

**KARAKTERISASI AKTIVITAS ANTIKOLESTEROL DARI VARIASI
KONSENTERASI EKSTRAK METANOL TEH HIJAU DAUN *Sonneratia alba*
SECARA IN VITRO**

SKRIPSI

Oleh:

ACHYAR NAUFALZUHDI

NIM. 155080301111046



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

**KARAKTERISASI AKTIVITAS ANTIKOLESTEROL DARI VARIASI
KONSENTERASI EKSTRAK METANOL TEH HIJAU DAUN *Sonneratia alba*
SECARA IN VITRO**

SKRIPSI

Oleh:

ACHYAR NAUFALZUHDI

NIM. 155080301111046



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

MALANG

2019

SKRIPSI

KARAKTERISASI AKTIVITAS ANTIKOLESTEROL DARI VARIASI
KONSENTRASI EKSTRAK METANOL TEH HIJAU DAUN *Sonneratia alba*
SECARA IN VITRO

Oleh :

ACHYAR NAUFALZUHDI

NIM. 155080301111046

Telah dipertahankan didepan penguji
Pada tanggal 22 Agustus 2019
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Mengetahui,
Ketua Jurusan

Menyetujui,
Dosen Pembimbing



Dr. Ir. Muhammad Firdaus, MP
NIP. 19830919 200501 1 001

Tanggal : 10 SEP 2019



Dr. Ir. Bambang Budi S., MS
NIP. 19570119 198601 1 001

Tanggal : 10 SEP 2019



LEMBAR IDENTITAS TIM PENGUJI

Judul : **KARAKTERISASI AKTIVITAS ANTIKOLESTEROL DARI VARIASI
KONSENTERASI EKSTRAK METANOL TEH HIJAU DAUN
Sonneratia alba SECARA IN VITRO**

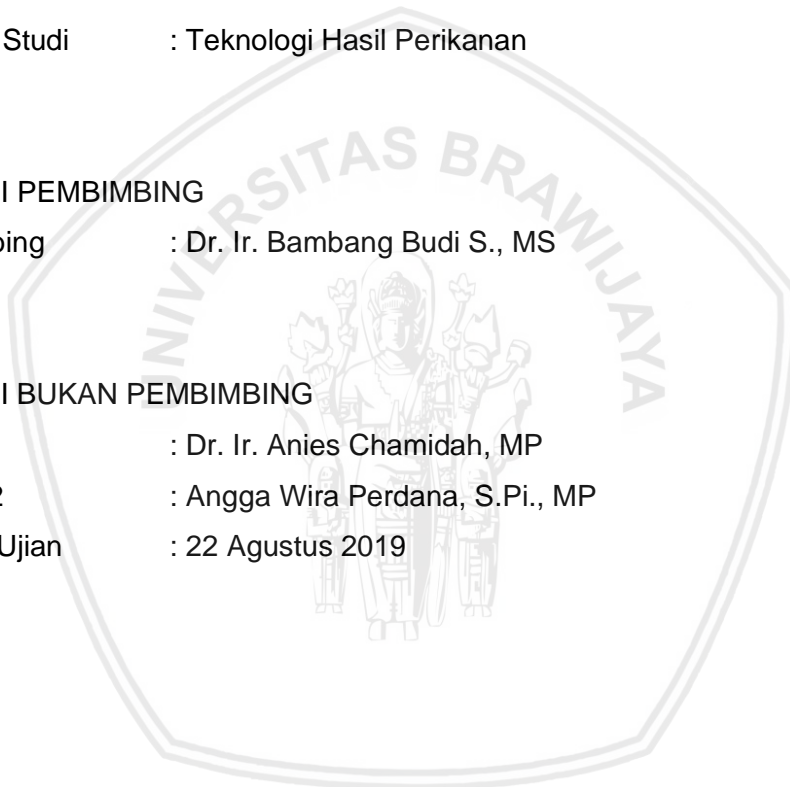
Nama Mahasiswa : Achyar Naufalzuhi
NIM : 155080301111046
Program Studi : Teknologi Hasil Perikanan

PENGUJI PEMBIMBING

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

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING

Penguji 1 : Dr. Ir. Anies Chamidah, MP
Penguji 2 : Angga Wira Perdana, S.Pi., MP
Tanggal Ujian : 22 Agustus 2019



PERNYATAAN ORISINALITAS

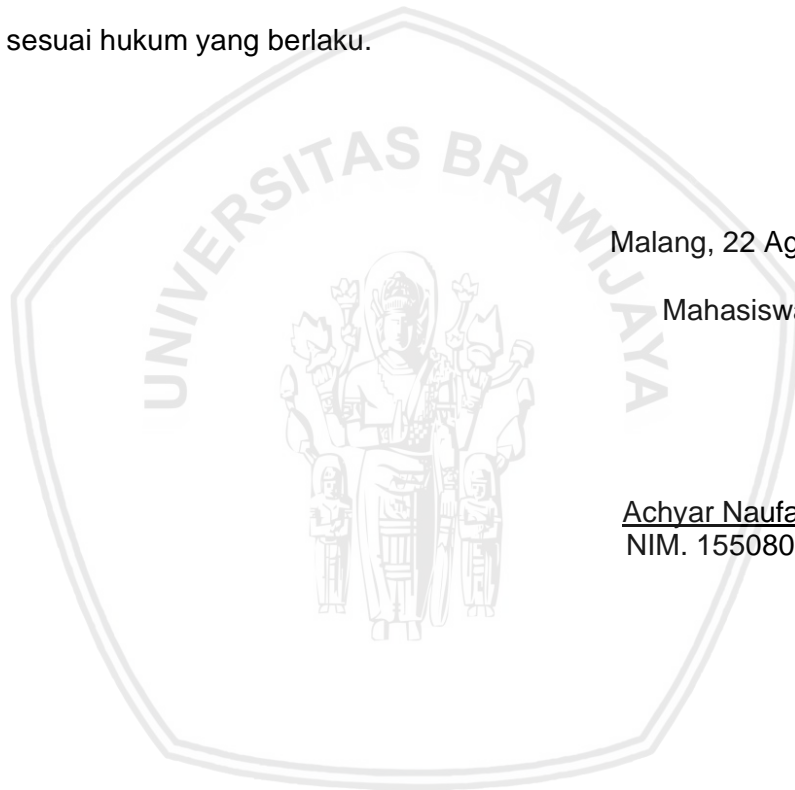
Dengan ini saya menyatakan bahwa laporan skripsi yang saya tulis benar-benar hasil karya saya dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan dalam daftar pustaka.

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

Malang, 22 Agustus 2019

Mahasiswa

Achyar Naufalzuhi
NIM. 155080301111046



UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyadari sepenuhnya dalam penyusunan laporan skripsi ini tidak lepas dari bantuan serta dukungan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya yang telah diberikan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
2. Kedua orang tua dan seluruh keluarga yang selalu memberikan doa dan dukungan selama kegiatan dan penyusunan laporan skripsi ini.
3. Bapak Dr. Ir. Bambang Budi Sasmito, MS. selaku dosen pembimbing yang telah banyak memberikan pengarahan serta motivasi mulai dari penyusunan proposal hingga penyelesaian laporan skripsi ini.
4. Teman-teman satu bimbingan yang selalu membantu sejak PKM sampai skripsi sehingga penelitian dan laporan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
5. Teman-teman Teknologi Hasil Perikanan 2015 yang telah memberikan semangat dan dukungan.
6. Serta seluruh pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan laporan skripsi ini.

Malang, 22 Agustus 2019

Penulis

RINGKASAN

ACHYAR NAUFALZUHDI. Karakterisasi Aktivitas Antikolesterol Dari Variasi Konsentrasi Ekstrak Metanol Teh Hijau Daun *Sonneratia alba* Secara In Vitro (dibawah bimbingan **Dr. Ir. Bambang Budi Sasmito, MS**)

Kepulauan Indonesia memiliki luas hutan mangrove terbesar di Asia. Potensi mangrove di Indonesia bila dibandingkan dengan potensi mangrove di Negara-negara Asia terlihat memiliki potensi terbesar di Asia. Salah satu dari keberagaman mangrove yang ada di Indonesia ialah *Sonneratia alba* (lindur). Tanaman lindur dapat dimanfaatkan sebagai sumber karbohidrat pengganti nasi, mengobati penyakit mata, herpes, obat diare, malaria, dan obat luka bakar. Dari penelitian-penelitian yang telah dilakukan, dapat dibuktikan bahwa mangrove *Sonneratia alba* memiliki potensi sebagai antikolesterol. Adanya kandungan antikolesterol dalam daun *Sonneratia alba* dapat diaplikasikan dalam sebuah produk agar pemanfaatan daun mangrove lebih maksimal. Maka dari itu, penelitian ini memanfaatkan daun *Sonneratia alba* untuk dijadikan teh rendah tanin yang memiliki kandungan antikolesterol.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah teh daun mangrove *Sonneratia alba* mempunyai aktivitas antikolesterol. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2018 hingga Maret 2019 di Laboratorium Perencanaan Hasil Perikanan dan Laboratorium Hidrobiologi Divisi Lingkungan dan Bioteknologi Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang. Uji Antikolesterol dan Uji Kadar Serat dilaksanakan di Laboratorium Gizi Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Airlangga Surabaya pada Maret 2019. Uji LC-MS dilaksanakan di Pusat Laboratorium Forensik, Jakarta pada bulan Maret 2019.

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen. Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap, yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan yang dilakukan yaitu mengurangi kadar tanin pada daun *Sonneratia alba* menggunakan abu sekam padi dengan konsentrasi dan lama waktu yang telah ditentukan kemudian diuji kadar taninnya. Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian pendahuluan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan 3 ulangan. Penelitian utama meliputi uji kadar tanin, uji aktivitas antioksidan metode DPPH, uji aktivitas antioksidan metode FRAP, kadar air, kadar abu, kadar serat kasar, uji fitokimia, uji antikolesterol, dan uji LC-MS. Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian utama adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan 3 ulangan.

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antikolesterol, pada perlakuan kontrol negatif mendapatkan % penurunan kadar kolesterol sebesar 7,82% sedangkan pada kontrol positif mendapatkan hasil sebesar 47,51%. Pada perlakuan sampel uji yakni ekstrak teh daun *Sonneratia alba* pada konsentrasi 500 ppm mendapatkan % penurunan kadar kolesterol sebesar 47,24%, sedangkan pada konsentrasi 600 ppm mendapatkan hasil sebesar 50,08% dan pada konsentrasi 700 ppm mendapatkan hasil 51,17%.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya yang telah diberikan kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan usulan skripsi yang berjudul “Karakterisasi Aktivitas Antikolesterol Dari Variasi Konsentrasi Ekstrak Metanol Teh Hijau Daun *Sonneratia alba* Secara In Vitro”. skripsi ini berisi pendahuluan, tinjauan pustaka, metode penelitian, Hasil dan Pembahasan dan Penutup.

Penulis menyadari pelaksanaan penyusunan usulan skripsi masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis menyampaikan maaf atas ketidaksempurnaan pada laporan ini. Penulis juga mengharapkan kritik dan saran yang dapat membangun khususnya dari dosen pembimbing agar dapat menghasilkan karya yang lebih baik. Semoga laporan ini dapat bermanfaat bagi semua pihak pada masa sekarang maupun masa mendatang.

Malang, 22 Agustus 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
COVER	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
LEMBAR IDENTITAS TIM PENGUJI	iv
PERNYATAAN ORISINALITAS	v
UCAPAN TERIMAKASIH	vi
RINGKASAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan.....	5
1.5 Hipotesis.....	5
1.6 Waktu dan Tempat.....	6
2. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 <i>Sonneratia alba</i>	7
2.1.1 Klasifikasi.....	7
2.1.2 Morfologi.....	7
2.1.3 Senyawa Bioaktif.....	8
2.2 Tanin.....	9
2.3 Flavonoid.....	11
2.4 Alkaloid.....	12
2.5 Kolesterol.....	13
2.6 Teh.....	14
2.6.1 Teh Hijau.....	15
2.6.2 Manfaat Teh untuk Kesehatan.....	17
2.7 Abu Sekam Padi.....	17
2.8 Ekstraksi.....	18
2.9 Pelarut.....	19
2.9.1 N-heksan.....	20
2.9.2 Metanol.....	21
2.9.3 Etanol.....	21
2.10 Uji Fitokimia.....	22
2.11 Uji Aktivitas Antioksidan.....	22
2.12 LC-MS (<i>Liquid Chromatography-Mass Spectrometry</i>).....	25
3. METODE PENELITIAN	26
3.1 Materi Penelitian.....	26
3.1.1 Bahan Penelitian.....	26
3.2.2 Alat Penelitian.....	26
3.2 Metode Penelitian.....	27
3.2.1 Penelitian Pendahuluan.....	28
3.2.2 Penelitian Utama.....	29

3.3	Prosedur Penelitian	30
3.3.1	Preparasi Bahan Baku.....	30
3.3.2	Pengurangan Kadar Tanin Daun Mangrove <i>Sonneratia alba</i>	30
3.3.3	Pembuatan Teh Daun Mangrove <i>Sonneratia alba</i>	31
3.3.4	Ekstraksi daun Mangrove <i>Sonneratia alba</i>	31
3.3.5	Perhitungan Rendemen	32
3.3.6	Uji proksimat	32
3.3.7	Uji Fitokimia	33
3.3.8	Uji Pengurangan Tanin	34
3.3.9	Uji Antioksidan.....	35
3.3.10	Uji Toksisitas (<i>Brine Shrimp Lethaly Test</i>).....	38
3.3.11	Uji Aktivitas Antikolesterol	39
3.3.12	Analisis <i>Liquid Chromatrography Mass Spectrometry</i> (LC-MS).....	41
4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	42
4.1	Hasil Penelitian Pendahuluan	42
4.1.1	Rendemen Ekstrak daun <i>Sonneratia alba</i>	42
4.1.2	Kadar Air	44
4.1.3	Uji Tanin Setelah Pengurangan Tanin	45
4.1.4	Uji Fitokimia	46
4.2	Hasil Penelitian Utama	48
4.2.1	Uji Toksisitas.....	48
4.2.2	Uji Antioksidan Metode DPPH.....	49
4.2.3	Uji Antioksidan Metode FRAP	50
4.2.4	Uji Aktivitas Antikolesterol	52
4.2.5	LCMS	57
BAB 5.	PENUTUP	60
5.1	Kesimpulan.....	60
5.2	Saran	60
	DAFTAR PUSTAKA.....	61
	LAMPIRAN	66

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1. Sifat Fisika dan Kimia N-heksan	20
Tabel 2. Sifat Fisika dan Kimia Etanol.....	22
Tabel 3. Rancangan Percobaan Penelitian pendahuluan.....	29
Tabel 4. Rancangan Percobaan Penelitian Utama.....	29
Tabel 5. Hasil Perhitungan Rendemen Daun Sonneratia alba	42
Tabel 6. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Sonneratia alba	46
Tabel 7. Nilai LC ₅₀ Ekstrak Daun Mangrove Sonneratia alba	49
Tabel 8. Nilai IC ₅₀ Ekstrak Metanol Sonneratia alba	50
Tabel 9. Hasil Pembuatan Kurva Standar.....	54
Tabel 10. Hasil Penurunan Kadar Kolesterol	55



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Sonneratia alba</i>	6
2. Pengurangan Kadar Tanin.....	22
3. Pembuatan Serbuk Teh	23
4. Pembuatan Larutan Standar Asam Tanat 1000 ppm	24
5. Penetapan Panjang Gelombang Serapan Maksimum	24
6. Penetapan Kadar Tanin	25
7. Pembuatan Teh Daun <i>Sonneratia alba</i>	25
8. Skema Penelitian Utama	29
9. Pembuatan Larutan Standar Asam Tanat 1000 ppm	30
10. Penetapan Panjang Gelombang Serapan Maksimum.....	31
11. Uji Kadar Tanin	31
12. Pembuatan Larutan Blanko DPPH 0,5 mM	32
13. Pembuatan Larutan Blanko C = 40 µg/ml	32
14. Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH	34
15. Preparasi Sampel Uji FRAP	34
16. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum FRAP	36
17. Pengukuran Larutan Blanko FRAP	37
18. Pembuatan Kurva Baku Asam Askorbat	39
19. Penentuan Absorbansi Sampel	40
20. Uji Kadar Air	41
21. Uji Kadar Abu	42
22. Uji Serat Kasar	44
23. Uji pH.....	45
24. Pembuatan Larutan Asam Galat 1000 µg/ml	45
25. Pembuatan Larutan Na ₂ CO ₃ 10% (b/v)	46
26. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat.....	46
27. Penentuan Kurva Kalibrasi Asam Galat	47
29. Pembuatan Larutan Baku Katekin	49
30. Pembuatan Deret Standar Katekin	50
31. Analisis Kadar Katekin	50
32. Uji Flavonoid	51
33. Uji Saponin.....	51
34. Uji Steroid dan Triterpenoid	52
35. Uji Alkaloid	52
36. Uji LC-MS	54

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Pengurangan Tanin Daun <i>Sonneratia alba</i>	66
Lampiran 2. Skema Pembuatan teh Daun Mangrove <i>Sonneratia alba</i>	67
Lampiran 3. Skema Ekstraksi Teh Daun <i>Sonneratia alba</i>	68
Lampiran 4. Skema Uji Proksimat.....	69
Lampiran 5. Skema Uji Fitokimia	71
Lampiran 6. Skema Uji Pengurangan Tanin.....	73
Lampiran 7. Skema Uji Antioksidan	75
Lampiran 8. Skema Uji Antikolesterol.....	78
Lampiran 9. <i>Liquid Chromatography Mass Spectrometry</i> (LC-MS)	81
Lampiran 10. Perhitungan Kadar Air	86
Lampiran 11. Perhitungan Kadar Abu	91
Lampiran 12. Perhitungan dan Pembuatan Konsentrasi Antioksidan FRAP	92
Lampiran 13. Dokumentasi Pengurangan Tanin Daun <i>Sonneratia alba</i>	94
Lampiran 14. Dokumentasi Ekstraksi Maserasi Daun <i>Sonneratia alba</i>	94
Lampiran 15. Dokumentasi Uji Tanin pada Daun <i>Sonneratia alba</i>	95
Lampiran 16. Dokumentasi Kadar Air.....	96
Lampiran 17. Dokumentasi Uji Kadar Abu.....	98
Lampiran 18. Dokumentasi Uji Fitokimia Teh Hijau Daun <i>Sonneratia alba</i>	100
Lampiran 19. Dokumentasi Uji Antioksidan	102

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pada saat ini masalah kesehatan merupakan masalah serius yang telah bergeser dari penyakit infeksi ke penyakit degeneratif. Penyebabnya diduga karena gaya hidup faktor lingkungan, pola makan, kurangnya aktivitas fisik dan faktor stress. Gaya hidup yang tidak sehat, kurangnya beraktivitas, terlalu banyak mengonsumsi makanan mengandung lemak dan kolesterol serta kurangnya serat dapat memicu penyakit degeneratif seperti penyakit jantung dan pembuluh darah. Pada kasus kejadian penyakit ini di pengaruhi banyak faktor salah satunya disebabkan oleh hiperkolesterolemia yang merupakan kondisi dimana kadar kolesterol dalam darah meningkat di atas batas normal (Yani,2015).

Kolesterol adalah suatu zat lemak yang beredar di dalam darah, berwarna kekuningan dan berupa seperti lilin, yang diproduksi oleh hati dan sangat diperlukan oleh tubuh (Jonathan Morel, 2010). Kolesterol termasuk golongan lipid yang tidak terhidrolisis dan merupakan sterol utama dalam jaringan tubuh manusia. Kolesterol mempunyai makna penting karena merupakan unsur utama dalam lipoprotein plasma dan membran plasma serta menjadi prekursor sejumlah besar senyawa steroid (City & Noni, 2013).

Kadar kolesterol total yang tinggi akan membentuk aterosklerosis yang dapat menyebabkan hipertensi dan penyumbatan pada pembuluh darah otak, jantung, dan pembuluh darah tungkai (Kowalski, 2010). Aterosklerosis merupakan suatu penyakit terbentuknya plak di dinding pembuluh arteri besar yang mengakibatkan menyempitnya rongga pembuluh darah dan menurunkan elastisitas pembuluh darah tersebut (Sri, 2010). Penyumbatan pada pembuluh darah otak akan menyebabkan

penyakit serebrovaskular seperti stroke. Penyumbatan pada pembuluh darah jantung dapat menyebabkan penyakit kardiovaskular seperti jantung koroner. Sedangkan penyumbatan pembuluh darah tungkai menyebabkan penyakit pembuluh darah tepi yang sering terjadi pada kaki yang dapat menimbulkan keluhan nyeri, kram, dan ganren (Ruth *et al*, 2012) .

Selama ini, pengobatan yang dilakukan untuk menurunkan kadar kolesterol adalah dengan menggunakan obat-obatan sintetik. Obat sintetik cenderung harganya mahal dan memiliki efek samping bila dikonsumsi. Hal tersebut dapat mendorong berbagai usaha mencari alternatif penggunaan obat tradisional yang berasal dari tanaman obat (Agam 2012).

Salah satu cara untuk menurunkan kadar kolesterol yaitu dengan cara mengonsumsi tanaman herbal yang berasal dari tanaman. Salah satu tanaman yang bisa dimanfaatkan yaitu tanaman mangrove. Tanaman mangrove merupakan tanaman terbanyak di Indonesia baik dari segi kualitas area maupun jumlah spesies. Tanaman mangrove memiliki banyak manfaat yang bersinggungan langsung dengan kehidupan manusia mulai dari manfaat ekologi sampai dengan sebagai sumber pangan dan obat. Sebagian besar bagian dari tanaman mangrove bermanfaat sebagai bahan obat. Ekstrak dari mangrove telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat pesisir untuk keperluan obat-obatan ilmiah (Purnobasuki, 2004).

Tanaman yang mengandung flavonoid berkhasiat untuk menurunkan kolesterol. Menurut Ochani dan D'Mello (2012) meneliti tentang aktivitas antioksidan dan antihiperlipid (antikolesterol). Hasilnya ekstrak metanol calyces dan daun H. Sabdariffa mengandung polifenol dan flavonol yang secara signifikan mempunyai aktivitas antioksidan dan antihiperlipid (antikolesterol). Kandungan aktif yang diduga terdapat

dalam daun suji adalah saponin dan flavonoid seperti kandungan yang terdapat pada ekstrak daun dan calyces pada *H. Sabdariffa* Linn sehingga mampu menurunkan kolesterol.

Pengolahan tanaman seperti mangrove dapat diolah dan dijadikan sebagai minuman fungsional seperti teh. Teh merupakan minuman yang banyak dikonsumsi dan sudah dikenal oleh masyarakat luas di dunia terutama di Indonesia. Selain itu teh memiliki kandungan yang sangat bermanfaat bagi kesehatan tubuh yaitu polifenol, tanin, flavonoid, katekin, vitamin C dan sejumlah mineral (Majid *et al.*, 2010). Salah satu jenis teh yaitu teh hijau. Teh hijau diketahui mempunyai manfaat bagi kesehatan antara lain dapat menurunkan resiko penyakit kardiovaskular, menenangkan saraf, mencegah karang gigi, mempertahankan berat badan dan menurunkan kolesterol (Lubis *et al.*, 2016). Penelitian yang pernah dilakukan oleh Hardani *et al.* (2014), mengonsumsi teh hijau pada wanita yang mengalami kelebihan berat badan dapat mengubah profil lipid yaitu penurunan kolesterol total, penurunan trigliserida, penurunan LDL, dan peningkatan HDL. Pemberian ekstrak teh hijau secara signifikan dapat meningkatkan 4% jumlah pengeluaran energi dibandingkan plasebo. Teh hijau berpotensi sebagai termogenesis sehingga mampu meningkatkan pembakaran kalori dan lemak yang berimplikasi terhadap penurunan berat badan.

Senyawa aktif flavonoid banyak manfaatnya bagi tubuh. Salah satunya yaitu flavonoid dapat digunakan sebagai penurun kolesterol dalam tubuh, flavonoid mampu mengikis endapan kolesterol pada dinding pembuluh darah koroner, Dengan terkikisnya kolesterol pada dinding pembuluh darah, maka tidak akan memicu timbulnya penyakit lain yang di akibatkan oleh kolesterol, seperti hipertensi, stroke dan jantung (Anggraini, 2017).

Daun *Sonneratia alba* mengandung 2-(2etoksi etanol, kau-16-ena dan benzophenon, senyawa fenolik golongan flavonoid, asam fenolat, dan tannin dihidroflavonol, asam kafeat, asam vanilat, asam p-hidroksi benzoate, dan tanin. alkaloid, kumarin, flavonoid, fenol dan polifenol, quinon, resin, saponin, fitosterol, tanin, xanthoprotin, pigmen (klorofil, karotenoid) dan gula sehingga tanaman ini berpotensi sebagai antioksidan (Ridlo, 2017).

Menurut Indri (2017) bahwa ekstrak metanol daun mangrove *Sonneratia alba* mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu fenol, steroid/ triterpenoid, saponin dan tanin Hal ini dapat disebabkan karena perbedaan sifat pelarut uji dan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid yang bersifat semi-polar dan flavonoid yang bersifat polar. Atau dapat disebabkan pula karena memang tidak terkandung senyawa tersebut pada jenis spesies *Sonneratia alba*.

Berdasarkan uraian diatas, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas antikolesterol dari daun mangrove *Sonneratia alba* serta menentukan konsentrasi terbaik yang dapat menurunkan kadar kolesterol secara in vitro sehingga dapat memberikan manfaat dan informasi kepada masyarakat maupun pembaca.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Apakah Terdapat senyawa antikolesterol yang terdapat pada ekstrak teh hijau daun mangrove *Sonneratia alba*?
2. Bagaimana pengaruh perbedaan pelarut ekstrak daun mangrove *Sonneratia alba* terhadap aktivitas antikolesterol?
3. Konsentersasi ekstrak manakah yang dapat menurunkan kolesterol pada teh hijau daun mangrove *Sonneratia alba*?

1.3 Tujuan

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh perbedaan suhu pengeringan teh daun mangrove *Sonneratia alba* sebagai antikolesterol.

Adapun tujuan penelitian secara khusus adalah :

1. Mengetahui adanya senyawa antikolesterol yang terdapat pada ekstrak teh hijau daun mangrove *Sonneratia alba*
2. Mengetahui pengaruh perbedaan pelarut ekstrak daun mangrove *Sonneratia alba* terhadap aktivitas antikolesterol.
3. Mengetahui konsentrasi ekstrak yang dapat menurunkan kolesterol pada the hijau daun mangrove *Sonneratia alba*

1.4 Kegunaan Penelitian

Kegunaan dari penelitian ini yaitu untuk meningkatkan kegunaan dari daun mangrove *Sonneratia alba* dalam bentuk teh sebagai salah satu produk perikanan yang mempunyai manfaat sebagai antikolesterol.

1.5 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian yang dilakukan adalah :

1. Terdapat senyawa antikolesterol yang terdapat pada ekstrak teh hijau daun *Sonneratia alba*
2. Terdapat pengaruh perbedaan pelarut ekstrak daun mangrove *Sonneratia alba* terhadap aktivitas antikolesterol.
3. Konsentrasi tertinggi ekstrak teh daun hijau *Sonneratia alba* dapat menurunkan kolesterol

1.6 Waktu dan Tempat

Penelitian ini akan dilakukan pada Januari - April 2019 di Laboratorium Perekayasaan hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang dan Laboratorium Keamanan Hasil Pangan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Sonneratia alba*

Mangrove merupakan salah satu bentuk ekosistem hutan yang khas untuk daerah tropis, terdapat diwilayah pesisir pantai dan dipengaruhi oleh pasang surut air laut dengan kondisi tanah berlumpur berpasir. Ekosistem hutan ini disebut juga ekosistem hutan payau karena terdapat di daerah payau (estuarin) yaitu daerah perairan dengan kadar garam/salinitas yang tinggi. Species tumbuhan yang hidup pada ekosistem hutan mangrove adalah species tumbuhan yang memiliki kemampuan adaptasi yang tinggi terhadap salinitas (Asroen, 2015).

2.1.1 Klasifikasi

Klasifikasi tumbuhan pedada putih (*Sonneratia alba*) menurut Duke (2006) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Mytales
Famili : Sonneratia
Genus : *Sonneratia*
Spesies : *Sonneratia alba*



Gambar 1. *Sonneratia alba*
Sumber: (Wetlands.or.id, 2019)

2.1.2 Morfologi

Sonneratia alba Species tumbuhan ini sering disebut dengan nama Bangka hitam, Dongoh korap, Bakau hitam, Bakau korap, Bakau merah, Jankar, Lenggayong,

Belukap, Iolaro. Spesies tumbuhan ini perawakan berupa pohon ketinggian mencapai 27 m, jarang melebihi 30 m. Diameter batang hingga 70 cm dengan kulit kayu berwarna gelap hingga hitam dan terdapat celah horizontal. Akar tunjang dan akar udara yang tumbuh dari percabangan bagian bawah. Daun berwarna hijau, panjang 2,5-5,5 cm. Pinak daun terletak pada pangkal gagang daun berukuran 5,5-8,5 cm. Duduk daun berlawanan berbentuk elips melebar hingga bulat memanjang dengan ujung daun meruncing berukuran 11-23 x 5-13 cm. Bunga berkelompok terdiri dari 4-8 bunga per kelompok letaknya di ketiak daun bunga seperti cagak, bersifat biseksual, masing-masing menempel pada gagang individu yang panjangnya 2,5-5 cm. Petals berjumlah 4 berwarna putih, kalyx berjumlah 4 berwarna kuning pucat, panjangnya 13-19 mm. Stamen tidak bertangkai berjumlah 8 stamen berukuran 0,5-1,5 mm. Buah berbentuk lonjong/panjang hingga berbentuk telur berukuran 5-7 cm, berwarna hijau kecoklatan, seringkali kasar di bagian pangkal, berbiji tunggal. Hipokotil silindris, kasar dan berbintil. Leher kotilodon kuning ketika matang berukuran panjang 36-70 cm dan diameter 2-3 cm. (Asroen, 2015).

2.1.3 Senyawa Bioaktif

Sumber daya alam di Indonesia yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan alami, salah satunya adalah mangrove *Sonneratia alba*. Tanaman ini mengandung senyawa metabolit sekunder seperti tanin, senyawa fenolat, klorofil, karotenoid dan alkaloid. Buahnya dijadikan sebagai bahan makanan dan minuman, sedangkan daunnya yang masih muda digunakan sebagai sayuran. Kayu dan kulit kayu *Sonneratia alba* digunakan sebagai bahan penyamak (tanning) dan zat warna, air rebusan kayu (ekstrak) dapat digunakan sebagai obat pelangsing, antidiare dan antimuntah (Ridlo *et al.*, 2017).

Produksi metabolit sekunder merupakan kompensasi akibat interaksi dengan lingkungan biotik dan abiotik. Senyawa metabolit sekunder berfungsi untuk mencegah infeksi bakteri patogen. Komponen aktif yang terdeteksi pada ekstrak kasar metanol daun *Sonneratia alba* mengandung komponen aktif berupa alkaloid, tanin, saponin, fenol, flavonoid, dan triterpenoid (Tarman *et al.*, 2013).

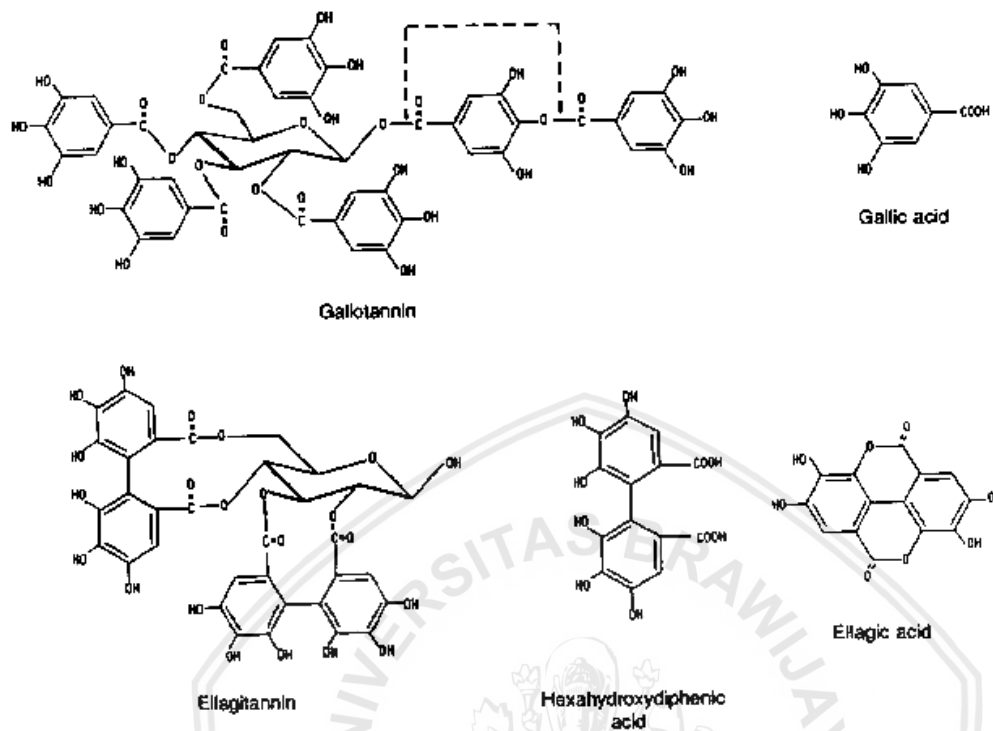
2.2 Tanin

Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang mempunyai beberapa khasiat, diantaranya yaitu sebagai astringen, antidiare, antikolesterol, antibakteri dan antioksidan (Chrissanty, 2012). Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal, mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut, Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin memiliki peranan biologis yang kompleks mulai dari pengendap protein hingga pengkhelet logam. Tanin juga dapat berfungsi sebagai antioksidan biologis (Malangngi *et al.*, 2012).

Tanin menurut Ashok dan Upadhyaya (2012), dibagi menjadi 2 kelompok polimer :

a. Tanin Terhidrolisis

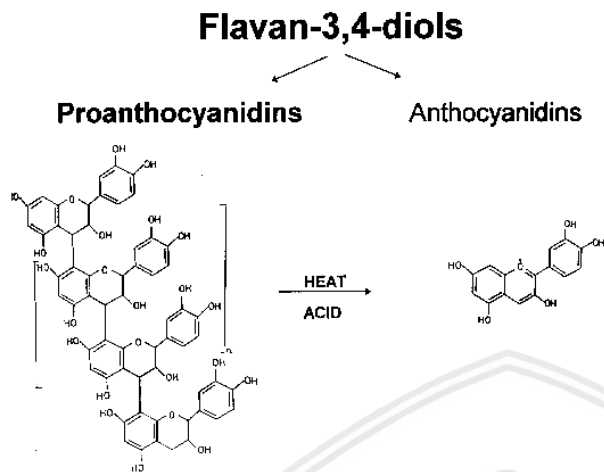
Pada pusat molekul tanin terhidrolisis terdapat karbohidrat (biasanya D-glukosa). Kelompok hidroksil dari karbohidrat sebagian atau seluruhnya diesterifikasi dengan kelompok fenolik seperti asam galat (dalam gallotannins) atau asam ellagic (dalam ellagitannins). Tanin terhidrolisis dihidrolisis oleh asam lemah atau basa lemah untuk menghasilkan asam karbohidrat dan fenolik. Contoh-contoh dari gallotannin adalah ester asam galat glukosa dalam asam tannic ($C_{76}H_{52}O_{46}$), ditemukan didaun dan kulit pada banyak spesies tanaman.



Gambar 2. Struktur Tanin Terhidrolisis (Google image 2019)

b. Tanin Terkondensasi

Tanin terkondensasi yang juga dikenal sebagai *proanthocyanidins* merupakan polimer yang terdiri dari 2 sampai 50 (atau lebih) unit flavonoid yang digabungkan oleh ikatan karbon. Tanin terkondensasi tidak mudah dipecah oleh hidrolisis. Sementara itu, tanin terhidrolisis dan kebanyakan tanin terkondensasi bersifat larut dalam air, tetapi beberapa tanin terkondensasi tidak dapat larut.



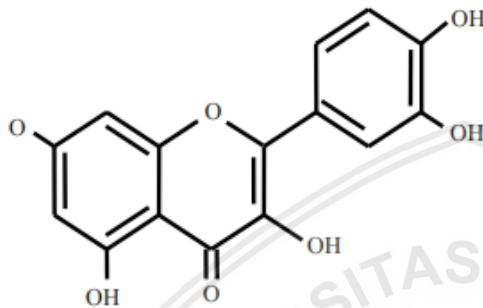
Gambar 3. Struktur Tanin Terkondensasi (Google Image 2019)

2.3 Flavonoid

Menurut Astuningsih (2012), Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang diisolasi dari berbagai tanaman dengan lebih dari 8000 individu yang dikenali. Senyawa flavonoid sering diketahui manfaatnya sebagai antioksidan khususnya penangkap radikal bebas. Salah satu artikel jurnal pernah menyatakan bahwa kemampuan antioksidan dari flavonoid yaitu dapat mengurangi pembentukan radikal bebas dan menangkap radikal bebas. Kemampuan antioksidan flavonoid sendiri juga dapat dipengaruhi dari beberapa faktor salah satunya yaitu gugus fungsional yang berikatan pada struktur utamanya. Suatu hasil penelitian yang pernah dilakukan menunjukkan bahwa aktivitas penangkapan radikal yang diuji pada flavonoid berhubungan dengan jumlah dan posisi ikatan gugus hidroksil dalam molekul (Santoso, 2016).

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa phenolik dengan struktur kimia C6-C3-C6. Kerangka flavonoid

terdiri atas satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen dan bentuk teroksidasi cincin ini dijadikan dasar pembagian flavonoid ke dalam sub-sub kelompoknya. Sistem penomoran digunakan untuk membedakan posisi karbon di sekitar molekulnya (Redha, 2010).

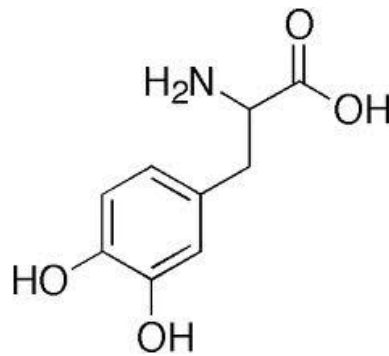


Gambar 4. Kerangka C6-C3-C6 (Google Image 2019)

2.4 Alkaloid

Alkaloid merupakan salah satu metabolisme sekunder yang terdapat pada tumbuhan, yang bisa dijumpai pada bagian daun, ranting, biji, dan kulit batang. Alkaloid mempunyai efek dalam bidang kesehatan berupa pemicu sistem saraf, menaikkan tekanan darah, mengurangi rasa sakit, antimikroba, obat penenang, obat penyakit jantung dan lain-lain lain (Aksara *et al.*, 2013).

Senyawa alkaloid yang berkhasiat sebagai anti diare, anti diabetes, anti mikroba dan antimalaria, akan tetapi beberapa senyawa golongan alkaloid bersifat racun sehingga diperlukan adanya identifikasi senyawa golongan alkaloid yang dapat diketahui manfaatnya. Alkaloid adalah senyawa metabolit sekunder terbanyak yang memiliki atom nitrogen, yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan dan hewan. Sebagian besar senyawa alkaloid bersumber dari tumbuh-tumbuhan, terutama angiosperm. Lebih dari 20% spesies angiosperm mengandung alkaloid (Ningrum *et al.*, 2016).



Gambar 5. Struktur Alkaloid (Google Image 2019)

2.5 Kolesterol

Kolesterol merupakan zat alamiah dengan sifat fisik serupa lemak tetapi mempunyai gugus steroida, Kolesterol juga merupakan esensial bagi tubuh untuk sintesis zat-zat penting, seperti membran sel dan bahan isolasi sekitar serat saraf, begitu pula hormon kelamin dan anak ginjal, vitamin D, serta asam empedu (Detha, 2015). Kolesterol diangkut sebagai bagian dari struktur yang bernama lipoprotein. Ada beberapa jenis lipoprotein, tetapi dua jenis lipoprotein utama yang perlu kita perhatikan adalah lipoprotein berdensitas rendah atau Low Density Lipoprotein (LDL) dan lipoprotein berdensitas tinggi atau High Density Lipoprotein (HDL) (Anggraini, 2013)

Kadar kolesterol total yang tinggi akan membentuk aterosklerosis yang dapat menyebabkan hipertensi dan penyumbatan pada pembuluh darah otak, jantung, dan pembuluh darah tungkai. Aterosklerosis merupakan suatu penyakit terbentuknya plak di dinding pembuluh arteri besar yang mengakibatkan menyempitnya rongga pembuluh darah dan menurunkan elastisitas pembuluh darah tersebut (Nasution, 2013). Penyumbatan pada pembuluh darah jantung dapat menyebabkan penyakit kardiovaskular seperti jantung koroner. Sedangkan penyumbatan pembuluh darah tungkai menyebabkan penyakit pembuluh darah tepi yang sering terjadi pada kaki yang dapat menimbulkan keluhan nyeri, kram, dan ganren (Prabowo, *et al.*, 2013).

Tanaman yang mengandung flavonoid berkhasiat untuk menurunkan kolestero (Anggraini, 2013). Menurut Ochani dan D'Mello (2015) tentang aktivitas antioksidan dan antihiperlipid (antikolesterol). Hasilnya ekstrak etanol calyces dan daun *H. Sabdariffa* mengandung polifenol dan flavonol yang secara signifikan mempunyai aktivitas antioksidan dan antihiperlipid (antikolesterol). Kandungan aktif pada antikolesterol yang diduga terdapat dalam daun suji adalah saponin dan flavonoid seperti kandungan yang terdapat pada ekstrak daun dan calyces pada *H. Sabdariffa* Linn sehingga mampu menurunkan kolesterol (Anggraini, 2013).

Senyawa aktif flavonoid banyak manfaatnya bagi tubuh. Salah satunya yaitu flavonoid dapat digunakan sebagai penurun kolesterol dalam tubuh, flavonoid mampu mengikis endapan kolesterol pada dinding pembuluh darah koroner. Dengan terkikisnya kolesterol pada dinding pembuluh darah, maka tidak akan memicu timbulnya penyakit lain yang di akibatkan oleh kolesterol, seperti hipertensi, stroke dan jantung (Anggraini, 2013).

2.6 Teh

Kata teh berasal dari Cina. Masyarakat Cina daerah Amoy menyebut teh dengan *tay* sementara masyarakat daerah Kanton menyebutnya *cha*. Nama ini kemudian menyebar ke mancanegara dengan penyebutan yang sedikit berbeda. Orang Inggris menyebutnya *tea*, di daerah Spanyol diucapkan *te*, dan di Jerman teh disebut dengan *tee*. Keanekaragaman nama tersebut menunjukkan bahwa teh sudah banyak dikenal di dunia. Teh, minuman yang paling banyak dikonsumsi di dunia setelah air, di produksi dari daun tanaman teh (*C. sinensis* Linn). Daun teh yang diambil biasanya adalah dua sampai tiga pucuk daun yang paling ujung (*terminal*

leaves) beserta batang muda muda (*growing apex*) kemudian diperlakukan dengan proses pengolahan tertentu (Nasikun dan Setiawati, 1991).

Tanaman teh memiliki manfaat diantaranya sebagai anti kanker, antioksidan, antimikroba, antibakteria, mencegah aterosklerosis, menjaga kesehatan jantung, anti diabetes, menstimulasi sistem imun, mencegah Parkinson, menurunkan kolesterol, mencegah karies gigi, mencegah bau mulut, melancarkan urine, menghindari stroke dan menurunkan tekanan darah (Syah, 2006).

2.6.1 Teh Hijau

Teh hijau diperoleh tanpa proses fermentasi (oksidasi enzimatis), yaitu dibuat dengan cara menginaktivkan enzim fenolase yang ada dalam pucuk daun teh segar, dengan cara pemanasan sehingga oksidasi terhadap katekin (zat antioksidan) dapat dicegah. Teh kaya akan sumber polifenol, khususnya total flavonoid. Total flavonoid yang paling utama dalam teh hijau adalah katekin (McKey dan Jeffrey, 2002).

Dalam proses pengolahan teh hijau, proses fermentasi harus dihindari. Proses dimulai dengan pelayuan yaitu dengan cara daun teh yang baru dipetik, ditebarkan untuk dikurangi kadar airnya hingga menjadi layu. Daun yang telah layu direbus diatas wajan pada suhu 90°C selama 8-10 menit. Daun teh yang telah layu kemudian didinginkan dan digulung di atas serumbu bambu yang bawahnya telah diletakan arang yang membara atau menggunakan mesin pengering yang mempunyai suhu masuk 80-100°C dan suhu keluar 55-60°C selama 6-10 menit sehingga kadar air daun teh turun menjadi sebesar 5-8 %. Tahap akhir yang dilakukan adalah proses sortasi untuk memisahkan antara daun teh yang rusak dan yang tidak (Muchidin, 1994).

Persyaratan umum teh hijau menurut Badan Standarisasi Nasional (2016), dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Badan Standarisasi Nasional Teh Hijau

No.	Parameter	Persyaratan Mutu
1.	Kenampakan keringan teh hijau	
1.1	Ukuran partikel	Harus sesuai dengan jenis
1.2	Warna	Hijau kehitaman sampai dengan kuning kecoklatan
1.3	Bentuk	Tergulung/terpilin sempurna sampai dengan bubuk, batang serat
1.4	Aroma	Normal, khas teh hijau
1.5	Tekstur	Padat sampai dengan tidak padat
1.6	Keragaman ukuran	Sangat seragam sampau dengan kurang seragam
1.7	Benda asing	Tidak ada
2	Penilaian air seduhan	
2.1	Warna	Hijau kekuningan sangat cerah , sampai dengan merah kekuningan
2.2	Rasa yang meliputi unsur kesegaran (<i>briskness</i>), kekuatan (<i>strenght</i>), aroma (<i>flavour</i>), dan rasa asing	Sangat enak khas teh hijau (<i>very good</i>) sampai dengan tidak enak (<i>bad</i>)
3	Kenampakan ampas seduhan (<i>infused leaf</i>)	
3.1	Warna	Hijau kekuningan sangat cerah sampai dengan kusam (<i>dull</i>)
3.2	Aroma	Khas teh hijau
4	Bahan tambahan pangan	
4.1	Penguat warna	Tidak ada
4.2	Penguat aroma	Tidak ada
4.3	Penguat rasa	Tidak ada

2.6.2 Manfaat Teh untuk Kesehatan

Konsumsi teh mulai menjadi bagian dari gaya hidup masyarakat Indonesia, seiring dengan tingkat pemahaman dan kesadaran tentang gerakan back to nature serta kecenderungan masyarakat mengonsumsi makanan atau minuman substitusi sebagai imbalan diet kaya lemak, kolesterol, dan rendah serat. Teh hijau merupakan salah satu jenis teh yang prosesnya tidak melalui proses fermentasi. Teh hijau berdasarkan hasil penelitian memiliki kandungan katekin yang merupakan golongan polifenol. Senyawa ini diketahui efektif dalam menurunkan risiko penyakit kardiovaskular, diabetes, penurunan berat badan, sebagai antiinflamasi, antivirus dan antibakteri (Cyboran et al., 2015).

Teh hijau telah menarik perhatian masyarakat dunia akhir-akhir ini, terutama para-ahli dalam penelitian tentang khasiatnya. Teh hijau mampu meningkatkan kemampuan antibiotik dalam membunuh bakteri resisten hingga tiga kali lipat (Hardianto, 2017) dan juga dapat mencegah tumbuhnya dan membunuh bakteri berbahaya seperti Clostridia, Salmonella dan Escherichia coli (Lee *et al.*, 2006). Beberapa penelitian terbaru menyatakan bahwa teh hijau memiliki beberapa manfaat antara lain sebagai antikanker, antibakteri, menurunkan kolesterol, serta meningkatkan kekebalan tubuh (Zeniusa dan Ricky, 2017).

2.7 Abu Sekam Padi

Abu hasil pembakaran sekam padi merupakan sumber kalium dan mengandung silika/karbon. Hasil pembakaran sekam padi menunjukkan kandungan SiO₂ mencapai 80-90% dan 15 % berat abu akan diperoleh dari total berat sekam padi yang dibakar (Soenardjo dan Endang, 2017).

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 ke dalam pori-pori karbon dan akhirnya tahap ketiga molekul karbon air akan diserap ke dinding bagian dalam karbon (Chrissy, 2012).

2.8 Ekstraksi

Ekstraksi adalah metode pemisahan suatu komponen *solute* (cair) dari campurannya menggunakan sejumlah massa solven sebagai tenaga pemisah. Proses ekstraksi terdiri dari tiga langkah besar, yaitu proses pencampuran, proses pembentukan fasa setimbang, dan proses pemisahan fasa setimbang. Solven merupakan faktor terpenting dalam proses ekstraksi, sehingga pemilihan solven merupakan faktor penting. Solven ini harus saling melarutkan terhadap salah satu komponen murninya, sehingga diperoleh dua fasa rafinat. Proses ekstraksi dapat berjalan dengan baik bila pelarut ideal harus memenuhi syarat-syarat yaitu selektivitasnya tinggi, memiliki perbedaan titik didih dengan *solute* cukup besar, bersifat *inert*, perbedaan *density* cukup besar, tidak beracun, tidak bereaksi secara kimia dengan *solute* maupun diluen, viskositasnya kecil, tidak bersifat korosif, tidak mudah terbakar, murah dan mudah didapat. Beberapa faktor yang berpengaruh dalam proses ekstraksi adalah temperatur, waktu kontak, perbandingan *solute*, faktor ukuran partikel, pengadukan dan waktu dekantasi (Yasita dan Intan, 2009). Terdapat beberapa teknik ekstraksi yang dapat digunakan untuk mengisolasi senyawa aktif dari bahan alam, diantaranya ekstraksi maserasi, sokletasi, refluks, sonikasi, destilasi dan lain-lain. Efektivitas ekstraksi sangat bergantung pada kondisi-kondisi percobaan yang

digunakan seperti waktu ekstraksi, sampel-pelarut dan jenis pelarut (Sa'adah *et al.*, 2017).

Sebelum memilih suatu metode perlu menentukan terlebih dahulu target ekstraksi. Ada beberapa target ekstraksi menurut Mukhriani (2014), diantaranya :

1. Senyawa bioaktif yang tidak diketahui
2. Senyawa yang diketahui ada pada suatu organisme

Sekelompok senyawa dalam suatu organisme yang berhubungan secara struktural.

2.9 Pelarut

Secara umum, hasil ekstraksi dan komponen-komponen yang terekstrak dipegaruhi oleh sifat pelarut yang akan dipakai. Selain itu, pemilihan pelarut ditentukan oleh kelarutan bahan volatil dan kemudahan pemisahan pelarut. Suatu senyawa akan mudah larut dalam pelarut yang memiliki polaritas yang sama atau mirip (Adiyasa *et al.*, 2015). Hal tersebut didukung oleh pernyataan Simorangkir *et al.* (2013), yang menyatakan bahwa pemilihan pelarut pada proses maserasi berdasarkan pada prinsip kelarutan "*like dissolve like*" yang artinya senyawa polar hanya larut dalam pelarut polar, begitu juga sebaliknya untuk senyawa-senyawa semi polar dan non polar. Menurut Susanti *et al.* (2012), pemilihan pelarut pada umumnya dipengaruhi oleh faktor-faktor antara lain :

1. Selektivitas
Pelarut dapat melarutkan semua zat yang akan terekstrak dengan cepat dan sempurna
2. Titik didih pelarut

Pelarut harus mempunyai titik didih yang cukup rendah sehingga pelarut mudah diuapkan tanpa menggunakan suhu tinggi pada proses pemurnian dan jika diuapkan tidak tertinggal dalam minyak

3. Pelarut tidak larut dalam air
4. Pelarut bersifat inert sehingga tidak bereaksi dengan komponen lain
5. Harga pelarut semurah mungkin

Pelarut mudah terbakar

2.9.1 N-heksan

Heksana adalah sebuah senyawa hidrokarbon alkana dengan rumus kimia C_6H_{14} . Dalam keadaan standar, senyawa ini merupakan cairan tak berwarna yang tidak larut dalam air (Munawaroh dan Prima, 2010). Isomer heksana tidak reaktif dan digunakan secara luas sebagai pelarut inert dalam reaksi organik karena heksana bersifat non polar. N-heksana dibuat dari hasil penyulingan minyak mentah dimana untuk produk industrinya ialah fraksi yang mendidih pada suhu 65-70°C. Manfaat N-Heksan diantaranya adalah sebagai cleansing agent pada tekstil, *furniture*, pembuatan sepatu dan *printing* industri. Selain itu, senyawa ini juga bermanfaat sebagai lem khusus yang digunakan pada atap dan sepatu (Aziz *et al.*, 2009). Sifat fisika dan kimia dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Sifat Fisika dan Kimia N-heksan (Maulida dan Zulkarnaen, 2010)

Karakteristik	Syarat
Bobot molekul	86,2 g/mol
Warna	Tak berwarna
Wujud	Cair
Titik lebur	-95°C
Titik didih	69°C (pada 1 atm)
Densitas	0,6603 g/ml pada 20°C

2.9.2 Metanol

Metanol merupakan bentuk senyawa paling sederhana dari alkohol dengan rumus kimia CH_3OH . Dalam kehidupan sehari-hari methanol dikenal sebagai Spiritus. Dalam industri kimia dan energi, metanol merupakan bahan baku primer yang sangat penting. Sehingga kebutuhan metanol di dunia pada tahun 2012 mencapai 58.6 MMT. Methanol berperan sebagai bahan pelarut dan bahan baku dalam produksi senyawa kimia lain, seperti formalin dan asam asetat . Secara alami, metanol juga dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi alternatif campuran bensin dan sebagai sel bahan bakar (fuel cell) (Angga *et al.*, 2017). Menurut penelitian Lenny *et al.* (2006), bahwa Pelarut metanol merupakan pelarut yang bersifat universal yang mampu mengikat semua komponen kimia yang terdapat pada tumbuhan bahan alam, baik yang bersifat non polar, semi polar, dan polar. Metanol merupakan cairan penyari yang mudah masuk kedalam sel melewati dinding sel bahan, sehingga metabolit skunder yang terdapat dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut dan senyawa akan terekstraksi sempurna.

2.9.3 Etanol

Etanol disebut juga etil alkohol yang di pasaran lebih dikenal dengan alkohol. Etanol merupakan senyawa organik dengan rumus kimia $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$. Dalam kondisi kamar, etanol berwujud cairan yang mudah menguap, mudah terbakar dan tidak berwarna (Munawaroh dan Prima, 2010). Senyawa ini adalah salah satu pelarut yang umum dan banyak digunakan oleh industri, memiliki titik didih rendah yaitu 70°C sehingga suhu ekstraksi yang digunakan dapat menarik seluruh komponen dalam bahan baku dan cenderung aman digunakan (Susanti *et al.*, 2014). Pelarut etanol memiliki polaritas yang tinggi sehingga dapat menghasilkan persen yield lebih banyak

dibandingkan menggunakan pelarut lainnya (Azis *et al.*, 2014). Sifat fisika dan kimia etanol dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Sifat Fisika dan Kimia Etanol (Munawaroh dan Prima, 2010)

Karakteristik	Syarat
Rumus molekul	C ₂ H ₅ OH
Massa molekul relative	46,07 g/ml
Titik leleh	-114,3°C
Titik didih	78,32°C
Densitas pada 20°C	0,7893 g/cm ³
Kelarutan dalam air	Sangat larut
Viskositas pada 20°C	1,17 cP
Kalor spesifik pada 20°C	0,579 kal/g°C

2.10 Uji Fitokimia

Uji fitokimia merupakan suatu pemeriksaan golongan senyawa kimia yang terdapat dalam suatu simplisa tumbuhan. Uji tersebut dapat digunakan untuk membuktikan ada tidaknya senyawa kimia tertentu dalam tumbuhan untuk dapat dikaitkan dengan aktivitas biologinya sehingga dapat membantu langkah-langkah fitofarmakologi (Artini *et al.*, 2013). Seperti penelitian Astuti *et al.* (2013), bahwa hasil analisis dapat memberikan petunjuk jenis golongan metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, fenolik, sterois dan triterpenoid. Hal tersebut sejalan dengan pernyataan Rohyani *et al.* (2015), bahwa uji fitokimia merupakan metode pengujian awal dalam upaya untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam tumbuhan yang berperan dalam penyembuhan penyakit.

2.11 Uji Aktivitas Antioksidan

Radikal bebas merupakan suatu senyawa asing yang masuk ke dalam tubuh dan merusak sistem imunitas tubuh. Radikal bebas dapat timbul akibat berbagai

proses kimia yang kompleks dalam tubuh seperti polutan lingkungan, radiasi zat-zat kimia, racun dan makanan cepat saji. Jika jumlahnya berlebih, radikal bebas akan memicu efek patologis seperti arterosklerosis, kanker, diabetes dan penyakit degeneratif lainnya (Sari dan Made, 2018).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi radikal bebas dalam tubuh. Tubuh tidak mempunyai sistem pertahanan antioksidatif yang berlebihan, jika terjadi paparan radikal berlebih maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen (Pramesti, 2013). Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menetralkan atau menstabilkan radikal bebas dengan cara melengkapi kekurangan elektron pada radikal bebas tersebut. Substansi ini mampu mencegah terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif (ketidakseimbangan antara prooksidan dan antioksidan) (Sari dan Made, 2018). Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat spesies oksigen reaktif/spesies nitrogen reaktif (ROS/RNS) dan juga radikal bebas. Antioksidan menghambat reaksi oksidasi dan mencegah kerusakan sel dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif (Sari *et al.*, 2018).

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dapat dibagi menjadi 2 yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Antioksidan alami merupakan senyawa antioksidan yang terdapat secara alami dalam tubuh sebagai mekanisme pertahanan tubuh normal maupun berasal dari asupan luar tubuh. Sedangkan antioksidan sintetik merupakan senyawa yang disintesis secara kimia (Tristantini *et al.*, 2016). Antioksidan terbagi atas dua jenis yaitu antioksidan alami dan antioksidan buatan. Antioksidan alami bisa berasal dari buah-buahan dan tanaman sedangkan antioksidan buatan dihasilkan dari sintesis suatu reaksi kimia. Penggunaan antioksidan buatan cenderung memiliki negatif bagi kesehatan tubuh (Rahmi, 2017). Menurut Blois (1958), suatu senyawa

memiliki antioksidan yang sangat kuat bila nilai $IC_{50} < 50$ ppm, kuat bila nilai IC_{50} bernilai 50-100 ppm, sedang bila nilai IC_{50} bernilai 100-150 ppm, dan lemah bila nilai IC_{50} bernilai 151-200 ppm. Semakin kecil harga IC_{50} , maka semakin besar daya peredamannya.

Aktivitas antioksidan dapat ditentukan dengan menggunakan beberapa metode, salah satunya adalah metode DPPH. Metode ini sangat umum digunakan karena sangat sesuai untuk mengukur aktivitas total antioksidan baik dalam pelarut polar atau larut air maupun dalam pelarut nonpolar atau larut minyak. Alasan lain dari penggunaan metode ini adalah lebih sederhana, cepat, akurat, dan tidak memerlukan banyak sampel (Susana *et al.*, 2018). Metode DPPH (2,2 difenil-1-pikrilhidrazil) memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil. DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap. Penangkap radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil (Sunarni *et al.*, 2007).

Metode FRAP atau Ferric Reducing Antioxidant Power adalah salah satu metoda penentuan kandungan antioksidan secara spektrofotometri yang berdasarkan pada reduksi analog ferroin, kompleks Fe^{3+} dari tripiridiltriazin $Fe(TPTZ)^{3+}$ menjadi kompleks Fe^{2+} , $Fe(TPTZ)^{2+}$ yang berwarna biru intensif oleh antioksidan pada suasana asam. Hasil pengujian diinterpretasikan dengan peningkatan absorbansi pada panjang gelombang 593 nm dan dapat disimpulkan sebagai jumlah Fe^{2+} (dalam mikromolekular) ekuivalen dengan antioksidan standar (Yesrida *et al.* 2015).

2.12 LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*)

Kromatografi cair merupakan suatu teknik pemisahan dasar pada bidang keilmuan. Kromatografi cair cocok digunakan untuk memisahkan komponen organik pada kisaran yang luas, dari molekul kecil pada metabolit obat-obatan hingga peptida dan protein. Detektor yang biasa digunakan pada kromatografi cair adalah detektor indeks refraktif, elektrokimia, floresens, UV-tampak, dan spektroskopi massa. Spektroskopi massa merupakan salah satu detektor yang dapat menghasilkan data 3 dimensi, yaitu tidak hanya menggambarkan kekuatan sinyal tetapi juga spektrum massa. Spektroskopi massa menghasilkan spektrum massa yang memberikan informasi mengenai berat molekul, struktur, identitas, kuantitas, dan kemurnian sampel sehingga dapat meningkatkan kualitas hasil yang diperoleh pada analisis kuantitatif dan kualitatif (Lee & Kerns 1999).

LC-MS memberikan pendekatan yang sangat berguna dalam menentukan profil suatu metabolit. Kunci dalam penemuan yang lebih jauh dalam menentukan profil suatu metabolit adalah penggunaan sistem pemisahan dengan resolusi yang lebih tinggi. Analisis LC-MS banyak digunakan di bidang bioanalisis karena memiliki kemampuan memisahkan dan mendeteksi molekul dengan kisaran yang luas serta dapat digunakan untuk analisis kuantitatif maupun analisis struktural dengan nilai sensitivitasnya mencapai pg/mL (Theodoridis *et al.*, 2008).



3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun mangrove *Sonneratia alba* yang di peroleh dari Kawasan Hutan Mangrove “Clungup Mangrove Conservation” Kabupaten Malang, Jawa Timur. Daun yang diambil adalah daun dengan ciri-ciri daun muda berwarna hijau.

Bahan yang digunakan untuk membuat teh daun mangrove *Sonneratia alba* antara lain daun mangrove dan air. Bahan bahan untuk pengujian pengurangan kadar tanin antara lain air dan abu sekam. Bahan yang digunakan untuk ekstraksi antara lain plastik wrap, kertas saring, kertas label, alumunium foil, pelarut metanol. Bahan bahan untuk uji fitokimia diantaranya teh daun mangrove *Sonneratia alba*, kertas saring, bubuk Mg, HCl pekat, metanol, aquades, pereaksi mayer dan FeCl_3 . Bahan yang digunakan untuk uji antioksidan metode DDPH antara lain larutan DPPH, metanol PA, dan aquades. Sedangkan metode FRAP antara lain aquades, etanol 96%, FeCl_3 , TCA (*Trikloroasetat*), dapar fosfat, $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$. Bahan untuk uji toksisitas diantaranya ekstrak teh daun mangrove *Sonneratia alba*, *artemia salina*, aquades, air laut, dan kertas label. Dalam pengujian antikolesterol bahan yang digunakan meliputi baku kolesterol, asam asetat anhidrat, dan asam sulfat pekat.

3.2.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini terbagi dalam alat untuk pembuatan teh daun mangrove *Sonneratia alba* meliputi baskom, pisau dan nampan.

Alat-alat yang digunakan untuk ekstraksi antara lain botol kaca, timbangan digital, gelas ukur 100 ml, spatula, corong, erlenmeyer, *rotary vacuum evaporator* dan kulkas. Alat-alat untuk uji kadar air yaitu timbangan digital, cawan porselen, spatula, oven, *crushable tang*, tanur dan desikator. Alat-alat yang digunakan uji fitokimia yaitu timbangan digital, beaker glass, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet volume, pipet tetes, spatula, labu ukur, gelas ukur, dan bola hisap. Alat-alat untuk uji antioksidan meliputi beaker glass, gelas ukur, botol vial, spatula, pipet volume, pipet serologis, pipet tetes, dan spektrofotometri UV-Vis. Alat-alat yang digunakan untuk uji total fenol yaitu timbangan analitik, labu ukur, gelas ukur, beaker glass, bola hisap, spatula, botol vial, pipet volume, dan spektrofotometri UV-Vis. Alat-alat untuk pengujian toksisitas meliputi aquarium, lampu pijar, gelas ukur 100 ml dan tabung reaksi. Pada pengujian antikolestrol menggunakan alat diantaranya tabung reaksi, pipet tetes, dan spektrofotometri UV-Vis.

3.2 Metode Penelitian

Metode eksperimen adalah salah satu jenis observatif dibawah kondisi buatan. Kondisi buatan dibuat dan diatur oleh peneliti dengan cara melakukan manipulasi terhadap objek penelitian (variabel) dan biasanya menggunakan kontrol sebagai pembanding. Percobaan-percobaan pada penelitian eksperimen bertujuan untuk menguji hipotesis penelitian tersebut. Metode eksperimen bertujuan untuk menguji hipotesis penelitian tersebut. Pada penelitian eksperimental data yang diperoleh menggunakan teknik statis (Gulo,2000).

Metode eksperimen yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen yang bersifat labolatoris. Penelitian dilakukan secara sengaja dengan cara memberikan perlakuan tertentu terhadap subjek penelitian. Guna membangkitkan

suatu kejadian atau keadaan yang akan diteliti untuk diketahui bagaimana akibatnya (Jaedun, 2011).

3.2.1 Penelitian Pendahuluan

Penelitian diawali dengan proses preparasi sampel daun mangrove *Sonneratia alba* dijadikan teh. Sampel kemudian diekstraksi menggunakan maserasi bertingkat dengan pelarut yang berbeda kepolarannya dari non polar (n-heksan), semi polar (etil asetat) dan polar (methanol) dengan lama waktu maserasi 24 jam. Dan dilanjutkan dengan proses penguapan (evaporasi) pelarut sehingga menghasilkan ekstrak. Pengujian dilakukan dengan 3 kali perlakuan dan 6 kali pengulangan. Tujuan dilakukannya penelitian pendahuluan yaitu untuk mengetahui jenis pelarut terbaik. Hasil ekstrak dari 3 pelarut digunakan dalam perhitungan rendemen, uji kadar air, uji proksimat, uji penurunan tanin, uji fitokimia untuk dilanjutkan pada penelitian utama.

Rancangan penelitian pendahuluan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana, dengan 1 faktor yaitu jenis pelarut yang berbeda. Rancangan ini digunakan dalam penelitian dengan medium yang seragam. Data kemudian diolah menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) pada taraf 5% dan 1%. Jika didapatkan hasil yang berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji Tukey. Rancangan percobaan penelitian dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rancangan Percobaan Penelitian pendahuluan

Sampel	Pelarut	Ulangan					
		1	2	3	4	5	6
Ekstrak teh daun mangrove <i>Sonneratia alba</i>	A	A1	A2	A3	A4	A5	A6
	B	B1	B2	B3	B4	B5	B6
	C	C1	C2	C3	C4	C5	C6

Keterangan:

A : Pelarut N-Heksan

B : Pelarut Etil Asetat

C : Pelarut Metanol

3.2.2 Penelitian Utama

Tujuan dari penelitian utama adalah untuk mengetahui pelarut terbaik yang akan diuji aktivitas antioksidan, uji Toksisitas, uji aktivitas antikolesterol dan uji LCMS. Serta untuk mengetahui konsentrasi yang terbaik sebagai aktivitas penurun kolesterol secara *in vitro* dari ekstrak teh daun mangrove *Sonneratia alba* dengan menggunakan pelarut terbaik yang dihasilkan dari penelitian pendahuluan . Rancangan penelitian utama menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana, dengan 1 faktor dimana dalam faktor tersebut terdiri dari 5 perlakuan dan 4 ulangan sehingga didapatkan 20 perlakuan. Faktor-faktornya adalah konsentrasi ekstrak teh daun mangrove *Sonneratia alba* dengan konsentrasi 0 ppm, 500 ppm, 600 ppm, dan 700 ppm. Rancangan penelitian utama dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rancangan Percobaan Penelitian Utama

Sampel	Konsentrasi Pelarut	Ulangan			
		1	2	3	4
Ekstrak teh daun mangrove	A	A1	A2	A3	A4
	B	B1	B2	B3	B4

<i>Sonneratia alba</i>	C	C1	C2	C3	C4
	D	D1	D2	D3	D4
	E	E1	E2	E3	E4

Keterangan:

A : Teh Komersial (kontrol -)

B : Teh komersial (kontrol +)

C : 500 ppm

D : 600 ppm

E : 700 ppm

3.3 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian terdapat dua tahapan yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan meliputi preparasi bahan baku, pengurangan kadar tanin, pembuatan teh daun mangrove *Sonneratia alba*, proses ekstraksi, uji proksimat, uji fitokimia, uji penurunan tanin. Penelitian utama meliputi uji antioksidan, uji aktivitas antikolesterol dan uji LC-MS.

3.3.1 Preparasi Bahan Baku

Preparasi bahan baku meliputi pengumpulan daun muda mangrove *Sonneratia alba* yang di peroleh dari Kawasan Hutan Mangrove “Clungup Mangrove Conservation” Kabupaten Malang, Jawa Timur. Selanjutnya dilakukan pencucian dengan air mengalir dan dilakukan pengukuran ukuran dan pemisahan antara helai daun dan tulang untuk mempermudah pemotongan (*resize*).

3.3.2 Pengurangan Kadar Tanin Daun Mangrove *Sonneratia alba* (Chrissanty, 2012 dengan Modifikasi)

Daun mangrove *Sonneratia alba* setelah dicuci dengan air kemudian direbus dalam air dengan perbandingan (1:1,5) dan abu sekam padi 30% sampai mendidih.

Setelah itu diangkat dan dicuci menggunakan air bersih. Kemudian direndam menggunakan air selama 48 jam dengan pergantian air rendaman setiap 24 jam sekali.

3.3.3 Pembuatan Teh Daun Mangrove *Sonneratia alba* (Andri dan Hersoelistyorini, 2013)

Daun mangrove *Sonneratia alba* yang telah dikurangi taninnya kemudian daun dibersinkan dari kotoran yang menempel dan didinginkan. Kemudian dilakukan proses penggulungan setelah itu dilakukan pengovenan dengan suhu 50°C selama 150 menit untuk mengurangi kadar air yang ada pada bahan baku.

3.3.4 Ekstraksi daun Mangrove *Sonneratia alba* (Dia, 2015)

proses ekstraksi daun *Sonneratia alba* menggunakan metode maserasi. Proses ekstraksi menggunakan 3 jenis pelarut berdasarkan tingkat kepolarannya yaitu n-Heksan (non polar), etil asetat (semi polar), dan methanol (polar). Tahap pertama Sampel daun *Sonneratia alba* kering kemudian diblender dan ditimbang ± 75 gram. Kemudian dimaserasi dengan menggunakan pelarut n-heksan sebanyak 225 ml dengan perbandingan 1:3 pada suhu ruang selama 24 jam. Dan dilakukan penyaringan setiap 1x24 jam. Filtrat yang dihasilkan kemudian dikumpulkan dan dipekatkan menggunakan rotary evaporator dengan suhu 40-50°C. Selanjutnya residu n-heksan dipartisi kembali dengan pelarut etil asetat (semi polar). Filtrat yang dihasilkan dijadikan satu digabungkan dan dipekatkan menggunakan rotary evaporator sampai diperoleh ekstrak kental. Residu yang dihasilkan pelarut etil asetat kemudian dipartisi kembali dengan pelarut etanol (polar). Filtrat kemudian di ekstraksi menggunakan rotary eaporator dan dihitung rendemennya.

3.3.5 Perhitungan Rendemen

Menurut Prihanto (2011), perhitungan rendemen jumlah ekstrak sampel yang diperoleh dari setiap gram sampel hasil ekstrak (%b/b). Rumus perhitungan rendemen sebagai berikut:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak awal (gr)} - \text{berat ekstrak akhir (gr)}}{\text{berat sampel awal (gr)}} \times 100\%$$

3.3.6 Uji proksimat

a. Uji Kadar Air (Hafiludin, 2011 dengan Modifikasi)

pengujian kadar air pada teh daun mangrove *Sonneratia alba* kering dengan menggunakan metode oven kering. Langkah pertama yang dilakukan adalah pengondisian oven pada suhu yang digunakan hingga mencapai kondisi stabil. Lalu keringkan cawan yang akan digunakan pada oven dengan suhu 100-105°C selama 30 menit sampai didapat berat tetap. Kemudian didinginkan dalam desikator selama 30 menit lalu ditimbang cawan kosong (B1). Selanjutnya ditimbang tiap sampel yang telah digunakan sebanyak ± 1-2 gram ke dalam cawan. Kemudian dimasukkan cawan yang telah diisi sampel ke dalam oven vakum pada suhu 95-105°C selama 5 jam dengan tekanan udara tidak lebih dari 100 mmHg atau dimasukkan ke oven tidak vakum selama 16-24 jam pada suhu 105°C. Pindahkan cawan dengan menggunakan penjepit ke dalam desikator selama ± 30 menit kemudian ditimbang dan dihitung sebagai berat B2.

Setelah didapatkan berat keseluruhan, maka dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{B2 - B1}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

Keterangan:

B1 = Berat cawan dan berat sampel akhir

B2 = Berat cawan dan berat sampel awal

b. Uji Kadar Abu (Kusumaningrum, 2013)

Pengujian kadar abu teh daun mangrove *Rhizophora mucronata* langkah pertama yaitu cawan yang akan digunakan dikeringkan selama 30 menit (sampai didapat berat tetap dalam oven) pada suhu 100-105°C. Setelah itu didinginkan dalam desikator selama 30 menit lalu ditimbang. Kemudian masukkan sampel 5 gram kedalam cawan yang telah diketahui beratnya. Lalu dibakar dengan kompor listrik sampai tidak berasap. Selanjutnya dimasukkan dalam tanur dan dibakar pada suhu 550°C selama 2-3 jam hingga terbentuk abu yang berwarna abu keputihan. Kemudian sampel didinginkan kembali dalam desikator selama 30 menit. Selanjutnya sampel ditimbang dan dihitung persentasenya.

Setelah didapatkan berat keseluruhan, maka dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar abu (\%)} = \frac{C - A}{B - A} \times 100\%$$

Keterangan:

A = Berat cawan kosong

B = Berat cawan dan berat sampel sebelum pengabuan

C = Berat cawan dan berat sampel setelah pengabuan

3.3.7 Uji Fitokimia

Uji fitokimia merupakan uji kualitatif yang bertujuan mengetahui senyawa bioaktif yang terkandung didalam daun teh mangrove *Sonneratia alba* yang diperoleh dari hasil maserasi. Uji fitokimia antara lain uji Flavonoid, alkaloid dan tanin.

a. Flavonoid (Kasitowati *et al.*, 2017)

Uji flavonoid pada teh daun mangrove *Sonneratia alba* menggunakan pereaksi antara lain serbuk Mg dan HCl. Pertama siapkan sampel sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan 1ml HCl pekat dan ditambahkan 0,20 gram bubuk Mg. Hasil uji sampel yang positif mengandung flavonoid apabila terbentuk warna kuning hingga jingga atau merah tua (magenta).

b. Tanin (Danata, 2014)

Siapkan sampel ekstrak teh daun mangrove *Rhizophora mucronata* kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 3 ml aquades. Kemudian ditambahkan 3 tetes pereaksi $FeCl_3$ 1%. Adanya senyawa tanin ditandai dengan timbulnya warna hijau hingga biru kehijauan yang menandakan adanya *catechic tannin* atau biru kehitaman yang menandakan adanya *tannin*.

c. Alkaloid (Fadhly *et al.*, 2015)

Sampel ekstrak teh daun mangrove *Sonneratia alba* dimasukkan kedalam tabung reaksi sebanyak 1 ml. Kemudian ditambahkan 5 ml HCl. Selanjutnya ditambahkan 3 tetes pereaksi Mayer. Sampel positif mengandung alkaloid dengan terbentuknya endapan putih.

3.3.8 Uji Pengurangan Tanin (Mukhriani *et al.*, 2013)

• Pembuatan Larutan Standar Asam Tanat 1000 ppm

Asam tanat sebanyak 0,1 gram dilarutkan dalam 100 ml aquades dan dibuat seri pengenceran 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm. Diambil masing-masing 1 ml dari seri pengenceran lalu dimasukkan ke dalam botol vial dan ditambahkan 7,5 aquabidetilata. Kemudian ditambahkan 0,5 ml pereaksi Folin Denis ke dalam botol vial dan didiamkan

selama 3 menit. Lalu tambahkan 1 ml larutan Na_2CO_3 jenuh. Lalu diinkubasi selama 15 menit. Dan selanjutnya serapan dibaca menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 740 nm.

- **Penetapan Kadar Tanin**

Sebanyak 0,5 ekstrak kasar dilarutkan dengan aquabidestilata sampai 10 ml kemudian dihomogenkan. Kemudian diambil 1,0 ml sampel dan dimasukkan ke dalam tabung ukuran 10 ml yang telah berisi 7,5 ml aquabidestilata. Selanjutnya ditambahkan 0,5 ml pereaksi folin denis, didiamkan selama 3 menit dan ditambahkan 1,0 ml larutan Na_2CO_3 jenuh. Kemudian diinkubasi selama 15 menit dan selanjutnya dibaca serapannya menggunakan kuva baku yang telah didapatkan sehingga diketahui konsentrasi dari sampel yang diukur.

3.3.9 Uji Antioksidan

a. DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) (Anggresani *et al.*, 2017)

- **Pembuatan Larutan DPPH**

Serbuk DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan methanol 100 ml didalam labu ukur. Sehingga diperoleh konsentrasi larutan 100 ($\mu\text{g}/\text{mL}$).

- **Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH**

Larutan DPPH dipipet sebanyak 35 ml ditambah dengan methanol 100 ml (konsentrasi 35 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Setelah itu dibiarkan selama 30 menit dan diletakkan ditempat gelap dan terlindung dari cahaya. Selanjutnya diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-800 nm.

- **Pengukuran Aktivitas Antioksidan**

Ekstrak ditimbang 10 mg lalu ditambahkan aquadest hingga 25 ml (konsentrasi 400 µg/mL). Kemudian dibuat seri konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 µg/mL. Untuk penentuan aktivitas antioksidan masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 0,2 mL larutan sampel kemudian dimasukkan dalam botol vial. Selanjutnya ditambahkan 3,8 ml larutan DPPH dan dihomogenkan lalu dibiarkan selama 30 menit dan ditempatkan ditempat yang gelap dan terlindung dari cahaya. Masing-masing larutan lalu serapannya diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum DPPH yang didapat sebelumnya . pembanding yang digunakan adalah vitamin C dengan perlakuan yang sama dengan sampel uji konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 µg/mL Hal ini bertujuan agar dapat dibandingkan secara langsung dengan sampel.

Selanjutnya dihitung presentase menggunakan rumus sebagai berikut:

$$(\%) \text{ Peredaman} = \left(\frac{A1 - A2}{A1} \right) \times 100$$

Keterangan:

A1 = Absorbansi kontrol

A2 = Absorbansi sampel uji (Ekstrak + DPPH)

- **Pengukuran Serapan Blangko**

Pengukuran dilakukan dengan cara memipet 1 ml larutan DPPH hingga volumenya 5 ml. Kemudian dikocok dan dibiarkan selama 30 menit pada suhu ruang. Setelah itu diukur absorbansinya dengan panjang gelombang yang ditentukan dan dilakukan sebanyak 3 kali replikasi.

b. FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) (Pardede et al., 2018)**• Pembuatan Kurva Baku**

Pembuatan kurva baku dengan cara menyiapkan larutan stok 1000 ppm. Melarutkan 25 mg asam askorbat yang dilarutkan dengan etanol 96% di masukkan ke dalam labu ukur hingga batas 25 ml. Kemudian dari larutan stok 1000 ppm diambil masing-masing 90, 100, 110, 120, 130 ppm dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml yang berbeda. Selanjutnya diencerkan dengan etanol 96% hingga 10 ml dan dihomogenkan. Konsentrasi larutan standar 1000 ppm asam askorbat yakni 90, 100, 110, 120, dan 130 ppm. Setiap konsentrasi dipipet 1 ml dan ditambahkan dapar fosfat 0,2 M (pH 6,6) sebanyak 1 ml dan $K_3Fe(CN)_6$ 1% sebanyak 1 ml. Kemudian diinkubasi selama 20 menit, setelah diinkubasi ditambahkan TCA (*Trikloroasetat*) 10% sebanyak 1 ml. Selanjutnya disentrifugase selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm dan dipepet pada bagian atas kedalam cuvet sebanyak 1 ml. Lalu ditambahkan aquades 1 ml dan $FeCl_3$ 0,1% sebanyak 1 ml. Kemudian larutan didiamkan 10 menit dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 720 nm.

• Aktivitas antioksidan dengan metode FRAP

Sampel sebanyak 5 mg dilarutkan dalam 5 ml etanol 96%. Kemudian dipipet sebanyak 1 ml dan ditambahkan 1 ml dapar fosfat 0,2 M (pH 6,6) serta 1 ml $K_3Fe(CN)_6$ 1%. Selanjutnya diinkubasi selama 20 menit. Setelah itu ditambahkan 1 ml TCA 10% dan disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Setelah di sentrifuge kemudian dipipet 1 ml pada bagian atas kedalam cuvet . Ditambahkan aquades sebanyak 1 ml dan $FeCl_3$ 0,1% sebanyak 0,5 ml. Selanjutnya larutan didiamkan selama 10 menit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 720 nm.

3.3.10 Uji Toksisitas (*Brine Shrimp Lethaly Test*) (Muaja et al., 2013)

- **Penyiapan larva *A. salina* Leach**

Penyiapan larva *Artemia salina* Leach. dilakukan dengan cara mengambil 1 g telur *Artemia salina* Leach. untuk ditetaskan. Telur tersebut direndam dalam air laut buatan 2 L dan diaerasi selama 48 jam. Air laut buatan dibuat dengan melarutkan 40 g garam tak beryodium ke dalam 2 L air, disaring dan diaerasi. Telur *Artemia salina* Leach. tersebut akan menetas menjadi nauplii yang siap digunakan sebagai hewan uji. Skema kerja penetesan telur *Artemia salina* Leach..

- **Penentuan Konsentrasi Larutan Ekstrak dan Uji Toksisitas *Artemia salina* Leach.**

Penentuan konsentrasi larutan uji yang digunakan yaitu dengan menggunakan ekstrak daun *Sonneratia alba* dengan konsentrasi 700, 600, dan 500 ppm 0 ppm tanpa penambahan ekstrak dengan cara pengenceran yang diambil dari larutan stok 1000 ppm yang dibuat dengan cara mengambil 1 g ekstrak daun *Sonneratia alba* dan dilarutkan dengan 1000 ml air laut dalam beaker glass. Larutan masing-masing konsentrasi kemudian dimasukkan dalam botol vial dan ditambahkan air laut sampai volumenya 10 ml.

Uji toksisitas dilakukan dengan mengisikan 10 ml larutan ekstrak daun *Sonneratia alba* (ekstrak + air laut) untuk tiap konsentrasinya ke dalam botol vial. Setelah itu 10 ekor larva *Artemia salina* Leach. dimasukkan kedalam masing-masing botol vial tersebut dan setelah 24 jam, kemudian pengamatan jumlah larva *Artemia salina* Leach yang mati.

3.3.11 Uji Aktivitas Antikolesterol (Nabila dan Anggraini, 2018)

- **Pembuatan Larutan Baku Kolesterol**

Langkah pertama pembuatan larutan baku kolesterol dibuat yaitu larutan induk dengan konsentrasi 1000 ppm dengan cara melarutkan 100 mg serbuk kolesterol dalam 100 ml etanol 96% dengan suhu $\pm 45^{\circ}\text{C}$ diatas *waterbath* kemudian diaduk hingga larut.

- **Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kolesterol**

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan cara *scanning* panjang gelombang menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Langkah yang dilakukan yaitu larutan standar kolesterol dengan konsentrasi 100 ppm diambil dari larutan induk 1000 ppm sebanyak 0,5 ml lalu ditambahkan dengan etanol 96% sampai volume mencapai 5 ml. Kemudian tabung reaksi ditutup menggunakan alumunium foil agar terlindung dari cahaya. Selanjutnya ditambahkan asam asetat anhidrat sebanyak 2,0 ml dan 0,1 ml asam sulfat pekat. Setelah itu didiamkan 15 menit dan dihitung absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 400-700 nm.

- **Penentuan Operating Time**

Langkah pertama yang dilakukan yaitu diambil 0,5 ml larutan induk kolesterol 1000 ppm lalu ditambahkan etanol 96% sampai volumenya mencapai 5 ml. Selanjutnya ditambahkan dengan asam asetat anhidrat 2,0 ml dan 0,1 asam sulfat pekat. Kemudian panjang gelombang maksimal untuk deteksi kolesterol diukur setiap 2 menit mulai dari menit 10 hingga menit ke 30. Kemudian dihu bungkan antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil.

- **Pembuatan Kurva Standar**

Larutan induk kolesterol 1000 ppm dibuat 5 seri konsentrasi yaitu 0; 0,25;0,5;0,75; dan 1 ml. Kemudian ditambahkan etanol 96% hingga volumenya mencapai 5 ml sehingga didapatkan masing-masing larutan dengan konsentrasi 0, 50, 100, 150, dan 200 ppm. Pada masing-masing larutan ditambahkan dengan asam asetat anhidrat 2,0 ml dan 0,1 ml asam sulfat pekat. Kemudian dihomogenkan dengan menggunakan vortex dan ditutup dengan aluminium foil agar terhindar dari cahaya. Selanjutnya didiamkan selama 15 menit dan dihitung absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum dan dibuat kurva standarnya.

- **Uji Aktivitas Antikolesterol**

Ekstrak sampel dibuat larutan induk 1000 ppm dalam etanol 96% dan dibuat dengan konsentrasi 500, 600, 700, ppm. Kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan dengan baku kolesterol 200 ppm dalam etanol 96%. dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Diambil sebanyak 5 ml dan divortex selama 2 menit. Setelah itu direaksikan dengan 2 ml asam asetat anhidrat dan 0,1 ml asam sulfat pekat. Kemudian larutan didiamkan ditempat gelap yang terlindung dari cahaya selama 15 menit hingga terbentuk perubahan warna menjadi hijau. Hal ini dilakukan karena larutan kolesterol bersifat fotodegradasi tidak stabil terhadap cahaya dan akan berubah menjadi kolesteron. Hasil yang diperoleh dibaca dengan spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang maksimum.

Setelah didapatkan hasil kemudian dihitung dengan menggunakan rumus:

$$A = \left(\frac{C - B}{B} \right) \times 100\%$$

Keterangan:

A = % penurunan kolesterol

B= Absorbansi sampel (ekstrak+baku)

C= Absorbansi baku kolesterol

3.3.12 Analisis *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (LC-MS) (Maharani et al., 2016 dengan Modifikasi)

Analisis *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (LC-MS) merupakan metode yang memisahkan senyawa organik untuk diidentifikasi. Kelebihan metode ini adalah lebih selektif dan sensitif dibanding dengan menggunakan metode sinar UV biasa. Pengujian LC-MS langkah pertama yaitu sebanyak 1 mg ekstrak teh daun mangrove *Sonneratia alba* kemudian dilarutkan dalam metanol PA. Selanjutnya diambil sebanyak 10 μ L larutan dan disuntikkan pada instrumen LC-MS dengan laju air 0,3 mL/menit. Lalu dipompa selama 10-15 menit dan dimasukkan ke dalam katup kolom selektor. Kemudian dilakukan pemisahan menuju UV detector dan berat molekul ditetesi dengan spektrofotometer massa. Analisa LC-MS ini menggunakan *Mass Lynx Software* (Versi 4.0) dan diidentifikasi struktur senyawa kimia yang terdeteksi pada LC-MS dengan database Chemspider secara online.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan ini bertujuan untuk mengetahui pelarut terbaik yang digunakan untuk pengujian antikolesterol yang selanjutnya akan dilakukan uji aktifitas antioksidan uji Toksikitas, dan uji LCMS. Parameter yang diuji dalam penelitian ini meliputi rendemen, pengurangan tannin, pembuatan teh, uji proksimat, dan uji fitokimia.

4.1.1 Rendemen Ekstrak daun *Sonneratia alba*

Ekstrak kasar daun mangrove *Sonneratia alba* diperoleh dari proses maserasi bertingkat. Maserasi bertingkat menggunakan tiga jenis pelarut yaitu pelarut bersifat non polar (N-heksan), pelarut semi polar (Etil asetat) dan pelarut polar (Metanol). Perbandingan daun Mangrove *Sonneratia alba* dengan pelarut yang digunakan yaitu 1 : 4. Daun mangrove *Sonneratia alba* yang digunakan sebanyak 250 gram dimaserasi menggunakan pelarut sebanyak 1000 mL selama 24 jam untuk setiap pelarut.

Perhitungan rendemen dilakukan untuk mengetahui persentase ekstrak yang dihasilkan dari setiap gram serbuk kering dengan metode ekstraksi yang dipilih (Yati *et al.*, 2014). Hasil perhitungan rendemen daun mangrove *Sonneratia alba* dapat dilihat pada Tabel 5. Data dan hasil analisis rendemen batang *Excoecaria agallocha* dengan pelarut ekstraksi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 1.

Tabel 5. Hasil Perhitungan Rendemen Daun *Sonneratia alba*

Pelarut	Rata-rata
N-heksan	2,70±0,44 ^a
Etil asetat	5,32±0,65 ^a
Metanol	9,39±0,88 ^b

Berdasarkan hasil analisis ANOVA persentase rendemen menggunakan SPSS 25.0 diketahui faktor jenis pelarut berbeda nyata ($P < 0,05$) yang berarti bahwa jenis pelarut berpengaruh terhadap persentase rendemen ekstrak kasar. Hasil perhitungan rendemen pada tabel di atas menunjukkan bahwa didapatkan rendemen tertinggi menggunakan pelarut polar yaitu metanol sebesar 9.39% sedangkan rendemen terkecil didapatkan dengan perlakuan menggunakan pelarut non polar yaitu N-heksan. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa yang bisa terekstrak dalam mangrove *Sonneratia alba* bersifat polar sehingga menghasilkan rendemen paling banyak dibandingkan ekstrak yang menggunakan pelarut n-heksan dan etil asetat. Sesuai dengan penelitian yg dilakukan oleh Pambayun *et al.* (2007), yang menyatakan bahwa ekstrak sampel gambir paling tinggi diperoleh menggunakan pelarut polar yaitu etanol dan air pada perbandingan 1:1 (84,77% (b/b) dengan cara maserasi.

Salah satu fase yang terjadi pada proses ekstraksi adalah fase pembilasan. Fase pembilasan adalah fase dimana sel-sel yang tidak utuh lagi dari simplisa bersentuhan langsung dengan pelarut sehingga komponen di dalam sel semakin mudah untuk berpindah ke dalam pelarut. Semakin halus serbuk simplisa semakin optimal proses pembilasannya (Maulida dan Any, 2015). Besarnya rendemen ekstrak dari suatu pelarut dipengaruhi oleh sifat kepolaran dari pelarut, suhu, waktu ekstraksi serta tingkat kepolaran dari jumlah bahan yang diekstrak dan memiliki polaritas yang sama. Selain itu faktor yang mempengaruhi banyaknya rendemen adalah jumlah pelarut yang digunakan. Banyaknya pelarut mempengaruhi luas kontak padatan dengan pelarut, semakin banyak pelarut luas kontak akan semakin besar, sehingga distribusi pelarut ke padatan akan memperbesar rendemen yang dihasilkan (Jayanudin *et al.*, 2014).

4.1.2 Kadar Air

a. Kadar Ekstrak Daun *Sonneratia alba*

Dalam pengujian kadar air ekstrak daun *Sonneratia alba* menggunakan metode oven kering berdasarkan SNI. Hasil perhitungan kadar air ekstrak daun *Sonneratia alba* dapat dilihat pada Gambar 21. Data dan hasil analisis kadar air ekstrak daun *Sonneratia alba* terdapat ada Lampiran 2.

Pelarut	Rata-rata (%)
N-heksan	22,67±0,51 ^a
Etil Asetat	16,17±0,75 ^b
Metanol	17,33±0,81 ^c

Gambar 1. Tabel Nilai Kadar Air Ekstrak Daun *Sonneratia alba*

Dari hasil perhitungan kadar air diatas dapat diketahui bahwa kadar air tertinggi terdapat pada pelarut n-heksan yaitu sebesar 22,67% dan terendah pada pelarut etil asetat sebesar 16,17%.. Kenaikan kadar air ekstrak tersebut diduga karena konsentrasi pelarut yang digunakan tidak 100% murni pelarut. Ketika pelarut yang digunakan untuk ekstraksi seperti n-heksan, etanol dan etil asetat yang memiliki konsentrasi kurang dari 96% digunakan untuk mengekstrak sampel akan menghasilkan ekstrak dengan kandungan kadar air lebih tinggi jika dibandingkan dengan kadar air bahan karena mendapat sumbangan kadar air dari pelarut yang digunakan.

Dari hasil ekstrak tersebut, baik ekstrak n-heksan, etil asetat dan metanol *Sonneratia alba* masuk dalam kategori ekstrak kental. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Khoirani (2013) yang menyebutkan bahwa ada beberapa jenis ekstrak, yaitu : ekstrak cair, ekstrak kental dan ekstrak kering. Ekstrak cair jika hasil ekstraksi

masih bisa dituang, biasanya kadar air lebih dari 30%. Ekstrak kental jika memiliki kadar air antara 5-30%. Ekstrak kering memiliki kadar air kurang dari 5%.

4.1.3 Uji Tanin Setelah Pengurangan Tanin

Kadar tanin yang tinggi pada suatu bahan makanan dapat menyebabkan rasa pahit. Apabila dikonsumsi dalam jumlah yang berlebihan senyawa ini bersifat karsinogenik, sehingga harus dikurangi terlebih dahulu sebelum dilakukan pengolahan. Batas aman kandungan tanin yang terkandung dalam bahan makanan sesuai dengan nilai ADI tanin yaitu sebesar 560 mg/kg berat badan/hari, sehingga kandungan tanin pada bahan makanan yang akan dikonsumsi tidak boleh lebih dari batas tersebut (Chrissanty, 2011).

Pengujian kadar tanin setelah dilakukan proses pengurangan tanin dengan abu sekam dilakukan untuk mengetahui adanya penurunan kadar tanin pada daun. Hasil pengujian kadar tanin dapat dilihat pada **Tabel 4**.

Tabel 4. Hasil Tanin Daun Segar (Pembanding) dan Setelah Pengurangan

Pelarut	Tanin Daun Segar (Kasitowati et al., 2017)		Tanin setelah Perlakuan Abu Sekam	
	Kualitatif	Kuantitatif (ppm)	Kualitatif	Kuantitatif (ppm)
Metanol	Ada	38,01	Ada	44,75
N- Heksan	Ada	33,71	Ada	40,97

Hasil pada penelitian menunjukkan bahwa daun *Sonneratia alba* setelah pengurangan tanin dengan abu sekam masih terdeteksi adanya tanin. Hal tersebut dapat dilihat dari terbentuknya warna biru kehitaman pada uji kualitatif. Sedangkan

pada uji kuantitatif terdapat penurunan dibandingkan dengan daun segar pada jurnal. Penurunan kadar tanin pada daun disebabkan oleh proses osmosis pada saat perebusan dengan abu sekam dan difusi pada saat perendaman. Difusi pada saat perendaman terjadi dengan larutnya sisa zat yang ada pada daun. 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. Proses osmosis terjadi saat proses perebusan dimana zat yang ada pada daun akan keluar terbawa air (Soenardjo dan Endang, 2017).

4.1.4 Uji Fitokimia

Uji fitokimia pada penelitian ini menggunakan metode kualitatif yaitu dengan tes perubahan warna menggunakan pereaksi-pereaksi tertentu. Menurut Andriyanto *et al.* (2016), uji ini dilakukan sebagai uji pendahuluan secara kualitatif untuk mengetahui kandungan senyawa kimia (metabolit sekunder) dalam tumbuhan. Kandungan tersebut antara lain alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan terpenoid atau steroid. Hasil fitokimia pada penelitian pendahuluan ini disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun *Sonneratia alba*

Golongan senyawa	Ekstrak		
	N-heksan	Etil asetat	Metanol
Alkaloid	-	-	-
Flavonoid	+	-	+
Saponin	-	-	+
Tanin	+	-	+
Steroid	+	+	-
Triterpenoid	-	-	+

Keterangan :

(-) : tidak ditemukan adanya senyawa dari fitokimia

(+) : ditemukan adanya senyawa fitokimia

Sumber : Laboratorium Perekrayasaan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, (2019)

Berdasarkan hasil uji fitokimia pada Tabel, dapat diketahui bahwa pada ekstrak n-heksan, metanol dan etanol daun mangrove *sonneratia alba* tidak terdeteksi adanya senyawa alkaloid yaitu dengan ditandai adanya endapan putih pada uji Meyer. Menurut Dwisari *et al.* (2016), diperkirakan endapan tersebut adalah kompleks kalium-alkaloid. Pada pembuatan pereaksi Mayer, larutan merkuriem (II) klorida ditambah kalium iodida akan bereaksi membentuk endapan merah merkuriem (II) iodida. Jika kalium iodida yang ditambahkan berlebih maka akan terbentuk kalium tetraiodomerkurat (II). Pada ekstrak etanol batang mangrove *Sonneratia alba* mempunyai kandungan fitokimia yang lebih beragam dari pada ekstrak n-heksan dan etil asetat yaitu positif mengandung flavonoid, tanin, saponin dan terpenoid. Flavonoid menurut Gafur *et.al* (2014), merupakan senyawa polar karena memiliki sejumlah gugus hidroksil yang tidak tersubstitusi. Pelarut polar seperti etanol, metanol, etil asetat atau campuran dari pelarut tersebut dapat digunakan untuk mengekstrak flavonoid dari jaringan tumbuhan.

Senyawa tanin diketahui terdapat pada ekstrak kasar daun *Sonneratia alba* dengan pelarut etil asetat dan metanol. Tanin diperoleh dengan cara ekstraksi dengan pelarut air dan etanol karena tanin dapat larut dalam pelarut tersebut. Senyawa ini merupakan senyawa yang sangat penting penggunaannya dalam bidang kesehatan dan bidang industri (Sulastri, 2009). Senyawa tanin memiliki peranan biologis yang kompleks mulai dari pengendap protein hingga pengkelat logam. Selain itu tanin juga dapat berfungsi sebagai antioksidan biologis (Malangngi *et al.*, 2012).

Senyawa saponin diketahui terdapat pada ekstrak kasar dengan pelarut metanol, namun tidak terdapat pada ekstrak kasar dengan pelarut n-heksan dan etanol. Adanya saponin ditandai dengan terbentuknya busa ketika ekstrak

ditambahkan dengan aquades lalu dikocok, dan busa tidak hilang ketika ditambahkan asam klorida. Busa yang terbentuk dikarenakan senyawa saponin memiliki sifat fisika yaitu mudah larut dalam air dan akan menimbulkan busa ketika dikocok (Minarno, 2016). Saponin paling tepat diekstraksi dari tanaman dengan pelarut etanol 70-95% atau metanol. Ekstrak saponin akan lebih banyak dihasilkan jika diekstraksi menggunakan metanol karena saponin bersifat polar sehingga akan lebih mudah larut daripada pelarut yang lainnya (Pangestuti *et al.*, 2017).

Senyawa terpenoid diketahui terdapat pada ekstrak kasar dengan pelarut etanol. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan Prihanto *et al.* (2011) yang menunjukkan bahwa pada daun *Sonneratia alba* yang dimaserasi menggunakan pelarut metanol positif mengandung senyawa terpenoid.

4.2 Hasil Penelitian Utama

4.2.1 Uji Toksisitas

Salah satu metode awal yang sering dipakai untuk mengamati toksisitas senyawa kimia dalam ekstrak tanaman adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode ini ditujukan terhadap tingkat mortalitas larva udang *Artemia salina* L. yang disebabkan oleh ekstrak uji (Lisdawati *et al.*, 2006). Proses uji toksisitas diawali dengan menyiapkan larva *Artemia salina* L. telur *Artemia salina* L. kemudian ditetaskan, lalu dipapar larutan yang mengandung ekstrak sampel selama 24 jam dan diamati. Konsentrasi larutan yang digunakan yaitu 1000, 500, 250, 125, 62,5 ppm dan larutan kontrol negatif 0 ppm. Hal tersebut bertujuan untuk mengetahui tingkat toksisitas dari ekstrak batang mangrove *Sonneratia alba* pada subjek yang terpapar serta untuk menentukan nilai LC_{50} dari masing-masing ekstrak dengan hasil perhitungan log konsentrasi terhadap nilai probit. Hasil perhitungan LC_{50} dapat dilihat pada Tabel 8. Sedangkan lampiran perhitungan LC_{50} dapat dilihat pada Lampiran 5.

Tabel 7. Nilai LC₅₀ Ekstrak Daun Mangrove *Sonneratia alba*

Ekstrak	Nilai LC ₅₀ (ppm)
Metanol	452,91 ± 4,37 ^a

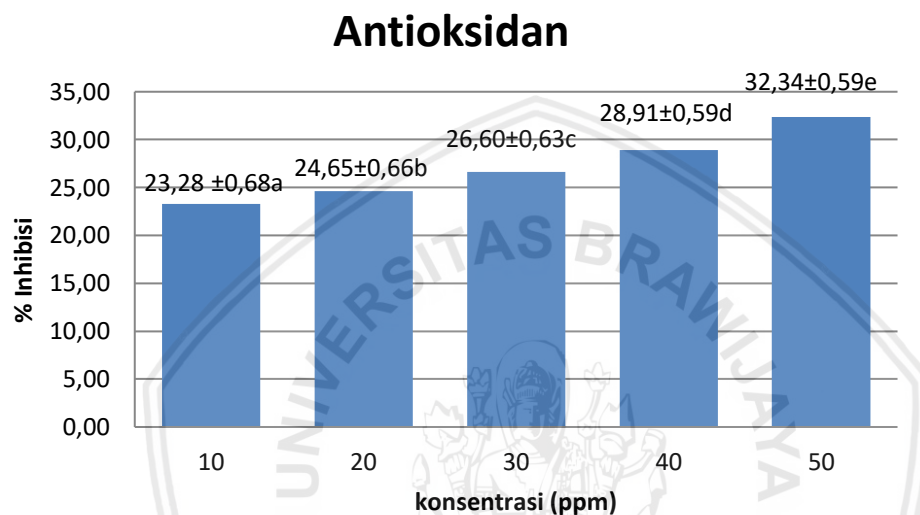
Berdasarkan hasil perhitungan uji toksisitas dengan menggunakan persamaan regresi diperoleh nilai LC₅₀ pada ekstrak kasar *Sonneratia alba* dengan pelarut metanol adalah 452,91 ppm. Pada penelitian yang dilakukan oleh Laith dan Najiah (2014) ekstrak daun *Sonneratia alba* yang menggunakan pelarut metanol menghasilkan nilai LC₅₀ sebesar 94,19 mg/ml. Diduga senyawa bioaktif yang bersifat toksik adalah senyawa flavonoid dan tannin. Sesuai dengan pernyataan Puspitasari *et al.* (2018), bahwa komponen utama senyawa tannin adalah fenolik dalam bentuk polimerik fenol yang umumnya terdapat pada teh dan tanaman bakau. Senyawa fenol pada konsentrasi tinggi bertindak sebagai toksin bagi plasma untuk merusak system dinding sel dan untuk mengumpulkan protein dalam sel. Menurut Muaja *et.al* (2013), melaporkan bahwa suatu ekstrak dikatakan toksik dalam uji toksisitas jika ekstrak dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji pada konsentrasi <1000 ppm. Selain itu Baud *et al.* (2014), menuliskan bahwa nilai LC₅₀ <30 ppm bersifat sitotoksik, 30-200 ppm berpotensi sebagai antibakteri sedangkan 200-1000 ppm berpotensi sebagai pestisida.

4.2.2 Uji Antioksidan Metode DPPH

Senyawa DPPH merupakan sebuah molekul yang mengandung senyawa radikal bebas nitrogen yang tidak stabil yang dapat mengikat ion hidrogen sehingga digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan. Adanya senyawa antioksidan dari sampel mengakibatkan perubahan warna pada larutan DPPH dalam metanol yang semula berwarna violet pekat menjadi kuning pucat (Permana, 2003). Perubahan

warna ini terjadi karena DPPH mengalami reduksi sehingga menyebabkan elektron menjadi berpasangan. Nilai IC₅₀ teh hijau daun *Sonneratia alba* dengan variasi Suhu pengeringan dapat dilihat pada **Gambar 11**.

Tabel 8. Nilai IC₅₀ Ekstrak Metanol *Sonneratia alba*



Dari hasil uji ANOVA didapatkan hasil bahwa Suhu Pengeringan berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap nilai IC₅₀ pada teh hijau daun *Sonneratia alba*. Kemudian dari uji ANOVA untuk melihat perlakuan mana saja yang mengalami perbedaan dilanjutkan dengan uji perbandingan berganda atau Post Hoc Tukey HSD. Dari hasil uji lanjutan tukey diperoleh masing-masing perlakuan mengalami perbedaan signifikan sehingga didapat kesimpulan bahwa ada pengaruh suhu pengeringan terhadap nilai IC₅₀ pada teh hijau daun *Sonneratia alba*.

4.2.3 Uji Antioksidan Metode FRAP

Metode FRAP Menurut Halvorsen *et al* (2002), dalam penelitiannya adalah metode yang dapat menentukan kandungan antioksidan total dari suatu bahan berdasarkan kemampuan senyawa antioksidan untuk mereduksi ion Fe³⁺ menjadi Fe²⁺ sehingga kekuatan antioksidan suatu senyawa dianalogikan dengan

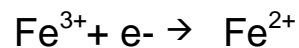
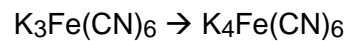
kemampuan mereduksi dari senyawa tersebut, Metode FRAP juga merupakan satu-satunya metode yang secara langsung mengukur antioksidan dalam bahan lebih khususnya untuk menguji kadar antioksidan dalam tumbuh – tumbuhan. Hasil pengukuran absorbansi dan nilai aktivitas antioksidan FRAP teh hijau daun *Sonneratia alba* dari Suhu Pengeringan 50° C dapat dilihat pada **Tabel 10**.

Tabel 10. Nilai Aktivitas Antioksidan FRAP

Ekstrak Teh Daun <i>Sonneratia alba</i>	Absorbansi	Aktivitas Antioksidan (mg AAE/g ekstrak)	Rata-rata Aktivitas Antioksidan (mg AAE/g ekstrak)	St Dev
Replikasi 1	0,81	0,12555	0,12576	0,00663325
Replikasi 2	0,804	0,12592		
Replikasi 3	0,804	0,12574		
Replikasi 4	0,818	0,12583		

Larutan standar yang digunakan adalah asam askorbat. Asam askorbat digunakan sebagai pembanding karena berfungsi sebagai antioksidan sekunder yaitu menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Penambahan TCA bertujuan agar kompleks kalium ferrosianida mengendap. Penambahan FeCl₃ bertujuan membentuk kompleks berwarna hijau sampai biru (biru berlin). Daya reduksi merupakan indikator potensi suatu senyawa antioksidan. Daya reduksi dalam hal ini diukur dari kemampuan suatu antioksidan untuk mengubah Fe³⁺ menjadi Fe²⁺ (Kim, 2005). Senyawa yang mempunyai daya reduksi kemungkinan dapat berperan sebagai antioksidan karena dapat menstabilkan radikal dengan mendonorkan elektron atau

atom hidrogen sehingga senyawa radikal berubah menjadi lebih stabil. Reaksi yang terjadi yaitu:



Hasil regresi dari konsentrasi (x) dengan nilai absorbansi (y) larutan pembanding asamaskorbat diperoleh persamaan yaitu $y = 0,0106x - 0,8187$ dengan nilai $R^2 = 0,9717$ dan untuk menghitung nilai aktivitas antioksidan dimasukkan nilai absorbansi sampel kedalam persamaan tersebut. Nilai FRAP dinyatakan dalam mg equivalen asam askorbat/ gr ekstrak (AAE). Hasil pengukuran absorbansi dan nilai aktivitas antioksidan teh hijau daun *Sonneratia alba* tercantum pada table hasil penelitian sehingga didapatkan nilai rata-rata dari sampel sebesar 0,12391 mg AAE/g ekstrak atau 123,91 ppm, artinya dalam setiap gram ekstrak setara dengan 0,123,91 mg asam askorbat.

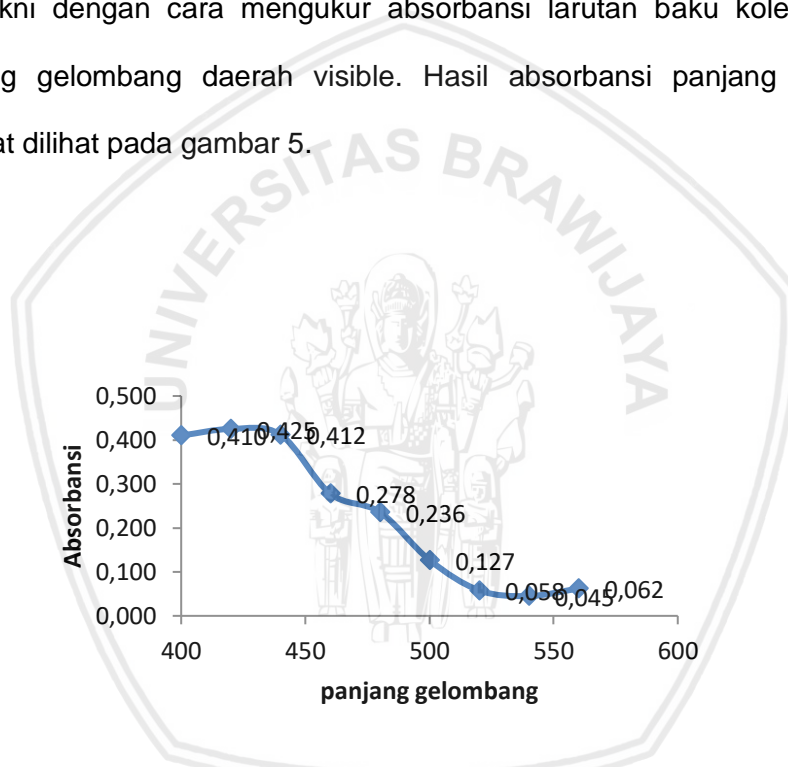
4.2.4 Uji Aktivitas Antikolesterol

Uji aktifitas antikolesterol pada daun teh *Sonneratia alba* dilakukan dengan menggunakan metode fotometri kolesterol yang menggunakan relaksi Lieberman-Burchard yang berfungsi untuk mengetahui jumlah kadar kolesterol bebas yang ada dalam larutan sampel, larutan sampel akan bereaksi menjadi berwarna hijau dan selanjurnya larutan diukur nilai absorbansinya menggunakan Spektrofotometri. Semakin banyak kadar kolesterol bebas yang terkandung dalam larutan sampel maka warna yang terbentuk dalam larutan akan semakin pekat, semakin pekatnya warna pada larutan akan menyerap lebih banyak cahaya dan mentransmisikan lebih sedikit

cahaya, sehingga akan berpengaruh ketika absorbansinya dibaca dengan menggunakan spektrofotometri (Rudel dan Moris, 1973).

4.2.4.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang dilakukan karena untuk mendapatkan panjang gelombang dengan nilai serapan yang optimum, cara mengukur panjang gelombang maksimum yakni dengan cara mengukur absorbansi larutan baku kolesterol pada rentan panjang gelombang daerah visible. Hasil absorbansi panjang gelombang maksimal dapat dilihat pada gambar 5.



Berdasarkan pada gambar diatas panjang gelombang maksimal dari larutan baku kolesterol yakni 420nm, karena nilai tersebut adalah nilai puncak tertinggi pada kurva. Hasil ini seduai dengan pendapat Hardiningsih dan Novik (2006), yang menyebutkan bahwa panjang gelombang maksimum dari larutan kolesterol yang dicampurkan dengan asam asetat anhidrad dan asam sulfat pekat adalah 420,20nm. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk mengetahui absorpsi telah mencapai maksimum sehingga meningkatkan proses absorpsi larutan terhadap sinar (Rohman, 2007).

4.2.4.2 Penentuan *Operating time*

Penentuan *operating time* dilakukan untuk menentukan waktu sempurna reaksi dan stabilnya reaksi yang ditunjukkan tidak adanya penurunan absorbansi. Hasil penentuan *operating time* dari larutan baku kolesterol dapat dilihat pada tabel 17.

Tabel 17. Data Hasil Penentuan *Operating Time*

<i>Operating time</i>	
<i>Time (menit)</i>	Absorbansi
10	0,701
12	0,707
14	0,710
16	0,710
18	0,709
20	0,705
22	0,702
24	0,697
26	0,693
28	0,689
30	0,687

Berdasarkan dari hasil penentuan *operating time* pada tabel 18, hasil absorbansi mulai menit ke 14 sampai menit 16 larutan tetap stabil, sehingga waktu yang dipilih dalam penelitian ini adalah 15 menit. Ini sesuai dengan penelitian Anggraini *et al.*, (2018), dimana pendiaman larutan selama 15 menit ini dilakukan karena larutan kolesterol tidak stabil terhadap cahaya. Pendiaman selama 15 menit ini dilakukan agar larutan membentuk kompleks warna hijau.

4.2.4.3 Pembuatan Kurva Standar

Pembuatan kurva standar dengan mereaksikan 11 seri konsentrasi larutan baku kolesterol dengan 2ml asam asetat anhidrat dan 0,1ml asam sulfat. Hasil pembuatan kurva standar dapat dilihat pada tabel 18.

Tabel 9. Hasil Pembuatan Kurva Standar

Konsentrasi	Absorbansi
0	0
10	0.111
20	0.169
30	0.256
40	0.325
50	0.377
60	0.462
70	0.507
80	0.572
90	0.654
100	0.725

Hasil regresi dari konsentrasi (x) dengan nilai absorbansi (y) pada pembuatan kurva standar baku kolesterol diperoleh persamaan yaitu $y = 0.007x + 0,0305$ dengan nilai $R^2 = 0,996$.

4.2.4.4 Uji Aktifitas Antikolesterol Ekstrak Teh Daun *Sonneratia alba*

Uji aktivitas antikolesterol pada ekstrak teh daun *Sonneratia alba* terhadap penurunan kadar kolesterol dapat diketahui dengan cara membandingkan absorbansi senyawa hasil reaksi antara kolesterol bebas dengan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat dari larutan kontrol dengan larutan uji, lalu dihitung persen penurunan kadar kolesterolnya (Handoko, 2006). Hasil uji aktivitas antikolesterol pada ekstrak teh daun *Sonneratia alba* dapat dilihat pada tabel. 19 dan data perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 7.

Tabel 10. Hasil Penurunan Kadar Kolesterol

Perlakuan	Konsentrasi	Kolesterol (ppm)	% Penurunan
kontrol negatif	600 ppm	91,43	7,82
kontrol positif	600 ppm	39,24	47,51
<i>Sonneratia alba</i>	500	56,84	47,24
	600	54,76	50,08
	700	53,42	51,17

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antikolesterol pada tabel 19, pada perlakuan kontrol negatif mendapatkan % penurunan kadar kolesterol sebesar 7,82% sedangkan pada kontrol positif mendapatkan hasil sebesar 47,51%. Pada perlakuan sampel uji yakni ekstrak teh daun *Sonneratia alba* pada konsentrasi 500 ppm mendapatkan % penurunan kadar kolesterol sebesar 47,24%, sedangkan pada konsentrasi 600 ppm mendapatkan hasil sebesar 50,08% dan pada konsentrasi 700 ppm mendapatkan hasil 51,17%. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun teh *Sonneratia alba* terbukti mempunyai aktivitas penurunan kolesterol secara *in vitro* karena adanya kandungan metabolit sekunder seperti tanin, dan flavonoid.

Hasil penelitian uji aktivitas teh daun mangrove *Sonneratia alba* mendapatkan hasil tertinggi pada konsentrasi 700 ppm dengan nilai sebesar 51,17%. Hasil ini tidak jauh berbeda dengan hasil uji efektifitas teh hijau daun mangrove *Sonneratia alba* oleh Analudin *et al.*, (2018), yang menunjukkan bahwa ekstrak teh hijau mangrove *Sonneratia alba* dapat menurunkan kadar kolesterol pada mencit 52,33% sehingga daun mangrove *Sonneratia alba* berpotensi sebagai bahan teh hijau antikolesterol. Pada penelitian lain uji aktivitas antikolesterol secara *in vitro* oleh Anggraini *et al.*, (2018), menyatakan bahwa kandungan ekstrak etanol teh daun suji pada konsentrasi 800 ppm mendapatkan % penurunan kadar kolesterol sebesar 64,05%.

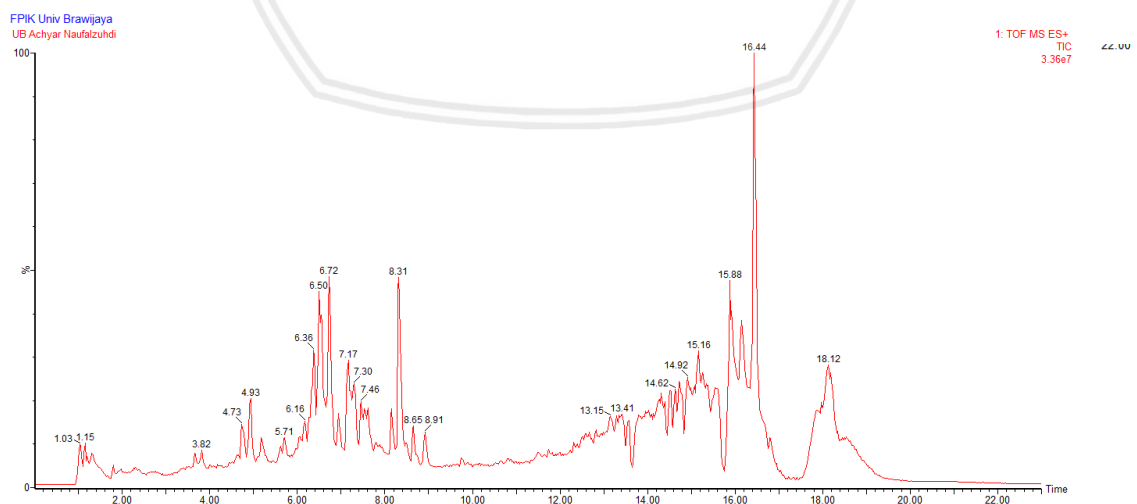
Aktivitas ekstrak etanol teh daun *S.alba* dalam menurunkan kadar kolesterol diduga disebabkan oleh adanya kandungan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid dan tanin. Penelitian yang dilakukan Jang *et al.*, (2008), menunjukkan bahwa asam galat dapat menurunkan lipid secara efektif. Tanin dalam daun *B. gymnorrhiza* diduga bekerja dengan mengikat lipid sehingga dapat mengganggu reaksi antara kolesterol dengan pereaksi lieberman burchard. Pada penelitian aktivitas antikolesterol ekstrak daun teh *Sonneratia alba* menggunakan alat spektrofotometer

untuk mengukur kolesterol bebas, bukan kolesterol yang terikat oleh flavonoid. Menurut Anggraini *et al.*, (2018), Gugus hidroksil pada kolesterol bereaksi dengan gugus keton pada flavonoid membentuk hemiasetal sedangkan gugus karbonil pada flavonoid akan bereaksi dengan gugus hidroksil pada kolesterol membentuk ikatan hidrogen. Senyawa yang tidak terikat oleh sampel inilah atau disebut dengan kolesterol bebas yang bereaksi dengan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat.

4.2.5 LCMS

Identifikasi senyawa bioaktif dilakukan dengan menggunakan metode LC-MS pada lama penyeduhan yang terpilih yaitu teh daun *Sonneratia alba* dengan lama pengeringan 140 menit dari perlakuan terbaik dengan metode de Garmo. Hasil identifikasi senyawa bioaktif disajikan dalam bentuk kromatogram dengan peak (puncak) dalam waktu retensi tertentu. Hasil identifikasi senyawa bioaktif teh hijau daun *Sonneratia alba* dengan lama pengeringan 140 menit dapat dilihat pada gambar

10.



Gambar 10. Hasil Identifikasi Senyawa Bioaktif Teh Hijau Daun *Sonneratia alba*

Berdasarkan senyawa hasil kromatogram di atas, dapat diketahui bahwa senyawa-senyawa yang berhasil terlihat pada detik 1,13; 1,25; 1,75; 4,48; 3,97; 15,28; 16,08; 16,39; 17,87; 18,09. Senyawa yang teridentifikasi dari retensi waktu tersebut hanya terdapat pada detik 1,13; 1,39; 16,55; 1,25; 4,511. Dugaan Senyawa pada Teh Hijau Daun *Sonneratia alba* dengan lama pengeringan 10 menit dapat dilihat pada **Tabel 15**.

Tabel 3. Dugaan Senyawa pada Teh Daun *Sonneratia alba*

Waktu Retensi	Massa Senyawa	Rumus Molekul	Dugaan Senyawa
1,39	217,0681	$C_9H_{12}O_6$	5 6-isopropylidene-l-ascorbic acid
16,55	291,0869	$C_{15}H_{14}O_6$	Epicatechin
1,25	195,0859	$C_8H_{10}N_4O_2$	Caffeine
4,511	303,0505	$C_{15}H_{10}O_7$	Morin

Procyanidin adalah anggota proanthocyanidin (atau tanin terkondensasi) yang merupakan senyawa oligomer yang terbentuk dari molekul catechin dan epicatechin. Tanin bakau/mangrove umumnya lebih banyak mengandung procyanidin dibanding dengan prodelfhinidin. Epikatekin sendiri berfungsi sebagai antimikroba dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu keutuhan membran sel bakteri (Oo et al., 2009).

Kafein adalah salah satu jenis alkaloid yang banyak terdapat dalam biji kopi, daun teh, dan biji coklat. Kafein bersifat antibakteri dan termasuk kelompok senyawa "metilxantin". Metilxantin merupakan senyawa yang terbentuk secara alami dan termasuk ke dalam derivat xantin yang merupakan golongan senyawa alkaloid.

Anggota kelompok metilxantin lainnya adalah teofilin yang terkandung di dalam teh, dan teobromin yang terkandung dalam cokelat (Weinberg, 2010).

Morin adalah flavonoid dengan beberapa efek kesehatan yang bermanfaat. Morin termasuk senyawa fenolik yang terdapat dalam sayuran dan tanaman. Beberapa manfaat dari morin yaitu sebagai antikanker, antimikroba, antiinflamasi dan efek perlindungan kardiovaskular. Mekanisme morin sebagai antimikroba adalah dengan menghambat sintesis DNA bakteri (Arima *et al.*, 2014).



BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diberikan pada penelitian ini adalah:

1. Terdapat pengaruh pada pelarut metanol daun *Sonneratia alba* terhadap uji aktivitas antikolesterol.
2. ekstrak metanol daun teh *Sonneratia alba* terbukti mempunyai aktivitas penurunan kolesterol secara *in vitro* karena adanya kandungan metabolit sekunder seperti tanin, dan flavonoid.
3. Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antikolesterol, pada perlakuan kontrol negatif mendapatkan % penurunan kadar kolesterol sebesar 7,82% sedangkan pada kontrol positif mendapatkan hasil sebesar 47,51%. Pada perlakuan sampel uji yakni ekstrak teh daun *Sonneratia alba* pada konsentrasi 500 ppm mendapatkan % penurunan kadar kolesterol sebesar 47,24%, sedangkan pada konsentrasi 600 ppm mendapatkan hasil sebesar 50,08% dan pada konsentrasi 700 ppm mendapatkan hasil 51,17%.

5.2 Saran

Untuk penelitian selanjutnya perlu dilakukan penelitian lanjut mengenai isolasi senyawa aktif yang diduga berperan terhadap aktifitas antikolesterol ekstrak mangrove *soneratia alba*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajisaka, 2012. *Teh Khasiatnya Dahsyat*. Surabaya: Stomata. 128 hlm
- Aksara R., 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, R., dan Hari S. 2012. Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella Merah (*Hibiscus Sabdariffa Linn*) dengan Variasi Tempat Tumbuh secara Spektrofotometri. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. **2** (1) : 73-80.
- Anjarsari I.R.D. 2016. Katekin Teh Indonesia : Prospek dan Manfaatnya. *Jurnal Kultivasi*. **15** (2) : 99-106.
- Arikunto, S. 2006. *Prosedur Penelitian*. Yogyakarta: Rineka Cipta. 150 hlm
- Astutiningsih, C., F. Nuzulia, dan A. Suprijono. 2012. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Alkaloid Buah Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocarpa (Scheff.) Boerl*) secara Spektrofotometri Uv-Vis dan serta Uji Toksisitas Akut terhadap Larva *Artemia Salina Leach*. *Jurnal Farmasi Sains Dan Komunitas*. **9** (2) : 66-70.
- Badan Standarisasi Nasional. 2006. Penentuan Kadar Air pada Produk Perikanan. SNI 01 2354-2-2006
- Bahriul, P., N. Rahman dan A. W. M. Diah. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) dengan Menggunakan 1,1-Difenil-2- Pikrilhidrazil. *Jurnal Akad. Kim*. **3** (3) : 143-149.
- Blois, M.S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181:1199-1200.
- Chrissanty, P. A. 2012. Penurunan Kadar Tanin Pada Buah MangroveJenis *Brugueira gymnorrhiza*, *Rhyzophora stylosa* dan *Avicennia marina* untuk diolah menjadi Tepung Mangrove. *Jurnal Industria*. **1** (1) : 31–39.
- Cuppett, S.M dan Schrepf, C. Hall III. 1954. Natural Antioxidant Are They Reality. dalam foreidoon Shahidi: Natural Antioxidants, Chemistry, Health Effect and Aplications, AOCS Press, Champaign, Illinois: 12-24.
- Danamurti, R. 2009. *29 Resep Teh Nikmat*. Yogyakarta.: Jogja Great Publisher 138 hlm.
- Detha, A., dan F. U. Datta. 2015. Skrining Fitokimia Minuman Tradisional Moke dan Sopi sebagai Kandidat Antimikroba (Phytochemical of Sopi and Moke as a Potential Antimicrobial Agent). *Jurnal Kajian Veteriner*. **4** (1): 12-16

- Dewata, I. P., P. A. S. Wipradnyadewi, dan I. W. R. Widarta. 2017. Pengaruh Suhu dan Lama Penyeduhan Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Sifat Sensoris Teh Herbal Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal ITEPA*. **6** (2): 30-39.
- De Garmo, E. D. G. Sullivan and J. R. Canada. 1984. Engineering economics. Mc Millan Publishing Company. New York.
- Dia, S. P. S., Nurjanah, dan A. M. Jacob. 2015. Komposisi Kimia dan Aktivitas Antioksidan Akar, Kulit Batang dan Daun Lindur. *JPHPI*. **18** (2) : 205-219.
- Dusun, C.C., G. S. S. Djarkasi, T. D. J. Tuju. 2017. Kandungan Polifenol dan Aktivitas Antioksidan Teh Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L). *Jurnal Ilmiah Fakultas Pertanian Universitas Sam Ratulangi*. **1** (7) : 18 -24.
- Eka Christina dan Florentina. 2017. Ekstraksi Tanin dari Kulit Kayu Pinus dengan Bantuan Microwave: Pengaruh Daya Microwave, Jenis Pelarut Dan Waktu Ekstraksi. *Jurnal Integrasi Proses*. **6** (4) : 155 – 161.
- Farhaeni, Mutria. 2016. Komodifikasi Ragam Buah Mangrove untuk Pemberdayaan Masyarakat Pesisir di Desa Tuban, Kecamatan Kuta, Kabupaten Badung Bali. *Jurnal Studi Kultural*. **1** (1) : 21–27.
- Fessenden, R. J., dan Fessenden, J.S. 1986. Kimia Organik. Edisi Ketiga. Diterjemahkan oleh A.H. Pudjaatmaka. Jakarta: Penerbit Erlangga. 226 hlm.
- Gandjar, I. G., dan Rohman, A. 2017. Kimia Farmasi Analisis. Cetakan Ke XVI. Yogyakarta: Pustaka Pelajar. 225 hlm.
- Gitahafas. 2008. Kesehatan dan Ilmu Kedokteran. Iluni-FK, Jakarta. 263 hlm.
- Haq M, Wirakarnain S, ABMS Hossain, R. M. Taha, dan KM Monneruzzaman. 2011. Total phenolic contents, antioxidant and antimicrobial activities of *Bruguiera gymnorrhiza* **6** (17) : 4112-4118.
- Homhual S, Bunyapraphatsara N, Kondratyuk T, Herunsalee A, Chaukul W, Puzuto JM, Fong HHS, dan Zhang HJ. 2006. Bioactive dammarane triterpenes from the mangrove plant *Bruguiera gymnorrhiza*. *Journal of Natural Product* **69** (3) : 421-424.
- Indarto. 2015. Uji Kualitatif Dan Kuantitatif Golongan Senyawa Organik Dari Kulit Dan Kayu Batang Tumbuhan *Artocarpus dadah Miq.* *Jurnal Pendidikan Fisika*. **3** (1) : 75 – 84.
- Jacob, A.M., P. Suptijah, dan Zahidah. 2013. Komposisi Kimia, Komponen Bioaktif dan Aktivitas Antioksidan Buah Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*). *JPHPI*. **16** (1) : 86-94.
- Juniarti, Osmeli D, dan Yuhernita. 2009. Kandungan Senyawa Kimia, Uji Toksisitas (*Brine Shrimp Lethality Test*) dan Antioksidan (1,1-Diphenyl-2-Picrilhydrazyl) Dari Ekstrak Daun Saga (*Abrus Precatorius* L.). *Makara Sains* **13** (1) : 50-54.

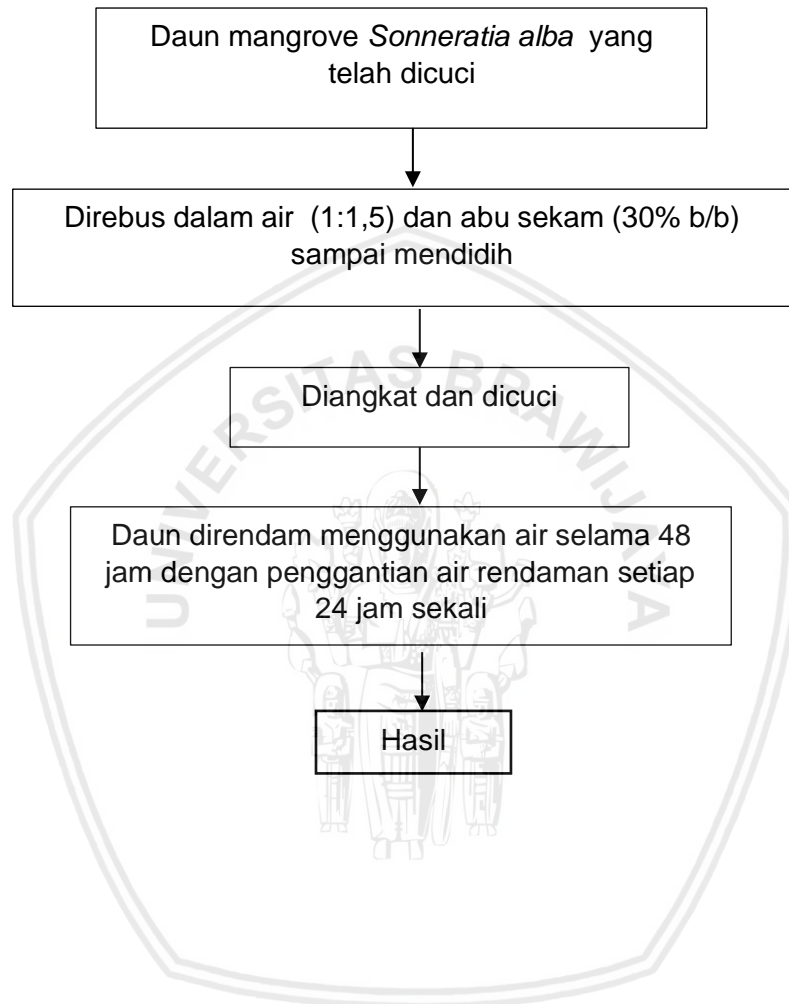
- Koche D, Shirsat R, Imran S, dan Bhadange DG. 2010. Phytochemical screening of eight traditionally used ethnomedicinal plants from Akola district (MS) India. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. **1** (4): 253-256.
- Lee MS, Kerns EH. 1999. LC/MS application in drug development. *Mass Spectrometry Reviews*. **18**: 187-279.
- Makkar, H. P. S. 1993. Antinutritional factors in foods for livestock. *Animal Production in Developing Countries. Occasional Publication*. **16** : 73-78.
- Marinova, G., dan Batchvarov, V. 2011. Evaluation of the Methods for Determination of the Free Radical Scavenging Activity by DPPH. *Journal of Agricultural Science*. **17** (1) : 11 – 24.
- Molyneux, P. 2004. The Use of the Stable Free Radical *Diphenylpicrylhydrazyl* (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*. **26** (2) : 211-219.
- Mukhriani, F. Y. Nonci, dan Mumang. 2014. Penetapan Kadar Tanin Total Ekstrak Biji Jintan Hitam (*Nigella Sativa*) Secara Spektrofotometri Uv-Vis. *Jf Fik Uinam..2* (4) : 154-158.
- Nasrudin, Wahyono, Mustofa dan R. A. Susidarti. 2017. Isolasi Senyawa Steroid Dari Kukat Akar Senggugu (*Clerodendrum Serratum* L.Moon). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. **6** (3) : 332-340.
- Novitasari, A. E., dan D. Z. Putri. 2016. Isolasi dan Identifikasi Saponin Pada Ekstrak Daun Mahkota Dewa Dengan Ekstraksi Maserasi. *Jurnal Sains*. **6** (12) : 10-13.
- Nurjanah, Jacob AM, Hidayat T, Shylina A. 2015. Bioactive compounds and antioxidant activity of stem bark (*Bruguiera gymnorhiza*). *International Journal of Plant Science and Ecology* **1** (5) : 182-189.
- Pramesti, Rini. 2013. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Caulerpa serrulata* dengan Metode DPPH (*1,1 difenil 2 pikrilhidrazil*). *Buletin Oseanografi Marina*. **2** (1) : 7 – 15.
- Raharjo, T.J. 2013. Kimia Hasil Alam. Cetakan I. Yogyakarta : Pustaka Pelajar. 111 hlm
- Rahman MA, Arif Ahmed, IZ Sahid. 2011. Phytochemical and pharmacological properties of *Bruguiera gymnorhiza* roots extract. *International Journal of Pharmaceutical Research*. **3** (1) : 63-67.
- Rahmi, Hayatul. 2017. Review : Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Sumber Buah-buahan di Indonesia. *Jurnal Agrotek Indonesia*. **2** (1) : 34 – 38.
- Ryanata, Ebry. 2015. Penentuan Jenis Tanin dan Penetapan Kadar Tanin dari Kulit Buah Pisang Masak (*Musa paradisiaca* L.) secara Spektrofotometri dan permanganometri. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*. **4** (1) : 1-16.

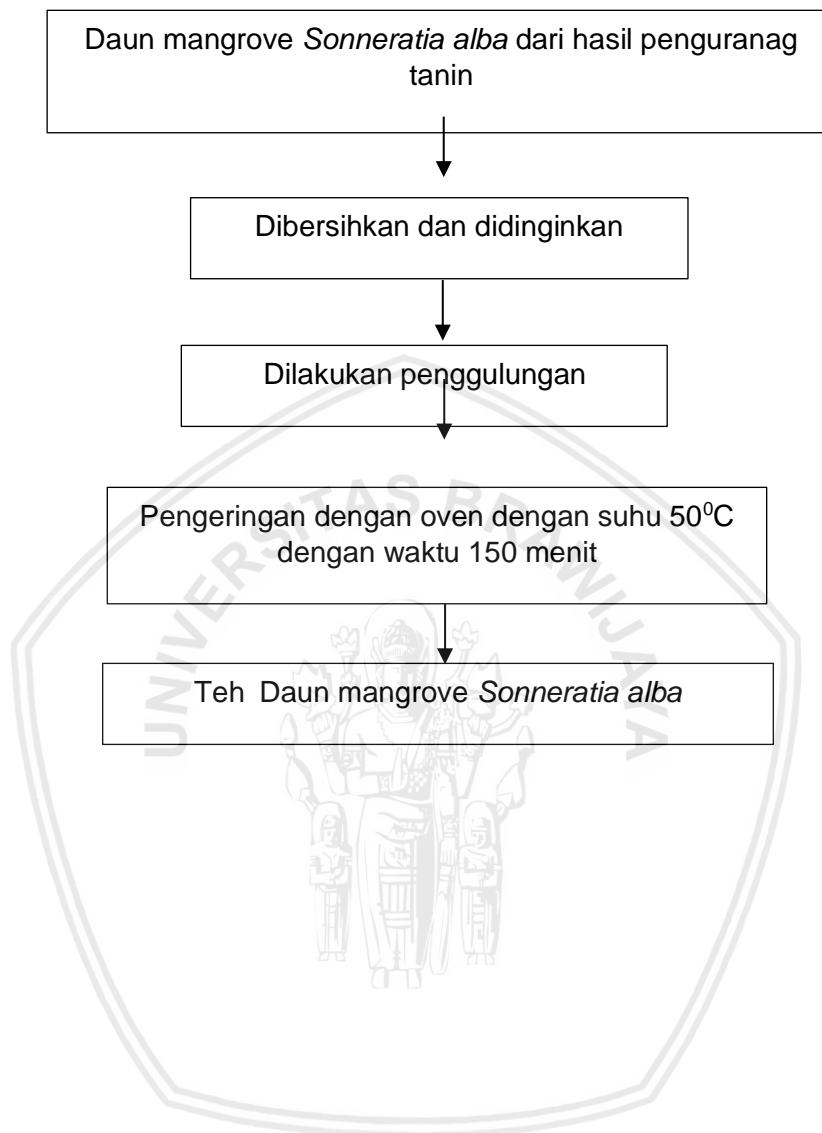
- Soenardjo, N., dan E. Supriyantini. 2017. Analisis Kadar Tanin Dalam Buah Mangrove *Avicennia marina* Dengan Perebusan Dan Lama Perendaman Air Yang Berbeda. *Jurnal Kelautan Tropis November*. **20** (2) : 90–95.
- Sudirman S, Nurjanah, dan Jacob AM. 2014. Proximate compositions, bioactive compounds and antioxidant activity from large-leafed mangrove (*Bruguiera gymnorrhiza*) fruit. *International Food Research Journal*. **21** (6) : 2387-2391.
- Sugiyono. 2013. Metodologi Penelitian Bisnis. Bandung: Alfabeta. 254 hlm.
- Sugiyono. 2016. Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif Dan R&D. Bandung : CV. Alfabeta. 238 hlm
- Sukandar EY, Suwendar, dan Ekawati, E. 2006. Aktivitas Ekstrak Etanol Herba Seledri (*Apium graveolens*) dan Daun Urang Aring (*Eclipta prostrata L.*) terhadap *Pityrosporum ovale*. *Majalah Farmasi Indonesia*. **17** (1) : 7-12.
- Sumanto, 1995. Metodologi Penelitian Sosial dan Pendidikan (Aplikasi Metode Kuantitatif dan Statistika dalam Penelitian), Yogyakarta: Andi Offset. 113 hm
- Syah, A.N.A. 2006. Taklukkan Penyakit dengan Teh Hijau. Jakarta: Agro Media Pustaka. 236 hlm
- Sari, N. K. Y., dan I M. W. A. Putra. 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Akasia (*Acacia Auriculiformis*). *Jurnal Media Sains*. **2** (1) : 21 – 25
- Sari, A.N., Kusdiant dan D. S. Diningrat. 2018. Potensi Antioksidan Alami pada Ekstrak Kulit Buah Jamblang (*Syzigium cumini (L.) Skeels*) menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Bioslogos*. **8** (1) : 21-25.
- Susana, I., A. Ridhay, dan S. Bahri. 2018. Kajian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Batang Kecombrang (*Ecliptera Elatior*) berdasarkan Tingkat Kepolaran Pelarut. *Jurnal Riset Kimia Kovalen*. **4** (1) : 16-23.
- Tandi, E. J. 2013. Pengaruh Perlakuan Urea terhadap Kadar Tanin Biji Makadamia (*Macadamia Hildebrandii*). *Buletin Nutrisi dan Makanan Ternak*, **9** (1) : 41-46.
- Tristantini, D., A. Ismawati, B. T. Pradana, J. G. Jonathan. 2016. Pengujian Aktivitas Antioksidan menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi L.*). *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia*. **6** (2) : 1-7.
- Theodoridis G, Helen GG, dan Wilson ID. 2008. LC-MS-based methodology for global metabolite profiling in metabonomics/metabolomics. *Trends in Anal Chem*. **27** : 251-260.
- Tahir, M., A. Cahya, dan H. Widiastuti. 2016. Uji Aktivitas Antioksidan Buah Semangka (*Citrullus Lanatus*) dengan Metode Frap. *As-Syifaa*. **08** (1) : 31-38.

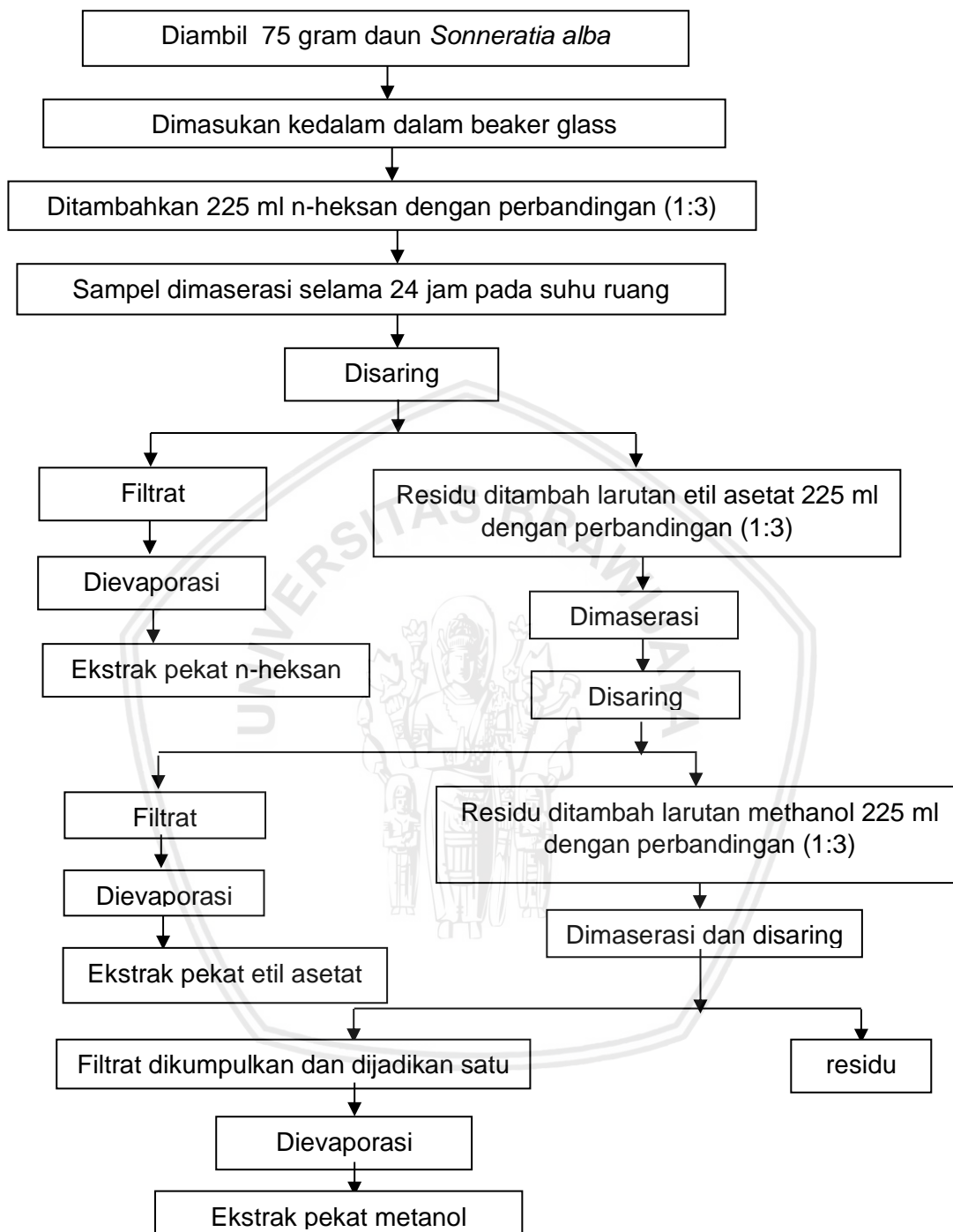
- Wahyuni, T., dan Syamsudin. 2014. Pemanfaatan Tanin Ekstrak Daun Jambu Biji terhadap Laju Korosi Besi dalam Larutan NaCl 3% (W/V). *Konversi*. **3** (1) : 45 - 52.
- Widiyati, Eni. 2006. Penentuan Adanya Senyawa Triterpenoid dan Uji Aktivitas Biologis pada Beberapa Spesies Tanaman Obat Tradisional Masyarakat Pedesaan Bengkulu. *Jurnal Gradien*. **2** (1) : 116-122.
- Yanuartono, H. Purnamaningsih, A. Nururrozi, dan S. Indarjulianto. 2017. Saponin : Dampak terhadap Ternak (Ulasan). *Jurnal Peternakan Sriwijaya*. **6** (2) : 79 – 90.
- Yefridaa, N., Ashikina , Refildab. 2015. Validasi Metoda Frap Modifikasi pada Penentuan Kandungan Antioksidan Total dalam Sampel Mangga dan Rambutan. *Jurnal Riset Kimia*. **8** (2) : 170 - 175.



LAMPIRAN

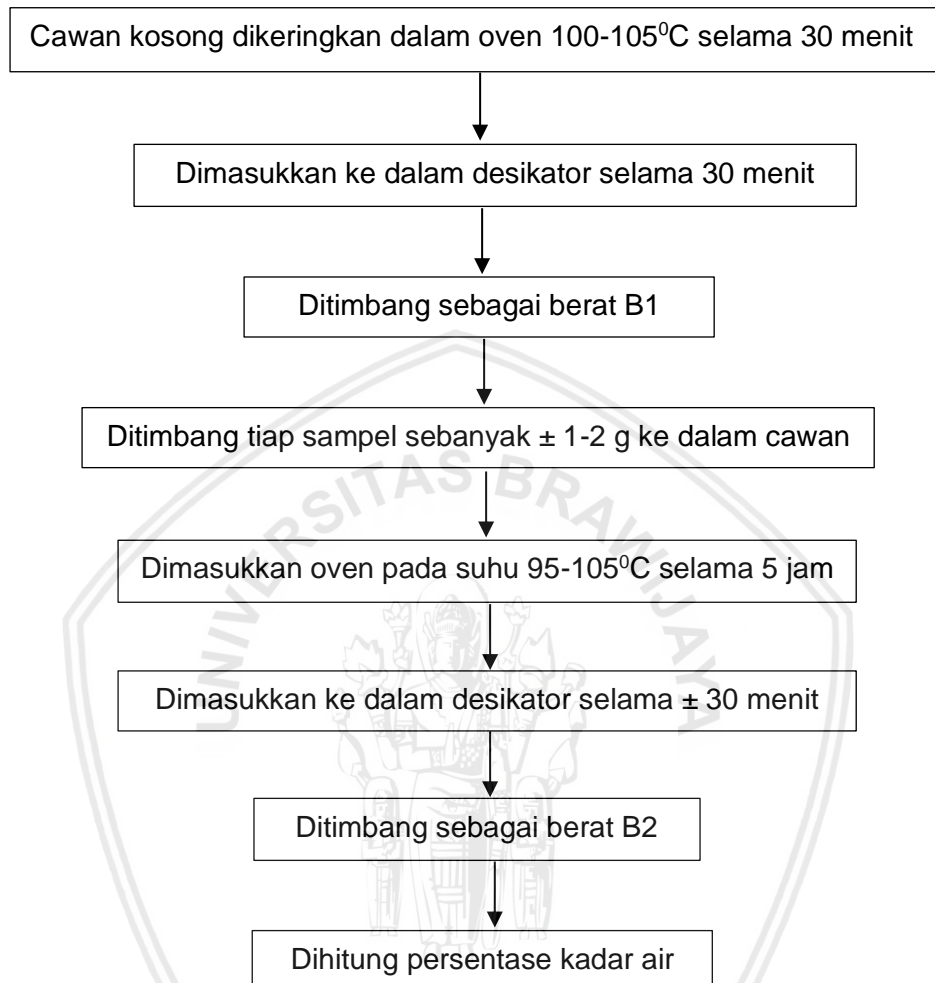
Lampiran 1. Skema Pengurangan Tanin Daun *Sonneratia alba*

Lampiran 2. Skema Pembuatan teh Daun Mangrove *Sonneratia alba*

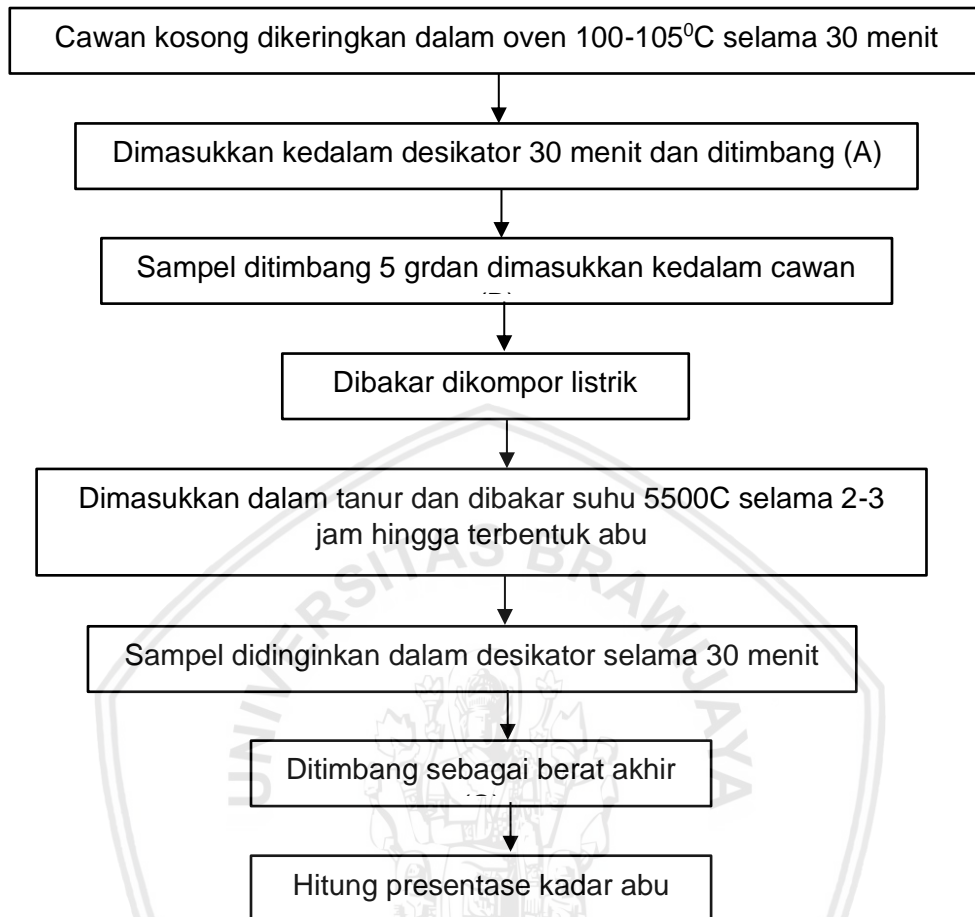
Lampiran 3. Skema Ekstraksi Teh Daun *Sonneratia alba*

Lampiran 4. Skema Uji Proksimat

- Kadar Air

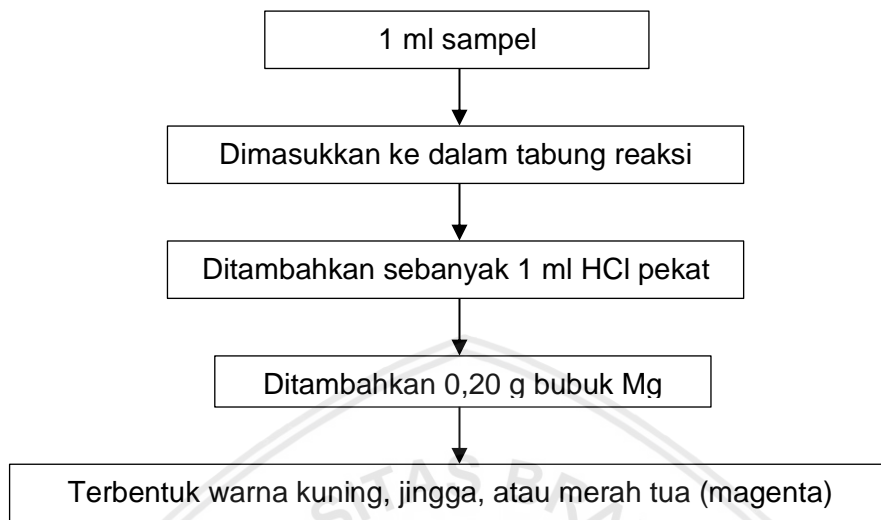


- **Kadar Abu**

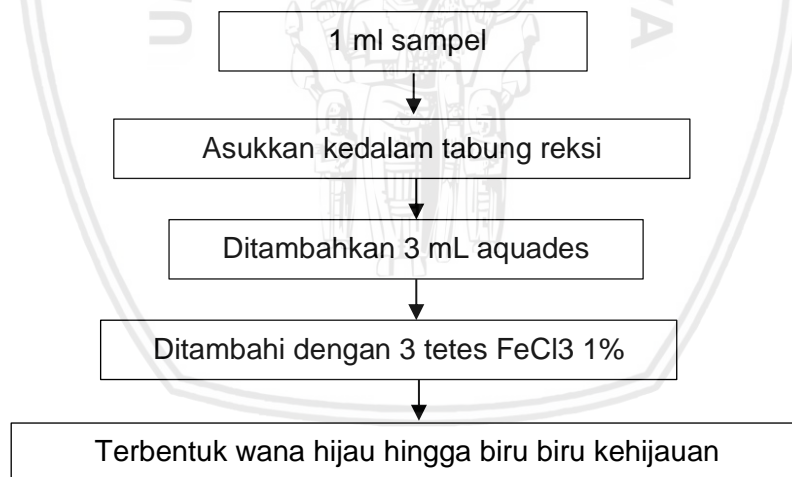


Lampiran 5. Skema Uji Fitokimia

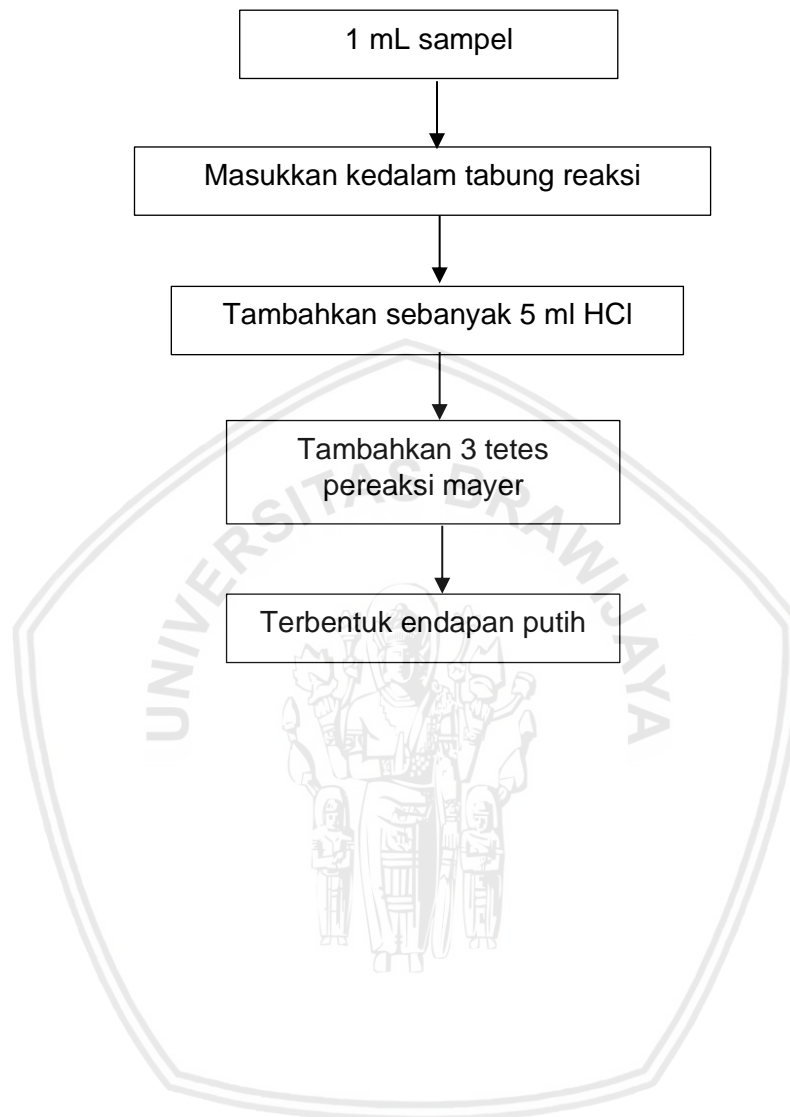
- **Flavonoid**



- **Tanin**

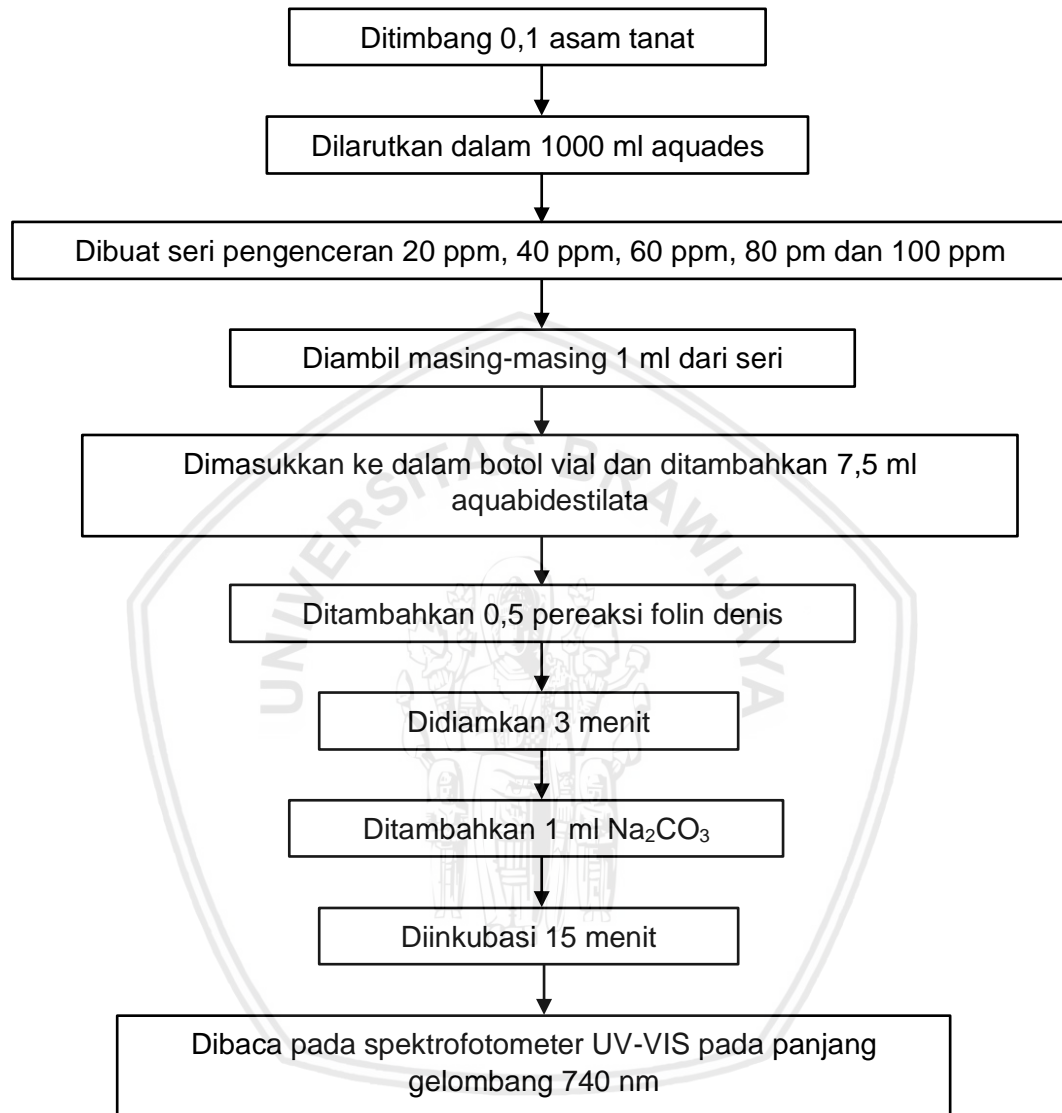


- Alkaloid

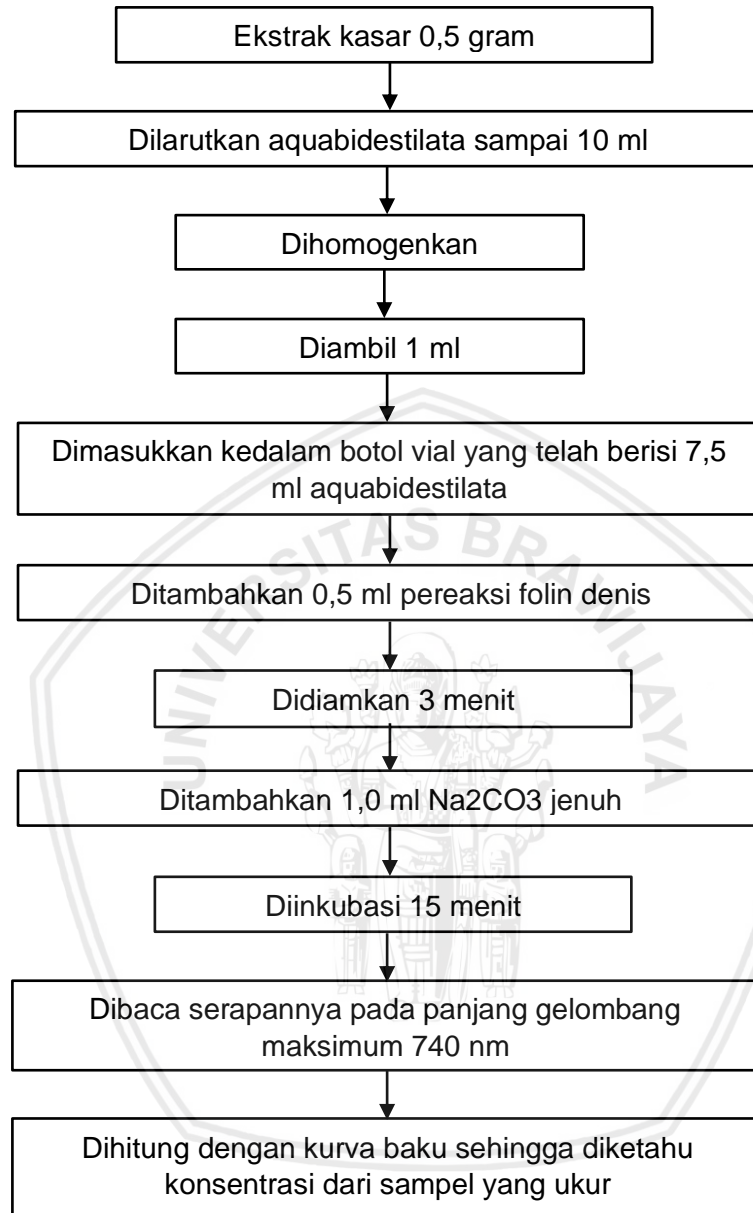


Lampiran 6. Skema Uji Pengurangan Tanin

- **Pembuatan Larutan Standar Asam Tanat**

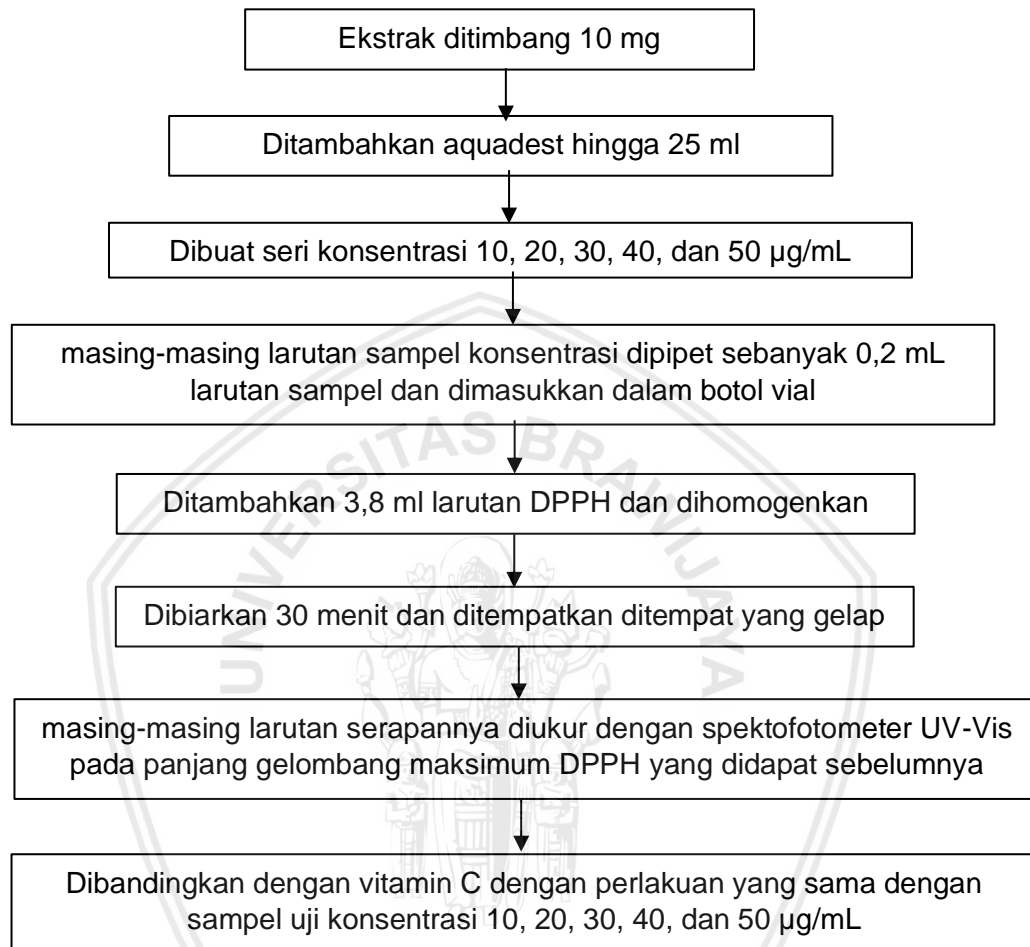


- **Penetapan Kadar Tanin**

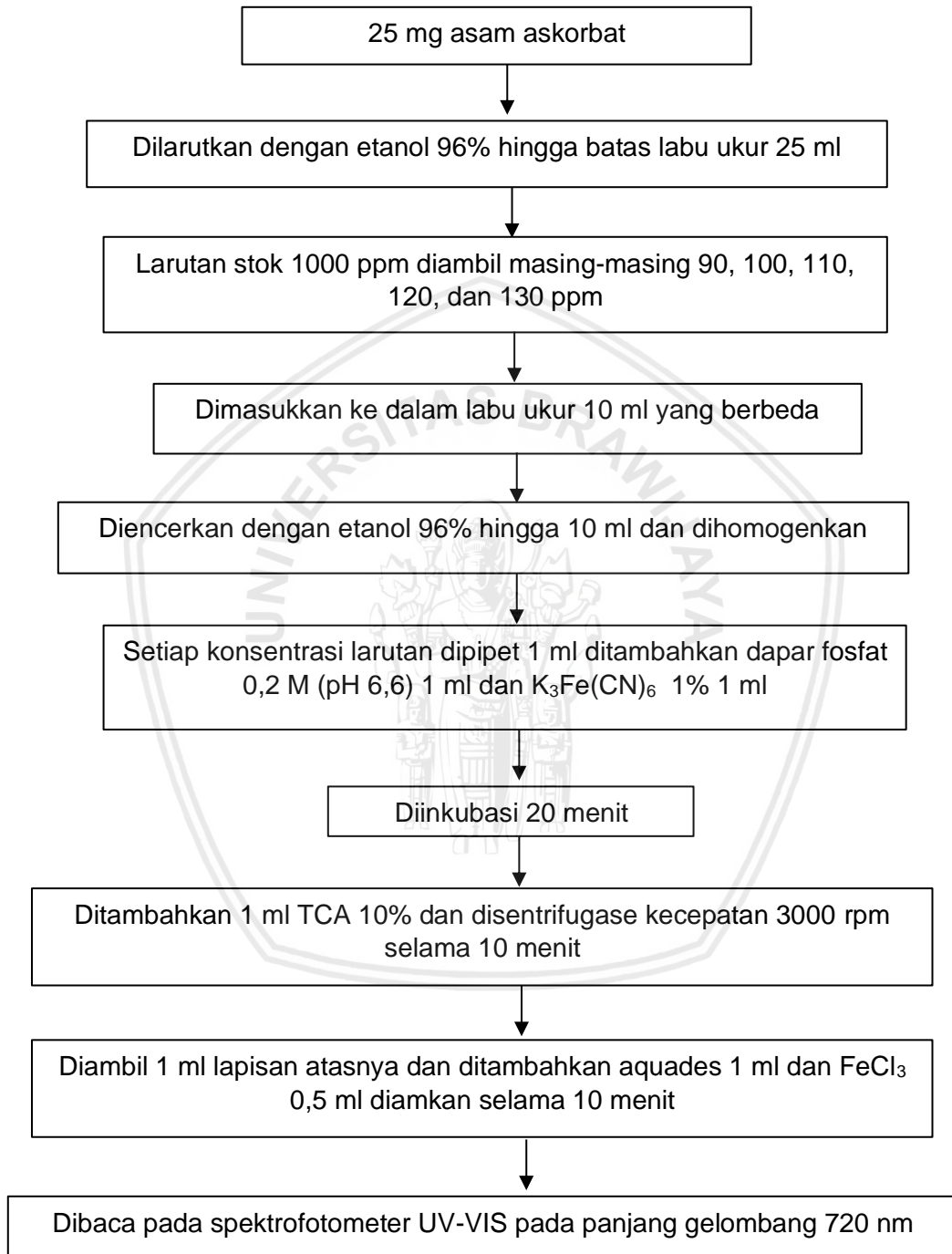


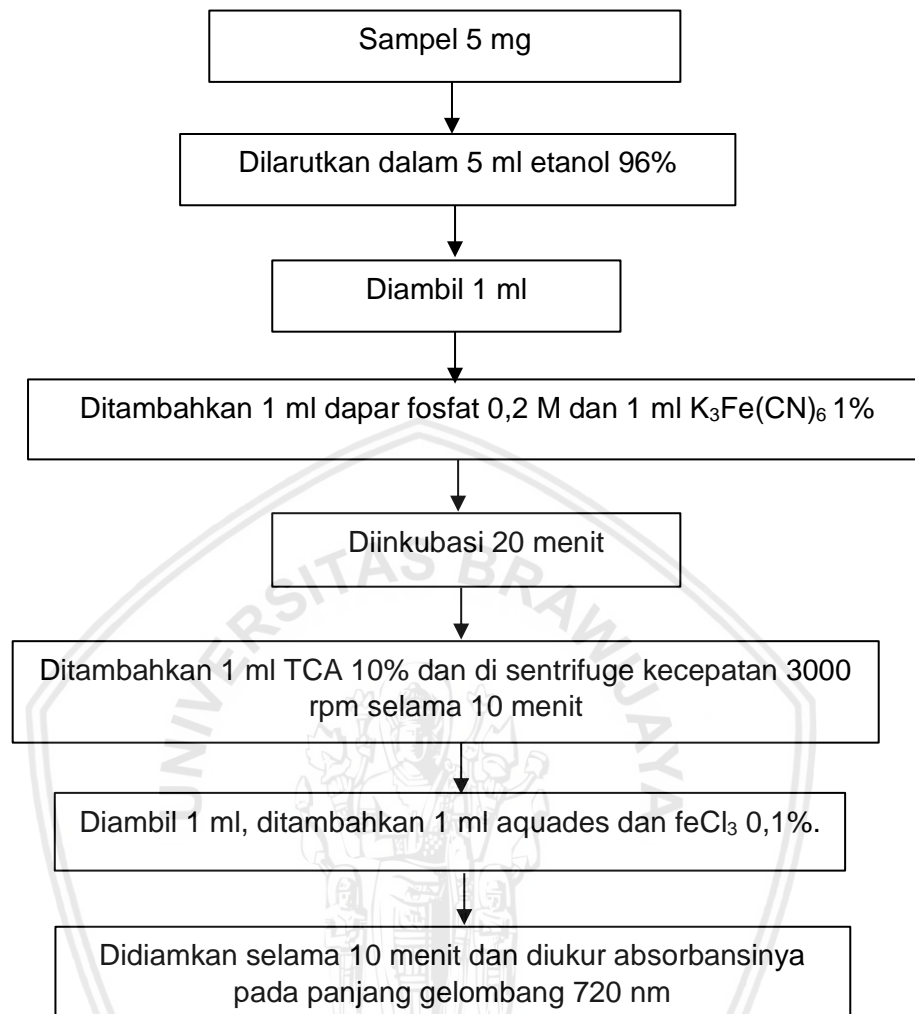
Lampiran 7. Skema Uji Antioksidan

- DPPH



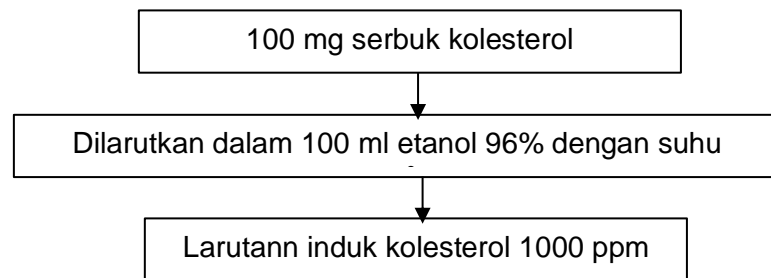
- FRAP

Pembuatan Larutan Standar

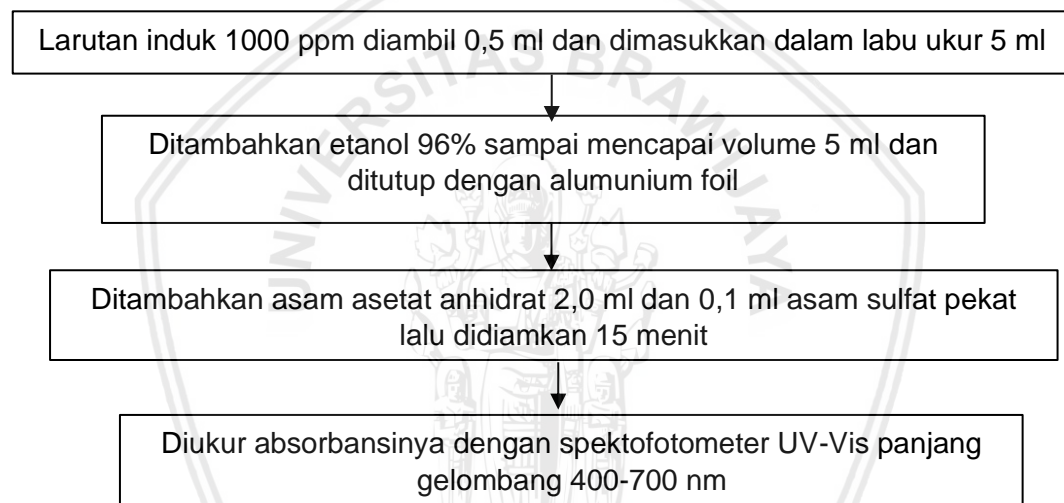
Pengujian FRAP

Lampiran 8. Skema Uji Antikolesterol

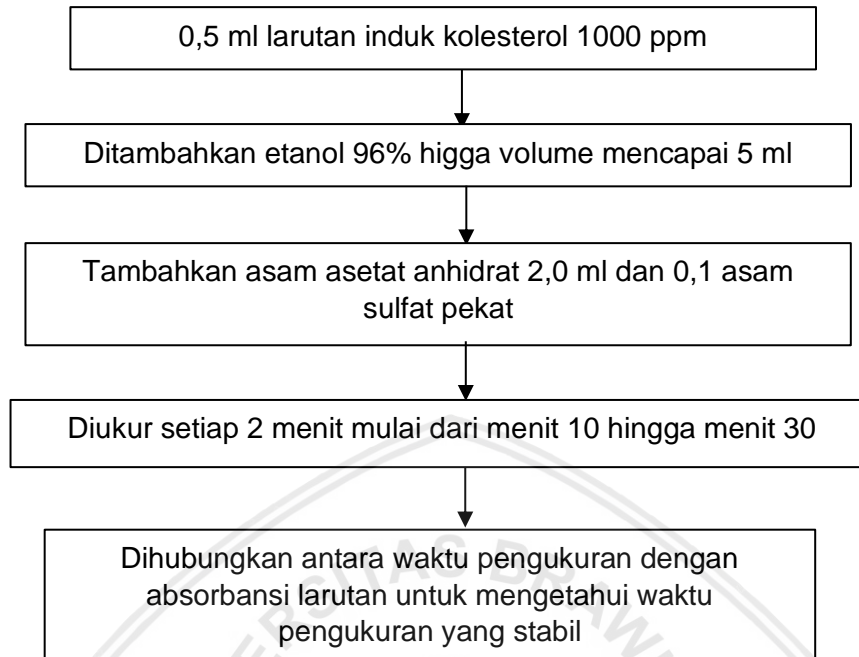
- **Pembuatan Larutan Baku Kolesterol**



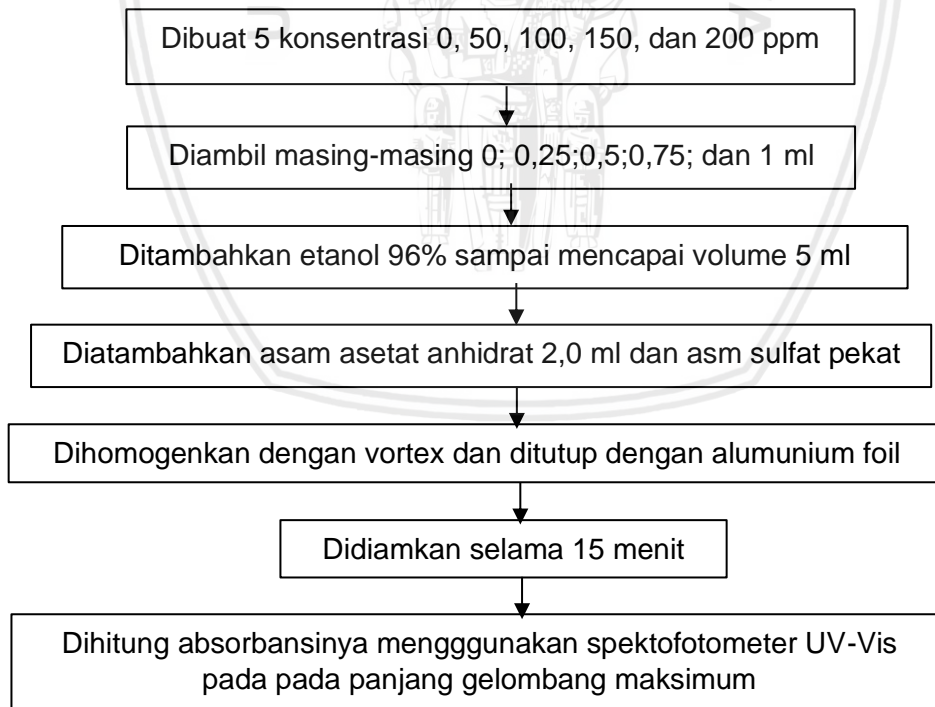
- **Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kolesterol.**



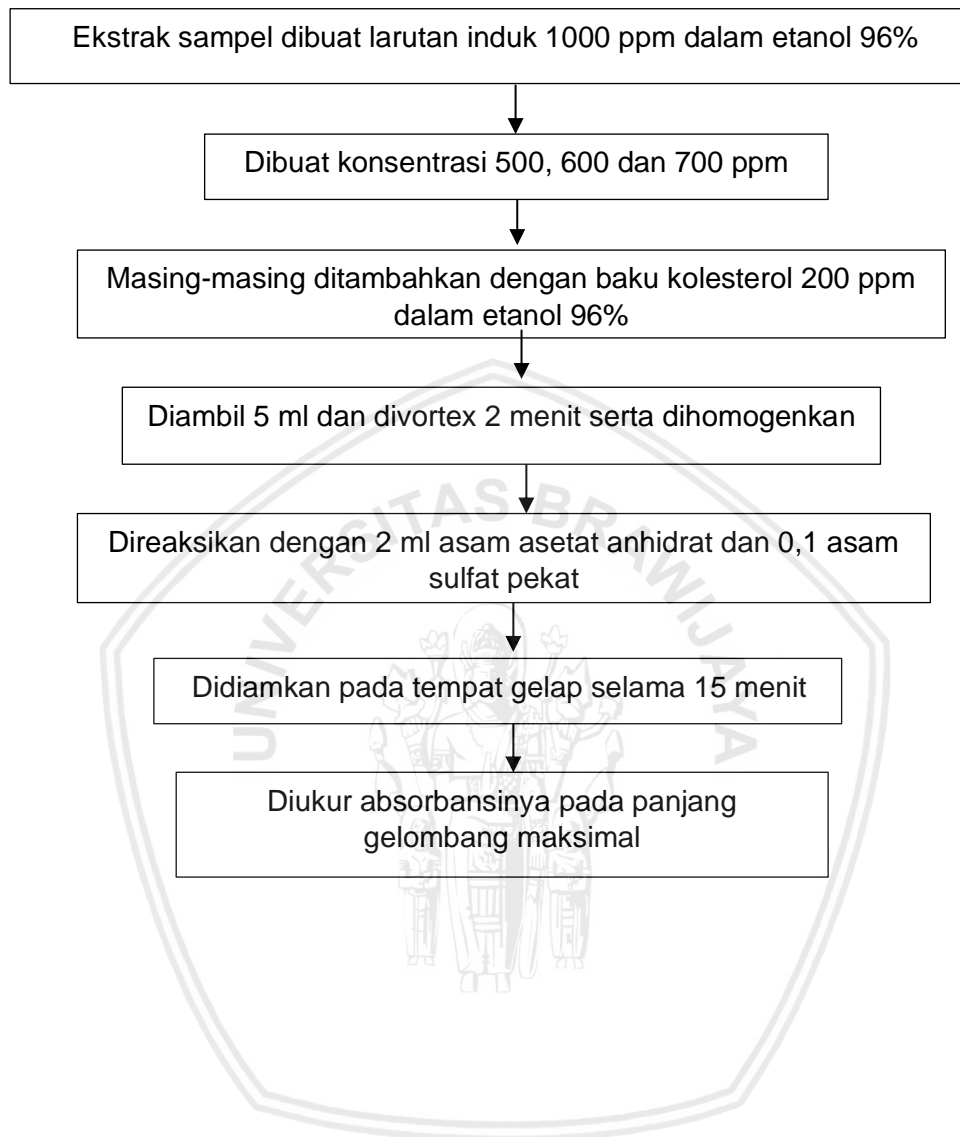
- **Penentuan Operating Time**

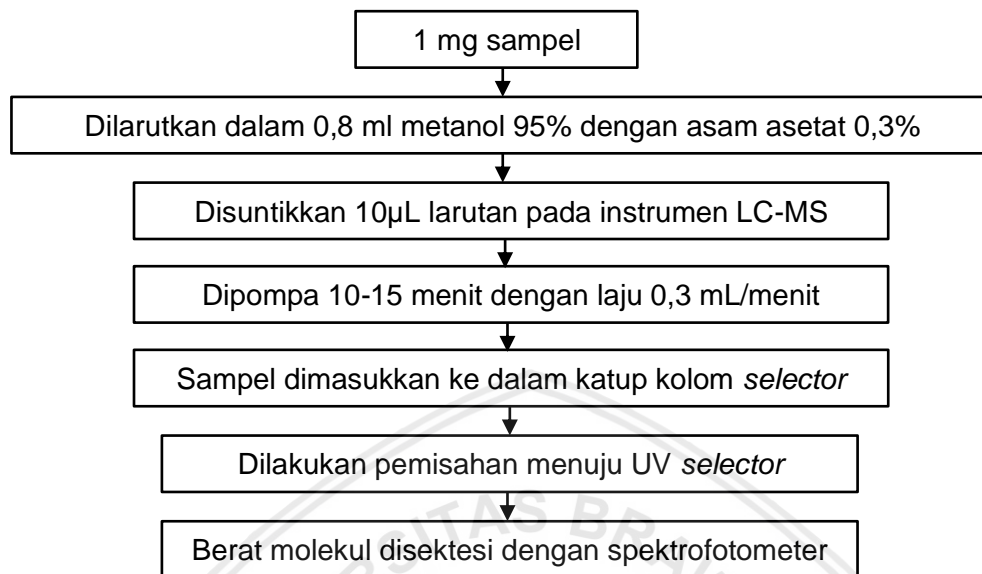


- **Pembuatan Kurva Standar**



- **Uji Aktivitas Antikolesterol**



Lampiran 9. Liquid Chromatography Mass Spectrometry (LC-MS)

- **Data Hasil Perhitungan Aktivitas Antikolesterol Ekstrak Teh Daun Mangrove *Sonneratia alba***

Perlakuan	Absorbansi	Kolesterol (ppm)	Rata-Rata Kolesterol (ppm)	% Penurunan	Rata-Rata % Penurunan
Blanko	0,7239	99,06	99,18	0,13	0,00
	0,7244	99,13		0,05	
	0,7251	99,23		-0,05	
	0,7257	99,31		-0,13	
Kontrol negatif	0,6726	91,73	91,43	7,52	7,82
	0,6699	91,34		7,90	
	0,6712	91,53		7,72	
	0,6683	91,11		8,13	
Kontrol Positif	0,3956	52,16	52,06	47,41	47,51
	0,3918	51,61		47,96	
	0,3989	52,63		46,94	
	0,3934	51,84		47,73	
<i>Sonneratia alba</i> 500 ppm	0,4445	59,14	59,31	40,37	40,20
	0,4487	59,74		39,76	
	0,4426	58,87		40,64	
	0,4469	59,49		40,02	
<i>Sonneratia alba</i> 600 ppm	0,4339	57,63	57,55	41,90	41,97
	0,4318	57,33		42,20	
	0,4352	57,81		41,71	
	0,4326	57,44		42,08	
<i>Sonneratia alba</i> 700 ppm	0,4124	54,56	54,94	44,99	44,61
	0,4158	55,04		44,50	
	0,4136	54,73		44,82	
	0,4184	55,41		44,13	



Contoh pengolahan data dengan analisa aktivitas antikolesterol untuk ulangan 1 sampel dengan menggunakan rumus :

Keterangan :

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

a. Untuk kontrol (-) = $\left[\frac{99,06-91,73}{99,06}\right] \times 100\% = 7,52\%$

b. Untuk kontrol (+) = $\left[\frac{99,06-52,16}{99,06}\right] \times 100\% = 47,41\%$

c. Untuk 500 ppm = $\left[\frac{99,06-59,14}{99,06}\right] \times 100\% = 40,37\%$

d. Untuk 600 ppm = $\left[\frac{99,06-57,55}{99,06}\right] \times 100\% = 41,90\%$

e. Untuk 700 ppm = $\left[\frac{99,06-54,56}{99,06}\right] \times 100\% = 44,99\%$

- **ANOVA (Analysis of Variance) Uji Aktivitas Antikolesterol Ekstrak Teh 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%. Apabila nilai $F_{hitung} >$ dari F_{tabel} , maka dapat dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji Tukey.

ANOVA

Antikolesterol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4213,068	4	1053,267	8751,820	,000
Within Groups	1,805	15	,120		
Total	4214,873	19			

Aktivitas Antikolesterol

	perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05				
			1	2	3	4	5
Tukey HSD	kontrol negatif	4	7,8175				
	500 ppm	4		40,1975			
	600 ppm	4			41,9725		
	700 ppm	4				44,6100	
	kontrol positif	4					47,5100
	Sig.			1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

Lampiran 10. Perhitungan Kadar Air

➤ **Perhitungan Kadar Air Teh Kering Daun *Sonneratia alba* (1)**

Berat cawan = 22,1 g Berat Sampel = 2 g

Berat Akhir = 23,94 g

Kadar air = $\frac{(\text{berat cawan} + \text{berat sampel}) - \text{berat akhir}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$

$$= \frac{(22,1+2) - 23,94}{2} \times 100\%$$

$$= 8\%$$

➤ **Perhitungan Kadar Air Teh Kering Daun *Sonneratia alba* (2)**

Berat cawan = 23,3 g Berat Sampel = 2 g

Berat Akhir = 25,15 g

Kadar air = $\frac{(\text{berat cawan} + \text{berat sampel}) - \text{berat akhir}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$

$$= \frac{(23,3+2) - 25,15}{2} \times 100\%$$

$$= 7,5\%$$

- **Rata-Rata Kadar Air Teh Kering Daun *Sonneratia alba*** = $\frac{8\% - 7,5\%}{2}$
= 7,75%

➤ **Perhitungan Kadar Air Daun *Sonneratia alba* (1)**

Berat cawan = 23,848 g Berat Sampel = 2 g

Berat Akhir = 25,301 g

Kadar air = $\frac{(\text{berat cawan} + \text{berat sampel}) - \text{berat akhir}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$

$$= \frac{(23,848+2) - 25,301}{2} \times 100\%$$

$$= 27,35\%$$

- Data hasil perhitungan IC₅₀ teh hijau daun *Sonneratia alba*

Perlakuan	Ulangan	Absorbansi			
		200	400	800	1000
4 menit	1	0,492	0,427	0,363	0,331
	2	0,491	0,428	0,362	0,33
	3	0,49	0,429	0,361	0,332
	4	0,493	0,425	0,364	0,333
	5	0,494	0,424	0,36	0,335
	6	0,493	0,425	0,362	0,331

Ulangan 1

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% inhibisi	Persamaan regresi	R ²	IC ₅₀
4 menit	200	0,492	43,77	Y = 0,221x + 40,68	0,9751	421,72
	400	0,427	51,20			
	800	0,363	58,51			
	1000	0,331	62,17			

Contoh pengolahan data dengan analisa aktivitas antioksidan untuk ulangan 1 dimulai dengan mencari %inhibisi yaitu dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%$$

Keterangan :

A₀ = Absorbansi kontrol (Methanol+DPPH) tanpa ekstrak teh

A₁ = Absorbansi sampel uji (ekstrak teh+DPPH)

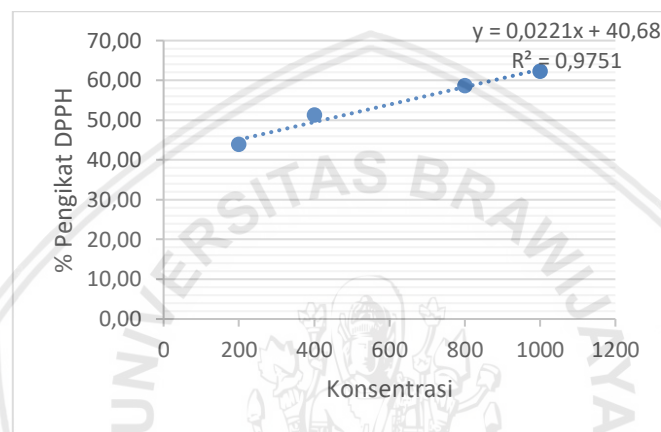
a) Untuk 200 ppm = $\left[\frac{0,875 - 0,492}{0,875} \right] \times 100\% = 43,77\%$

b) Untuk 400 ppm = $\left[\frac{0,875 - 0,427}{0,875} \right] \times 100\% = 51,20\%$

$$\text{c) Untuk 800 ppm} = \left[\frac{0,875 - 0,363}{0,875} \right] \times 100\% = 58,51\%$$

$$\text{d) Untuk 1000 ppm} = \left[\frac{0,875 - 0,331}{0,875} \right] \times 100\% = 62,17\%$$

Konsentrasi sampel yang digunakan dalam penelitian dialurkan dengan hasil %inhibisi untuk membentuk suatu grafik sehingga menghasilkan persamaan regresi linier sebagai berikut :



Gambar. Grafik Regresi Aktivitas Antioksidan Sampel Teh Hijau Daun *Sonneratia alba*
Ulangan 1

Berdasarkan persamaan grafik diatas yaitu $y = 0,0221x + 40,68$ dapat dihitung nilai IC_{50} sampel sebagai berikut:

$$y = a + bx, y = IC_{50} = 50$$

$$y = 0,0221x + 40,68$$

$$x = 421,72 \text{ ppm}$$

- Hasil Analisa Keragaman dan Uji Tukey Konsentrasi Aktivitas Antioksidan DPPH Teh Hijau Daun *Sonneratia alba*

Descriptives

IC50

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error
Ekstrak N-heksan	6	4.2120E2	.75881	.30978
Ekstrak Metanol	6	3.3002E2	.90204	.36825
Ekstrak Etanol	6	1.1547E2	.89978	.36733
Total	18	2.8890E2	131.87364	31.08292

ANOVA

IC50	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	295630.188	2	147815.094	2.017E5	.000
Within Groups	10.995	15	.733		
Total	295641.184	17			

IC50

Tukey HSD

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Penyeduhan 12 menit	6	1.1547E2		
Penyeduhan 8 menit	6		3.3002E2	
Penyeduhan 4 menit	6			4.2120E2
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

➤ **Perhitungan Kadar Air Daun *Sonneratia alba* (2)**

Berat cawan = 23,848 g Berat Sampel = 2 g

Berat Akhir = 25,326 g

Kadar air = $\frac{(\text{berat cawan} + \text{berat sampel}) - \text{berat akhir}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$

$$= \frac{(23,848 + 2) - 25,326}{2} \times 100\%$$

$$= 26,1\%$$

- **Rata-Rata Kadar Air Daun *Sonneratia alba*** = $\frac{27,35\% - 26,1\%}{2}$
= 26,73%

Lampiran 11. Perhitungan Kadar Abu

➤ Perhitungan Kadar Abu Teh Kering Daun *Sonneratia alba* (1)

➤ Berat cawan = 22,1 g Berat Sampel = 2 g

➤ Berat Akhir = 23,2 g

$$\begin{aligned} \text{Kadar abu} &= \frac{(\text{berat akhir}-\text{berat cawan kosong})}{(\text{berat cawan+sampel}-\text{berat cawan kosong})} \times 100\% \\ &= \frac{23,2-22,1}{2} \times 100\% \\ &= 5,5\% \end{aligned}$$

➤ Perhitungan Kadar Abu Teh Kering Daun *Sonneratia alba* (2)

➤ Berat cawan = 23,3 g Berat Sampel = 2 g

➤ Berat Akhir = 23,42 g

$$\begin{aligned} \text{Kadar abu} &= \frac{(\text{berat akhir}-\text{berat cawan kosong})}{(\text{berat cawan+sampel}-\text{berat cawan kosong})} \times 100\% \\ &= \frac{23,42-23,3}{2} \times 100\% \\ &= 6,15\% \end{aligned}$$

- **Rata-Rata Kadar Abu Teh Kering Daun *Sonneratia alba*** $= \frac{5,5\%-6,15\%}{2}$
= 5,83%

➤ Perhitungan Kadar Abu Daun *Sonneratia alba* (1)

➤ Berat cawan = 23,848 g Berat Sampel = 2 g

➤ Berat Akhir = 23,912 g

$$\begin{aligned} \text{Kadar abu} &= \frac{(\text{berat akhir}-\text{berat cawan kosong})}{(\text{berat cawan+sampel}-\text{berat cawan kosong})} \times 100\% \\ &= \frac{23,912-23,848}{2} \times 100\% \\ &= 3,2\% \end{aligned}$$

Lampiran 12. Perhitungan dan Pembuatan Konsentrasi Antioksidan FRAP

- **Pembuatan Kurva Standar**

Larutan stok 1000 ppm dibuat dengan melarutkan 25 mg asam askorbat yang kemudian dilarutkan dengan etanol 96% Pa 25 ml. Selanjutnya dari larutan stok 1000 ppm diambil masing-masing 90, 100, 110, 120, 130 ppm.

Konsentrasi 90 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1000 = 25 \times 90$$

$$V_1 \times 1000 = 2250$$

$$V_1 = 2,25 \text{ ml}$$

Konsentrasi 120 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1000 = 25 \times 120$$

$$V_1 \times 1000 = 3000$$

$$V_1 = 3 \text{ ml}$$

Konsentrasi 100 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1000 = 25 \times 100$$

$$V_1 \times 1000 = 2500$$

$$V_1 = 2,5 \text{ ml}$$

Konsentrasi 130 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1000 = 25 \times 130$$

$$V_1 \times 1000 = 3250$$

$$V_1 = 3,25 \text{ ml}$$

Konsentrasi 110 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V1 \times 1000 = 25 \times 110$$

$$V1 \times 1000 = 2750$$

$$V1 = 2,75 \text{ ml}$$

➤ **Perhitungan Kadar Abu Daun *Sonneratia alba* (2)**

➤ Berat cawan = 23,848 g Berat Sampel = 2 g

➤ Berat Akhir = 23,916 g

$$\text{Kadar abu} = \frac{(\text{berat akhir} - \text{berat cawan kosong})}{(\text{berat cawan} + \text{sampel} - \text{berat cawan kosong})} \times 100\%$$

$$= \frac{23,916 - 23,848}{2} \times 100\%$$

$$= 3,4\%$$







• **Rata-Rata Kadar Abu Daun *Sonneratia alba*** = $\frac{3,2\% - 3,4\%}{2}$
= 3,3%

Lampiran 13. Dokumentasi Pengurangan Tanin Daun *Sonneratia alba*

	
<p>Daun <i>Sonneratia alba</i> dicuci</p>	<p>Daun direbus dalam air (1:1,5) dan abu sekam padi (30% b/b) sampai mendidih</p>
	
<p>Dicuci menggunakan air bersih kembali</p>	<p>Daun direndam menggunakan air selama 48 jam dengan penggantian air rendaman setiap 24 jam sekali</p>


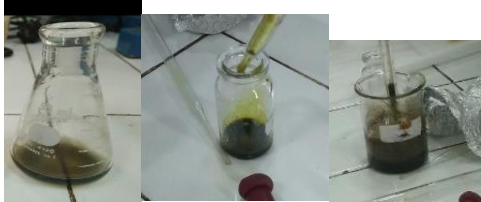

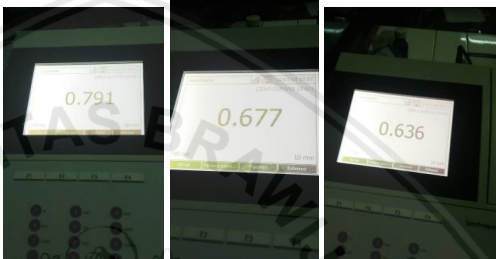
Lampiran 14. Dokumentasi Ekstraksi Maserasi Daun *Sonneratia alba*

	
<p>Sampel sebanyak 150 g dipotong \pm 5 mm</p>	<p>Dimaserasi dalam n-heksana sebanyak 400 mL selama 24 jam pada suhu ruang \pm 27°C</p>

	
<p>Disaring</p>	<p>Filtrat diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 37°C sampai diperoleh ekstrak</p>
	
<p>Residu dimaserasi kembali dengan etil asetat selama 24 jam dan disaring</p>	<p>Filtrat diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 37°C sampai diperoleh ekstrak</p>
	
<p>Residu dimaserasi kembali dengan metanol selama 24 jam dan disaring</p>	<p>Filtrat diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 37°C sampai diperoleh ekstrak</p>


Lampiran 15. Dokumentasi Uji Tanin pada Daun *Sonneratia alba*

--	--

	
<p>Larutan sampel yang telah disiapkan ditambahkan sebanyak 1 ml larutan FeCl_3 1%</p>	<p>Diamati perubahan warnanya. Bila terbentuk warna biru atau hijau kehitaman maka dilanjutkan uji kuantitatif</p>
	
<p>Dibuat kurva standar asam tanat kemudian dilakukan pembuatan larutan sampel</p>	<p>Uji kuantitatif dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 740 nm. Dihitung dengan kurva baku</p>

Lampiran 16. Dokumentasi Kadar Air

	
<p>Cawan kosong dikeringkan dalam</p>	<p>Didinginkan selama 30 menit dalam desikator, kemudian beratnya</p>

oven selama 15 menit	ditimbang
	
<p>Sampel ditimbang sebanyak ± 5 g lalu dimasukkan dalam cawan</p>	<p>Cawan dikeringkan dalam oven selama 6 jam pada suhu 105°C</p>
	
<p>Cawan didinginkan dalam desikator selama 30 menit dan setelah dingin ditimbang kembali</p>	<p>Cawan dikeringkan dalam oven kembali sehingga didapat berat konstan</p>

Lampiran 17. Dokumentasi Uji Kadar Abu

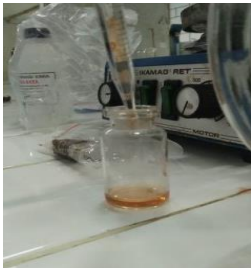



	
<p>Cawan porselen kosong dipanaskan dalam oven kemudian didinginkan dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang</p>	<p>Sampel ditimbang sebanyak ± 5 g dan diletakkan dalam cawan porselen</p>
	
<p>Cawan dibakar pada kompor listrik sampai tidak berasap</p>	<p>Cawan porselen kemudian dimasukkan dalam <i>muffle furnace</i> pada suhu 550°C selama $\pm 2-3$ jam hingga terbentuk abu berwarna abu keputihan</p>
	
<p>Cawan porselen kemudian</p>	<p>Cawan porselen ditimbang dan hitung</p>

didinginkan dalam desikator	persentase
-----------------------------	------------



Lampiran 18. Dokumentasi Uji Fitokimia Teh Hijau Daun *Sonneratia alba*

- Uji Tanin

	
<p>3 ml sampel teh dimasukkan ke dalam botol vial</p>	<p>Kemudian ditambahkan 1 ml FeCl_3 1%. Terbentuk warna hijau kecoklatan atau biru kehitaman sampel mengandung tannin</p>
 	
<p>Dilanjutkan uji kuantitatif, dibuat kurva standar asam tanat lalu dilakukan pembuatan larutan sampel</p>	<p>Uji kuantitatif dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 740 nm. Dihitung dengan kurva baku</p>

- Uji Flavonoid



1 ml sampel ditambah 0,1 mg serbuk magnesium



Tambahkan 0,4 mL amil alkohol



Tambahkan 4 mL alkohol Apabila terbentuk warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol, maka dilarutkan uji kuantitatif







Dibuat kurva standar kuersetin kemudian dilakukan pembuatan larutan sampel



Uji kuantitatif dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 440 nm. Dihitung dengan kurva baku




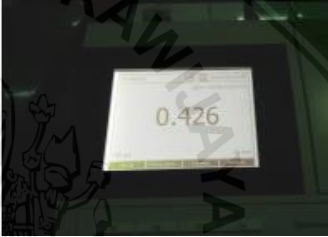
- Uji Alkaloid

	
<p>1 ml teh dimasukkan ke dalam botol vial kemudian ditambahkan 1 tetes HCl dan dihomogenkan</p>	<p>Ditambahkan 3 tetes pereaksi meyer</p>
	
<p>Apabila terdapat endapan warna putih kekuningan maka hasil positif lalu dilanjutkan uji kuantitatif</p>	<p>Dibuat kurva standar kafein kemudian dilakukan pembuatan larutan sampel</p>



Lampiran 19. Dokumentasi Uji Antioksidan



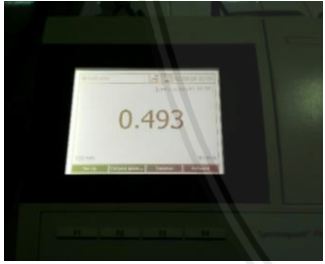
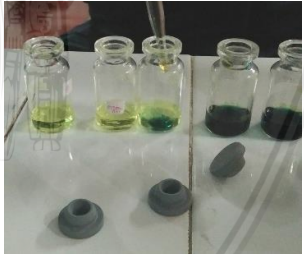
- Penentuan IC50 Ekstrak Teh

--	--

	
<p>0,1 ml sampel dilarutkan 100 ml metanol. Kemudian masing-masing dipipet 1 ml, 2 ml, 4 ml, 5 ml</p>	<p>Tambah 1 ml DPPH dan metanol sampai 5 ml. Diperoleh konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, dan 800 ppm</p>
	
<p>Kocok lalu inkubasi selama 30 menit</p>	<p>Analisis Spektrofotometri UV-Vis pada λ 515 nm</p>

- Antioksidan Metode FRAP

	
<p>Sebanyak 0,01 ml ekstrak teh</p>	<p>Dipipet 1 ml kemudian ditambahkan</p>

<p>dilarutkan dalam 5 ml etanol 96% Pa</p>	<p>reagensia FRAP 1ml, inkubasi 20 menit</p>
	
<p>Tambah 1 ml TCA 10% lalu di Sentrifugase 3000 ppm selama 10 menit</p>	<p>Dipipet 1 mL lapisan bagian atas kedalam tabung reaksi, tambahkan 1 mL aquades dan 0,5 mL FeCl₃ 0,1%.</p>
	
<p>Larutan didiamkan selama 10 menit dan diukur absorbansinya pada 720 nm</p>	<p>Kurva kalibrasi dibuat menggunakan larutan asam askorbat kemudian didapat hasil</p>

- **Pengujian Antikolesterol**

