeduhan selama 10 menit menunjukkan aktivitas antioksidan lebih baik dibandingkan dengan penyeduhan selama 5 menit dan 15 menit. Pada penelitian ini, uji statistik menunjukkan faktor suhu, faktor lama waktu, dan faktor interaksi suhu dan lama waktu penyeduhan mempengaruhi aktivitas antioksidan pada sampel ($p < 0,05$) (**Lampiran 9**). Untuk itu perlu diadakannya uji lanjut. Pada hasil uji statistik menggunakan Uji Tukey didapati faktor suhu (75 °C, 85 °C, 100 °C) faktor waktu (5

menit, 10 menit dan 15 menit), dan faktor interaksi suhu dan lama waktu penyeduhan menunjukkan hasil yang berbeda nyata.

Secara umum semakin tinggi suhu dan lama waktu penyeduhan, maka kemampuannya dalam menangkap radikal bebas semakin efektif. Hal ini ditandai dengan semakin kecilnya nilai IC_{50} . Namun dari hasil analisis tersebut menyatakan bahwa terjadi kenaikan nilai IC_{50} pada perlakuan penyeduhan dengan suhu $100^{\circ}C$ selama 15 menit. Hal ini diduga karena sampel mengalami degradasi atau kerusakan karena waktu ekstraksi yang terlalu lama akan mengakibatkan terjadinya pemaparan O_2 semakin banyak, sementara terdapat beberapa komponen fenol yang bersifat termosensitif seperti tanin. Hal ini diperjelas oleh Rohdiana (2013) bahwa, penurunan aktivitas antioksidan pada suhu rendah dikarenakan adanya penurunan salah satu komponen polifenol teh yaitu senyawa flavonoid yang terdiri dari komponen tannin. Sebab pada suhu dingin, tanin akan terakumulasi dengan adanya kekurangan kadar oksigen yang tersedia dan adanya kelembaban ruang yang rendah sehingga pelarutan komponen senyawa tanin berkurang. Namun Escribiano dan Santos (2002) menyatakan bahwa jika suhu terlalu tinggi dapat mendegradasi senyawa polifenol. Hal tersebut didukung oleh data penelitian pada perlakuan suhu $100^{\circ}C$ selama 15 menit mengalami penurunan nilai IC_{50} .

IC_{50} merupakan konsentrasi larutan substrat atau sampel yang mampu mereduksi aktivitas DPPH sebesar 50% atau IC_{50} dapat dikatakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak (ppm) yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan dapat dibagi menjadi beberapa kategori, yaitu jika $IC_{50} < 50$ ppm daya antioksidan sangat kuat, IC_{50} 50-100 ppm daya antioksidan

kuat, IC_{50} 101–150 ppm daya antioksidan sedang, IC_{50} 150–200 ppm daya antioksidan lemah dan $IC_{50} > 200$ ppm daya antioksidan sangat lemah (Siswarni *et al.*, 2017).

4.2.6 Penentuan Suhu dan Lama Waktu Penyeduhan Terbaik

Perlakuan terbaik diperoleh dengan menggunakan metode indeks efektifitas (De Garmo, 1984), dimana pemilihan perlakuan terbaik dilakukan dengan membandingkan nilai produk setiap perlakuan menggunakan indeks efektifitas dengan metode pembobotan yang dilakukan oleh panelis. Berdasarkan hasil pengujian perlakuan terbaik terhadap Kadar Tanin dan Aktivitas Antioksidan. Diperoleh suhu terbaik penyeduhan Teh Mangrove *Sonneratia alba* menggunakan suhu 100°C selama 10 menit yang dapat dilihat pada **Tabel 5**. Nilai masing-masing parameter tersebut dapat dilihat pada **Lampiran 10**.

Tabel 5. Kandungan Seduhan Teh Mangrove *Sonneratia alba* Rendah Tanin pada Suhu Terbaik Dari Hasil Analisis De Garmo

Karakterisasi	Hasil Analisis
% Kadar Tanin	3,18± 0,17
Aktivitas Antioksidan (IC_{50})	96,5±0,53

Sumber : Laboratorium Perekayasaan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Braijaya (2019)

Berdasarkan perhitungan penentuan perlakuan terbaik De Garmo (1984), dapat disimpulkan bahwa perlakuan terbaik pada semua parameter yaitu pada perlakuan suhu 100°C selama 10 menit dengan kandungan kadar tanin sebesar 3,18% dan kemampuan menangkap radikal bebas sebesar 96,5.

4.2.7 Aktivitas Antioksidan (FRAP)

Menurut Andriani (2007), antioksidan dapat menetralkan radikal bebas dengan cara menerima atau mendonorkan satu elektron untuk menghilangkan kondisi “elektron tidak berpasangan”. Fungsi antioksidan yaitu untuk menetralsasi radikal bebas, sehingga tubuh terlindungi dari berbagai macam penyakit degeneratif dan kanker. Fungsi senyawa antioksidan yaitu untuk membantu menekan proses penuaan yang berhubungan dengan kondisi dan keadaan tubuh.

Menurut Pratama, *et al.* (2018), Pengujian aktivitas antioksidan metode FRAP menggunakan kompleks kalium ferrisianida ($K_3Fe(CN)_6$). Dalam penentuan daya reduksi, reduktor (antioksidan) dalam sampel yang mereduksi Fe^{3+} kompleks Kalium Ferrisianida ($K_3Fe(CN)_6$) menjadi Fe^{2+} (bentuk ferro). Reaksinya adalah sebagai berikut : $K_3[Fe(CN)_6] \rightarrow K_4[Fe(CN)_6]$ dan $Fe^{3+} + e^- \rightarrow Fe^{2+}$. Larutan standar yang digunakan adalah Asam Askorbat. Asam Askorbat digunakan sebagai pembanding karena memiliki gugus hidroksil bebas yang bertindak sebagai penangkap radikal bebas dan jika mempunyai gugus polihidroksil akan meningkatkan aktivitas antioksidan. Selama proses pengerjaan dilakukan penambahan TCA yang bertujuan agar kompleks Kalium Ferrisianida mengendap. Penambahan $FeCl_3$ dalam reagen yaitu untuk membentuk senyawa kompleks berwarna hijau sampai biru. Penambahan buffer fosfat adalah karena buffer ini memiliki pH efektif 6,4-7,4. Dimana telah diketahui bahwa kompleks ini stabil pada pH asam, maka digunakan pH 6,6 dalam penelitian ini. Penggunaan pH rendah dimaksudkan untuk memudahkan proses reduksi Fe^{3+} .

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menguji hasil terbaik yang didapat dari Uji Kadar Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan menggunakan uji statistik de Garmo. Dari hasil uji statistik didapat hasil terbaik adalah perlakuan penyeduhan dengan suhu 100°C selama 10 menit. Analisis aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 720nm pada deret standar 0 ppm, 40 ppm, 50 ppm, 60 ppm, 70 ppm dan 80 ppm. Setelah didapat hasil absorbansi sampel, hitung aktivitas antioksidan (AAE mg/g) menggunakan persamaan regresi yang didapat dari kurva standar asam askorbat ($Y = -0,01014X + 1,06086$) dengan koefisien korelasi $R^2 = 0,998$, lalu hitung aktivitas antioksidan (X) dengan memasukkan hasil absorbansi sampel sebagai Y. Aktivitas antioksidan dengan perlakuan penyeduhan suhu 100°C selama 10 menit menghasilkan nilai rata-rata sebesar 0,105 mg/g AAE atau 105 ppm yang termasuk kriteria aktivitas antioksidan sedang. Perhitungan aktivitas antioksidan menggunakan metode FRAP dapat dilihat pada **Lampiran 11**.

Oleh karena itu, semakin tinggi absorbansi yang diperoleh, semakin banyak senyawa ferri yang tereduksi. Perbedaan mekanisme pada metode FRAP dan DPPH adalah metode FRAP hanya berdasarkan mekanisme inhibisi dengan transfer elektron saja, sementara pada uji DPPH, mekanisme inhibisi yang terjadi dapat berupa transfer elektron maupun transfer atom hydrogen (Pratiwi, 2017). Hal ini diperkuat dengan hasil uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode FRAP didapat hasil aktivitas antioksidan sedang, sedangkan pada penggunaan metode DPPH didapat hasil aktivitas antioksidan kuat.

4.2.8 Nilai pH (Derajat Keasaman)

Pengukuran pH merupakan prosedur penting karena pH menentukan banyak peranan penting dari struktur dan aktivitas makromolekul biologi seperti aktivitas katalitik enzim (Lehninger, 1993). Nilai pH menunjukkan konsentrasi ion hidrogen yang menggambarkan tingkat keasaman. Semakin tinggi nilai pH berarti tingkat keasaman akan semakin rendah dan sebaliknya, semakin rendah pH berarti semakin tinggi tingkat keasamannya (Lehninger, 1982).

Nilai pH pada perlakuan penyeduhan yang dilakukan dengan suhu 100°C selama 15 menit memiliki nilai berturut-turut 6,02; 6,03; dan 6,75. Menurut hasil pH menunjukkan sesuai dengan pH teh hijau komersial yaitu 5-7, sehingga daun teh mangrove *Sonneratia alba* aman untuk dikonsumsi.

Dari data tersebut terlihat bahwa nilai pH ekstrak awal teh hijau bersifat asam yaitu berada di pH 5,5 sampai dengan 5,9. Lehninger (1982) menyatakan bahwa larutan yang mempunyai pH lebih kecil dari 7 akan bersifat asam karena konsentrasi H^+ lebih besar daripada konsentrasi OH^- . Berdasarkan data yang diperoleh, nilai pH ekstrak teh hijau yang dihasilkan bersifat asam.

4.2.6 Kadar Katekin

Katekin merupakan senyawa kompleks dari golongan polifenol dengan struktur flavonoid dan termasuk dalam golongan tanin terkondensasi yang banyak terkandung dalam daun teh hijau. Katekin merupakan senyawa metabolit sekunder yang paling utama pada daun teh. Pucuk dan daun muda tanaman teh mengandung senyawa katekin sebanyak 70-80%. Katekin merupakan senyawa flavanoid utama yang terkandung dalam daun muda tanaman teh sekitar 25-30% dari berat kering (Khomaeni, 2015).

Pengujian kadar katekin dilakukan dengan menguji hasil terbaik yang didapat dari Uji Kadar Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan menggunakan metode statistik de Garmo. Dari hasil uji statistik didapati hasil terbaik adalah perlakuan penyeduhan dengan suhu 100°C selama 10 menit. Analisis kadar tanin dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 279nm pada deret standar 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm dan 25 ppm. Setelah didapat hasil absorbansi sampel, hitung konsentrasi katekin (ppm) menggunakan persamaan regresi yang didapat dari kurva standar katekin ($Y=0,006X - 0,002$) dengan koefisien korelasi $R^2= 0,998$, lalu hitung persen kadar katekin. Kadar katekin dengan perlakuan penyeduhan suhu 100°C selama 10 menit menghasilkan nilai rata-rata sebesar 0,46%. Hasil ini didapat hasil kadar katekin yang lebih rendah pernyataan Khomaeni (2015) yaitu sekitar 25-30%, hal ini dikarenakan sampel sudah diolah kedalam bentuk air seduhan. Hasil perhitungan kadar katekin dapat dilihat pada **Lampiran 12**.

4.2.8 Analisis Fitokimia

Uji kandungan senyawa metabolit sekunder dilakukan dengan analisis fitokimia secara kualitatif. Uji fitokimia merupakan salah satu pengujian yang digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang terkandung dalam bahan. Pengujian fitokimia dilakukan dengan menguji hasil terbaik yang didapat dari Uji Kadar Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan menggunakan metode statistik de Garmo. Dari hasil uji statistik didapati hasil terbaik adalah perlakuan penyeduhan dengan suhu 100°C selama 10 menit. Hasil uji fitokimia seduhan teh mangrove *Sonneratia alba* dapat dilihat pada **Tabel 6**.

Tabel 6. Uji Fitokimia Seduhan Teh Mangrove *Sonneratia alba* pada suhu 100°C selama 15 menit

Pengujian	Pereaksi	Hasil Positif	Hasil Penelitian	Keterangan
Alkaloid	Mayer	Endapan Putih/Jingga	Tidak ada endapan putih	Negatif
	Wagner	Endapan Coklat	Ada endapan coklat	Positif
Flavonoid	Amil Alkohol + HCl pekat + Mg	Orange/ Merah/ Kuning/ Coklat	Merah kekuningan	Positif
Fenol	FeCl ₃	Biru	Biru	Positif
Saponin	HCl 2N	Terbentuk busa stabil $\pm$ 10 menit	Terbentuk busa selama 10 menit	Positif
Steroid	Kloroform + Asam Asetat Anhidrat + H ₂ SO ₄ pekat	Hijau/Biru	Tidak berubah	Negatif
Triterpernoid		Coklat/Merah	Tidak berubah	Negatif
Tanin	FeCl ₃	Warna biru tua atau hijau kehitaman	Hijau kehitaman	Positif

Hasil dari pengujian fitokimia *Sonneratia alba* mempunyai hasil yang sesuai dengan penelitian Putri, *et al.* (2016) yang menyatakan hasil uji kualitatif dari ekstrak metanol daun *Sonneratia alba* alkaloid tidak terdeteksi dengan pereaksi Meyer, namun terdeteksi pada pereaksi Wagner, flavonoid, fenol, saponin dan tanin. Alkaloid bekerja sebagai antibakteri dengan cara berinteraksi dengan dinding sel yang berujung pada kerusakan dinding sel. Alkaloid juga dapat berikatan dengan DNA bakteri yang menyebabkan kegagalan sintesis protein. Flavonoid dan fenol secara umum bertindak sebagai antioksidan, yaitu sebagai penangkap radikal bebas karena mengandung gugus hidroksil. Flavonoid bersifat sebagai reduktor sehingga dapat bertindak sebagai donor hidrogen terhadap radikal bebas (Silalahi, 2006).

Menurut Harborne dalam Lingga dan Rustama (2005), Saponin dikenal sebagai antioksidan alam dalam bentuk glikosida yang memiliki banyak manfaat dan diketahui bahwa saponin mengandung zat yang mampu menghemolisis darah. Diketahui bahwa membran sel darah menyerupai membran sel pada bakteri sehingga proses yang terjadi pada sel bakteri oleh saponin sama seperti yang terjadi pada sel darah merah. Dalam bidang perikanan saponin biasa dimanfaatkan sebagai pestisida alami yang biasa digunakan untuk memberantas hama pengganggu saat persiapan tambak dan kolam.

Tanin terdiri dari senyawa fenolik yang sulit dipisahkan dan memiliki beberapa manfaat yaitu sebagai, antibakteri, astringen, dan antidiare. Tanin juga dapat berfungsi sebagai antioksidan biologis (Malangni, *et al.* 2012). Senyawa tanin termasuk dalam golongan flavonoid yang bermanfaat bagi tubuh sebagai nutrisi dan dapat bertindak sebagai antioksidan. Tanin yang banyak terdapat didalam teh merupakan inhibitor potensial karena dapat mengikat zat besi secara kuat membentuk Fe-tanat.

4.2.9 Analisis Total Fenol

Senyawa fenol adalah aneka ragam senyawa yang berasal dari tumbuhan dengan ciri-ciri sama yaitu cincin aromatik yang mengandung gugus hidroksil dirangkai pada suatu atom karbon dari lingkaran benzena. Pengujian total fenol dilakukan dengan menguji hasil terbaik yang didapat dari Uji Kadar Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan menggunakan metode statistik de Garmo. Dari hasil uji statistik didapatkan hasil terbaik adalah perlakuan penyeduhan dengan suhu 100°C selama 10 menit.

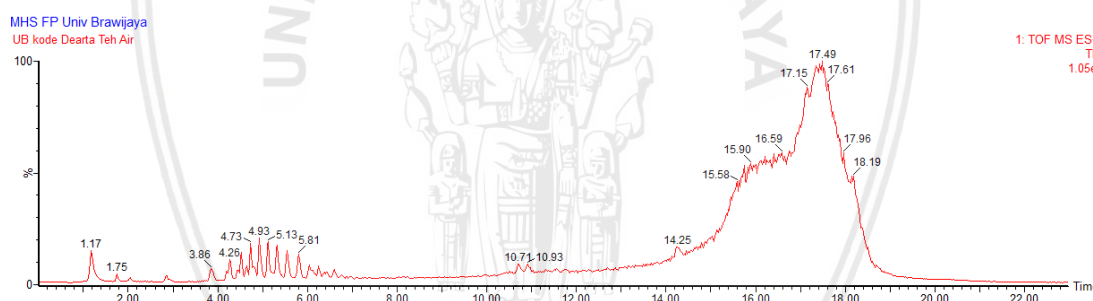
Pada pengujian ini menggunakan asam galat sebagai standar. Analisis total fenol dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 772 nm pada deret standar 25ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm, dan 125 ppm. Setelah didapat hasil absorbansi sampel, hitung konsentrasi total fenol (ppm) menggunakan persamaan regresi yang didapat dari kurva standar asam galat ($y = 0,1061x - 0,0267$) dengan koefisien korelasi ($R^2 = 0,9251$), lalu hitung persen total fenol. Hasil uji total fenol dengan perlakuan penyeduhan suhu 100°C selama 10 menit menghasilkan nilai rata-rata sebesar 84,9444 mg/g GAE. Hasil perhitungan total fenol dapat dilihat pada **Lampiran 13**.

Menurut Rohdiana (2013), bertambahnya lama penyeduhan menyebabkan kesempatan kontak antara air penyeduh dengan teh semakin baik. Proses ekstraksi menjadi lebih sempurna dan kandungan polifenol total semakin meningkat, dinyatakan bahwa polifenol merupakan senyawa yang larut dalam air. Berkurangnya aktivitas ekstraksi terjadi sebagai akibat penurunan suhu selama proses penyeduhan. Penurunan suhu terjadi karena adanya perbedaan suhu antara air penyeduh, teh, dan lingkungan. Air penyeduh mempunyai suhu yang lebih tinggi daripada teh dan lingkungan sehingga terjadi perambatan panas secara konduksi terhadap teh dan konveksi terhadap lingkungan. Disamping lama penyeduhan, suhu penyeduhan pun sangat berpengaruh terhadap kandungan polifenol total dalam seduhan teh. Secara umum, meningkatnya suhu pada lama penyeduhan yang sama telah meningkatkan kandungan polifenol total pada setiap perlakuan.

4.2.10 Identifikasi LC-MS

Untuk mengetahui senyawa apa saja yang terkandung dalam sampel diperlukan indentifikasi senyawa bioaktif yang dapat dilakukan menggunakan metode LC-MS (*Liquid Chromatograph Mass Spectrometry*). Pengujian identifikasi senyawa bioaktif dilakukan dengan menguji hasil terbaik yang didapat dari Uji Kadar Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan menggunakan metode statistik de Garmo. Dari hasil uji statistik didapati hasil terbaik adalah perlakuan penyeduhan dengan suhu 100°C selama 10 menit dapat.

Hasil identifikasi senyawa bioaktif dari hasil seduhan dengan suhu 100°C selama 10 menit dapat dilihat pada **Lampiran**. Kromatogram hasil seduhan teh mangrove *Sonneratia alba* dengan suhu 100°C selama 10 menit dapat dilihat pada **Gambar 28**.



Gambar 28. Kromatogram penyeduhan teh daun mangrove *Sonneratia alba* dengan suhu 100°C selama 10 menit

Berdasarkan kromatogram diatas dapat diketahui bahwa senyawa yang berhasil diekstrak ada pada menit ke 1,171; 1,571; 1,750; 1,792; 1,867; 2,046; 2,067; 2,825; 3,004; 3,341; 3,816; 3,858; 4,100; 4,195; 4,437; 4,532; 4,574; 4,690; 5,195; 5,290; 6,049; 6,123; 6,449; 6,586; dan 15,583. Senyawa-senyawa yang teridentifikasi dari ke-sekian waktu retensi tersebut menghasilkan puncak-

puncak tertinggi, masing masing waktu retensi tersebut dapat dilihat pada **Lampiran 14.**

Pengujian LC-MS menggunakan metode ionisasi ESI (*Electrospray Ionization*) modus positif dengan pelarut air. Ionisasi metode ESI positif akan menghasilkan ion molekul dengan penambahan kation misalnya $[M+H]^+$ atau $[M+Na]^+$. Berikut adalah dugaan senyawa yang bersifat antioksidan dapat dilihat pada **Tabel 7.**

Tabel 7. Dugaan Senyawa Bioaktif pada Teh Daun Mangrove *Sonneratia alba* yang diseduh pada suhu 100°C selama 10 menit

Waktu Retensi	Massa Senyawa	Rumus Molekul	Nama Senyawa
1,171	151,0344	$C_4H_2N_6O$	8-Azaguanine
1,571	171,1499	$C_7H_7O_5$	Gallic Acid
1,867	223,0975	$C_{15}H_{10}O_2$	3-Phenylcoumarin
2,046	270,1528	$C_{17}H_{19}NO_2$	6,7-Dimethoxy-1-Phenyl-1,2,3,4-Tetrahydroisoquinoline
2,067	270,1514	$C_{10}H_{10}O_5$	Genistein
3,004	195,1219	$C_8H_{10}N_4O_2$	Caffeine
4,100	332,1934	$C_{17}H_{14}O_7$	Rhamzanin
4,574	344,2240	$C_{14}H_{16}O_{10}$	Theogallin
4,690	403,2352	$C_{21}H_{22}O_8$	Nobiletin
5,195	476,3051	$C_{23}H_{24}O_7$	Linaroside
5,290	433,1094	$C_{21}H_{20}O_{10}$	Vitexin
6,123	490,3212	$C_{22}H_{43}N_5O_7$	Etisomicin
15,583	391,2838	$C_{24}H_{39}O_4$	7-Deoxycholate

Senyawa bioaktif yang teridentifikasi pada teh daun mangrove *Sonneratia alba* yang diseduh dengan suhu 100°C selama 10 menit terdapat 13 senyawa, yaitu 8-Azaguanine, Gallic Acid, 3-Phenylcoumarin, 6,7-Dimethoxy-1-Phenyl-1,2,3,4-Tetrahydroisoquinoline, Genistein, Caffeine, Rhamzanin, Theogallin, Nobiletin, Linaroside, Vitexin, Etisomicin, dan 7-Deoxycholate.

Menurut Tong, *et al.* (1965), 8-Azaguanine adalah senyawa purin analog pertama yang ditemukan dalam percobaan menghambat pertumbuhan tumor dan merangsang diferensiasi sel. Senyawa ini menunjukkan aktivitas antineoplastik dan telah digunakan dalam pengobatan leukemia akut. Senyawa ini berfungsi sebagai antimetabolite dan mudah masuk kedalam asam ribonukleat. Senyawa ini dapat ditemukan dari hasil isolasi *Streptomyces albus* (Hirasawa dan Isono, 1978). Senyawa ini terdapat pada daun mangrove diduga pemilihan daun yang kurang optimal sehingga kurang tersortir dengan baik daun yang bebas jamur.

Gallic acid merupakan senyawa turunan fenol. Senyawa fenol dapat menghambat pertumbuhan mikroba dengan cara menginaktivasi enzim-enzim dan merusak dinding sel. Akibat terganggunya sintesa protein dan dinding sel yang tidak sempurna maka sel tidak mampu menahan tekanan osmosis sehingga lama kelamaan sel bakteri akan mati. Golongan ini memiliki fungsi sebagai antialergi, antibakteri, antikanker, antiinflamasi, insulinsparing, analgesik, antiasma, antibronkitis, antioksidan, dan antihepatotoksik (Wijayanti, 2017). Senyawa ini biasa ditemukan pada tumbuhan yang memiliki genus *Quercus* dan dapat dijumpai pada buah anggur.

3-Phenylcoumarin merupakan senyawa turunan dari kumarin yang merupakan golongan senyawa fenil propanoid yang mempunyai 6 cincin lakton. Menurut Yankep, *et al.* (1998), Senyawa 3-Phenylcoumarin ini dapat

ditemukan pada kulit akar *Millettia griffoniana*. Senyawa Kumarin dan turunannya banyak memiliki aktivitas biologis diantaranya dapat menstimulasi pembentukan pigmen kulit, mempengaruhi kerja enzim, antikoagulan darah, antimikroba, dan menunjukkan aktivitas menghambat efek dari karsinogen (Isnawati *et al.*, 2008).

6,7-Dimethoxy-1-Phenyl-1,2,3,4-Tetrahydroisoquinoline merupakan senyawa turunan alkaloid. Alkaloid merupakan senyawa yang bersifat polar dan termasuk salah satu metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman dan dapat ditemukan dibagian ranting, kulit, biji, dan daun. Alkaloid memiliki beberapa peran penting dalam bidang kesehatan diantaranya sebagai pemicu sistem saraf, mengurangi rasa sakit, menaikkan tekanan darah, obat penenang, obat penyakit dan antimikroba (Aksara *et al.*, 2013).

Menurut Yunindarwati, *et al.*, (2016), Genistein merupakan senyawa isoflavon. Pada umumnya senyawa ini banyak ditemukan pada kacang-kacangan, terutama kacang kedelai. Isoflavon yang terdapat pada kedelai memiliki struktur aglikon (genistein, daidzein, glisitein), glikosida (glisitin, genistin, daidzin), malonil glikosida dan asetil glikosida. Namun, isoflavon dengan struktur aglikon memiliki bioaktivitas yang lebih baik daripada bentuk glikosida, misalnya menghambat tirosinase untuk mencegah hiperpigmentasi.

Caffeine (1,3,7-trimethylxanthine) merupakan senyawa alkaloid alami turunan xantin yang dapat ditemukan pada biji kopi, daun teh, biji kakao, dan tanaman lainnya. Kafein memiliki efek farmakologis yang bermanfaat secara klinis, seperti menstimulasi susunan syaraf pusat, relaksasi otot polos terutama otot polos bronkus dan stimulasi otot jantung. Berdasarkan efek farmakologis tersebut, kafein ditambahkan dalam jumlah tertentu ke minuman. Efek berlebihan (over dosis)

mengonsumsi kafein dapat menyebabkan gugup, gelisah, insomnia, tremor, hipertensi, kejang dan mual. Kafein sebagai stimulan tingkat sedang (*mild stimulant*) memang seringkali di duga sebagai penyebab kecanduan. Kafein hanya dapat menimbulkan kecanduan jika dikonsumsi dalam jumlah yang banyak dan rutin. Namun kecanduan kafein berbeda dengan kecanduan obat psikotropika, karena gejalanya akan hilang hanya dalam satu dua hari setelah konsumsi (Maramis, *et al.* 2013).

Rhamnazin termasuk golongan flavonoid yang bersumber dari tanaman (*Rhamnus petiolaris*) dari Sri Lanka. Senyawa ini tentunya juga dapat berperan sebagai antioksidan yang tergolong sangat kuat. Karena aktivitas antioksidannya tergolong sangat kuat, maka *rhamnazin* juga berpotensi untuk menjadi senyawa anti tumor dan anti proliferasi (Philchenkov dan Zavelevych, 2015).

Theogallin merupakan senyawa polifenol. Senyawa ini dapat ditemukan pada teh sebagai peningkat umami (gurih). Senyawa ini memiliki potensi untuk meningkatkan kognisi atau daya nalar dan pengaplikasian ilmu. (Cartwright dan Robert, 1954).

Nobiletin merupakan senyawa flavonoid alami. Senyawa nobiletin ini memiliki potensi antioksidan, antineoplastic, antikanker dan anti-inflamasi yang mendorong pengobatan asma, colitis dan alzheimer. Senyawa ini biasa ditemukan pada jeruk dan konsentrasi nobiletin yang tinggi bisa ditemukan pada kulit jeruk (Jayakumar, *et al.* 2016).

Linaroside dan lantanosida merupakan 2 jenis flavonoid yang ditemukan pada *Lantana camara* . Linarosida dan lantanosida menunjukkan adanya aktivitas antimikroba terhadap *Mycobacterium tuberculosis* (Begum *et al.*, 2008).

Vitexin merupakan apigenin flavon glikosida yang bersumber dari bahan alami, seperti tumbuhan dari famili Passifloraceae, *Vitex agnus-cactus*, *Phyllostachys nigra*, *Pennisetum glaucum*, dan *Crataegus monogyna*. Seperti golongan flavonoid lainnya yaitu kuersetin, kaemferol, dan rutin, senyawa vitexin ini juga memiliki potensi antioksidan alami. Selain antioksidan, senyawa ini juga memiliki potensi di bidang anti-inflamasi, kardiovaskular, anti kanker, anti diabetes, anti kejang, dan meningkatkan memori (Aslam, *et al.* 2015).

Etisomicin merupakan aminoglikosida yang berhasil diisolasi dari kaldu fermentasi *Micromonospora*. Struktur senyawa ini hampir mendekati gentamicin, tobramycin, dan amikacin. Menurut analisis X-ray senyawa ini pada dasarnya serupa namun tidak identik dengan senyawa terkait yang memiliki cincin. Etisomicin memiliki potensi sebagai antibiotik (Castillo-Garit, *et al.* 2015).

7-Deoxycholate merupakan turunan dari Deoxycholate yaitu asam empedu sekunder. Asam empedu berfungsi untuk mengaktifkan lipase di dalam cairan pancreas, membantu proses penyerapan asam lemak, kolesterol, vitamin K, vitamin D, dan karoten, serta membantu proses pencernaan lemak dalam usus. Terdapat 2 asam empedu penting yaitu asam deoksikolat dan asam kolat. Asam empedu ini biasa di produksi oleh bakteri pada saluran pencernaan (Ajouz, *et al.* 2014).

Menurut Ramadani (2018), hasil analisis LC-MS masih belum akurat untuk menganalisis suatu senyawa secara tepat hanya sebatas bobot molekul dan rumus molekul, sedangkan untuk memastikan secara akurat dibutuhkan Analisis lanjutan untuk elusidasi rumus molekul dengan alat analisis lain seperti NMR dan FTIR.

4.2.11 Uji Organoleptik

Uji organoleptik merupakan pengujian yang dilakukan untuk mengetahui sejauh mana penerimaan konsumen terhadap suatu produk. Uji organoleptik dilakukan terhadap 15 panelis terlatih dengan menilai teh daun mangrove *Sonneratia alba* dan teh hijau komersial, parameter yang di uji meliputi warna, aroma, rasa, dan tekstur dengan menggunakan skala hedonik (kesukaan) dan skala skoring. Kemudian, uji segitiga untuk menilai ada atau tidaknya perbedaan. Pada penelitian ini dilakukan dengan mencicipi dan mencium dari dua sampel uji yang sudah diberi kode. Pengujian organoleptik dilakukan dengan menguji hasil terbaik yang didapat dari uji kadar tanin dan uji aktivitas antioksidan pada penelitian utama menggunakan metode statistik de Garmo. Uji lanjut pada uji organoleptik menggunakan metode statistik Mann-Whitney pada taraf 5%, karena hasil tes normalitas menunjukkan data tidak berdistribusi normal, sehingga tidak bisa menggunakan Uji-T. Hasil penilaian panelis dan perhitungan statistik uji organoleptik dapat dilihat pada **Lampiran 14**.

4.2.11.1 Uji Skoring

Kenampakan merupakan salah satu faktor pengujian mutu produk yang penting terhadap daya terima produk pangan tersebut. Aroma yang khas akan menentukan penerimaan panelis. Untuk sampel teh daun *Sonneratia alba* diberi kode D34F dan untuk sampel teh komersial diberi kode R4T6. Hasil uji organoleptik menggunakan uji skor terhadap aroma teh daun *Sonneratia alba* memiliki nilai rata-rata 2,93 dengan spesifikasi normal khas teh hijau. Hal ini sesuai dengan Standar Nasional Indonesia (SNI) 3945:2016 hasil uji organoleptik untuk mutu aroma Teh Hijau yaitu khas teh hijau. Hasil uji statistik menggunakan Mann-Whitney terhadap parameter aroma menunjukkan nilai U sebesar 107,5 dan nilai W sebesar 227,5.

Apabila dikonversikan ke nilai Z maka sebesar -0,221 dan nilai Sig. atau P value sebesar 0,825. Sehingga dapat disimpulkan 2 sampel tidak berbeda nyata ($P > 0,05$).

Hasil uji organoleptik terhadap warna teh daun *Sonneratia alba* didapat nilai rata-rata 4,8 dengan spesifikasi hijau kekuningan sangat cerah. Hal ini sesuai dengan Standar Nasional Indonesia (SNI) 3945:2016 hasil uji organoleptik untuk mutu warna teh hijau yaitu hijau kekuningan sangat cerah sampai merah kekuningan. Hasil uji statistik menggunakan Mann-Whitney terhadap parameter warna menunjukkan nilai U sebesar 7 dan nilai W sebesar 127. Apabila di konversikan ke nilai Z maka sebesar -4,734 dan nilai Sig. atau P value sebesar 0. Sehingga dapat disimpulkan 2 sampel berbeda nyata ($P < 0,05$).

Hasil uji organoleptik terhadap rasa teh daun *Sonneratia alba* memiliki nilai rata-rata 4,6 dengan spesifikasi agak enak, segar, sepat dan pahit khas teh hijau. Hal ini sesuai dengan Standar Nasional Indonesia (SNI) 3945:2016 hasil uji organoleptik untuk mutu rasa teh hijau yaitu sangat enak khas teh hijau sampai tidak enak. Hasil uji statistik menggunakan Mann-Whitney terhadap parameter rasa menunjukkan nilai U sebesar 19,5 dan nilai W sebesar 139,5. Apabila di konversikan ke nilai Z maka sebesar -4,049 dan nilai Sig. atau P value sebesar 0. Sehingga dapat disimpulkan 2 sampel berbeda nyata ($P < 0,05$).

Hasil uji organoleptik terhadap tekstur teh daun *Sonneratia alba* memiliki nilai rata-rata 4,87 dengan spesifikasi cair dan tidak lengket. Hal ini sesuai dengan Standar Nasional Indonesia (SNI) 3945:2016 hasil uji organoleptik untuk mutu tekstur teh hijau yaitu cair dan tidak lengket. Hasil uji statistik menggunakan Mann-Whitney terhadap parameter tekstur menunjukkan nilai U sebesar 69,5 dan nilai W sebesar 189,5. Apabila di konversikan ke nilai Z maka sebesar -2,3 dan nilai Sig. atau P value sebesar 0,021. Sehingga dapat disimpulkan

2 sampel berbeda nyata ($P < 0,05$). Hal ini membuktikan tidak adanya perbedaan teh daun mangrove *Sonneratia alba* dengan teh komersial terhadap aroma dan tekstur, namun berbeda nyata terhadap warna dan rasa teh daun mangrove *Sonneratia alba* dengan teh komersial.

4.2.11.2 Uji Hedonik

Untuk sampel teh daun *Sonneratia alba* diberi kode S7JZ dan untuk sampel teh komersial diberi kode D1K4. Hasil uji organoleptik menggunakan uji hedonik terhadap aroma teh daun *Sonneratia alba* memiliki nilai rata-rata 3,6 dengan spesifikasi netral. Hal ini sesuai menurut Standar Nasional Indonesia (SNI) 3945:2016 hasil uji organoleptik untuk mutu aroma Teh Hijau yaitu khas teh hijau, maka panelis bisa menilai netral. Hasil uji statistik menggunakan Mann-Whitney terhadap parameter aroma menunjukkan nilai U sebesar 104 dan nilai W sebesar 224. Jika di konvesikan ke nilai Z maka sebesar -0,361 dan nilai Sig. atau P value sebesar 0,718. Sehingga dapat disimpulkan 2 sampel tidak berbeda nyata ($P > 0,05$).

Hasil uji organoleptik menggunakan uji hedonik terhadap warna teh daun *Sonneratia alba* memiliki nilai rata-rata 3,13 dengan spesifikasi agak tidak suka. Menurut Standar Nasional Indonesia (SNI) 3945:2016 hasil uji organoleptik untuk mutu warna Teh Hijau yaitu hijau kekuningan sampai merah kekuningan, maka panelis kurang menyukai teh karena warnanya agak berbeda dengan teh komersial. Hasil uji statistik menggunakan Mann-Whitney terhadap parameter aroma menunjukkan nilai U sebesar 16,5 dan nilai W sebesar 136,5. Apabila di konvesikan ke nilai Z maka sebesar -4,17 dan nilai Sig. atau P value sebesar 0. Sehingga dapat disimpulkan 2 sampel berbeda nyata ($P < 0,05$).

Hasil uji organoleptik terhadap rasa teh daun *Sonneratia alba* memiliki nilai rata-rata 2,2 dengan spesifikasi tidak suka. Menurut Standar Nasional Indonesia (SNI) 3945:2016 hasil uji organoleptik untuk mutu rasa teh hijau yaitu sangat enak khas teh hijau sampai tidak enak dan panelis menilai tidak suka karena memiliki rasa yang agak sepat dan pahit khas teh. Hasil uji statistik menggunakan Mann-Whitney terhadap parameter rasa menunjukkan nilai U sebesar 10,5 dan nilai W sebesar 55,5. Apabila di konvesikan ke nilai Z maka sebesar -0,856 dan nilai Sig. atau P value sebesar 0,292. Sehingga dapat disimpulkan 2 sampel tidak berbeda nyata ($P > 0,05$).

Hasil uji organoleptik terhadap tekstur teh daun *Sonneratia alba* memiliki nilai rata-rata 4,4 dengan spesifikasi netral. Hal ini sesuai dengan Standar Nasional Indonesia (SNI) 3945:2016 hasil uji organoleptik untuk mutu tekstur teh hijau yaitu cair dan tidak lengket sehingga panelis menilai rasa teh netral. Hasil uji statistik menggunakan Mann-Whitney terhadap parameter tekstur menunjukkan nilai U sebesar 81,5 dan nilai W sebesar 201,5. Apabila di konvesikan ke nilai Z maka sebesar -1,537 dan nilai Sig. atau P value sebesar 0,124. Sehingga dapat disimpulkan 2 sampel tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Hal ini membuktikan tidak adanya perbedaan teh daun mangrove *Sonneratia alba* dengan teh komersial terhadap rasa, aroma, tekstur, namun berbeda nyata terhadap warna teh daun mangrove *Sonneratia alba* dengan teh komersial.

4.2.11.3 Uji Segitiga (Triangle)

Pada uji segitiga panelis diberikan 3 sampel, dua diantaranya sama dan satu beda. Pada sampel teh komersial diberi kode 7H2J dan P9X2, sedangkan pada teh daun mangrove *Sonneratia alba* diberi kode K2L5. Panelis akan mengisi lembar kuisisioner yang telah disediakan, pengujian ini dilakukan terhadap aroma, warna,

tekstur dan bau. Hasil uji segitiga dapat dilihat pada **Lampiran 14**. Untuk 15 orang panelis dibutuhkan minimal 9, 10 dan 11 jawaban benar (P) untuk taraf kepercayaan 5%, 1% dan 0,1%.

Pembedaan dalam uji triangle tidak terarah, tidak perlu disertai pernyataan sifat yang satu lebih dari yang lainnya, cukup menyatakan ada perbedaan atau tidak. Pengujian ini lebih banyak digunakan karena lebih peka dari pada uji berpasangan. Dalam pengujian ini kepada masing-masing panelis disajikan secara acak tiga contoh produk dengan kode berbeda dimana dua dari ketiga produk sama. Panelis diminta memilih satu di antara tiga contoh mana yang mempunyai perbedaan (Soekarto, 1985). Dari hasil uji segitiga yang dilakukan oleh 15 panelis didapat hasil berbeda nyata taraf kepercayaan 5%, 1% dan 0,1%, karena 15 panelis memberikan jawaban benar di semua parameter. Hal ini membuktikan adanya perbedaan terhadap rasa, aroma, tekstur, dan warna teh daun mangrove *Sonneratia alba* dengan teh komersial.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang didapatkan dari penelitian ini adalah:

- Variasi konsentrasi abu sekam padi dan lama perendaman memberikan pengaruh terhadap kadar tanin dari daun teh mangrove *Sonneratia alba*, dimana perlakuan terbaik untuk menurunkan kadar tanin adalah perlakuan perebusan abu sekam padi 15% dan dilakukan perendaman selama 72 jam.
- Variasi suhu dan lama waktu penyeduhan memberikan pengaruh terhadap kadar tanin dan aktivitas antioksidan dari daun teh mangrove *Sonneratia alba*, dimana suhu dan lama waktu penyeduhan terbaik untuk menghasilkan kadar tanin dan aktivitas antioksidan terbaik adalah 100°C selama 10 menit.
- Aktivitas antioksidan dan senyawa tanin yang larut menurun saat perlakuan penyeduhan 100°C selama 15 menit. Hal ini dikarenakan adanya degradasi atau kerusakan karena waktu ekstraksi yang terlalu lama.

5.2 Saran

Untuk penelitian selanjutnya diharapkan pada pengujian identifikasi senyawa dilakukan analisis lanjutan untuk elusidasi rumus molekul dengan alat analisis lain seperti NMR dan FTIR. Kemudian, untuk suhu penyeduhan diharapkan tidak menggunakan suhu konstan agar dapat mengetahui apakah ada perbedaan yang signifikan antara suhu penyeduhan konstan dan suhu yang menurun selama proses penyeduhan karena pengaruh suhu lingkungan. Serta, dilakukan pengujian daya simpan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajiaksa.2012. Teh Khasiat Dahsyat. Stomata. Surabaya. 176 hlm.
- Ajouz, H., D. Mukherji, dan A. Shamseddine. 2014. Secondary bile acid: an underrecognized cause of colon cancer. *World Journal of Surgical Oncology* **12**(164): 1-5.
- Akhyar, 2010. *Uji daya hambat dan Analisa KLT bioautografi ekstrak akar dan buah bakau (Rhizophora stylosa griff.) terhadap Vibrio harveyi*. Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Aksara, Riska, W. J. A. Musa dan L. Alio. 2013. Identifikasi senyawa alkaloid dari ekstrak metanol kulit batang mangga (*Mangifera indica* L). *Jurnal Entropi*. **8** (1): 514-519.
- Alfian, Riza dan H. Susanti. 2012. Penetapan kadar fenolik total ekstrak metanol kelopak bunga rosella merah (*Hibiscus sabdariffa* Linn) dengan variasi tempat tumbuh secara spektrofotometri. Universitas Ahmad Dahlan. Yogyakarta. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian* **2** (1): 75 – 80.
- Ananda, A.D. 2009. *Aktivitas antioksidan dan karakteristik organoleptik minuman fungsional teh hijau (Camellia sinensis) rempah instan*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. 76 hlm.
- Andasuryani, Y.A. Purwanto, I.W. Budiastara, dan K.Syamsu. 2014. Prediksi kandungan katekin gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) dengan spektroskopi nir. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian* **1** (24) : 46.
- Andriani, Y. 2007. Uji aktivitas antioksidan ekstrak betaglukan dari *Saccharomyces cerevisiae*. *Jurnal Gradien* **3**(1): 226-230.
- Andryani, D. Utami, P.I. Dhiani, dan B. Asrining. 2010. Penetapan kadar tanin daun rambutan (*Nephelium lappaceum*.L) secara spektrofotometri ultraviolet visibel. *Jurnal Pharmacy* **7**(2): 1-11. ISSN 1693-3591.
- Artini, P.E.U.D., K.W. Astuti., dan N.K. Warditiani. 2013. Uji fitokimia ekstrak etil asetat rimpang bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.). *Jurnal Farmasi Udayana* **2** (4): 1-7.
- Aslam, M.S., M.S. Ahmad, dan A.S. Mamat. 2015. Pharmacological potential of vitexin. *Indian Research Journal of Pharmacy dan Science* **2**(2): 114-122.
- Azizah, D. N., E. Kumolowati dan F. Faramayuda. 2014. Penetapan kadar flavonoid metode $AlCl_3$ pada ekstrak metanol kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.). *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi* **2** (2) : 45-49. ISSN 2354-6565.

Badan Standarisasi Nasional. 2011. Petunjuk Pengujian Organoleptik Atau Sensori SNI 2346-67-240-2006.

_____. 2013. Teh Kering dalam Kemasan. SNI-3836:2013.

_____. 2016. Teh Hijau. SNI-3945:2016.

Begum, S. Wahab dan Siddiqui. 2008. Antimycobacterial Activity of Flavonoids from *Lantana camara* Linn. *Natural Product Research*. **2**(6): 467-470.

Benzie IF dan Strain JJ. 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*. **239** (1): 70-76.

Bungsu, Putri. 2012. *Pengaruh kadar tanin pada teh celup terhadap anemia gizi besi (AGB) pada ibu hamil di UPT Puskesmas Citeureup Kabupaten Bogor tahun 2012*. Tesis. Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Indonesia. 162 hlm.

Cartwright, R. A., & Roberts, E. A. H. (1954). Theogallin, a polyphenol occurring in tea. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **5**(12): 593–597.

Castillo-Garit, J.A., Y. Marrero-Ponce, S.J. Barigye, R. Medina-Marrero, G.B. Bernal, J.M.G. Vega, F. Torrens, V.J. Aran, F. Perez-Gimenez, R. Garcia-Domenech, dan R. Acevedo-Barrios. 2015. In silico Antibacterial Activity Modeling Based on the TOMOCOMD-CARDD Approach. *J. Braz. Chem. Soc.* **26**(6): S1-S38.

Chang, C., Yang M., Wen H., dan Chern J. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis* **10**(3): 178-182.

Chen, J.M dan Chang, F.W, 1991. The chlorination kinetics of rice hull, Ind. Eng. Chem. Research 30, p. 2241-2247.

Chrissanty, Palmira Ayu. 2012. Penurunan kadar tanin pada buah mangrove jenis *Brugueira Gymnorhiza*, *Rhyzophora Stylosa* dan *Avicennia Marina* untuk diolah menjadi tepung mangrove. *Jurnal Industria* **1**(1): 31–39.

Detha, Annytha dan F.U. Datta. 2017. Skrining fitokimia minuman tradisional moke dan sopi sebagai kandidat antimikroba. *Jurnal Kajian Veteriner* **4**(1): 12-16. ISSN 2356-4113.

Daroini, Oryza Sativa. 2006. *Kajian proses pembuatan teh herbal dari campuran teh hijau (Camellia sinensis), rimpang bangle (Zingiber cassumunar roxb.) dan daun ceremai (Phyllanthus acidus (L.) Skeels.)*. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor. 95 hlm.

Darsana, I.G.O., I.N.K. Besung dan H. Mahatmi. 2012. Potensi Daun binahong (*Anredera cordifolia (Tenore) Steenis*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*. *Indonesia Medicus Veterinus*. **1** (3) : 337-351.

- De Garmo, E.P., W.G. Sullivan., dan C.R. Candra. 1984. Engineering Economi 7th edition. Mc Millan Publ. Co. New York. 273 hlm.
- Desrosier. 1988. Teknologi Pengawetan Pangan. 3rd Edition. Terjemahan Oleh Muchji Muljoharjo. Universitas Indonesia Press. Jakarta. 614 Hlm.
- Departemen Kelautan Dan Perikanan. 2004. Pedoman Pengelolaan Ekosistem Mangrove. Direktorat Jenderal Pesisir Dan Pulau-Pulau Kecil. Direktorat Bina Pesisir. Jakarta.
- Diniatik, E. Soemardi dan K. Indri. 2007. Perbandingan kadar flavonoid total dan tanin total pada teh hijau dan teh hitam *Camellia sinensis*. *Jurnal Farmasi*. 5(3): 143-147. ISSN 1693-3591.
- Eriani, I.R. dan Usman. 2017. Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Daun Mangrove *Sonneratia alba* dan Sifat Toksisitasnya. Prosiding Seminar Nasional Kimia. Kalimantan Timur hlm 129-132. ISBN 978-602-50942-0-0.
- Escribano MT, Santos C. 2002. Methods in Polyphenol Analysis (Polyphenol extraction from foods). USA: RSC. Hlm 1-92. ISBN 978-0-85404-580-8
- Fajrina, A., J. Jubahar, dan S. Sabirin. 2017. Penetapan kadar tanin pada teh celup yang beredar di pasaran secara spektrofotometri ultraviolet sinar tampak. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi* **19**(1): 17-21
- Fermanasari, D., T.A. Zahara Dan M.A. Wibowo. 2016. Uji total fenol, aktivitas antioksidan dan sitotoksitas daun akar bambak (*Ipomoea sp.*). *Jurnal Kimia Khatulistiwa* **5** (4) : 68-73. ISSN 2303-1077.
- Frengki., Roslizawaty dan D. Pertiwi. 2014. Uji toksisitas ekstrak etanol sarang semut lokal aceh (*Myrmecodia sp.*) dengan metode BSLT terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. *Jurnal Medika Veterinaria*. **8** (1) : 60-62. ISSN 0853-1943.
- Gandjar, I.G., dan A. Rohman. (2017). Kimia Farmasi Analisis. Cetakan Ke XVI. Pustaka Pelajar. Yogyakarta. Hlm 222, 254-255.
- Hagerman, A.E. 2002. Condensed Tannin Structural Chemistry. Department Of Chemistry And Biochemistry. Miami University. Oxford, OH 45046. 116 pp.
- Hamid, A.F.W. 2016. Aktivitas antioksidan hasil fraksinasi ekstrak etanol angkak dan bekatul dengan metode reduksi ferri (FRAP). Skripsi. Fakultas MIPA. Institut Pertanian Bogor. 51 hlm.
- Hamsah. 2013. Karakterisasi sifat fisikokimia tepung buah pedada (*Sonneratia Caseolaris*). Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Hasanudin. Makasar. 81 hlm.

- Hartoyo, A. 2003. Teh Dan Khasiatnya Bagi Kesehatan. Kanisius. Yogyakarta. Hlm 15-17.
- Hayati. E. K., A. G. Fasyah dan L. Sa'adah. 2010. Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Tanin pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Jurnal Kimia*. **4** (2) : 193-200. ISSN 1907-9850.
- Herawati, N., N. Jalaluddin, L. Daha dan F. Zenta, F. 2011. Potensi Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Mangrove *Sonneratia Alba*. *Majalah Farmasi dan Farmakologi* **15**(1): 23-25. ISSN 1410-7031.
- Heroniaty, 2012. "Sintesis Senyawa Dimer Katekin Dari Ekstrak Teh Hijau Dengan Menggunakan Katalis Enzim Peroksidase Dari Kulit Bawang Bombay (*Allium Cepa* L.)", Hal. 8
- Hirasawa, K. dan K. Isono. 1978. Formation of 8-Azaguanine from Guanine by *Streptomyces albus*. *The Journal of Antibiotics* **31**(6): 628 – 629.
- Indarto. 2015. Uji Kualitatif dan Kuantitatif Golongan Senyawa Organik dari Kulit dan Kayu Batang Tumbuhan *Artocarpus dadah* Miq. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Fisika Al-Biruni* **4**(1): 75-84. e-ISSN 2503-023X.
- Indrawati, D. 2015. *Aktivitas antioksidan dan total fenol seduhan teh herbal daun pacar air (Impatiens balsamina L.) dengan variasi metode pengeringan dan konsentrasi*. Tesis. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Surakarta. Hlm 4-10.
- Indrayani, L., H. Soetjipto dan L. Sihasale. 2006. Skrining fitokimia dan uji toksisitas ekstrak daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L. Vahl) terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. *Berk. Penel. Hayati* **12** : 57-61.
- Irianty, R. S. Dan Verawati, R. 2012. Variasi Komposisi Pelarut Metanol-Air Pada Ekstraksi Daun Gambir (*Uncaria gambir* Roxb). Prosiding SNTK TOPI. Pekanbaru. Hlm 248-251.
- Isnawati, A., H. Mudahar, dan Kamilatunisah. 2008. Isolasi dan identifikasi senyawa kumarin dari tanaman *Artemisia annua* (L.). *Media Litbang Kesehatan* **18**(3): 107-118.
- Jayakumar, T., K.C. Lin, W.J. Lu, C.Y. Lin, G. Pitchairaj, J.Y. Li, dan J.R Sheu. 2017. Nobiletin, a citrus flavonoid, activates vasodilator-stimulated phosphoprotein in human platelets through non-cyclic nucleotide-related mechanisms. *International Journal of Molecular Medicine* **39**(1): 174-182.
- Jayanegara, A. dan A. Sofyan. 2008. Penentuan aktivitas biologis tanin beberapa hijauan secara *in vitro* menggunakan 'hohenheim gas test' dengan polietilen glikol sebagai determinan. *Media Peternakan*. **31** (1) : 44-52. ISSN 0126-0472.

- Johannes, E., S. Suhadiyah dan A.I. Latunra. 2017. Bioaktivitas ekstrak daun *Avicennia marina* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan* **8**(15): 38-41.
- Karlina. C. Y., M. Ibrahim dan G. Trimulyono. 2013. Aktivitas antibakteri ekstrak herba krokot (*Portulaca oleracea* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *LenteraBio*. **2** (1) : 87-93. ISSN: 2252-3979.
- Kartika, B., P. Hastuti, W. Supartono. 1988. Pedoman Uji Inderawi Bahan Pangan. Universitas Gajah Mada, Yogyakarta. 116 hlm.
- Khairan., U. A. Jenie dan R. S. Sudibyo. 2009. $\Delta 6,7$ -Anhidroeritromisin-A sebagai metabolit baru dalam fermentasi *Saccharopolyspora erythraea* ATCC 11635. *Indo Journal Chemical* **9** (3) : 491-499. e-issn 2502-6844.
- Khomaeni, H.S., N. Carsono, N. Rostini, V.P. Rahardi, dan B. Sriyadi. 2015. Korelasi genotipik morfologi daun dengan kandungan katekin pada tanaman teh (*Camelia sinensis* (L.), O Kuntze. *Jurnal Penelitian Teh dan Kina* **18**(1): 37-44.
- Kumalaningsih, S. 2006. Antioksidan Alami Penangkal Radikal Bebas, Sumber Manfaat ,Cara Penyediaan, dan Pengolahan. Trubus. Agrisarana. Surabaya. 112 hlm. ISBN 979384230X 9789793842301.
- Kurniawan, A., S.Y. Wulandari, E. Supriyantini. 2012. Pengaruh perebusan dengan abu sekam dan waktu perendaman air terhadap kadar HCN pada buah mangrove *Avicennia marina*. *Journal Of Marine Research* **1** (2): 80-87.
- Kurniawati, A., L. K. Darusman dan R. Y. Rachmawaty. 2005. Pertumbuhan, produksi dan kandungan triterpenoid dua jenis pegagan (*Centella asiatica* L. (Urban)) sebagai bahan obat pada berbagai tingkat naungan. *Bul. Agron* **33** (3) : 62-67.
- Lehninger, A. L. 1982. Dasar-dasar Biokimia. Jilid I. Terjemahan Maggy Thenawidjaja. Erlangga, Jakarta. 403 hlm.
- _____. 1993. Dasar-Dasar Biokimia. Jilid II. Terjemahan Maggy Thenawidjaja. Erlangga, Jakarta. 368 hlm.
- Lingga, M.E., dan Rustama, M.M. 2005. Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Air dan Etanol Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Terhadap Bakteri Gram Negatif dan Gram Positif yang Diisolasi dari Udang Dogol (*Metapenaeus monoceros*), Udang Lobster (*Panulirus* sp.), dan Udang Rebon (*Mysid dan Acetes*). Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Padjadjaran.
- Lubis, T.M., Zuhrawati, F. Susanti, Rusli, N. Asmilia, dan Muttaqien. 2016. Pengaruh pemberian ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis* L.) Terhadap penurunan kadar hemoglobin dan nilai hematokrit pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Medika Veterinaria* **10**(2): 141-143. E-ISSN : 2503-1600.

- Lutfiyanti, R., W.F. Ma'ruf dan E.N. Dewi. 2012. Aktivitas antijamur senyawa bioaktif ekstrak *Gelidium latifolium* terhadap *Candida albicans*. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan* **1**(1): 1-8.
- Maharani, T., D. Sukandar Dan S. Hermanto. 2016. Karakterisasi senyawa hasil isolasi dari ekstrak etil asetat daun namnam (*Cynometra cauliflora* L.) yang memiliki aktivitas antibakteri. *Jurnal Kimia Valensi*. **2** (1) : 55-62.
- Malangngi, L.P., M.S. Santi dan J.J.E. Paendong. 2012. Penentuan kandungan tanin dan uji aktivitas antioksidan ekstrak biji buah alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal MIPA UNSRAT Online*. **1** (1) : 5-10.
- Maramis, R.K., G. Citraningtyas, dan F. Wehantow. 2013. Analisis kafein dalam kopi bubuk di kota Manado menggunakan spektrofotometri uv-vis. *Jurnal Ilmiah Farmasi* **2**(4): 122-128. ISSN 2302 – 2493.
- Markham, K.R. 1988. Cara Mengidentifikasi Flavonoid. Terjemahan. Institut Teknologi Bandung. Bandung. 117 hlm. ISBN : 9798001214.
- Martinus, B.A., A. Arel, Dan A. Gusman. 2014. Perbandingan kadar fenolat total dan aktivitas antioksidan pada ekstrak daun teh (*Camellia sinesis*) [L.] O.K.) dari kayu aro dengan produk teh hitamnya yang telah beredar. *Scientia* **4** (2): 75-80.
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* **26**(2): 211-219.
- Mukhrani, F.Y. Nonci dan Mumang. 2014. Penetapan kadar tanin total ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa*) secara spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Farmasi* **2**(4): 154-158.
- Musdalifah. 2016. *Penentuan Suhu Dan Waktu Optimum Penyeduhan Daun Teh Hijau (Camelia sinensis L.) P+3 Terhadap Kandungan Antioksidan Kafein, Tanin dan Katekin*. Skripsi. Fakultas Sains Dan Teknologi Uin Alauddin Makassar. 96 Hlm.
- Mustikasari, K. dan D. Ariyani. 2008. Studi potensi binjai (*Mangifera caesia*) dan kasturi (*Mangifera casturi*) sebagai antidiabetes melalui skrinning fitokimia pada akar dan batang. *Sains dan Terapan Kimia*. **2** (2) : 64-73.
- Muzaki, F. D., D. Saptarini, N.D. Kuswytasari, dan A. Sulisetyono. 2013. Menjelajah Mangrove Surabaya. Pusat Studi Kelautan LPPM. ITS. Surabaya
- Nimah, S., W. F. Ma'ruf dan A. Trianto. 2012. Uji Bioaktivitas Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus cereus*. *Jurnal Perikanan*. **1** (2) : 1-9

- Nindyasari, Sagita. 2012. Pengaruh Suhu dan Waktu Penyeduhan Teh Hijau (*Camellia Sinensis*) Serta Proses Pencernaan In Vitro Terhadap Aktivitas Inhibisi Lipase. Skripsi. IPB 98 hlm
- Noriko,N. 2008. Potensi daun teh (*Camellia sinensis*) dan daun anting-anting (*Acalyph indica*. L.) dalam menghambat pertumbuhan Salmonella typhi. *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains Dan Teknologi* **2**(2): 104-110.
- Nugraha, Ganjar 1999. *Pemanfaatan tanin dari kulit kayu akasia (Acacia mangium wild) sebagai bahan penyamak kulit*. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor. Hlm 9.
- Nurjanah., A. Azka dan A. Abdullah. 2012. Aktivitas antioksidan dan komponen bioaktif semanggi air (*Marsilea crenata*). *Jurnal Inovasi dan Kewirausahaan*. **1** (3) : 152-158.
- Oktavianus, S. 2013. *Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Mangrove Jenis Avicennia Marina Terhadap Bakteri Vibrio Parahaemolyticus*. Skripsi. Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin. Makassar. 62 hlm.
- Paramudji. 2010. Ekosistem Hutan Mangrove. Pusat Penelitian Oseanografi. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Jakarta.
- Perdana, Y.S., Nirwani S., Endang Supriyanti. 2012. Pengaruh kadar abu gosok selama perebusan dan lama perendaman air terhadap kadar tanin buah dan tepung mangrove (*Avicennia marina*). *Journal Of Marine Research* **1**(2) : 226-234.
- Philchenkov, A.A. dan M. P. Zavelevych. 2015. Rhamnazin inhibits proliferation and induces apoptosis of human Jurkat leukemia cells in vitro. *J. Biochem.* **87**(6): 122-128. ISSN 2409-4943.
- Poeloengan, M. dan Pratiwi. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* Linn). *Media Litbang Kesehatan*. **20** (2) : 65-69
- Pratama, M., A. Muflihunna, dan N. Octaviani. 2018. Analisis aktivitas antioksidan sediaan propolis yang beredar di kota makassar dengan metode frap (ferric reducing antioxidant power). *As-Syifaa* **10**(1):11-18. ISSN : 2085-4714.
- Pratiwi, Geani. 2017. *Performance Kapasitas Antioksidan Teh Kulit Manggis, Teh Hitam, Teh Hijau Dan Teh Rosela*. Skripsi. Ilmu Teknologi Pangan Institut Pertanian Bogor. 47 Hlm.
- Priyanto, J.A. 2014. Flavanoids production capability test of tea mistletoe (*Scurrulla antropurpurea* Bl. Dans) endopityc bacteria isolate. *Jurnal Sains dan Matematika* **22**(4): 94-95. ISSN 0854-0675.

- Putri, R.R., R. Hasanah, dan I. Kusimaningrum. 2016. Uji aktivitas antibakteri dan uji fitokimia ekstrak daun mangrove *Sonneratia alba*. *J. Aquawarman* **2**(1) : 43-50. ISSN : 2460-9226.
- Rahayu, Palupi Widya Ning. 2018. *Uji Aktivitas Antioksidan pada Teh Bendera Berdasarkan Variasi Suhu dan Lama Penyeduhan Menggunakan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)*. Skripsi. Program Studi Ekstensi Sarjana Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara. 99 Hlm.
- Ramadani, F. 2018. *Aktivitas Antioksidan, Total Tanin Ekstrak dan Fraksi Daun Sirih Merah (Piper crocatum) dan Identifikasi dengan LC-MS*. Skripsi. Program Studi Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor. 54 Hlm.
- Redha, A. 2010. Flavonoid: struktur, sifat antioksidatif dan peranannya dalam sistem biologis. *Jurnal Belian*. **9** (2) : 196-202.
- Rohdiana, D., Arief D. Z., dan Somantri, M. 2013. Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazyl) oleh Teh Putih Berdasarkan Suhu dan Lama Penyeduhan. *Jurnal Penelitian Teh dan Kina* **16**(1): 45-50.
- Rohman, A., S. Riyanto, dan N.K. Hidayati. 2007. Aktivitas antioksidan, kandungan fenolik total dan flavonoid total yang terkandung daun mengkudu (*Morinda Citrifolia* L.). *Jurnal Agritech* **27**(4): 148.
- Rohkyani, I. 2015. *Aktivitas Antioksidan Dan Uji Organoleptik Teh Celup Batang Dldan Bunga Kecombrang pada Variasi Suhu Pengeringan*. Skripsi. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Surakarta. Hlm 6-8.
- Ruslia, N.Y., Khazali M. dan I.N.N. Suryadipura. 2006. Panduan Pengenalan Mangrove Di Indonesia. PHKA/WI-IP. Bogor.
- Salamah, E., E. Ayuningrat dan S. Purwaningsih. 2008. Penapisan Awal Komponen Bioaktif dari Kijing Taiwan (*Anodonta woodiana* Lea.) sebagai Senyawa Antioksidan. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan*. **9** (2) : 119-133
- Samosir, Ary Pratama, M. R.J. Runtuwene dan G. Citraningtyas. 2012. Uji Aktivitas Antioksidan dan Total Flavonoid pada Ekstrak Etanol Pinang Yaki (*Areca vestiaria*). *Jurnal Farmacon* **1**(2): 1-6.
- Sandiantoro. 2012. *Teh Khasiatnya Dahsyat*. Stomata. Surabaya. 176 hlm. ISBN 978-602-98955-2-0
- Saparinto dan Cahyo. 2007. *Pendayagunaan Ekosistem Mangrove*. Dahara Prize. Semarang. ISBN 979-501-573-7.
- Sarah, Q.S., F.C. Anny dan M. Misbahuddin. 2017. Brine shrimp lethality assay. *Bangladesh J. Pharmacol* **12**(2): 186-189.

- Savitri, L.P.V.A., N.P. Ariantari dan I.B.N.P. Dwija. 2013. Potensi antituberkulosis ekstrak n-heksana daun kedondong hutan (*Spondias pinnata* (L.F.) Kurz.). *Jurnal Farmasi Udayana*. **2** (3) : 105-108.
- Schmidl, M.K Dan T.P Labuza. 2000. Essentials Of Functional Foods. Aspen Publishers Inc., Gaitehrsburg, Md, USA pp 369. ISBN 0-8342-1261-SR.
- Senthilkumar, S.R., T. Sivakumar, K.T. Arulmozhi, dan N. Mythili. 2015. Gas chromatography-mass spectroscopy evaluation of bioactive phytochemical of commercial green teas (*Camellia sinensis* L) of indian. *Asian Journal Of Pharmaceutical And Clinical Research* **8**(3): 278-282. ISSN 0974-2441.
- Silaban, M. 2005. *Pengaruh Jenis Teh dan Lama Fermentasi pada Proses Pembuatan Teh Kombucha*. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Sumatra Utara. 79 hlm.
- Silalahi, J. 2006. Makanan Fungsional. Yogyakarta: Kanisius.
- Sipayung, B.S., W.F. Ma'ruf dan E.N. Dewi. 2015. Pengaruh senyawa bioaktif mangrove *avicennia marina* terhadap tingkat oksidasi *fillet* ikan nila merah *O. niloticus* selama penyimpanan dingin. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan* **4** (2) : 115-123.
- Siswarni, M. Z., Y. I. Putri dan R. R. P. 2017. Ekstraksi kuersetin dari kulit terong belanda (*Solanum betaceum* Cav.) menggunakan pelarut etanol dengan metode maserasi dan sokletasi. *Jurnal Teknik Kimia USU* **6** (1) : 36-42.
- Sitorus, M. 2009. Spektroskopi Elusidasi Struktur Molekul Organik. Graha Ilmu. Yogyakarta. 96 hlm.
- Soekarto, S.T. 1985. Penilaian Organoleptik. Bhatara Karya Aksara. Jakarta. 121 hlm
- Soenardjo, Nirwani Dan E. Supriyanti. 2017. Analisis kadar tanin dalam buah mangrove *Avicennia marina* dengan perebusan dan lama perendaman air yang berbeda. *Jurnal Kelautan Tropis* **20**(2):90–95. ISSN 0853-7291.
- Suhardini, P.N. dan E. Zubaidah. 2016. Studi Aktivitas Antioksidan Kombucha Dari Berbagai Jenis Daun Selama Fermentasi. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri* **4**(1): 221-229. ISSN 2354-7936.
- Sukandar, D., S. Hermanto dan E. Lestari. 2008. Uji toksisitas ekstrak daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) dengan metode brine shrimp lethality test (BSLT). *Jurnal Valensi*. **1** (2) : 63-70.
- Sulastri, T. 2009. Analisis kadar tanin ekstrak air dan ekstrak etanol pada biji pinang sirih (*Areca catechu*. L). *Jurnal Chemica* **10** (1) : 59-63.
- Sundari, D., B. Nuratmi, dan M.W. Winarno. 2009. Toksisitas akut (LD₅₀) dan uji gelagat ekstrak daun teh hijau (*Cammelia sinensis* (Linn) Kunze) pada mencit. *Media Peneliti Dan Pengembang Kesehatan* **19**(4): 198-203.

- Tong, G. L., W.W. Lee, L. Goodman, dan S. Frederiksen. 1965. Synthesis of some 2'-deoxyribosides of 8-azaadenine. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **112**(1): 76–81.
- Towaha, J. dan Balittri. 2013. Kandungan senyawa kimia pada daun teh (*Camelia sinensis*)", *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri* **19**(3): 12-16.
- Vogeser, M. and C. Seger. 2008. A decade of HPLC–MS/MS in the routine clinical laboratory — Goals for further developments. *Clinical Biochemistry*. 41 : 649-662.
- Welly, Marthen, W.Sanjay, I.N. Sumerta, Dan D.N. Anom. 2010. Identifikasi Flora Dan Fauna Mangrove Nusa Lembongan Dan Nusa Ceningan. Balai Pengelolaan Hutan Mangrove Wilayah I. Bali. 14 hlm.
- Wibowo, C., C. Kusmana, A. Suryani., Y. Hartati dan P. Oktadiyani. 2009. Pemanfaatan Pohon Mangrove Api-Api (*Avicennia spp.*) sebagai Bahan Pangan dan Obat. *Prosiding Seminar Hasil-Hasil Penelitian IPB*. 158-166.
- Widi, R. K. dan T. Indriati. 2007. Penjaringan dan identifikasi senyawa alkaloid dalam batang kayu kuning (*Arcangelisia flava* Merr). *Jurnal ILMU DASAR* **8**(1): 24-29.
- Wijayanti, T. 2017. Skrining senyawa metabolit sekunder ekstrak rumput mutiara (*Hedyotis corymbosa* L.) dengan metode GC-MS. *J.Florea*. **4**(1): 24-35.
- Winata, Hadi. 2011. *Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Kimiawi Ekstrak Daun Wungu (Graptophyllum pictum L. Griff)*. Skripsi. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. 30 hlm.
- Wulaningsih, F.S. 2008. *Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Campuran Derivat Kurkumin dan Katekin Hasil Isolasi dari Daun Teh*. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. 96 hlm.
- Yunindarwati, E., E.M. Ulfa, E. Puspitasari, dan M.A. Hidayat. 2016. Penentuan kadar genistein dan aktivitas hambatan tirosinase kedelai (*Glycine max*) terfermentasi *Aspergillus oryzae*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* **14**(1): 1-7. ISSN 1693-1831.
- Yankep, E., Fomum, Z.T., Bisrat, D., Dagne, E., Hellwig, V., Steglich, W. 1998. Ogeranylated isoflavones and a3-phenylcoumarin from *Millettia griffoniana*. *J Phytochemistry* **49**(8): 2521-2523.
- Yushar, Desandi Andi. 2012. Ekstraksi dan uji Fitokimia *Sonneratia alba*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjadran.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Lampiran Perhitungan Kadar Tanin (Penelitian Pendahuluan)

Perlakuan		Absorbansi Sampel			% Tanin			Rata-Rata	Standar Deviasi
Konsentrasi Abu Sekam Padi (%)	Lama Waktu Perendaman (jam)	I	II	III	I	II	III		
5	0 jam	4,897	4,921	4,789	7,528	7,565	7,361	7,485	0,109
	24 jam	3,607	3,501	3,382	5,545	5,381	5,199	5,375	0,173
	48 jam	3,125	3,212	3,215	4,804	4,938	4,942	4,895	0,079
	72 jam	2,701	2,871	2,729	4,152	4,414	4,195	4,254	0,140
10	0 jam	3,790	3,915	3,818	5,825	6,018	5,869	5,904	0,101
	24 jam	2,337	2,289	2,301	3,592	3,518	3,537	3,549	0,038
	48 jam	1,972	1,816	1,715	3,031	2,792	2,637	2,820	0,198
	72 jam	1,918	1,749	1,722	2,948	2,689	2,647	2,761	0,163
15	0 jam	3,782	3,689	3,811	5,813	5,670	5,858	5,780	0,098
	24 jam	1,671	1,817	1,791	2,569	2,793	2,754	2,705	0,120
	48 jam	1,621	1,524	1,724	2,492	2,342	2,650	2,495	0,154
	72 jam	1,152	1,224	1,326	1,771	1,882	2,039	1,897	0,135

Contoh Perhitungan %Kadar Tanin pada Penelitian Pendahuluan untuk perlakuan konsentrasi abu sekam padi sebanyak 5% tanpa perendaman (Ulangan 1).

Rumus Perhitungan Persen Kadar Tanin:

$$\text{ppm} = \frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times \frac{100}{\text{Vol.sampel}} \times 1.000$$

$$\% \text{Tanin} = \frac{\text{ppm}}{10.000}$$

Diketahui:

Absorbansi blanko = 1,3011

Absorbansi sampel = 4,897

Volume sampel = 5 mL

$$\begin{aligned} \text{ppm} &= \frac{4,897}{1,3011} \times \frac{100}{5} \times 1.000 \\ &= 75278,46 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Tanin} &= \frac{75274,76}{10.000} \\ &= 7,528 \end{aligned}$$

- ANOVA (*Analysis of Variance*) Kadar Tanin Daun Mangrove *Sonneratia alba*

Data hasil penelitian dianalisis menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap respon parameter yang dilakukan dengan uji F pada taraf 5%. Jika nilai Signifikansi (.sig) < Probabilitas (p) 0,05, maka dinyatakan adanya pengaruh variabel terhadap hasil uji. Namun, Jika nilai Signifikansi (.sig) > Probabilitas (p) 0,05, maka dinyatakan tidak adanya pengaruh variabel terhadap hasil uji. Kemudian, apabila nilai $F_{hitung} > F_{tabel}$ maka dapat dilakukan uji lanjut, salah satunya menggunakan uji Tukey.

Konsentrasi_ASP

Dependent Variable: Persen_Tanin

Konsentrasi_ASP	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
5%	5.502	.038	5.423	5.581
10%	3.759	.038	3.680	3.838
15%	3.219	.038	3.140	3.298

Lama_Waktu_Perendaman

Dependent Variable: Persen_Tanin

Lama_Waktu_Perendaman	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
0 jam	6.390	.044	6.298	6.481
24 jam	3.876	.044	3.785	3.968
48 jam	3.403	.044	3.312	3.494
72 jam	2.971	.044	2.879	3.062

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Persen_Tanin

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	F (table 5%)	Sig.
Corrected Model	98.641 ^a	11	8.967	509.253		.000
Intercept	622.993	1	622.993	35379.533		.000
Lama_Waktu_Perendaman	63.351	3	21.117	1199.228	3.01	.000
Konsentrasi_ASP	34.163	2	17.082	970.064	3.40	.000
Lama_Waktu_Perendaman * Konsentrasi_ASP	1.127	6	.188	10.663	2.51	.000
Error	.423	24	.018			
Total	722.057	36				
Corrected Total	99.064	35				

a. R Squared = ,996 (Adjusted R Squared = ,994)

ANOVA

Persen_Tanin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	F (table 5%)	Sig.
Between Groups	98.641	11	8.967	509.253	2.22	.000
Within Groups	.423	24	.018			
Total	99.064	35				

Persen_Tanin
Tukey HSDa,b

Konsentrasi_ASP	Subset			
	N	1	2	3
15%	12	3.2193		
10%	12		3.7586	
5%	12			5.5020
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,018.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12,000.

b. Alpha = ,05.

Persen_Tanin

Tukey HSD^{a,b}

Lama_Waktu_Pe rendaman	Subset				
	N	1	2	3	4
72 jam	9	2.9708			
48 jam	9		3.4031		
24 jam	9			3.8763	
0 jam	9				6.3897
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,018.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9,000.

b. Alpha = ,05.

Persen_Tanin

Tukey HSD^a

Interaksi	Subset for alpha = 0.05								Notasi	
	N	1	2	3	4	5	6	7		8
15%72jam	3	1.8973								a
15%48jam	3		2.4947							b
15%24jam	3		2.7050							b
10%72jam	3		2.7613							b
10%48jam	3		2.8200							b
10%24jam	3			3.5490						c
5%72jam	3				4.2537					d
5%48jam	3					4.8947				e
5%24jam	3						5.3750			f
15%0jam	3							5.7803		g
10%0jam	3							5.9040		g
5%0jam	3								7.4847	h
Sig.		1.000	.168	1.000	1.000	1.000	1.000	.989	1.000	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 2. Lampiran Perhitungan Kadar Air

Kode		Berat					Kadar Air (%)	Rata-Rata	St. Deviasi
Sampel	Cawan	Cawan (A)	Cawan+Sampel (B)	Sampel (B - A)	Cawan+Sampel Kering (C)	Sampel Kering (B - C)			
Teh	A	18,17	20,21	2,0400	20,14	0,0700	3,43	3,43	0,00
Mangrove	B	14,88	16,92	2,0400	16,85	0,0700	3,43		

Contoh Perhitungan %Kadar Air pada Ulangan 1 (Cawan A)

Rumus Perhitungan Kadar Air:

$$\frac{B-C}{B-A} \times 100\%$$

Keterangan:

A = Berat cawan kosong (g)

B = Berat cawan+sampel (g)

C = Berat cawan+sampel setelah dipanaskan (g)

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{20,21-20,14}{20,21-18,17} \times 100\%$$

$$= 3,43\%$$

Lampiran 3. Lampiran Perhitungan Kadar Abu

Kode		Berat						Kadar Abu (%)	Rata-Rata	St. Deviasi
Sampel	Cawan	Cawan (A)	Cawan+Sampel (B)	Sampel (B - A)	Cawan+B erat Abu (C)	Sampel Kering (B - C)	(C - A)			
Teh	A	18,17	20,21	2,0400	18,23	1,9800	0,0600	2,94	1,49	2,06
Mangrove	B	14,88	16,92	2,0400	14,94	1,9800	0,0600	0,03		

Contoh Perhitungan %Kadar Abu pada Ulangan 1 (Cawan A)

Rumus Perhitungan Kadar Abu

$$\frac{C-A}{B-A} \times 100\%$$

Keterangan:

A = Berat cawan kosong (g)

B = Berat cawan+sampel sebelum diabukan (g)

C = Berat cawan+sampel setelah diabukan (g)

$$\% \text{ Kadar Abu} = \frac{18,23-18,17}{20,21-18,17} \times 100\%$$

$$= 2,94 \%$$

Lampiran 4. Lampiran Perhitungan Kadar Serat Kasar

Kode		Berat				Kadar Serat		St. Deviasi
Sampel	Ulangan	Sampel (A)	Kertas (B)	Kertas + Residu (C)	(C-B)	Kasar (%)	Rata-Rata	
Teh	I	2	0,8084	1,1415	0,3331	16,66	16,42	0,34
Mangrove	II	2	0,7076	1,0311	0,3235	16,18		

Contoh Perhitungan %Kadar Serat Kasar pada Ulangan 1

Rumus Perhitungan %Kadar Serat Kasar:

$$\% \text{ Kadar serat kasar} = \frac{\text{berat kertas residu} - \text{berat kertas saring}}{\text{berat sampel}} \times 100 \%$$

$$\begin{aligned} \% \text{Kadar Serat Kasar} &= \frac{1,1415 - 0,8084}{2} \times 100\% \\ &= 16,66\% \end{aligned}$$

Lampiran 5. Lampiran Perhitungan Kadar Tanin (Penelitian Utama)

Perlakuan		Ulangan Absorbansi			% Kadar Tanin			Rata-Rata % Kadar Tanin	St. Deviasi
Suhu Penyeduhan (°C)	Lama Waktu Penyeduhan (menit)	I	II	III	I	II	III		
70	5	0,801	0,843	0,879	1,231	1,296	1,351	1,293	0,06
	10	0,939	0,941	0,713	1,443	1,446	1,096	1,329	0,20
	15	0,978	1,069	0,704	1,503	1,643	1,082	1,410	0,29
85	5	0,977	0,908	0,953	1,502	1,396	1,465	1,454	0,05
	10	1,007	0,931	0,972	1,548	1,431	1,494	1,491	0,06
	15	1,049	1,129	0,992	1,612	1,735	1,525	1,624	0,11
100	5	1,698	1,667	1,631	2,610	2,562	2,507	2,560	0,05
	10	1,947	2,159	2,101	2,993	3,319	3,230	3,180	0,17
	15	1,513	1,926	2,095	2,326	2,961	3,220	2,836	0,46

Contoh Perhitungan %Kadar Tanin pada Penelitian Utama untuk perlakuan penyeduhan dengan suhu 70°C selama 5 menit (Ulangan 1).

Rumus Perhitungan Persen Kadar Tanin:

$$\text{ppm} = \frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times \frac{100}{\text{Vol. sampel}} \times 1.000$$

$$\% \text{Tanin} = \frac{\text{ppm}}{10.000}$$

Diketahui:

Absorbansi blanko = 1,3011

Absorbansi sampel = 0,801

Volume sampel = 5 mL

$$\begin{aligned} \text{ppm} &= \frac{0,801}{1,3011} \times \frac{100}{5} \times 1.000 \\ &= 12310 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Tanin} &= \frac{12310}{10.000} \\ &= 1,231 \% \end{aligned}$$

- ANOVA (*Analysis of Variance*) Aktivitas Antioksidan Seduhan Teh Mangrove *Sonneratia alba*

Data hasil penelitian dianalisis menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap respon parameter yang dilakukan dengan uji F pada taraf 5%. Jika nilai Signifikansi (.sig) < Probabilitas (p) 0,05, maka dinyatakan adanya pengaruh variabel terhadap hasil uji. Namun, Jika nilai Signifikansi (.sig) > Probabilitas (p) 0,05, maka dinyatakan tidak adanya pengaruh variabel terhadap hasil uji. Kemudian, apabila nilai $F_{hitung} > F_{tabel}$ maka dapat dilakukan uji lanjut, salah satunya menggunakan uji Tukey.

Suhu_Penyeduhan

Dependent Variable: Persen_Tanin

Suhu_Penyeduhan	95% Confidence Interval			
	Mean	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound
70	1.343	.069	1.198	1.489
85	1.522	.069	1.377	1.668
100	2.859	.069	2.714	3.004

Lama_Waktu_Penyeduhan

Dependent Variable: Persen_Tanin

Lama_Waktu_Penyeduhan	95% Confidence Interval			
	Mean	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound
5 menit	1.769	.069	1.624	1.914
10 menit	2.000	.069	1.855	2.145
15 menit	1.956	.069	1.810	2.101

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Persen_Tanin

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F _{hitung}	F _(table 5%)	Sig.
Corrected Model	12.994 ^a	8	1.624	37.707		.000
Intercept	98.308	1	98.308	2282.296		.000
Suhu_Penyeduhan	12.347	2	6.173	143.320	3.55	.000
Lama_Waktu_Penyeduhan	.271	2	.135	4.816	3.55	.068
Suhu_Penyeduhan * Lama_Waktu_Penyeduhan	.376	4	.094	1.347	2.93	.112
Error	.775	18	.043			
Total	112.077	27				
Corrected Total	13.769	26				

a. R Squared = ,944 (Adjusted R Squared = ,919)

ANOVA

Persen_Tanin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F _{hitung}	F _(table 5%)	Sig.
Between Groups	12.994	8	1.624	37.707	0.398	.000
Within Groups	.775	18	.043			
Total	13.769	26				

Persen_Tanin

Tukey HSD^{a,b}

Suhu_Penyeduhan	Subset	
	N	1 2
70	9	1.3433
85	9	1.5222
100	9	2.8589
Sig.		.189 1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,043.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9,000.

b. Alpha = ,05.

Tukey HSD^{a,b}

Lama_Waktu_Penyeduhan	Subset	
	N	1
5 menit	9	1.7689
15 menit	9	1.9556
10 menit	9	2.0000
Sig.		.072

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,043.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9,000.

b. Alpha = ,05

Persen_Tanin

Tukey HSD^a

Interaksi	Subset for alpha = 0.05			Notasi
	N	1	2	
70'5min	3	1.2933		a
70'10min	3	1.3300		a
70'15min	3	1.4067		a
85'5min	3	1.4533		a
85'10min	3	1.4900		a
85'15min	3	1.6233		a
100'5min	3		2.5600	b
100'15min	3		2.8367	bc
100'10min	3		3.1800	c
Sig.		.593	.776	.546

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

- Perhitungan pembuatan larutan blanko DPPH 0,5 mM

Lampiran 6. Lampiran Perhitungan Pembuatan Larutan Blanko (DPPH)

$$M = \frac{g}{Mr} \times \frac{1000}{v}$$

$$0,5 \text{ mM} = \frac{\text{mg}}{394,32 \text{ g/mol}} \times \frac{1000}{100 \text{ ml}}$$

$$\text{mg} = 19,716 \text{ mg} = 20 \text{ mg}$$

Jadi, untuk membuat larutan blanko DPPH 0,5 mM dengan cara melarutkan 20 mg DPPH dengan 100 mL methanol p.a.

- Perhitungan pembuatan larutan blanko DPPH konsentrasi 200µg/mL

$$\begin{aligned} 200 \text{ µg/mL} &= \frac{200 \text{ µg/ml}}{1.000.000} \times 100\% \\ &= 0,02 \text{ \%} \end{aligned}$$

Jadi untuk membuat larutan blanko DPPH konsentrasi 200µg/mL dengan cara melarutkan 0,002 g (20mg) dalam 100 mL.

- Perhitungan Pembuatan larutan blanko DPPH C = 40 µg/mL

$$V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$V1 \cdot 200 \text{ µg/mL} = 25 \text{ mL} \cdot 40 \text{ µg/mL}$$

$$\begin{aligned} V1 \cdot 200 \text{ µg/mL} &= \frac{1000 \text{ µg/ml}}{200 \text{ µg/ml}} \times 100\% \\ &= 5 \text{ mL} \end{aligned}$$

Lampiran 7. Lampiran Perhitungan Larutan Induk Teh dan Volume Pemipetan (DPPH)

- Perhitungan Konsentasi larutan induk baku seduhan teh mangrove *Sonneratia*

alba

$$2,4 \text{ g dalam } 140 \text{ mL} = \frac{2.400.000 \text{ } \mu\text{g/mL}}{140 \text{ ml}} = 17.142,85 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

- Perhitungan Konsentrasi (C) dan Volume Pemipetan (V)

$$\begin{aligned} 1. \quad V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ V_1 \cdot 17.142,85 \text{ } \mu\text{g/mL} &= 25 \text{ mL} \cdot C_2 \\ 0,2 \text{ mL} \cdot 17.142,85 \text{ } \mu\text{g/mL} &= 25 \text{ mL} \cdot C_2 \\ C_2 &= 3.428,57 \text{ } \mu\text{g/mL} / 25 \text{ mL} \\ &= 137,142 \text{ } \mu\text{g/mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 2. \quad V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ V_1 \cdot 17.142,85 \text{ } \mu\text{g/mL} &= 25 \text{ mL} \cdot C_2 \\ 0,4 \text{ mL} \cdot 17.142,85 \text{ } \mu\text{g/mL} &= 25 \text{ mL} \cdot C_2 \\ C_2 &= 6.857,14 \text{ } \mu\text{g/mL} / 25 \text{ mL} \\ &= 174,285 \text{ } \mu\text{g/mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 3. \quad V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ V_1 \cdot 17.142,85 \text{ } \mu\text{g/mL} &= 25 \text{ mL} \cdot C_2 \\ 0,6 \text{ mL} \cdot 17.142,85 \text{ } \mu\text{g/mL} &= 25 \text{ mL} \cdot C_2 \\ C_2 &= 10.285,71 \text{ } \mu\text{g/mL} / 25 \text{ mL} \\ &= 411,428 \text{ } \mu\text{g/mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 4. \quad V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ V_1 \cdot 17.142,85 \text{ } \mu\text{g/mL} &= 25 \text{ mL} \cdot C_2 \\ 0,8 \text{ mL} \cdot 17.142,85 \text{ } \mu\text{g/mL} &= 25 \text{ mL} \cdot C_2 \\ C_2 &= 13.714,28 \text{ } \mu\text{g/mL} / 25 \text{ mL} \\ &= 548,571 \text{ } \mu\text{g/mL} \end{aligned}$$

Lampiran 8. Perhitungan Aktivitas Antioksidan (DPPH)

Tabel Absorbansi dan IC₅₀

Perlakuan	Ulangan	Absorbansi Blanko	Absorbansi Sampel				IC ₅₀ (ppm)	Rata- Rata	ST. Deviasi
			137,142	274,285	411,43	548,571			
70 (°C) 5 menit	1	0,621	0,151	0,142	0,133	0,129	164,341	163,904	1,184
	2	0,643	0,148	0,139	0,132	0,128	164,807		
	3	0,647	0,145	0,138	0,131	0,128	162,563		
70 (°C) 10 menit	1	0,627	0,123	0,121	0,116	0,114	150,418	150,847	0,749
	2	0,621	0,124	0,122	0,114	0,113	151,712		
	3	0,631	0,125	0,121	0,115	0,114	150,410		
70 (°C) 15 menit	1	0,635	0,112	0,110	0,108	0,098	140,832	140,443	0,392
	2	0,637	0,112	0,109	0,106	0,097	140,047		
	3	0,634	0,111	0,110	0,107	0,097	140,450		
85 (°C) 5 menit	1	0,626	0,096	0,094	0,091	0,089	129,643	128,082	1,352
	2	0,636	0,094	0,092	0,091	0,088	127,284		
	3	0,638	0,095	0,092	0,09	0,089	127,320		
85 (°C) 10 menit	1	0,632	0,088	0,083	0,082	0,08	122,316	121,506	0,860
	2	0,645	0,087	0,083	0,081	0,08	120,603		
	3	0,628	0,086	0,082	0,081	0,079	121,600		
85 (°C) 15 menit	1	0,628	0,078	0,076	0,073	0,071	116,430	115,845	1,148
	2	0,623	0,078	0,075	0,072	0,069	116,583		
	3	0,642	0,077	0,075	0,071	0,069	114,523		
100 (°C) 5 menit	1	0,624	0,068	0,064	0,063	0,062	109,325	109,063	0,440
	2	0,624	0,067	0,063	0,06	0,059	108,556		
	3	0,623	0,068	0,062	0,061	0,05	109,309		

Perlakuan	Ulangan	Absorbansi Blanko	Absorbansi Sampel				IC ₅₀ (ppm)	Rata- Rata	ST. Deviasi
			137,142	274,285	411,43	548,571			
100 (°C) 10 menit	1	0,645	0,049	0,047	0,046	0,045	96,330	96,519	0,526
	2	0,639	0,048	0,046	0,044	0,041	96,114		
	3	0,633	0,048	0,046	0,052	0,04	97,113		
100 (°C) 15 menit	1	0,621	0,058	0,056	0,054	0,051	103,456	102,307	0,996
	2	0,641	0,057	0,056	0,053	0,052	101,754		
	3	0,645	0,058	0,055	0,052	0,05	101,710		



Lampiran 9. Tabel %Inhibisi dan Perhitungan Persamaan Regresi

Perlakuan	Ulangan	%Inhibisi				Persamaan Regresi Linear				IC ₅₀ (ppm)	Rata-Rata	ST. Deviasi
		137,142	274,285	411,428	548,571							
70 (°C) 5 menit	1	77,017	78,387	80,365	79,227	Y =	0,119	X +	30,411	164,341	163,904	1,18401
	2	76,983	78,383	79,471	80,093	Y =	0,119	X +	30,451	164,807		
	3	77,589	78,671	79,753	80,216	Y =	0,119	X +	30,727	162,563		
70 (°C) 10 menit	1	80,383	80,702	81,499	81,818	Y =	0,12	X +	31,93	150,418	150,847	0,74933
	2	80,032	80,354	81,643	81,804	Y =	0,12	X +	31,723	151,712		
	3	80,190	80,824	81,775	81,933	Y =	0,121	X +	31,854	150,410		
70 (°C) 15 menit	1	82,362	82,677	82,992	84,567	Y =	0,124	X +	32,567	140,832	140,443	0,39249
	2	82,418	82,889	83,359	84,772	Y =	0,124	X +	32,59	140,047		
	3	82,492	82,650	83,123	84,700	Y =	0,124	X +	32,587	140,450		
85 (°C) 5 menit	1	84,665	84,984	85,463	85,783	Y =	0,126	X +	33,706	129,643	128,082	1,35195
	2	85,220	85,535	85,692	86,164	Y =	0,126	X +	33,962	127,284		
	3	85,110	85,580	85,893	86,050	Y =	0,126	X +	33,95	127,320		
85 (°C) 10 menit	1	86,076	86,867	87,025	87,342	Y =	0,128	X +	34,336	122,316	121,506	0,86034
	2	86,512	87,132	87,442	87,597	Y =	0,128	X +	34,512	120,603		
	3	86,306	86,943	87,102	87,420	Y =	0,128	X +	34,427	121,600		
85 (°C) 15 menit	1	87,580	87,898	88,376	88,694	Y =	0,13	X +	34,873	116,430	115,845	1,14762
	2	87,480	87,961	88,443	88,925	Y =	0,13	X +	34,799	116,583		
	3	88,006	88,318	88,941	89,252	Y =	0,131	X +	35,016	114,523		
100 (°C) 5 menit	1	89,103	89,744	89,904	90,064	Y =	0,132	X +	35,577	109,325	109,063	0,43965
	2	89,263	89,904	90,385	90,545	Y =	0,133	X +	35,577	108,556		
	3	89,085	90,048	90,209	91,974	Y =	0,135	X +	35,249	109,309		

Perlakuan	Ulangan	%Inhibisi				Persamaan Regresi Linear				IC ₅₀ (ppm)	Rata-Rata	ST. Deviasi
		137,142	274,285	411,428	548,571							
100 (°C) 10 menit	1	92,403	92,713	92,868	93,023	Y =	0,136	X +	36,899	96,330	96,5189	0,5259
	2	92,488	92,801	93,114	93,584	Y =	0,137	X +	36,839	96,114		
	3	92,417	92,733	91,785	93,681	Y =	0,136	X +	36,777	97,113		
100 (°C) 15 menit	1	90,660	90,982	91,304	91,787	Y =	0,134	X +	36,103	103,456	102,307	0,99552
	2	91,108	91,264	91,732	91,888	Y =	0,134	X +	36,318	101,754		
	3	91,008	91,473	91,938	92,248	Y =	0,135	X +	36,248	101,710		

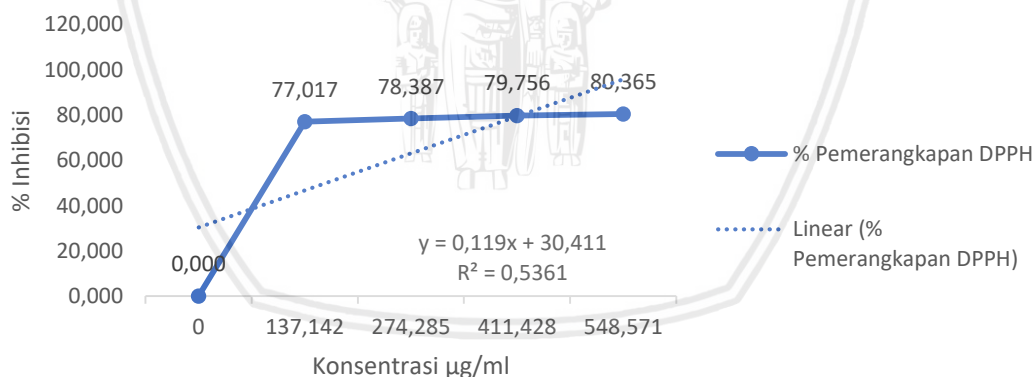


Contoh Perhitungan Aktivitas Antioksidan (DPPH) untuk perlakuan penyeduhan dengan suhu 70°C selama 5 menit (Ulangan 1) dimulai dengan mencari %Inhibisi menggunakan rumus:

$$\text{Persen Inhibisi (\%)} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} 0 \text{ ppm} &= \frac{0,657 - 0,657}{0,657} \times 100\% = 0\% \\ 137,142 \text{ ppm} &= \frac{0,657 - 0,151}{0,657} \times 100\% = 77,017\% \\ 274,285 \text{ ppm} &= \frac{0,657 - 0,142}{0,657} \times 100\% = 78,387\% \\ 411,428 \text{ ppm} &= \frac{0,657 - 0,133}{0,657} \times 100\% = 79,756\% \\ 548,571 \text{ ppm} &= \frac{0,657 - 0,129}{0,657} \times 100\% = 80,365\% \end{aligned}$$

Konsentrasi sampel yang digunakan dalam penelitian dialurkan dengan hasil % inhibisi untuk membentuk suatu grafik hubungan antara konsentrasi dan %inhibisi dengan suhu 70°C selama 5 menit sehingga menghasilkan persamaan regresi linier seperti pada Gambar.



Berdasarkan persamaan grafik diatas yaitu $y = 0,119x + 30,411$ dapat dihitung nilai IC_{50} sampel sebagai berikut:

$$\begin{aligned} Y &= 0,119X + 30,411 \\ 50 &= 0,119X + 30,411 \\ X &= (50 - 30,411)/0,119 \\ X &= 164,341 \text{ ppm} \end{aligned}$$

- ANOVA (*Analysis of Variance*) Aktivitas Antioksidan Seduhan Teh Mangrove *Sonneratia alba*

Data hasil penelitian dianalisis menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap respon parameter yang dilakukan dengan uji F pada taraf 5%. Jika nilai Signifikansi (.sig) < Probabilitas (p) 0,05, maka dinyatakan adanya pengaruh variabel terhadap hasil uji. Namun, Jika nilai Signifikansi (.sig) > Probabilitas (p) 0,05, maka dinyatakan tidak adanya pengaruh variabel terhadap hasil uji. Kemudian, apabila nilai $F_{hitung} > F_{tabel}$ maka dapat dilakukan uji lanjut, salah satunya menggunakan uji Tukey.

Suhu_Penyeduhan

Dependent Variable:IC50

Suhu_Penyeduhan	95% Confidence Interval			
	Mean	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound
70	151.731	.304	151.093	152.369
85	121.811	.304	121.174	122.449
100	102.630	.304	101.992	103.267

Lama_Waktu_Penyeduhan

Dependent Variable:IC50

Lama_Waktu_Penyeduhan	95% Confidence Interval			
	Mean	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound
5 menit	133.683	.304	133.045	134.321
10 menit	122.957	.304	122.320	123.595
15 menit	119.532	.304	118.894	120.169

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:IC50

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F _{hitung}	F _(table 5%)	Sig.
Corrected Model	12312.933 ^a	8	1539.117	1856.022		.000
Intercept	424515.983	1	424515.983	511924.025		.000
Suhu_Penyeduhan	11022.250	2	5511.125	6645.868	3.55	.000
Lama_Waktu_Penyeduhan	981.125	2	490.562	591.569	3.55	.000
Suhu_Penyeduhan * Lama_Waktu_Penyeduhan	309.559	4	77.390	93.324	2.93	.000
Error	14.927	18	.829			
Total	436843.843	27				
Corrected Total	12327.860	26				

a. R Squared = ,999 (Adjusted R Squared = ,998)

ANOVA

IC50						
	Sum of Squares	df	Mean Square	F _{hitung}	F _(table 5%)	Sig.
Between Groups	12312.933	8	1539.117	1856.022	0.398	.000
Within Groups	14.927	18	.829			
Total	12327.860	26				

IC₅₀

Tukey HSD^{a,b}

Suhu_Penyeduhan	Subset			Notasi
	N	1	2	3
100	9	102.6296		a
85	9		121.8113	b
70	9			151.7310 c
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,829.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9,000.
- b. Alpha = ,05.

Tukey HSD^{a,b}

Lama_Waktu_Penyeduhan	Subset			Notasi
	N	1	2	3
15 menit	9	119.5316		a
10 menit	9		122.9573	b
5 menit	9			133.6830 c
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,829.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9,000.
- b. Alpha = ,05.

IC₅₀

Tukey HSD^a

Interaksi	Subset for alpha = 0.05									Notasi	
	N	1	2	3	4	5	6	7	8		9
100'10min	3	96.5189									a
100'15min	3		102.3066								b
100'5min	3			109.0633							c
85'15min	3				115.8453						d
85'10min	3					121.5063					e
85'5min	3						128.0822				f
70'15min	3							140.4427			g
70'10min	3								150.8467		h
70'5min	3									163.9037	i
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000				

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 10. Lampiran Perhitungan Perlakuan Terbaik (de Garmo)

Suhu Penyeduhan (°C)	Lama Waktu Penyeduhan (menit)	Parameter		Tanin		IC50		Total
		%Tanin	%IC50	NE	NH	NE	NH	NH
70	5	12,93	163,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	10	13,29	150,85	0,02	0,01	0,19	0,12	0,13
	15	14,10	140,44	0,06	0,02	0,35	0,22	0,24
85	5	14,54	128,08	0,09	0,03	0,53	0,33	0,36
	10	14,91	121,51	0,10	0,04	0,63	0,39	0,43
	15	16,24	115,85	0,18	0,07	0,71	0,45	0,51
100	5	20,47	109,06	0,40	0,15	0,81	0,51	0,66
	10	31,80	96,52	1,00	0,38	1,00	0,63	1,00
	15	28,36	102,31	0,82	0,31	0,91	0,57	0,88

- Uji pembobotan dilakukan untuk menentukan perlakuan terbaik. Uji pembobotan ini menggunakan teknik *additive weighting* dengan langkah-langkah sebagai berikut:
 1. Masing-masing parameter diberikan bobot variabel dengan angka 0- 1. Besar bobot ditentukan berdasar tingkat kepentingan parameter.
 2. Bobot normal tiap parameter ditentukan dengan cara membagi bobot variabel dengan bobot total ($BN = BV/B.total$)
 3. Menghitung nilai efektifitas dengan rumus:

$$N \text{ Efektifitas} = (\text{Nilai perlakuan} - \text{Nilai terburuk}) / (\text{Nilai terbaik} - \text{Nilai terburuk})$$
 4. Nilai hasil masing-masing parameter ditentukan dari hasil perkalian antara efektifitas dan bobot normal ($NH = NE \times BN$)
 5. Nilai total semua kombinasi perlakuan dihitung dengan menjumlahkan semua nilai hasil masing-masing parameter.
 6. Nilai total terbesar menunjukkan hasil perlakuan terbaik.

- Diketahui :

Nilai terbaik %tanin = 31,80 → Selisih = 18,87

Nilai terbaik IC₅₀ = 96,52

Nilai terburuk %tanin = 12,93 → Selisih = 67,38

Nilai terburuk IC₅₀ = 163,9

Bobot Variabel %tanin = 0,6

Bobot Variabel IC₅₀ = 1

Bobot Normal %tanin = 0,38

Bobot Normal IC₅₀ = 0,63

Sehingga didapati hasil terbaik dengan uji de Garmo nilai NH tertinggi diperoleh dengan perlakuan penyeduhan teh daun mangrove *Sonneratia alba* dengan suhu 100°C selama 10 menit.

Lampiran 11. Perhitungan Aktivitas Antioksidan (FRAP)

Tabel Standar Asam Askorbat

No.	Konsentrasi (ppm) (x)	Absorbansi (y)	x ²	y ²	xy
1	0	0,000	0	0	0
2	40	0,241	1600	0,058	9,652
3	50	0,361	2500	0,130	18,055
4	60	0,457	3600	0,209	27,432
5	70	0,550	4900	0,302	38,486
6	80	0,654	6400	0,427	52,304
Total	300	2,263	19000	1,127	145,929
Rata-Rata	50	0,377	3166,67	0,188	24,322

Rumus persamaan regresi adalah $Y = ax + b$.

- Untuk Nilai a

$$y = ax + b$$

$$a = \frac{(n \cdot \sum xy) - (\sum x \cdot \sum y)}{(n \cdot \sum x^2) - (\sum x)^2}$$

$$a = \frac{(6 \cdot 145,929) - (300 \cdot 2,263)}{(6 \cdot 19000) - (300)^2}$$

$$a = 0,010137$$

- Untuk Nilai b

$$y_{rata-rata} = \frac{\sum y}{n} = 0,45264$$

$$x_{rata-rata} = \frac{\sum x}{n} = 60$$

$$y_{rata-rata} = a x_{rata-rata} + b$$

$$b = y_{rata-rata} - (0,010137 \cdot 60)$$

$$b = 0,45264 - 0,60822$$

$$b = -0,15558$$

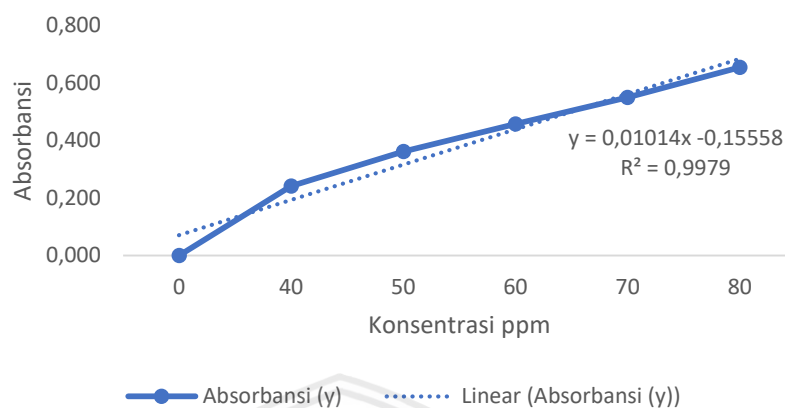
- Untuk nilai R^2

$$R^2 = \frac{(n \cdot \sum xy) - (\sum x \cdot \sum y)}{\sqrt{[(n \cdot \sum xy) - (\sum x \cdot \sum y)] \cdot [(n \cdot \sum y^2) - (\sum y)^2]}}$$

$$R^2 = \frac{(6 \cdot 145,929) - (300 \cdot 2,263)}{\sqrt{[(6 \cdot 145,929) - (300)^2] \cdot [(6 \cdot 1,127) - (2,263)^2]}}$$

$$R^2 = 0,9979$$

Konsentrasi (ppm) dan Absorbansi yang digunakan dalam penelitian digunakan untuk membentuk suatu grafik persamaan regresi linier seperti pada gambar dibawah.



Berdasarkan persamaan grafik diatas yaitu $y = 0,01014x - 0,15558$ dengan $R^2 = 0,9979$ yang dapat digunakan untuk menghitung aktivitas antioksidan.

Tabel Absorbansi Antioksidan (FRAP)

Suhu Penyeduhan (°C)	Lama Waktu Penyeduhan (menit)	Absorbansi Sampel (Y)			Rata-Rata Absorbansi	St.Dev
		I	II	III		
	Blanko	3,268	3,306	3,81	3,461	0,302
100	15	0,900	0,899	0,930	0,0912	0,228

Suhu Penyeduhan (°C)	Lama Waktu Penyeduhan (menit)	Aktivitas Antioksidan (AAE mg/g)			Rata-Rata Aktivitas Antioksidan (AAE mg/g)	St.Dev
		I	II	III		
	Blanko	0,337	0,341	0,391	3,357	0,029
100	15	0,104	0,104	0,107	0,105	0,002

Contoh Perhitungan Aktivitas Antioksidan (FRAP) untuk perlakuan penyeduhan dengan suhu 100°C selama 10 menit (Ulangan 1):

1. Nilai absorbansi dimasukkan ke dalam rumus persamaan regresi kurva standar asam askorbat sebagai Y
2. $0,900 = -0,01014x + 1,06086$
 $X = 104,1314$

Nilai X ini dinyatakan sebagai nilai aktivitas antioksidan dengan satuan AAE g/g atau 0,1041 AAE mg/g atau 104,1314 ppm.



Lampiran 12. Lampiran Perhitungan Kadar Katekin

Tabel Standar Katekin

No.	Konsentrasi (ppm) (x)	Absorbansi (y)	x ²	y ²	xy
1	5	0,0329	25	0,001082	0,1645
2	10	0,0627	100	0,003931	0,627
3	15	0,0982	225	0,009643	1,473
4	20	0,1359	400	0,018469	2,718
5	25	0,1648	625	0,027159	4,12
Total	75	0,4945	1375	0,060285	9,1025
Rata-Rata	15	0,0989	275	0,012057	1,8205

Rumus persamaan regresi adalah $Y = ax + b$.

- Untuk Nilai a

$$y = ax + b$$

$$a = \frac{(n \cdot \sum xy) - (\sum x \cdot \sum y)}{(n \cdot \sum x^2) - (\sum x)^2}$$

$$a = \frac{(5 \cdot 9,1025) - (75 \cdot 0,4945)}{(5 \cdot 1375) - (75)^2}$$

$$a = 0,00674$$

- Untuk Nilai b

$$y_{rata-rata} = \frac{\sum y}{n} = 0,0989$$

$$x_{rata-rata} = \frac{\sum x}{n} = 15$$

$$y_{rata-rata} = a x_{rata-rata} + b$$

$$b = y_{rata-rata} - (0,00674 \cdot 15)$$

$$b = 0,0989 - 0,1011$$

$$b = -0,0022$$

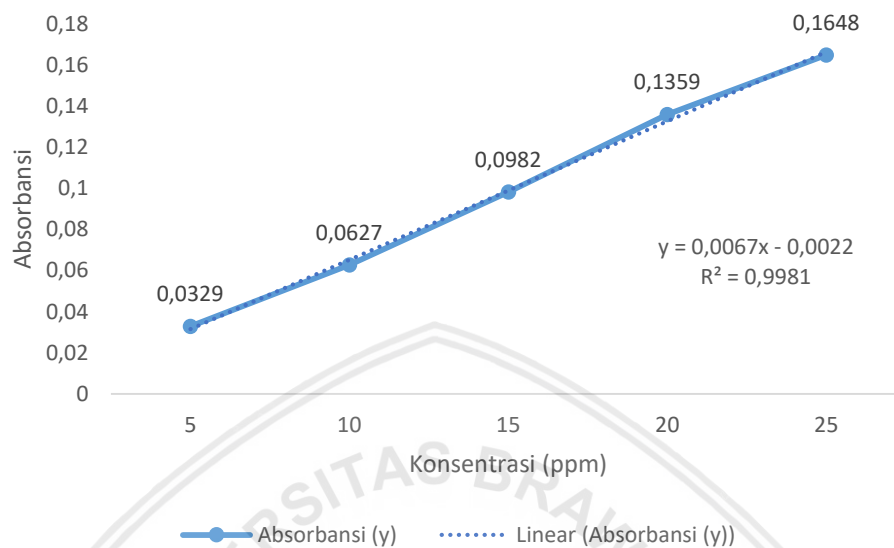
- Untuk nilai R²

$$R^2 = \frac{(n \cdot \sum xy) - (\sum x \cdot \sum y)}{\sqrt{[(n \cdot \sum xy) - (\sum x)^2] \cdot [(n \cdot \sum y^2) - (\sum y)^2]}}$$

$$R^2 = \frac{(5 \cdot 9,1025) - (75 \cdot 0,4945)}{\sqrt{[(5 \cdot 9,1025) - (75)^2] \cdot [(5 \cdot 0,060285) - (0,4945)^2]}}$$

$$R^2 = 0,9979$$

Konsentrasi (ppm) dan Absorbansi standar katekin yang digunakan dalam penelitian digunakan untuk membentuk suatu grafik persamaan regresi linier seperti pada gambar dibawah.



Berdasarkan persamaan grafik diatas yaitu $y = 0,0067x + 0,0022$ dengan $R^2 = 0,9981$ yang dapat digunakan untuk menghitung konsentrasi (ppm). Untuk menghitung kadar katekin dapat menggunakan rumus:

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{\text{Absorbansi sampel-b}}{a}$$

$$\text{Faktor Pengenceran} = \frac{\text{Volume labu}}{\text{Volume sampel}}$$

$$\% \text{Katekin} = \frac{\text{konsentrasi (ppm)} \cdot \frac{\text{Vol. sampel}}{1000} \cdot \text{Faktor Pengenceran}}{\text{sampel (mg)}} \times 100$$

Tabel Absorbansi Katekin

Suhu Penyeduhan (°C)	Lama Waktu Penyeduhan (menit)	Absorbansi Sampel (Y)			Rata-Rata	St.Dev
		I	II	III		
100	15	0,085	0,098	0,092	0,091667	0,006506

Contoh perhitungan % Katekin pada suhu penyeduhan 100 °C selama 15 menit (Ulangan 1).

Diketahui:

$$a = 0,0022$$

$$b = 0,0067$$

$$\text{Volume labu} = 50 \text{ mL}$$

$$\text{Volume sampel} = 2 \text{ mL}$$

$$\text{Absorbansi sampel} = 0,085$$

$$\text{Berat sampel} = 1 \text{ g}$$

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,085 - 0,0022}{0,0067} = 12,938 \text{ ppm}$$

$$\text{Faktor Pengenceran} = \frac{50 \text{ ml}}{2 \text{ ml}} = 25$$

$$\% \text{Katekin} = \frac{\text{konsentrasi (ppm)} \cdot \frac{\text{Vol. sampel}}{1000} \cdot \text{Faktor Pengenceran}}{\text{sampel (gr)}} \times 100$$

$$= \frac{12,938 \cdot \frac{2}{1000} \cdot 25}{1} \times 100$$

$$= 0,425 \%$$

Lampiran 13. Lampiran Perhitungan Total Fenol

Tabel Standar Asam Galat

No.	Konsentrasi (ppm) (x)	Absorbansi (y)	x ²	y ²	xy
1	0	0	0	0	0
2	25	0,219	625	0,047961	5,475
3	50	0,368	2500	0,135424	18,4
4	75	0,427	5625	0,182329	32,025
5	100	0,479	10000	0,229441	47,9
6	125	0,575	15625	0,330625	71,875
Total	375	2,068	34375	0,92578	175,675
Rata-Rata	62,5	0,344666667	5729,167	0,15429667	29,27917

Rumus persamaan regresi adalah $Y = ax + b$.

- Untuk Nilai a

$$y = ax + b$$

$$a = \frac{(n \cdot \sum xy) - (\sum x \cdot \sum y)}{(n \cdot \sum x^2) - (\sum x)^2}$$

$$a = \frac{(6 \cdot 175,675) - (375 \cdot 2,068)}{(6 \cdot 34375) - (375)^2}$$

$$a = 0,0042$$

- Untuk Nilai b

$$y_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum y}{n} = 0,345$$

$$x_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum x}{n} = 62,5$$

$$y_{\text{rata-rata}} = a x_{\text{rata-rata}} + b$$

$$b = 0,345 - (0,0042 \cdot 62,5)$$

$$b = 0,0794$$

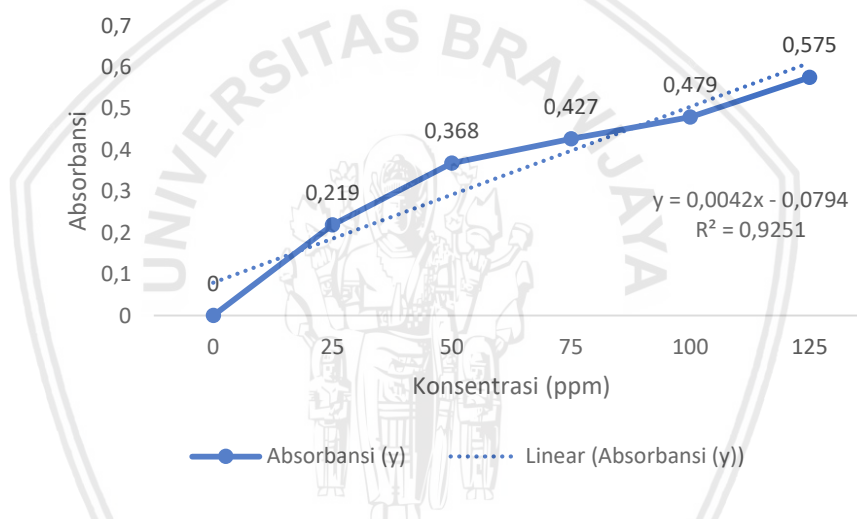
- Untuk nilai R^2

$$R^2 = \frac{(n \cdot \sum xy) - (\sum x \cdot \sum y)}{\sqrt{[(n \cdot \sum xy) - (\sum x)^2] \cdot [(n \cdot \sum y^2) - (\sum y)^2]}}$$

$$R^2 = \frac{(6 \cdot 175,675) - (375 \cdot 2,068)}{\sqrt{[(6 \cdot 175,675) - (375)^2] \cdot [(6 \cdot 0,92578) - (2,068)^2]}}$$

$$R^2 = 0,925097$$

Konsentrasi (ppm) dan Absorbansi standar asam galat yang digunakan dalam penelitian digunakan untuk membentuk suatu grafik persamaan regresi linier seperti pada Gambar.



Berdasarkan persamaan grafik diatas yaitu $y = 0,0042x - 0,0794$ dengan $R^2 = 0,9251$, yang dapat digunakan untuk menghitung konsentrasi (ppm). Untuk menghitung total fenol dapat menggunakan rumus:

$$\text{Fenol Total} = \frac{x \text{ (ppm)} \cdot \text{volume sampel (ml)} \cdot \text{Faktor Pengenceran}}{\text{sampel (gr)}}$$

Tabel Hasil Pengujian Total Fenol

Perlakuan	Ulangan	Absorbansi (Y)	Konsentrasi Kadar Fenol (μg GAE/mL)	Total Fenol mg/g (GAE)	Rata-rata	Standar deviasi
100°C selama 15 menit	1	0,694	146,33	85,361	84,944	1,637
	2	0,678	142,52	83,139		
	3	0,701	148,00	86,333		

Contoh perhitungan % Katekin pada suhu penyeduhan 100 °C selama 15 menit (Ulangan 1).

Diketahui:

$$a = 0,0042$$

$$b = 0,0794$$

$$\text{Volume labu} = 10 \text{ mL}$$

$$\text{V. sampel yang di uji} = 1 \text{ mL}$$

$$\text{Absorbansi sampel} = 0,694$$

$$\text{Berat sampel} = 0,001 \text{ g}$$

$$\text{V. sampel seduh} = 140 \text{ mL}$$

$$\text{B. sampel teh} = 2,4 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi (ppm)} &= \frac{0,694 - 0,0794}{0,0042} = 146,33 \mu\text{g GAE/mL} \\ &= 0,14633 \text{ mg GAE/mL} \end{aligned}$$

$$\text{Faktor Pengenceran} = \frac{10 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} = 10$$

$$\begin{aligned} \text{Total Fenol} &= \frac{0,14633 \text{ mg GAE/mL} \cdot 140 \text{ mL} \cdot 10}{2,4 \text{ g}} \\ &= 85,36111 \text{ mg/g (GAE)} \end{aligned}$$

Lampiran 14. Spesifikasi dan Kondisi Alat LC-MS

Chromatographic Separation

LC System : Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC)
Column : C18 (1.8 μ m 2.1x100 mm) HSS
Temperature : 50°C (Column), 25°C (room)
Mobile phase : Water + 5 mM Amonium Formic (A) and Acetonitril + 0,05 % Formic acid (B)
Flow rate : 0,2 ml/min (step gradien) running 23 menit
Injection Volume : 5 μ l (filter through 0.2 μ m syring filter first)

Mass Spectrometry

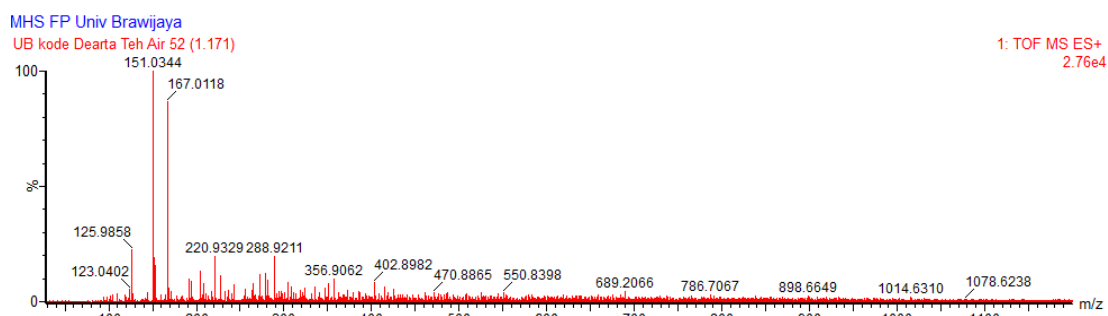
System : ESI (electrospray ionization)
Mode : Positip Mode
Mass analysis range : 50 – 1300 m/z
Source Temperature : 100°C
Desolvation Temperature : 350°C
Cone gas flow : 0 L/hr
Desolvation gas flow : 793 L/hr
Collision energi : 4 Volt (energi rendah) (1)
Rampt Colision energi : 25 – 50 volt (energi tinggi) (2)

LC-MS/MS ANALYSIS DETAIL

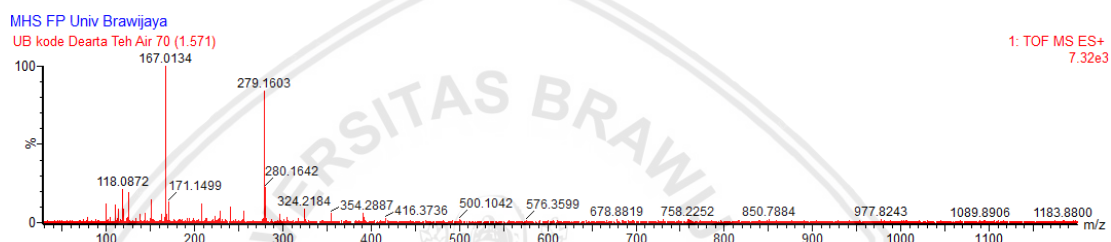
Instrument	Specification	Detail
LC System	ACQUITY UPLC [®] H-Class System (waters,USA)	UPLC (Ultra Performance Liquid Chromatograpy)
LC Column	ACQUITY UPLC [®] HSS C18 (1.8 μ m 2.1x100 mm) (waters,USA)	UPLC Column HSS (high Streght Silica)
Mass Spectrometer	Xevo G2-S Q Tof (waters, USA)	Two Generation Q uadrupole time-of-flight mass spectrometry

Lampiran 15. Spektrum LC-MS

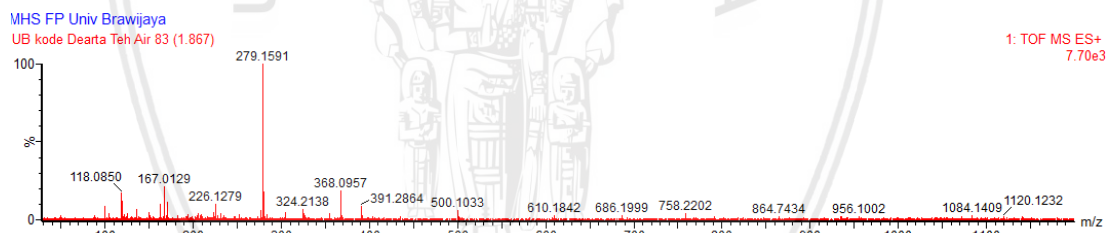
a) Rt 1,171



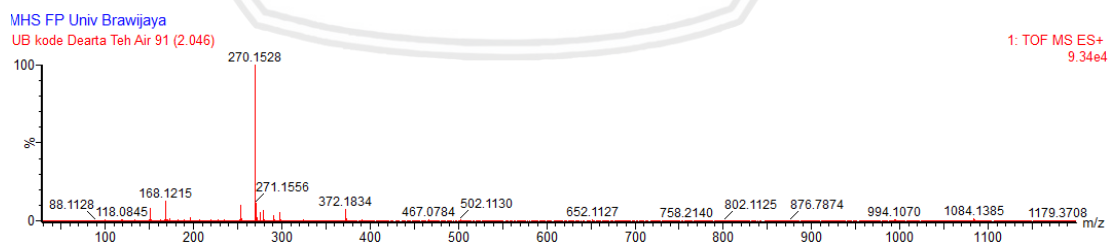
b) Rt 1,571



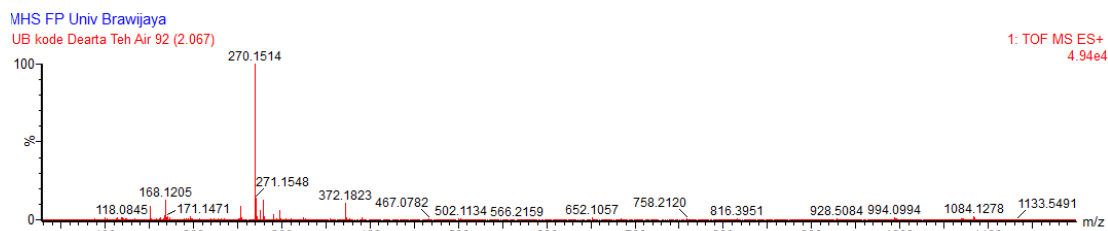
c) Rt 1,867



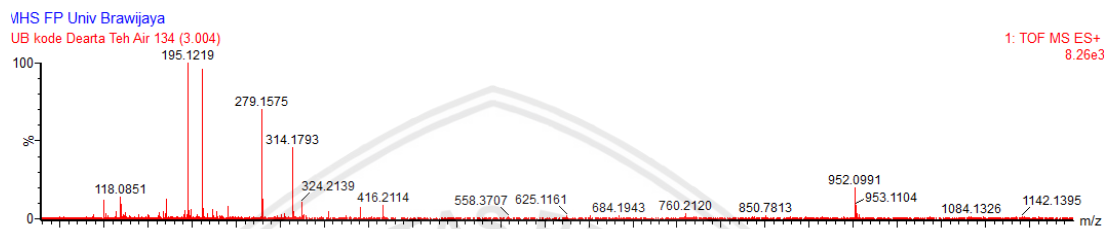
d) Rt 2,046



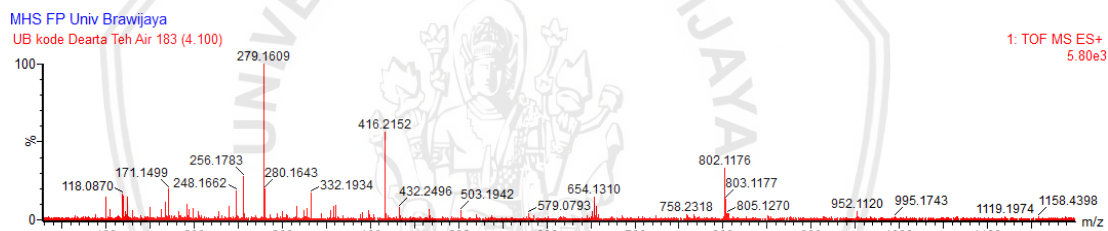
e) Rt 2,067



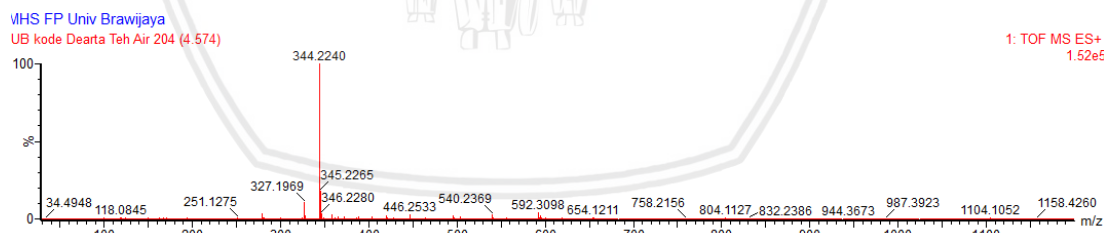
f) Rt 3,004



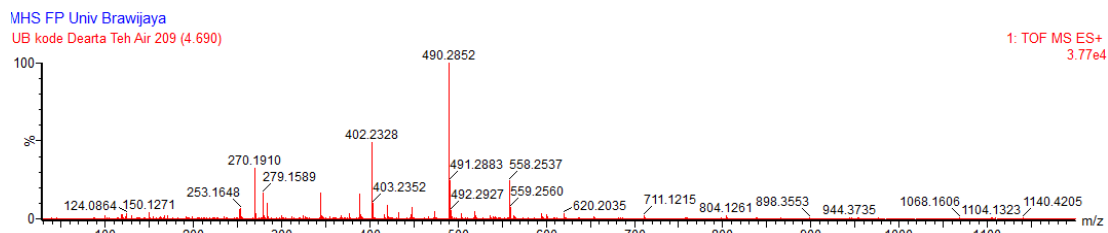
g) Rt 4,100



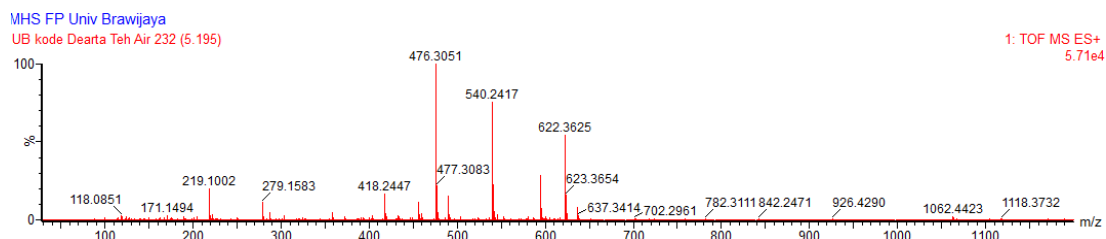
h) Rt 4,574



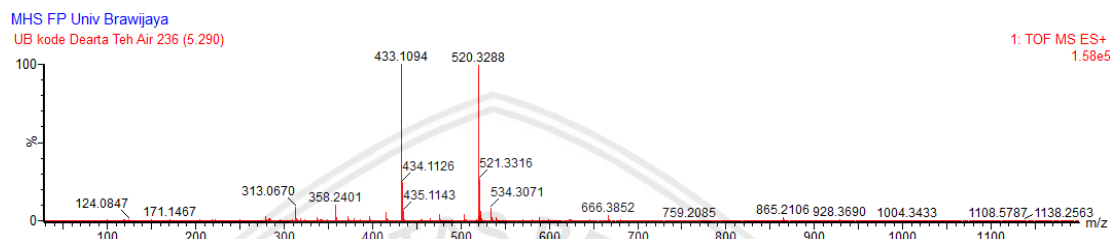
i) Rt 4,690



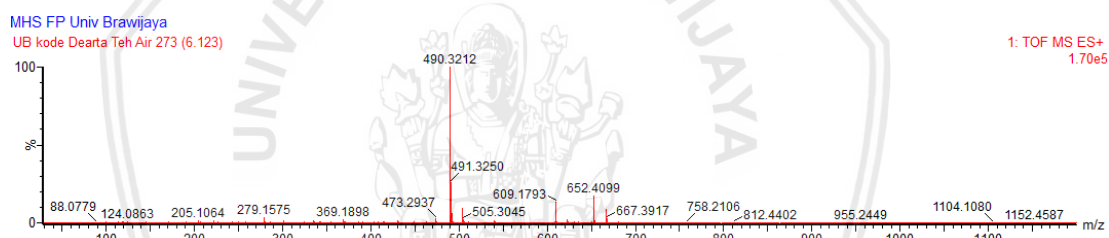
j) Rt 5,195



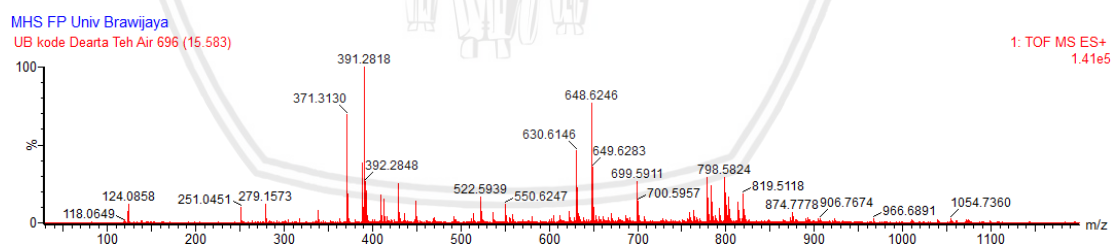
k) Rt 5,290



l) Rt 6,123



m) Rt 15,583



Lampiran 16. Perhitungan Organoleptik

Tabel Hasil Penilaian Uji Skoring

Panelis	Aroma		Warna		Rasa		Tekstur	
	D34F (S)	R4T6 (K)	D34F (S)	R4T7 (K)	D34F (S)	R4T8 (K)	D34F (S)	R4T9 (K)
Yuning	3	3	5	3	5	2	5	5
Rahmah	3	3	5	3	5	2	5	4
Dominikus	3	3	5	3	5	2	5	5
M.Fahmi	2	2	3	2	5	2	3	4
Nadhifa	1	2	5	4	3	4	5	4
Susi	5	3	5	3	5	3	5	5
Asri	4	3	5	2	5	2	5	4
Laila	5	4	5	3	5	2	5	5
Aprilia	1	2	5	3	3	4	5	5
Chusnul	2	5	4	3	3	4	5	5
Tia	2	3	5	3	5	4	5	5
Evy	3	3	5	3	5	3	5	5
Clara	3	3	5	3	5	3	5	3
Arda	3	2	5	2	5	3	5	3
Devi	4	2	5	3	5	3	5	3
Jumlah	44	43	72	43	69	43	73	65
Rata-Rata	2,93	2,87	4,80	2,87	4,60	2,87	4,87	4,33
St.dev	1,22	0,83	0,56	0,52	0,83	0,83	0,52	0,82

- Tes Normalitas dan Mann-Whitney Skoring (Aroma)

Tests of Normality							
Teh		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Nilai Skoring	Sonneratia Alba	.212	15	.069	.922	15	.205
Aroma	Komersial	.303	15	.001	.794	15	.003

a. Lilliefors Significance Correction

Test Statistics ^b	
	Nilai Skoring Aroma
Mann-Whitney U	107.500
Wilcoxon W	227.500
Z	-.221
Asymp. Sig. (2-tailed)	.825
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.838 ^a

- Tes Normalitas dan Mann-Whitney Skoring (Warna)

Tests of Normality							
Teh		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Nilai Skoring	Sonneratia Alba	.506	15	.000	.421	15	.000
Warna	Komersial	.402	15	.000	.694	15	.000

a. Lilliefors Significance Correction

Test Statistics ^b	
	Nilai Skoring Warna
Mann-Whitney U	7.000
Wilcoxon W	127.000
Z	-4.734
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^a

- Tes Normalitas dan Mann-Whitney Skoring (Rasa)

		Tests of Normality					
Teh		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Nilai Skoring	Sonneratia Alba	.485	15	.000	.499	15	.000
Rasa	Komersial	.251	15	.012	.799	15	.004

a. Lilliefors Significance Correction

Test Statistics^b	
	Nilai Skoring Rasa
Mann-Whitney U	19.500
Wilcoxon W	139.500
Z	-4.049
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^a

- Tes Normalitas dan Mann-Whitney Skoring (Tekstur)

		Tests of Normality					
Teh		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Nilai Skoring	Sonneratia Alba	.535	15	.000	.284	15	.000
Tekstur	Komersial	.326	15	.000	.749	15	.001

a. Lilliefors Significance Correction

Test Statistics^b	
	Nilai Skoring Tekstur
Mann-Whitney U	69.500
Wilcoxon W	189.500
Z	-2.300
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.074 ^a

Tabel Hasil Penilaian Uji Hedonik

Panelis	Aroma		Warna		Rasa		Tekstur	
	K/D1K4	S/S7JZ	K/D1K5	S/S7JZ	K/D1K6	S/S7JZ	K/D1K7	S/S7JZ
Yuning	3	4	4	3	5	2	5	4
Rahmah	4	4	5	4	5	2	5	5
Dominikus	3	4	5	3	5	2	5	5
M.Fahmi	3	2	4	3	3	2	4	3
Nadhifa	2	3	5	1	5	1	5	3
Susi	3	4	5	3	5	3	5	3
Asri	3	3	4	2	3	2	4	3
Laila	6	7	5	7	1	3	5	5
Aprilia	4	5	6	3	4	2	6	5
Chusnul	1	6	5	3	2	1	5	5
Tia	5	2	5	3	5	2	5	5
Evy	3	4	5	3	5	2	5	5
Clara	5	2	6	3	5	3	5	5
Arda	5	2	5	3	5	3	4	5
Devi	5	2	5	3	5	3	6	5
Jumlah	55	54	74	47	63	33	74	66
Rata-Rata	3,67	3,60	4,93	3,13	4,20	2,20	4,93	4,40
St.dev	1,34	1,55	0,59	1,25	1,32	0,67	0,59	0,91

- Tes Normalitas dan Mann-Whitney Hedonik (Aroma)

Tests of Normality							
Teh		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Nilai Hedonik	Sonneratia Alba	.198	15	.117	.876	15	.041
Aroma	Komersial	.223	15	.043	.926	15	.239

a. Lilliefors Significance Correction

Test Statistics^b

	Nilai Hedonik Aroma
Mann-Whitney U	104.000
Wilcoxon W	224.000
Z	-.361
Asymp. Sig. (2-tailed)	.718
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.744 ^a

- Tes Normalitas dan Mann-Whitney Hedonik (Warna)

Tests of Normality							
Teh		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Nilai Hedonik	Sonneratia Alba	.409	15	.000	.648	15	.000
Warna	Komersial	.345	15	.000	.763	15	.001

a. Lilliefors Significance Correction

Test Statistics^b

	Nilai Hedonik Warna
Mann-Whitney U	16.500
Wilcoxon W	136.500
Z	-4.170
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^a

- Tes Normalitas dan Mann-Whitney Hedonik (Rasa)

		• Tests of Normality					
Teh		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Nilai Hedonik	Sonneratia Alba	.283	15	.002	.801	15	.004
Rasa	Komersial	.394	15	.000	.676	15	.000

a. Lilliefors Significance Correction

Test Statistics ^b	
	Teh
Mann-Whitney U	10.500
Wilcoxon W	55.500
Z	-.856
Asymp. Sig. (2-tailed)	.392
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.600 ^a

- Tes Normalitas dan Mann-Whitney Hedonik (Tekstur)

		Tests of Normality					
Teh		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Nilai Hedonik	Sonneratia Alba	.412	15	.000	.629	15	.000
Tekstur	Komersial	.345	15	.000	.763	15	.001

a. Lilliefors Significance Correction

Test Statistics ^b	
	Nilai Hedonik Tekstur
Mann-Whitney U	81.500
Wilcoxon W	201.500
Z	-1.537
Asymp. Sig. (2-tailed)	.124
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.202 ^a

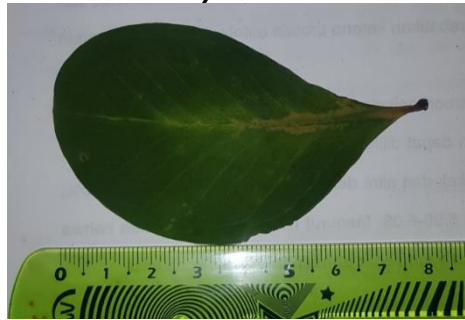
Tabel Hasil Penilaian Uji Segitiga

Panelis	Aroma			Warna			Tekstur			Rasa		
	K/7H2J	S/K2L5	K/P9X2	K/7H2J	S/K2L5	K/P9X2	K/7H2J	S/K2L5	K/P9X2	K/7H2J	S/K2L5	K/P9X2
Yuning		√			√			√			√	
Rahmah		√			√			√			√	
Dominikus		√			√			√			√	
M.Fahmi		√			√			√			√	
Nadhifa		√			√			√			√	
Susi		√			√			√			√	
Asri		√			√			√			√	
Laila		√			√			√			√	
Aprilia		√			√			√			√	
Chusnul		√			√			√			√	
Tia		√			√			√			√	
Evy		√			√			√			√	
Clara		√			√			√			√	
Arda		√			√			√			√	
Devi		√			√			√			√	

Tabel Jumlah respon terkecil untuk menyatakan beda nyata pada Uji Segitiga

Jumlah Penguji	Jumlah terkecil untuk beda nyata tingkat			Jumlah Penguji	Jumlah terkecil untuk beda nyata tingkat		
	5%	1%	0,1%		5%	1%	0,1%
1				24	13	15	16
2				25	13	15	17
3	3			26	14	15	17
4	4			27	14	16	18
5	4	5		28	15	16	18
6	5	6		29	15	17	19
7	5	6	7	30	15	17	19
8	6	7	8	31	16	18	20
9	6	7	8	32	16	18	20
10	7	8	9	33	17	18	21
11	7	8	10	34	17	19	21
12	8	9	10	35	17	19	22
13	8	9	11	36	18	20	22
14	9	10	11	37	18	20	22
15	9	10	12	38	19	21	23
16	9	11	12	39	19	21	23
17	10	11	13	40	19	21	24
18	10	12	13	41	20	22	24
19	11	13	14	42	20	22	25
20	11	13	14	43	21	23	25
21	12	13	15	44	21	23	26
22	12	14	15	45	21	24	26
23	12	14	16	46	22	24	27

Lampiran 17. Dokumentasi Proses Pembuatan Teh Daun Mangrove (*Sonneratia alba*)



1. Pilih daun segar yang berukuran $\pm$ 6 cm (maksimal 5 daun dari pucuk)

2. Perebusan daun dengan abu sekam padi



3. Cuci dengan air mengalir

4. Perendaman dengan air bersih (pengantian air tiap 6 jam sekali)



5. Pengeringan dengan suhu 70°C selama $\pm$ 3 jam

6. Dihaluskan dengan blender



7. Dikemas dengan kantong teh (*food grade*)

8. Diseduh dengan suhu 70°C, 85°C dan 100°C selama 5 menit, 10 menit dan 15 menit



9. Hasil air seduhan

Lampiran 18. Dokumentasi Pengujian Kadar Air



1. Oven cawan kosong dengan suhu 105°C selama 2 jam.
2. Letakkan cawan ke dalam desikator selama 30 menit



3. Timbang cawan kosong sebagai A
4. Timbang cawan + sampel 2 gr sebagai B



5. Masukkan cawan kedalam oven dengan suhu 105°C $\pm$ 24 jam
6. Letakkan cawan ke dalam desikator selama 30 menit



7. Timbang cawan + sampel yang telah di oven sebagai C



8. Didapat hasil dan dihitung dengan rumus



Lampiran 19. Dokumentasi Pengujian Kadar Abu



1. Oven cawan kosong dengan suhu $105^{\circ}\text{C} \pm 2$ jam



2. Letakkan cawan ke dalam desikator selama 30 menit



3. Timbang cawan kosong sebagai A



4. Timbang cawan + sampel 2 gr sebagai B



5. Masukkan cawan yang berisi sampel kedalam oven dengan suhu $105^{\circ}\text{C} \pm 24$ jam.



6. Letakkan cawan ke dalam desikator selama 30 menit



7. Timbang cawan + sampel yang telah di oven sebagai C



8. Sampel di abukan dalam furnace



9. Letakkan cawan ke dalam desikator selama 30 menit

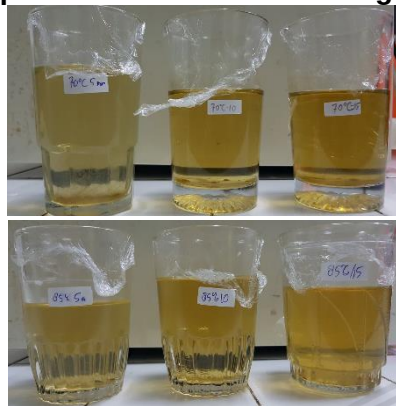


10. Ditimbang berat kadar abu



11. Didapat hasil dan dihitung dengan rumus

Lampiran 20. Dokumentasi Pengujian Nilai pH

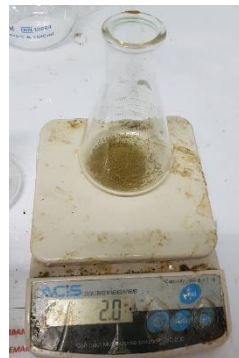


1. Siapkan teh yang sudah diseduh
2. Rendam pH meter dengan larutan Buffer

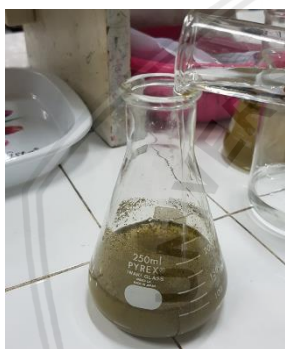


4. Ukur pH sampel menggunakan pH meter hingga angka berhenti berkedip
5. Catat angka yang ada di monitor pH meter dan didapatkan hasil

Lampiran 21. Dokumentasi Pengujian Kadar Serat Kasar



1. Siapkan sampel yang sudah dihaluskan
2. Timbang masing-masing sampel sebanyak 2 g (A) ke erlenmeyer 500 mL, lakukan secara duplo



3. Tambahkan 200 mL H_2SO_4 0,255N dan dihomogenkan
4. Panaskan di pendingin balik hingga mendidih selama 30 menit



5. Selanjutnya kertas saring dioven selama 2 jam dan ditimbang beratnya (A)
6. Kemudian saring residu dengan kertas saring dan lakukan pencucian dengan aquades hingga bebas asam (pH netral)



7. Lalu residu dipindahkan ke erlenmeyer 300 mL dan ditambahkan 200 mL NaOH 0,313N dan dihomogenkan



8. Panaskan di pendingin balik hingga mendidih selama 30 menit



9. Kemudian saring residu dengan kertas saring (C) dan lakukan pencucian dengan aquades hingga bebas asam (pH netral)



10. Cuci residu dengan 15 mL K_2SO_4 10% 15 mL dan aquades (sekali penuh)



11. Lalu residu dibilas dengan alkohol



12. Kertas saring yang terdapat residu lalu dioven selama 2 jam sebagai (B)



13. Masukkan ke dalam desikator selama 30 menit



14. Timbang kertas saring dan hitung persen serat kasar



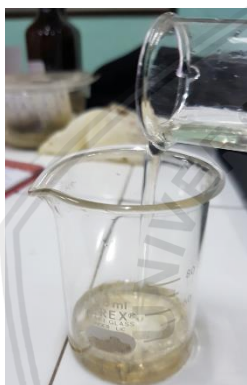
Lampiran 22. Dokumentasi Pengujian Kadar Tanin Kualitatif



1. Siapkan sampel yang sudah dihaluskan



2. Timbang 0,5 g sampel



3. Larutkan sampel dengan aquades sebanyak 20 mL



4. Didihkan diatas hotplate



5. Disaring menggunakan kertas saring



6. Ambil 0,5 mL filtrat



7. Tambahkan FeCl_3 0,1% (b/v)



8. Diamkan dan amati perubahan warna. Dikatakan positif mengandung tanin apabila larutan berwarna hijau kehitaman



Lampiran 23. Dokumentasi Pengujian Kadar Tanin Kuantitatif



1. Timbang 0,5 g sampel



2. Larutkan sampel dengan aquades sebanyak 50 mL



3. Kocok menggunakan pengocok mekanik selama 1 jam



4. Disaring menggunakan kertas saring



5. Masukkan ke dalam labu ukur 50 mL dan tambahkan air hingga tepat tanda batas



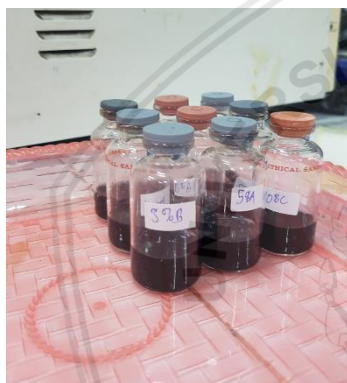
6. Ambil 5 mL filtrat



7. Tambahkan Kalium Heksasianoferat (III) 0,008 M dalam 0,1 N HCl sebanyak 0,8 mL



8. Tambahkan Ferriklorida 0,1 M dalam 0,1 N HCl sebanyak 0,8 mL

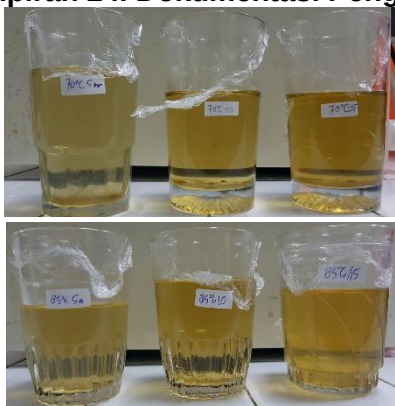


9. Diamkan



10. Ukur absorbansi dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 720 nm

Lampiran 24. Dokumentasi Pengujian Aktivitas Antioksidan (DPPH)



1. Siapkan teh yang sudah diseduh
2. Dipipet sebanyak 0,2 mL; 0,4 mL; 0,6ml; dan 0,8 mL dari tiap sampel dengan pipet volume dan masukan ke labu tentukur 25 mL



3. Tambahkan 5 mL larutan DPPH (*1,1- diphenyl-2-picrylhydrazyl*)
4. Tambahkan dengan methanol p.a hingga garis tanda batas dan homogenkan.

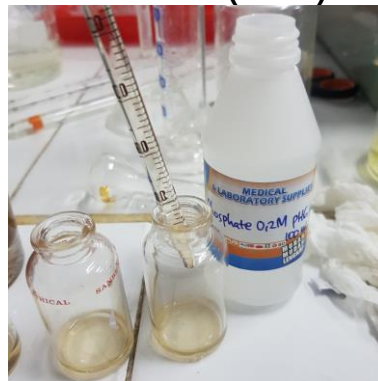


5. Lalu pindahkan ke botol vial dan diamkan selama 30 menit di inkubator 37°C
6. Ukur serapan sampel menggunakan Spektrofotometer Uv-Visible pada panjang gelombang 516 nm

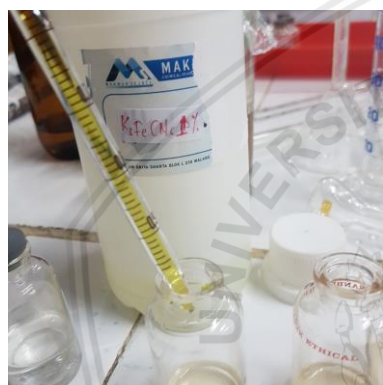
Lampiran 25. Dokumentasi Pengujian Aktivitas Antioksidan (FRAP)



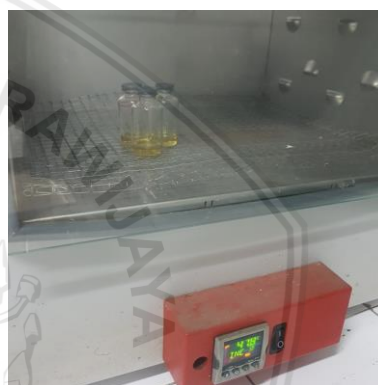
1. Ambil 1 mL larutan stok sampel



2. Tambah 1 mL buffer fosfat 0,2 M (pH 6,6)



4. Tambah 1 mL $K_3Fe(CN)_6$ 1%



5. Inkubasi pada 50°C selama 20 menit



5. Tambah 1 mL TCA 10% dan homogenkan



6. Pindahkan ke dalam tabung setrifuge



7. Disentrifuge 3000 rpm selama 15 menit



8. Ambil 1 mL larutan yang sudah disentrifuge



7. Tambah 1 mL aquades



8. Tambah 0,5 mL FeCl_3 0,1 %

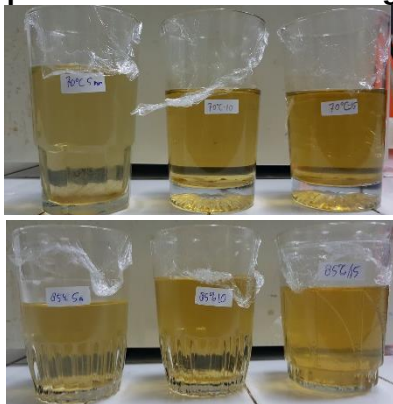


9. Diamkan selama 10-15 menit

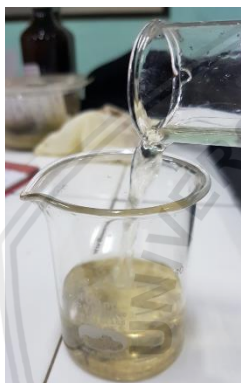


10. Ukur absorbansi dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 710 nm

Lampiran 26. Dokumentasi Pengujian Kadar Katekin



1. Siapkan teh yang sudah diseduh
2. Pipet 2 mL filtrat daun teh

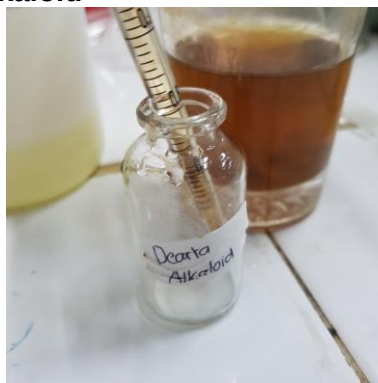
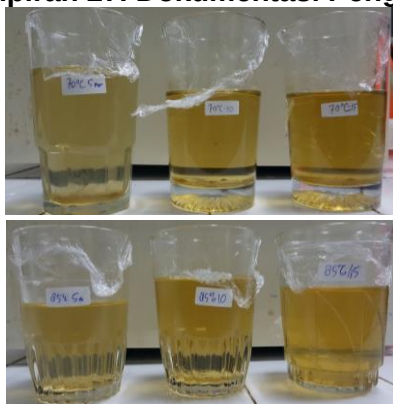


3. Tambahkan 50 mL methanol p.a
4. Panaskan dengan *hot plate* dengan suhu rendah selama 5 menit



5. Diukur serapan absorbansinya menggunakan Spektrofotometri UV-VIS dengan panjang gelombang 279 nm
6. Didapatkan hasil

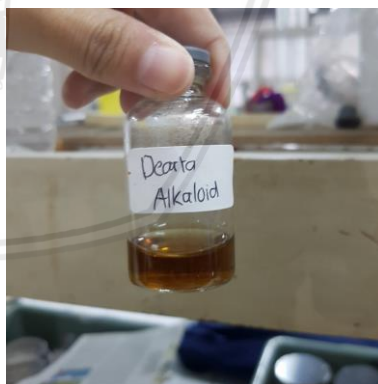
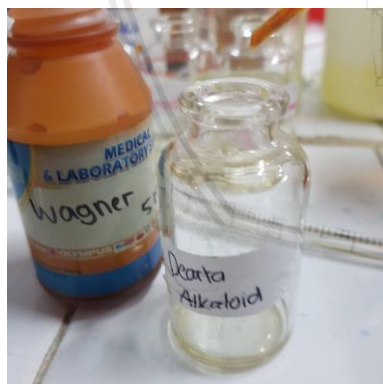
Lampiran 27. Dokumentasi Pengujian Uji Alkaloid



1. Siapkan teh yang sudah diseduh
2. Pipet 0,5 mL filtrat daun teh

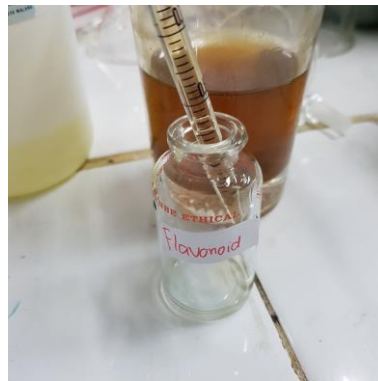
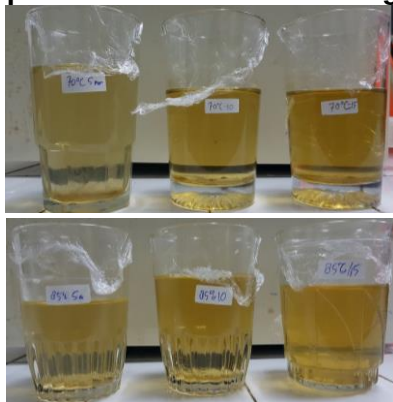


3. Tambahkan 2 tetes H_2SO_4 2N
5. Tambahkan 2 tetes reagen Mayer

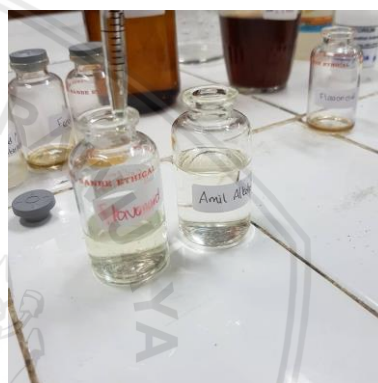


5. Tambahkan 2 tetes reagen Wagner
6. Apabila terbentuk endapan putih (Mayer) atau coklat (Wagner), maka sampel positif mengandung alkaloid.

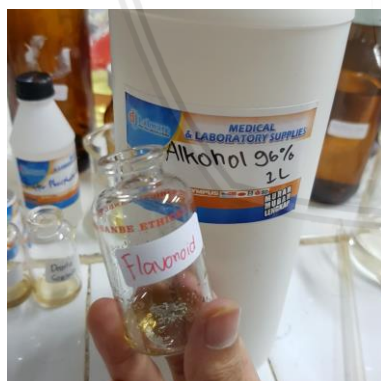
Lampiran 28. Dokumentasi Pengujian Uji Flavonoid



1. Siapkan teh yang sudah diseduh
2. Pipet 0,5 mL filtrat daun teh

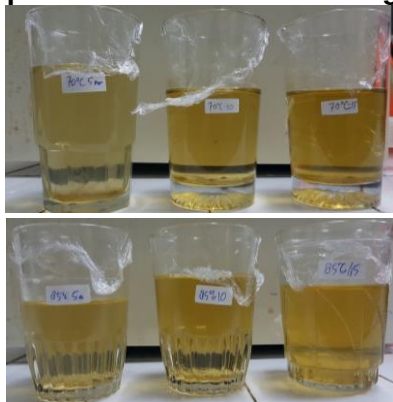


3. Tambah bubuk Magnesium sebanyak 0,1 mg
4. Tambahkan 0,4 mL alkohol

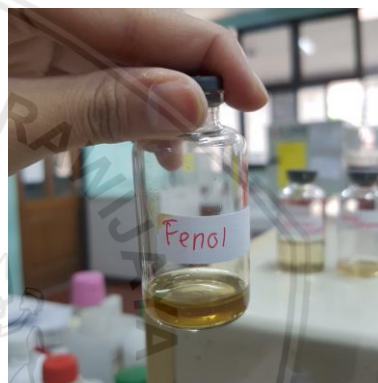


5. Tambahkan 4 mL alkohol 96%
6. Diamati perubahannya. Hasil positif ditunjukkan dengan timbulnya warna merah/kuning/orange dalam waktu 3 menit.

Lampiran 29. Dokumentasi Pengujian Uji Fenol

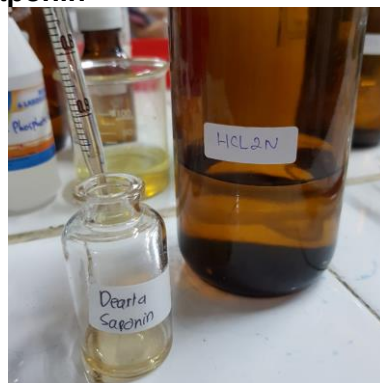


1. Siapkan teh yang sudah diseduh
2. Pipet 0,5 mL filtrat daun teh



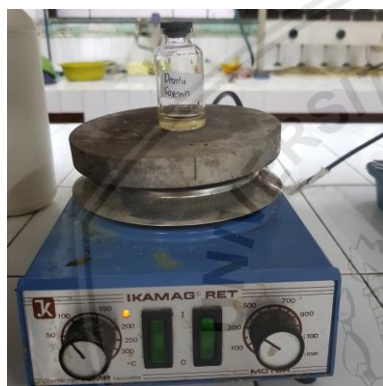
3. Tambahkan 2 tetes FeCl_3 5%
4. Diamati perubahannya. Hasil positif ditunjukkan dengan berubahnya warna menjadi hijau kehitaman pada sampel

Lampiran 30. Dokumentasi Pengujian Uji Saponin



1. Pipet 0,5 mL filtrat daun teh

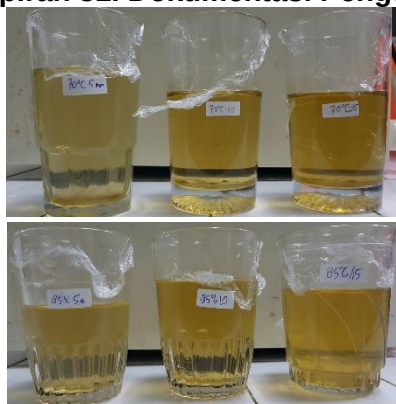
2. Ditambahkan 10 mL asam klorida 2N



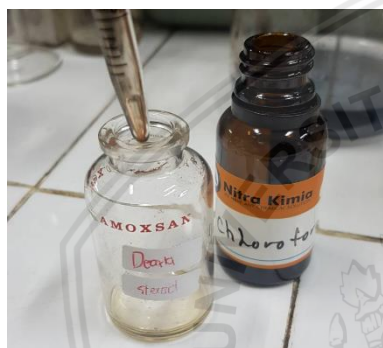
3. dan dipanaskan selama 30 menit

4. Diamati perubahannya. Apabila terbentuk busa yang tidak hilang selama 30 detik maka hasil positif

Lampiran 31. Dokumentasi Pengujian Uji Steroid/Triterpenoid



1. Siapkan teh yang sudah diseduh
2. Pipet 0,5 mL filtrat daun teh

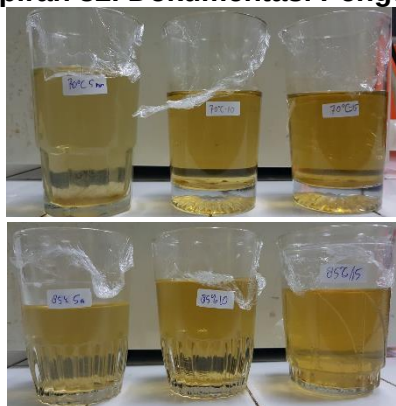


3. Ditambahkan 2 mL kloroform
4. Ditambahkan 10 tetes Asam Asetat Anhidrat



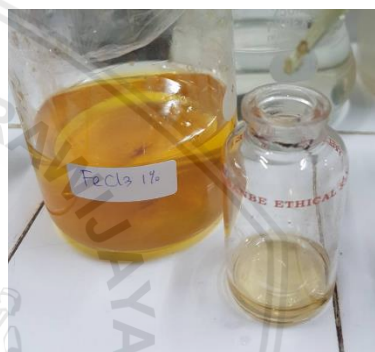
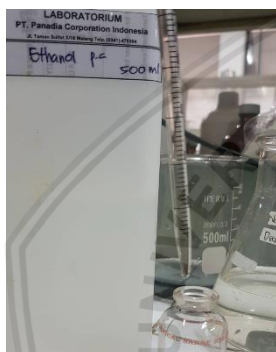
5. Ditambahkan 3 tetes H_2SO_4 pekat
6. Apabila terbentuk warna hijau kebiruan atau biru maka positif mengandung steroid dan apabila terbentuk warna merah hingga ungu maka positif mengandung triterpenoid

Lampiran 32. Dokumentasi Pengujian Uji Tanin



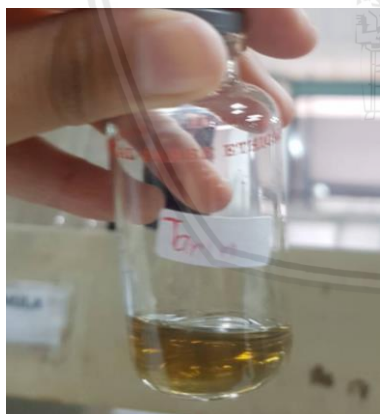
1. Siapkan teh yang sudah diseduh

2. Pipet 2 mL filtrat daun teh



3. Ditambahkan 2.5 mL etanol p.a

4. Ditambahkan 2-3 tetes FeCl_3 1%



5. Amati perubahan warna. Apabila terbentuk warna hitam kehijauan atau biru, maka sampel positif mengandung tanin

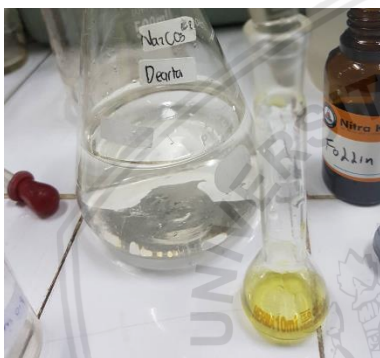
Lampiran 33. Dokumentasi Pengujian Total Fenol



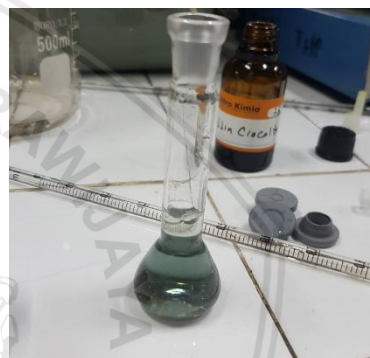
1. Pipet 1 mL sampel kedalam labu tentukur 10 mL



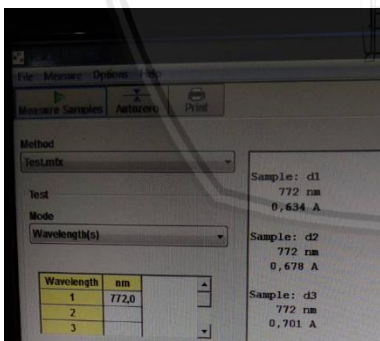
2. Tambahkan pereaksi Folin Ciocalteu sebanyak 500 μ L dan homogenkan



3. Tambahkan 4 mL larutan Na_2CO_3 dan homogenkan



4. Tambah Aquades sampai tanda batas



5. Diukur serapan sampel dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 772 nm