

LAPORAN AKHIR

PENELITIAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI

Skema: Penelitian Lintas Fakultas



**PENGEMBANGAN SEDIAAN SIRUP BUAH BAKAU
(*Rhizophora mucronata* Lamk.): ANTIOKSIDAN ALAMI
SEBAGAI PANGAN FUNGSIONAL**

Tahun ke-1 dari rencana 1 tahun

Ketua/Anggota Tim

Dr.Ir Sri Purwaningsih, M.Si. (0013076510)

DANA DIPA IPB

TAHUN ANGGARAN 2013

KODE MAK : 2013. 089. 521219

LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT

INSTITUT PERTANIAN BOGOR

RINGKASAN

Hasil penelitian pendahuluan menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah bakau (*R. mucronata*) memiliki nilai antioksidan yang sangat tinggi dari komponen bioaktif yang terkandung didalamnya dengan nilai IC_{50} sebesar 0.78 ppm, bahkan lebih besar dari pada antioksidan standar yaitu Vitamin C yang hanya sebesar 4,81 ppm. Nilai antioksidan yang sangat tinggi suatu bahan dinyatakan dapat menjadi senyawa antioksidan, antihepatotoksik, dan antihiperlikemik sehingga berpotensi untuk dijadikan sebagai alternatif pangan fungsional yang dapat mencegah berbagai penyakit degeneratif. Pada penelitian ini ekstrak buah bakau diformulasikan menjadi sirup sebagai alternatif pangan fungsional alami untuk meminimalisir penggunaan obat-obatan sintesis. Tujuan dari penelitian ini untuk menghasilkan inovasi produk pangan fungsional sumber antioksidan alami dari buah bakau (*Rhizophora mucronata* Lamk.), dengan rasa yang dapat diterima oleh konsumen, serta aman.

Prosedur penelitian dilakukan melalui 6 tahapan; (1) Karakterisasi fisik, kimia dan rendemen buah bakau (*Rhizophora mucronata*). (2) Penentuan ekstrak terbaik buah bakau (*Rhizophora mucronata* Lamk.) dengan pelarut etanol. (3) Penentuan kandungan fitokimia pada ekstrak terbaik. (4) Pengujian efek hepatoprotektif formula terbaik dan perbandingan dengan produk komersial secara in vivo. (5) Pembuatan sediaan dan penentuan formula pangan fungsional terbaik. (6) Pengujian kestabilan produk pangan fungsional selama penyimpanan. Berdasarkan data yang diperoleh, buah bakau yang digunakan dalam penelitian ini memiliki panjang, lebar, dan bobot rata-rata berturut-turut sebesar $58,45 \pm 4,22$ cm, $1,64 \pm 0,12$ cm, dan $2,497 \pm 13,06$ gr. Rendemen daging buah 52% dan rendemen ekstrak kasar 3% yang didapatkan dari total buah yang digunakan. Komposisi kimia buah bakau didapatkan kadar air (segar 31.96%; kering 31.51%), kadar abu (segar 1.10%; kering 1.23%), kadar protein (segar 2.59%; kering 3.94), kadar lemak (segar 0.86%; abu 0.76%), kadar karbohidrat (segar 63.50%; kering 62.57%). aktivitas antioksidan optimal didapatkan pada perlakuan suhu evaporasi 70 °C dengan nilai IC_{50} sebesar 0.72 ppm. Hasil pengujian fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak kasar buah bakau mengandung alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, dan hidroquinon. Hasil pengujian toksisitas akut ekstrak buah bakau (*Rhizophora mucronata*) pada dosis 15 g/kg BB menunjukkan selama pengamatan 24 jam, semua kelompok tikus tidak ada yang mengalami kematian. Formulasi sediaan sirup dibuat dengan penambahan gula pasir 64%, metil paraben 0,25%, serta konsentrasi ekstrak buah bakau yang akan dibuat dari 0%, 5%, 15%, 25%, dan 50%. Nilai rata-rata viskositas sediaan sirup buah bakau berkisar antara 304,00 cP sampai 470,40 cP. Nilai rata-rata pH sediaan sirup buah bakau berkisar antara 3,78 sampai 5,50. Nilai rata-rata berat jenis sediaan sirup buah bakau berkisar antara 1,248 g/mL sampai 1,251 g/mL. Dari uji lanjut Duncan diketahui penurunan rata-rata kadar AST kelompok perlakuan sirup yang paling tinggi terdapat pada sirup 50%, pada kadar ALT terdapat pada sirup 5%. Formulasi sirup terbaik yang dipilih adalah sirup 5%. Nilai rata-rata mutu organoleptik dari sediaan sirup pada parameter warna, aroma, dan rasa berturut-turut sebesar 5.6, 5.2, dan 6.8.

PRAKATA

Alhamdulillahirobbilalamin, puji syukur kami panjatkan kepada Allah SWT yang telah mencurahkan taufik serta hidayahNya sehingga laporan akhir kegiatan penelitian yang dibiayai oleh BOPTN ini dapat diselesaikan sesuai jadwal yang telah ditetapkan.

Laporan penelitian yang dibiayai BOPTN ini berjudul “Pengembangan Sediaan Sirup Buah Bakau (*Rhizophora mucronata* Lamk.): Antioksidan Alami Sebagai Pangan Fungsional“ membahas tentang pemanfaatan komponen aktif dari buah bakau sebagai antioksidan dalam bentuk sediaan sirup.

Hasil penelitian ini bermanfaat bagi pengkayaan materi pada mata kuliah biokimia hasil perairan, pengolahan hasil perairan, pharmaceutika dan neutreusitika hasil perairan yang merupakan mata kuliah S1 dan S2 departemen THP.

Penelitian ini terlaksana atas dana yang diberikan oleh DIKTI melalui BOPTN tahun 2013. Kami berharap hasil penelitian ini akan memberikan pandangan yang lebih luas tentang komponen-komponen bioaktif yang banyak terdapat pada bahan-bahan baku hasil perairan yang masih belum terungkap sepenuhnya. Sehingga pemanfaatan hasil perikanan dapat dilakukan dengan lebih luas lagi bukan saja pada pangan tetapi juga dibidang yang berhubungan dengan peningkatan kesehatan.

Bogor, Oktober 2013

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN.....	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah	2
1.3 Luaran yang Diharapkan.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Deskripsi dan Klasifikasi Tanaman Bakau (<i>Rhizophora mucronata</i> Lamk.)....	4
2.2 Antioksidan	5
2.3 Radikal Bebas.....	5
2.4 Mekanisme antioksidan.....	6
2.5 Pangan Fungsional.....	7
2.6 Sediaan Sirup.....	8
BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	9
3.1 Tujuan Penelitian	9
3.2 Manfaat Penelitian	9
BAB 4. METODE PENELITIAN	10
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian	10
4.2 Bahan dan Alat Penelitian	10
4.3 Metode Penelitian	11
4.3.1 Karakteristik secara fisik, kimia dan rendemen buah bakau (<i>Rhizophora mucronata</i> Lamk.)	11
4.3.2 Penentuan ekstrak terbaik buah bakau (<i>Rhizophora mucronata</i> Lamk.) dengan pelarut etanol.....	11
4.3.3 Pengujian aktivitas antioksidan (Hanani <i>et al.</i> 2005 yang dimodifikasi).....	13
4.3.4 Penentuan kandungan fitokimia pada ekstrak terbaik (Harborne 1984).....	14
4.3.5 Pembuatan sediaan dan penentuan formula terbaik pangan fungsional	15
4.3.6 Pengujian efek hepatoprotektif sediaan sirup secara <i>in vivo</i> dan perbandingan dengan produk komersial.....	16
4.3.7 Pengujian kestabilan sediaan sirup terbaik selama masa simpan 3 bulan.....	18
4.3.8 Pengujian organoleptik sediaan sirup terbaik	18
4.4 Analisa Data	19
4.4.1 Rancangan percobaan analisis kimia	19

BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN	20
5.1 Katakteristik fisik buah bakau (<i>Rhizophora mucronata</i>)	20
5.2 Rendemen buah dan ekstrak buah bakau (<i>Rhizophora mucronata</i>).....	20
5.3 Karakteristik kimia buah bakau (<i>Rhizophora mucronata</i>)	21
5.4 Aktivitas antioksidan Buah Bakau (<i>Rhizophora mucronata</i>).....	25
5.5 Analisis Fitokimia.....	27
5.6 Pengujian toksisitas akut (penentuan LD 50) secara <i>in vivo</i>	28
5.7 Pembuatan sediaan dan penentuan formula terbaik sediaan sirup.....	29
5.7.1 Viskositas sediaan sirup buah bakau (<i>Rhizophora mucronata</i>).....	30
5.7.2 Nilai pH sediaan sirup buah bakau (<i>Rhizophora mucronata</i>).....	31
5.7.3 Berat jenis sediaan sirup buah bakau (<i>Rhizophora mucronata</i>)	32
5.8 Kadar AST dan ALT sirup ekstrak buah bakau (<i>R. mucronata</i>).....	33
5.9 Analisis organoleptik sediaan sirup buah bakau (<i>Rhizophora mucronata</i>) terbaik.....	36
BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN	38
7.1 KESIMPULAN	38
7.2 SARAN	38
DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN	42

DAFTAR TABEL

No		Halaman
1	Pengukuran morfometrik buah bakau (<i>R.mucronata</i>).....	20
2	Komposisi kimia buah bakau (<i>R.mucronat</i>) segar dan kering.....	22
3.	Hasil uji fitokimia ekstrak kasar buah bakau	27
4	Pengamatan perilaku dan kondisi fisik hewan uji yang diberi ekstrak buah bakau (<i>Rhizophora mucronata</i>) dengan dosis 15 g/kg BB	29
5.	Formulasi sediaan sirup dari ekstrak buah bakau (<i>Rhizophora mucronata</i>).....	30

DAFTAR GAMBAR

No	Halaman
1. Buah bakau (<i>Rhizophora mucronata</i> Lamk.) (Yong 2012).....	4
2. Skema Metode Penelitian	12
3. Pengukuran morfometrik buah bakau	20
4. Persentase rendemen buah bakau (<i>Rhizophora mucronata</i>).....	21
5. Nilai rata-rata aktivitas antioksidan ekstrak kasar buah bakau (<i>R.mucronata</i>) dengan perlakuan suhu evaporasi.....	25
6. Produk sediaan sirup buah bakau (<i>Rhizophora mucronata</i>) hasil formulasi	30
7. Nilai rata-rata viskositas sediaan sirup buah bakau (<i>Rhizophora mucronata</i>)...	31
8. Nilai rata-rata pH sediaan sirup buah bakau (<i>Rhizophora mucronata</i>)	31
9. Nilai rata-rata berat jenis sediaan sirup buah bakau (<i>Rhizophora mucronata</i>) ..	32
10. Nilai rata-rata pengukuran kadar enzim AST tikus yang diberi sediaan sirup buah bakau (<i>Rhizophora mucronata</i>).....	33
11. Nilai rata-rata pengukuran kadar enzim ALT tikus yang diberi sediaan sirup buah bakau (<i>Rhizophora mucronata</i>).....	35
12. Nilai rata-rata hasil uji hedcnik sediaan sirup buah bakau (<i>R. mucronata</i>).....	36

DAFTAR LAMPIRAN

No		Halaman
1.	Analisis statistik kadar enzim AST.....	42
2.	Analisis statistik kadar enzim ALT.....	43
3.	Analisis statistik antioksidan buah bakau (<i>R.mucronata</i>).....	44
4.	Perhitungan aktivitas antioksidan IC50 perlakuan suhu 70 °C.....	45
5.	Analisis statistik sidik ragam karakteristik fisik buah bakau.....	46
6.	Dokumentasi penelitian (pengujian secara <i>in vivo</i>).....	48

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Semakin tinggi aktivitas serta padatnya waktu untuk bekerja menyebabkan sebagian orang melakukan pola hidup tidak sehat, misalnya jarang berolah raga dan pola makan yang tidak teratur atau mengkonsumsi makanan siap saji/instan. Pola hidup tidak sehat dapat menyebabkan terjadinya akumulasi radikal bebas jangka panjang, akhirnya dapat mempengaruhi kesehatan tubuh. Akumulasi radikal bebas juga dapat disebabkan oleh konsumsi makanan berlemak; paparan asap rokok, polusi udara, radiasi sinar ultraviolet dan senyawa prooksidan.

Radikal bebas merupakan suatu bentuk senyawa oksigen reaktif yang memiliki elektron tidak berpasangan. Menurut Choliso dan Utami (2008), radikal bebas diproduksi secara normal oleh tubuh sebagai hasil dari proses biokimia. Radikal bebas yang berlebihan di dalam tubuh dapat mengakibatkan penyakit degeneratif, misalnya jantung, stroke, dan kanker, dll. Akumulasi radikal bebas di dalam tubuh dapat diatasi dengan suatu senyawa penangkal yaitu antioksidan.

Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menghambat terjadinya reaksi rantai oksidatif. Fungsi utama antioksidan adalah menetralisasi radikal bebas, sehingga tubuh terlindungi dari berbagai macam penyakit degeneratif.

Keuntungan menggunakan antioksidan sintetik adalah aktivitas anti radikalnya yang sangat kuat, namun ternyata terdapat kekurangan. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan Wichi (1988) dan Thompson & Moldeus (1988), antioksidan sintetik BHA dan BHT berpotensi karsinogenik. Menurut Sen *et al.* (2010), penambahan antioksidan sintetik pada makanan menyebabkan beberapa masalah kesehatan misalnya kanker, penuaan dini, *rheumatoid arthritis* dan penyakit jantung.

Berdasarkan alasan tersebut, maka perlu dilakukan usaha untuk mengganti antioksidan sintetik dengan antioksidan alami yang aman sehingga masyarakat terlindungi. Menurut Sartini *et al.* (2007), antioksidan alami adalah antioksidan yang umumnya diisolasi dari sumber alami yang kebanyakan berasal dari tumbuh-tumbuhan dan buah-buahan.

Tanaman mangrove telah dimanfaatkan oleh masyarakat untuk mengobati beragam penyakit selama berabad-abad. Beberapa tanaman mangrove telah ditapis aktivitasnya, yaitu sebagai antiviral, antibakteri, antibisul, dan antiinflamasi (Agoramoorthy *et al.* 2008). Salah satu harapan sumber alternatif antioksidan alami adalah buah bakau (*Rhizophora mucronata* Lamk.) karena hasil penelitian sebelumnya menurut Purwaningsih *et al.* (2012) buah bakau ini mempunyai aktivitas antioksidan yang

sangat kuat, tersedia dalam jumlah banyak di alam dan mudah didapat sepanjang pantai Indonesia, namun selama ini belum dimanfaatkan secara optimal.

1.2 Perumusan Masalah

Antioksidan merupakan garis depan pertahanan tubuh kita untuk melawan kerusakan sel yang disebabkan radikal bebas. Kebutuhan antioksidan bahkan menjadi lebih kritis seiring meningkatnya kehadiran radikal bebas dalam tubuh (Percival 1998).

Penelitian tentang aktivitas antioksidan dan komponen aktif dari hasil perairan telah banyak dilakukan oleh peneliti. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan ada beberapa hal yang bisa ditindak lanjuti. Penelitian tentang anatomi, komponen bioaktif dan aktivitas antioksidan daun mangrove Api-api (*Avicennia marina*) mempunyai aktivitas antioksidan lemah ($IC_{50} = 182,33$), aplikasi ekstrak tersebut efektif menghambat peroksida pada minyak pada konsentrasi 300 ppm dengan bilangan peroksida sebesar 0,42 Meq/Kg. Penelitian lebih lanjut dilakukan uji secara *in vivo* pada mencit ternyata ekstrak dari daun mangrove Api-api (*Avicennia marina*) efektif memperbaiki kerusakan pada sel hati dengan dosis 186 mg/kg BB.

Penelitian tentang antioksidan dari bahan baku hasil perairan lain yang mempunyai aktivitas lebih kuat, yaitu Tambelo (*Bactronophorus thoracites*) dengan $IC_{50} = 15,00$ ppm dan Keong Matah merah (*Cerithidea obtusa*) dengan $IC_{50} = 58,19$ ppm tetapi untuk pengembangannya terkendala pada persediaan bahan baku karena sulit dibudidayakan.

Penelitian lain tentang komponen bioaktif dan aktivitas antioksidan buah bakau (*Rhizophora mucronata* Lamk.) mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat ($IC_{50}=58,61$ ppm) dan efektif menghambat peroksida minyak pada konsentrasi 31,25 ppm dengan bilangan peroksida sebesar 3,00 Meq/Kg. Penelitian ini perlu ditindaklanjuti karena buah bakau di Indonesia melimpah sepanjang pantai/daerah mangrove dan mudah dibudidayakan, sehingga potensi untuk dikembangkan sangat besar. Memanfaatkan buah bakau (*Rhizophora mucronata* Lamk.) menjadi pangan fungsional sumber antioksidan akan berefek penyediaan bahan baku, dengan membudidayakan pohon bakau (*Rhizophora mucronata* Lamk.), berarti turut serta menyelamatkan lingkungan dan mempunyai hasil samping di bidang ekonomi yang menjanjikan/menambah penghasilan. Hal ini dikarenakan Indonesia mempunyai wilayah perairan yang sangat luas (2/3 dari luas wilayah), dan memiliki hutan mangrove terluas di dunia, yaitu 3,5 juta hektar (Noor *et al.* 2006).

Pemanfaatan komponen aktif sebagai pangan fungsional bisa dibuat dengan berbagai bentuk, misalnya tablet, bubuk, atau emulsi cair dll. Pada penelitian ini

pembuatan pangan fungsional akan dibuat dalam bentuk **sediaan sirup**, karena lebih menguntungkan, yaitu mudah dikonsumsi segala usia dan cepat dalam proses absorpsi dalam tubuh dibandingkan dengan bentuk lain (tablet dan kapsul).

1.3 Luaran yang Diharapkan

Luaran yang diharapkan dari penelitian ini adalah :

- 1) Diperoleh paket inovasi teknologi produk pangan fungsional sumber antioksidan alami dari buah bakau (*Rhizophora mucronata* Lamk.), dengan rasa yang dapat diterima oleh konsumen, stabil, serta aman.
- 2) Publikasi jurnal internasional/nasional terakreditasi
- 3) Memperkaya materi pengajaran pada mata kuliah: Nutracetika dan farmasetika hasil perairan (S2/S3), Biokimia Hasil Perairan (S1), Pengujian bahan Hasil perairan (S1), Pengetahuan bahan baku Hasil Perairan (S1)
- 4) Menghasilkan produk yang bisa dikomersialkan secara modern dengan memanfaatkan hasil perairan, sehingga meningkatkan minat usaha dan menjaga tanaman hutan bakau karena bisa mendapat penghasilan.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Deskripsi dan Klasifikasi Tanaman Bakau (*Rhizophora mucronata* Lamk.)

Tanaman bakau *Rhizophora mucronata* Lamk. memiliki beberapa nama daerah, yaitu bakau gandum (Jawa), bakau borok (Sumatera), dan bakau genjah. Tanaman bakau banyak tumbuh di daerah berpasir dan daerah pasang surut air laut. Berdasarkan tipe genangannya *Rhizophora mucronata* Lamk. hidup pada genangan pasang tinggi sampai pasang setengah tinggi dan toleransi salinitasnya pada genangan tinggi sebesar 10-30 ‰ (Martawijaya *et al.* 1989). Gambar buah bakau (*R. mucronata* Lamk.) dapat dilihat pada Gambar 1. Taksonomi *Rhizophora mucronata* Lamk. berdasarkan Tjitrosupomo (1993) adalah sebagai berikut:

Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Dicotyledonae
Anak kelas	: Dialypetalae
Bangsa	: Myrtales
Famili	: Rhizophoraceae
Genus	: <i>Rhizophora</i>
Spesies	: <i>Rhizophora mucronata</i> Lamk.



Gambar 1. Buah bakau (*Rhizophora mucronata* Lamk.) (Yong 2012).

Pohon bakau *Rhizophora mucronata* dapat mencapai ketinggian 27-32 m dan diameter batang 28-70 cm. Kulit kayu bagian luar *Rhizophora mucronata* Lamk. bersisik, berwarna coklat gelap sampai abu gelap, dan kulit kayu bagian dalamnya berwarna merah muda sampai merah kecoklatan. Bakau *Rhizophora mucronata* Lamk. memiliki daun berbentuk elips lebar memanjang dan bunga berwarna krem sampai kuning pucat yang berbentuk bulat telur (FAO 2000).

Buah bakau *Rhizophora mucronata* Lamk. berbentuk oval, berwarna hijau kecoklatan dengan panjang sekitar 5–7 cm, dihasilkan tiap tahun pada bulan Juli sampai bulan Desember. Buah bakau memiliki hipokotil lurus, berbentuk silindris dengan panjang 30-70 cm dan diameter 1-2 cm. Apabila buah bakau jatuh dari pohon, maka akan tertancap ke lumpur dan tumbuh membesar menjadi pohon bakau baru (FAO 2000).

2.2 Antioksidan

Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah reaksi oksidasi radikal bebas (Kochar dan Rossell 1990). Sauriasari (2006) menyatakan bahwa antioksidan adalah zat yang dapat melawan pengaruh bahaya radikal bebas atau *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) yang terbentuk sebagai hasil dari metabolisme oksidatif yaitu hasil dari reaksi kimia dan proses metabolik yang terjadi di dalam tubuh.

Antioksidan dibedakan menjadi dua kategori dasar, yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Saat ini, ketertarikan masyarakat pada antioksidan alami meningkat tajam, baik digunakan dalam bahan pangan ataupun sebagai material obat menggantikan antioksidan sintetik. Wang (2006) menyatakan bahwa antioksidan sintetik berbahaya bagi kesehatan karena berpotensi menyebabkan penyakit kanker.

Senyawa antioksidan alami banyak ditemukan pada sayuran dan buah-buahan. Antioksidan alami antara lain tokoferol, lesitin, fosfatida, sesamol, gosipol, karoten dan asam askorbat yang banyak dihasilkan oleh tumbuhan. Antioksidan alami yang paling banyak ditemukan dalam minyak nabati adalah tokoferol yang terdapat dalam bentuk α , β , γ , δ -tokoferol (Winarno 2008).

Antioksidan sintetik yang banyak digunakan adalah senyawa-senyawa fenol. Penambahan antioksidan ini harus memenuhi beberapa syarat, misalnya tidak berbahaya bagi kesehatan, tidak menimbulkan warna yang tidak diinginkan, efektif pada konsentrasi rendah, mudah didapat, dan ekonomis. Antioksidan sintetik yang sering digunakan adalah *butylated hydroxyanisole* (BHA), dan *butylated hydroxytoluene* (BHT).

2.3 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah molekul yang kehilangan elektron, sehingga molekul tersebut menjadi tidak stabil dan selalu berusaha mengambil elektron dari molekul atau sel lain. Beberapa contoh senyawa *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) yang ditemukan pada organisme hidup adalah superoksida (O_2^*), hidroksil (OH^*), peroksil (RO_2^*), alkoksil (RO^*), dan hidroperoksil (HO_2^*). Nitrit oksida dan nitrogen oksida ($*NO_2$) adalah dua radikal bebas nitrogen. Radikal bebas oksigen dan nitrogen dapat dikonversi menjadi spesies reaktif non radikal lain, misalnya hidrogen peroksida, asam hipoklorit ($HOCl$),

asam hipobromous (HOBr), dan peroksinitrit (ONOO⁻). *Reactive Oxygen Species* (ROS), *Reactive Nitrogen Species* (RNS) diproduksi di dalam tubuh manusia secara fisiologis dan patologis (Fang *et al.* 2002). Produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan *Reactive Nitrogen Species* (RNS) yang berlebihan dapat berubah menjadi radikal bebas yang dapat merusak lipid, protein dan DNA pada sel normal (Valko *et al.* 2006).

Radikal bebas berasal dari sumber internal, sumber eksternal, dan faktor fisiologis. Sumber internal radikal bebas, yaitu reaksi enzimatik, termasuk reaksi-reaksi yang terlibat dalam rantai pernapasan, proses fagositosis, dan sistem sitokrom P450. Sumber eksternal radikal bebas, antara lain asap rokok, polutan lingkungan, radiasi, sinar ultraviolet, ozon, obat-obatan tertentu, pestisida, anestesi dan pelarut industri (Kumar 2011). Sumber radikal bebas yang lain adalah faktor fisiologis. Status mental seperti stres dan emosi serta kondisi kesehatan juga bertanggung jawab untuk pembentukan radikal bebas (Kohn & Nyska 2002).

2.4 Mekanisme antioksidan

Radikal bebas dapat terbentuk di dalam tubuh secara terus-menerus melalui peristiwa metabolisme sel normal, peradangan, kekurangan gizi dan akibat respon terhadap pengaruh dari luar tubuh, misalnya polusi lingkungan, sinar ultraviolet dan asap rokok. Lingkungan tercemar, kesalahan pola makan dan gaya hidup tidak sehat juga merangsang terbentuknya radikal bebas (Mega dan Swastini 2010).

Tindakan antioksidan secara umum adalah dengan mekanisme sebagai berikut:

- a) Memutus rantai reaksi pembentukan radikal bebas dengan mentransfer atom H. Contohnya adalah α -tokoferol yang bertindak dalam fase lipid melakukan transfer hidrogen dari hidroksil dari cincin kromanol pada tokoferol menuju radikal peroksil (Novikova dan Krasilnikov 2009).
- b) Mengurangi konsentrasi oksigen reaktif. Contohnya adalah glutathion. Menurut Powers dan Jackson (2008), glutathion adalah donor elektron yang menyumbangkan sepasang ion hidrogen dan glutathion dioksidasi menjadi glutathion disulfida (GSSG) oleh glutathion peroksidase (GPX).
- c) Mengurangi radikal bebas pada tahap inisiasi atau bersifat *scavenger*. Contohnya adalah superoksida dismutase yang bertindak dalam fase lipid untuk menjebak radikal bebas superoksida.
- d) Mengkelat atau mengikat katalis logam transisi, seperti Fe^{2+} dan Cu^{2+} . Contohnya adalah flavonoid dan fenol (Ebrahimzadeh *et al.* 2008).

Reactive Oxygen Species dan *Reactive Nitrogen Species* akan mencapai kestabilan dengan menerima elektron dari molekul lain atau mentransfer elektron tidak berpasangan ke molekul lain. Senyawa ini cenderung mengambil partikel dari molekul lain, misalnya DNA, membran sel, membran liposom, mitokondria, enzim-enzim, lemak, protein, serta komponen jaringan lainnya (Winarno 2008).

Radikal bebas dapat menyebabkan oksidasi DNA, sehingga DNA termutasi dan menimbulkan kanker (Muchtadi 2000). Radikal bebas merupakan salah satu penyebab timbulnya penyakit degeneratif antara lain kanker, aterosklerosis, stroke, rematik dan jantung (Theroux dan Libby 2005). Radikal bebas juga merupakan penyebab timbulnya penyakit jantung koroner. Hal ini dikarenakan molekul besar lemak yang disebut LDL atau *low density lipoprotein* teroksidasi oleh radikal bebas akan mengendap di pembuluh darah jantung sehingga menjadi sempit dan aliran darah terganggu. Kerusakan protein akibat elektronnya diambil oleh radikal bebas dapat mengakibatkan sel-sel jaringan tempat protein berada menjadi rusak dan banyak terjadi pada lensa mata sehingga menyebabkan penyakit katarak (Kumalaningsih 2006).

2.5 Pangan Fungsional

Pangan fungsional didefinisikan sebagai pangan yang secara alamiah maupun telah melalui proses pengolahan, mengandung satu atau lebih komponen yang berdasarkan kajian-kajian ilmiah dianggap mempunyai fungsi fisiologis tertentu yang bermanfaat bagi kesehatan, disajikan dan dikonsumsi sebagaimana layaknya makanan atau minuman dan memiliki karakteristik sensori seperti penampakan, warna, tekstur atau konsistensi dan citarasa yang dapat diterima konsumen. Komponen dalam pangan fungsional, berdasarkan kajian ilmiah terbukti tidak membahayakan kesehatan dan dapat memberikan manfaat kesehatan di luar manfaat yang umumnya diberikan oleh komponen pangan tersebut.

Jenis pangan yang termasuk dalam golongan pangan fungsional, antara lain pangan konvensional yang difortifikasi, diperkaya, disuplementasi, atau ditambah nilai manfaatnya (Yamada *et al.* 2008). Pangan fungsional merupakan pangan pelengkap yang mengandung nutrisi yang tidak tercukupi dari makanan yang biasa dikonsumsi, bisa berbentuk minuman, bubuk, tablet, kapsul berfungsi untuk menjaga stamina atau vitalitas tubuh. Beberapa rempah-rempah dan tanaman obat misalnya kunyit, jahe, temulawak, lidah buaya, mengkudu, pala, kayu secang memiliki potensi sebagai pangan fungsional (Winarti dan Nurdjanah 2005).

2.6 Sediaan Sirup

Sirup adalah larutan pekat dari bahan baku gula pasir atau gula lain yang cocok, yang didalamnya ditambahkan obat atau zat pemberi aroma, merupakan larutan jernih, dan berasa manis. Sirup adalah sediaan cair kental yang minimal mengandung 50% sakarosa (Ansel *et al.* 2005). Sirup dapat ditambahkan gliserol, sorbitol atau polialkohol yang lain dalam jumlah sedikit dengan tujuan untuk menghalangi penghabluran sukrosa dan meningkatkan kelarutan obat. Sirup adalah sediaan cair berupa larutan yang mengandung sakarosa, $C_{12}H_{22}O_{11}$, tidak kurang dari 64.0% dan tidak lebih dari 66.0% (Formularium Nasional 1978).

Penggunaan sediaan secara oral dapat menjadi lebih menyenangkan dan mengenakan bila diformulasikan menjadi suatu sediaan sirup. Selain itu, penggunaan sirup yang diberikan secara oral mempunyai keunggulan dibandingkan dengan bentuk sediaan oral yang lain, yaitu dalam hal absorpsi dan bioavaibility. Suatu sediaan obat selain memiliki kemampuan untuk menyembuhkan suatu penyakit juga dituntut memiliki penampilan yang menarik sehingga dilakukan usaha-usaha untuk menghasilkan suatu sediaan sirup yang stabil (Whidasari 2001).

BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan inovasi produk pangan fungsional sumber antioksidan alami dari buah bakau (*Rhizophora mucronata* Lamk.), dengan rasa yang dapat diterima oleh konsumen, serta aman.

Adapun tujuan khususnya meliputi:

- a) Mendapatkan karakteristik fisik, kimia, dan rendemen buah bakau (*Rhizophora mucronata* Lamk.)
- b) Mendapatkan ekstrak terbaik buah bakau (*Rhizophora mucronata* Lamk.) dengan pelarut etanol
- c) Mendapatkan kandungan fitokimia pada ekstrak terbaik
- d) Mendapatkan formulasi pangan fungsional antioksidan alami buah bakau (*Rhizophora mucronata* Lamk.) terbaik
- e) Mendapatkan gambaran secara fisik dan histologi tentang efek dari pangan fungsional sumber antioksidan alami buah bakau (*Rhizophora mucronata* Lamk.) secara *in vivo*
- f) Mendapatkan informasi kestabilan produk pangan fungsional selama penyimpanan
- g) Mendapatkan produk pangan fungsional antioksidan alami buah bakau (*Rhizophora mucronata* Lamk.) yang aman untuk konsumen

3.2 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah diperolehnya informasi dasar (karakteristik fisik, kandungan proksimat, rendemen, dan jenis komponen bioaktif) dan metode ekstraksi senyawa antioksidan terbaik dari buah bakau (*Rhizophora mucronata* Lamk.). Penelitian ini juga menghasilkan produk akhir berupa produk pangan fungsional dalam bentuk sediaan sirup sebagai sumber antioksidan alami dari buah bakau (*Rhizophora mucronata* Lamk.) dengan rasa yang dapat diterima oleh konsumen, serta aman dikonsumsi oleh masyarakat.

BAB 4. METODE PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biokimia Hasil Perairan dan Laboratorium Bahan Baku Hasil Perairan, Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB, Laboratorium Farmakologi dan Rumah Sakit Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan IPB. Jangka waktu penelitian 8 bulan.

4.2 Bahan dan Alat Penelitian

Bahan baku buah bakau (*Rhizophora mucronata*) yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari hutan bakau di daerah Pulau Untung Jawa, Kep. Seribu, DKI Jakarta. Bahan yang digunakan dalam analisis proksimat meliputi akuades, kjeltab jenis selenium, larutan H_2SO_4 p.a. pekat, asam borat (H_3BO_3) 4% yang mengandung indikator *bromcherosol green-methyl red* (1:2) berwarna merah muda, larutan HCl 0,0947 N, pelarut lemak (n-heksana p.a.), larutan HCl 10% dan larutan $AgNO_3$ 0,10 N. Bahan kimia yang digunakan dalam proses ekstraksi adalah etanol p.a. 96%. Bahan untuk uji aktivitas antioksidan, antara lain kristal *1,1-Diphenil-2-picryl hydrazil* (DPPH), metanol p.a., BHT (*butylated hydroxytoluena*) sebagai kontrol positif. Bahan untuk uji fitokimia meliputi pereaksi Wagner pereaksi Meyer, pereaksi Dragendroff, kloroform, anhidrat asetat, asam sulfat pekat, serbuk magnesium, amil alkohol, air panas, larutan HCl 2 N, etanol 70%, larutan $FeCl_3$ 5%, peraksi Melisch, asam sulfat pekat, pereaksi Benedict, pereaksi Biuret dan larutan Ninhidrin 0,10%. Bahan untuk pembuatan sediaan sirup antara lain, gula pasir, akuades dan metil paraben. Bahan yang digunakan dalam pengujian efek hepatoprotektif dan pengujian toksisitas secara *in vivo* adalah tikus jenis *Sprague Dawley*, pakan tikus, air minum, klorotetraklorida (CCL_4), akuades, paraffin cair, NaCl fisiologis, buffer netral formalin 10%, xilol, hematoksin-eosin (HE), buffer fosfat, kalium klorida, HCL, triklorasetat, butilat hidroksitoluen, asam tiobarbiturat, asam klorida, tetraetoksipropana.

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah timbangan digital, oven, *hot plate stearer*, *orbital shaker*, mikrotom Yamato RV-240, *rotary vacuum evaporator*, perangkat Soxhlet, perangkat Kjeldahl, *hot plate*, *Viscometer Brookfield RV*, mikroskop cahaya Olympus tipe CH20 dan kamera mikroskop Olympus DP12, pH meter, picnometer, spektrofotometer UV-VIS, cawan porselen, kompor listrik, tanur pengabuan, *aluminium foil*, gegep, desikator, kertas saring, labu erlenmeyer, buret, gelas ukur, *score sheet* organoleptik, penggaris, sudip, botol film, kandang, *syringe*, alat bedah.

4.3 Metode Penelitian

Tahapan pada penelitian ini meliputi :

- 1) Karakterisasi fisik, kimia dan rendemen buah bakau (*Rhizophora mucronata*)
- 2) Penentuan ekstrak terbaik buah bakau (*Rhizophora mucronata* Lamk.) dengan pelarut etanol
- 3) Penentuan kandungan fitokimia pada ekstrak terbaik
- 4) Pengujian efek hepatoprotektif formula terbaik dan perbandingan dengan produk komersial secara *in vivo*
- 5) Pembuatan sediaan dan penentuan formula pangan fungsional terbaik
- 6) Pengujian kestabilan produk pangan fungsional selama penyimpanan

Rangkaian penelitian ini mengikuti skema yang tertera pada Gambar 2.

4.4.1 Karakteristik secara fisik, kimia dan rendemen buah bakau

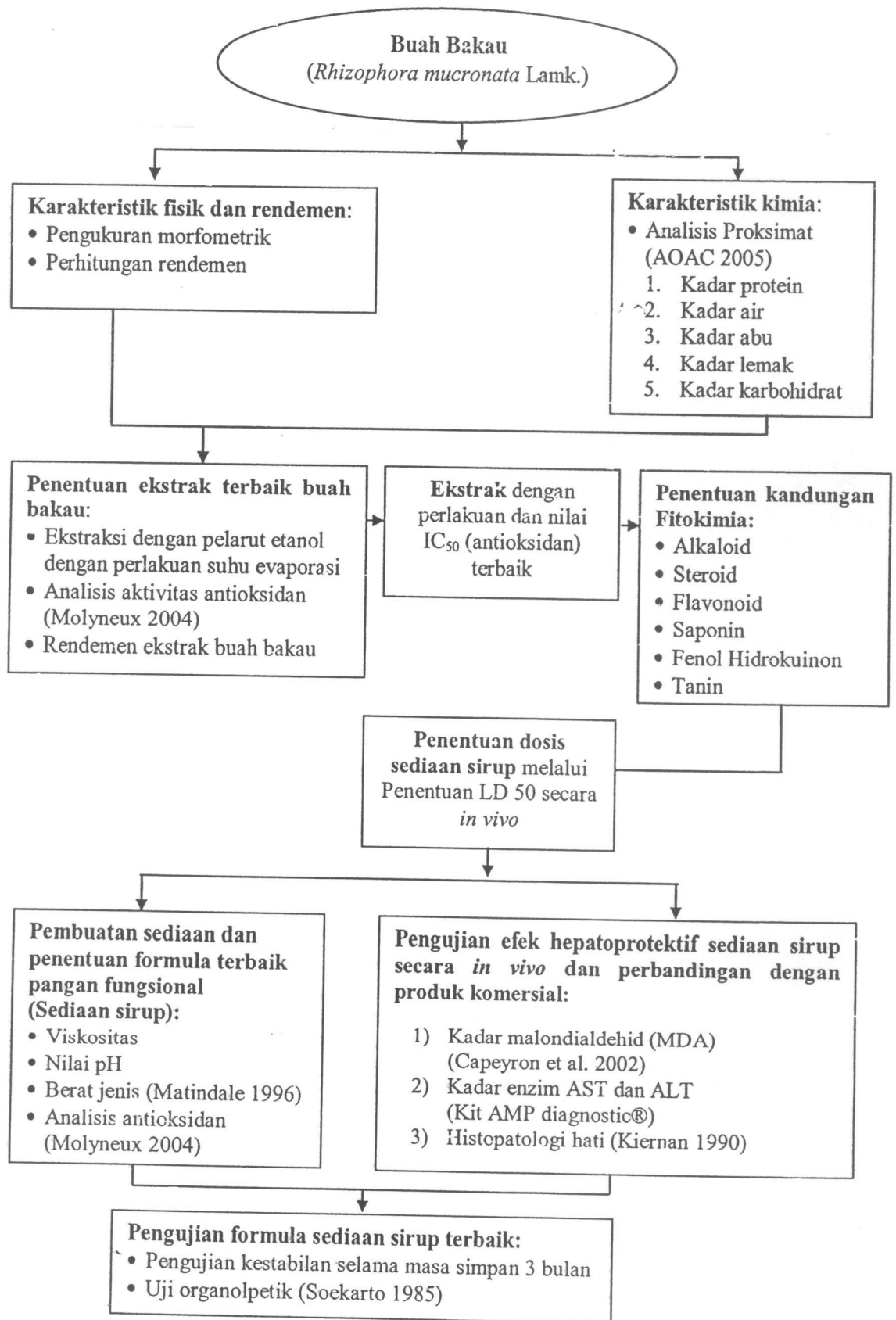
(*Rhizophora mucronata* Lamk.)

Karakteristik fisik yang diamati meliputi: pengukuran buah bakau secara morfometrik dilakukan terhadap 30 buah bakau (*Rhizophora mucronata* Lamk.). Karakteristik kimia yang dilakukan adalah analisis proksimat (AOAC 2005) meliputi kadar air, protein, lemak, abu, dan karbohidrat. Rendemen buah bakau diperoleh dari data penimbangan 30 buah bakau utuh, kemudian dihitung berat setelah dikupas dan setelah dihaluskan dengan blender.

4.4.2 Penentuan ekstrak terbaik buah bakau (*Rhizophora mucronata* Lamk.)

dengan pelarut etanol

Sampel buah bakau (*Rhizophora mucronata*) dibersihkan dari kotoran dengan menggunakan akuades, kemudian sampel buah bakau dimasukkan dalam kantong plastik yang telah diberi label. Sampel dijadikan serbuk halus dengan cara diblender. Serbuk halus yang sudah siap kemudian digunakan untuk analisis proksimat (AOAC 2005) dan diekstrak menggunakan pelarut etanol 96% (polar) (Ravikumar & Gnanadesigan 2012). Sampel diekstrak dengan metode maserasi. Sebanyak 50 g serbuk buah bakau (*R. mucronata*) direndam dalam 250 ml etanol 96% (1:5) (b:v) dalam labu erlenmeyer ukuran 500 ml dan ditempatkan di *orbital shaker* dengan kecepatan 175 rpm selama 24 jam. Ekstrak kemudian difiltrasi dengan kertas saring, filtrat yang dihasilkan dihilangkan pelarutnya dengan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40 °C, 50 °C, 60 °C, 70 °C, dan 80 °C. Hasil ekstraksi menghasilkan ekstrak kasar yang kemudian ditimbang untuk mendapatkan rendemen ekstraknya. Hasil ekstrak disimpan dalam botol tertutup sampai digunakan untuk pengujian selanjutnya.



Gambar 2. Skema Metode Penelitian

4.4.3 Pengujian aktivitas antioksidan (Hanani *et al.* 2005 yang dimodifikasi)

Aktivitas antioksidan ekstrak kasar buah bakau (*Rhizophora mucronata*) ditentukan dengan metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) berdasarkan metode Hanani *et al.* (2005) yang dimodifikasi. Tahap awal pengujian aktivitas antioksidan adalah mempersiapkan larutan sampel. Sampel ekstrak kasar dari buah bakau dilarutkan dalam methanol dengan konsentrasi 0.781, 1.562, 3.125, 6.25, 12.5, dan 25 ppm. *Butylated hydroxytoluene* (BHT) dan vitamin super ester C digunakan sebagai kontrol positif, dan untuk pembandingan dengan masing-masing konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm.

Larutan ekstrak dan larutan antioksidan pembandingan BHT yang telah dibuat, masing-masing diambil 4,5 mL dan direaksikan dengan 500 μ L larutan DPPH 1 mM dalam tabung reaksi yang berbeda yang telah diberi label. Campuran tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 30 menit dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Absorbansi larutan blanko juga diukur untuk menghitung persen inhibisi. Suatu senyawa dapat dikatakan memiliki aktivitas antioksidan apabila senyawa tersebut mampu mendonorkan atom hidrogennya ditandai oleh perubahan warna ungu menjadi kuning (Molyneux 2004). Larutan blanko dibuat dengan mereaksikan 4,5 mL pelarut metanol dengan 500 μ L larutan DPPH 1 mM dalam tabung reaksi. Larutan blanko dibuat hanya satu kali ulangan saja. Setelah itu, aktivitas antioksidan dari masing-masing sampel dan antioksidan pembandingan BHT dinyatakan dengan persen inhibisi yang dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Nilai konsentrasi sampel (ekstrak maupun antioksidan pembandingan BHT) dan persen inhibisinya diplot masing-masing pada sumbu x dan y pada persamaan regresi linear. Persamaan regresi linear yang diperoleh dalam bentuk persamaan $y = a + bx$ digunakan untuk mencari nilai IC_{50} (*inhibitor concentration 50%*) dari masing-masing sampel dengan menyatakan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh sebagai IC_{50} . Nilai IC_{50} menyatakan besarnya konsentrasi larutan sampel (ekstrak maupun antioksidan pembandingan BHT) yang dibutuhkan untuk mereduksi radikal bebas DPPH sebesar 50%.

4.4.4 Penentuan kandungan fitokimia pada ekstrak terbaik (Harborne 1984)

Pengujian fitokimia pada ekstrak buah bakau *R.mucronata* dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang diharapkan dapat berfungsi sebagai antioksidan. Uji fitokimia meliputi uji alkaloid, uji steroid/triterpenoid, flavonoid, saponin, fenol hidrokuinon, Molisch, Benedict, Biuret dan Ninhidrin. Metode uji ini berdasarkan Harborne (1984).

a) Alkaloid

Sejumlah sampel dilarutkan dalam beberapa tetes asam sulfat (H_2SO_4) 2 N. Pengujian menggunakan tiga pereaksi alkaloid yaitu pereaksi Dragendorff, pereaksi Meyer dan pereaksi Wagner. Pereaksi Dragendorff dibuat dengan cara 0,8 gram bismutsubnitrat ditambahkan dengan 10 mL asam asetat dan 40 mL air. Larutan ini dicampur dengan larutan yang dibuat dari 8 gram kalium iodida dalam 20 mL air. Sebelum dihunakan, 1 volume campuran ini diencerkan dengan 2,3 volume asam asetat glasial dan 100 mL air. Pereaksi ini berwarna jingga. Pereaksi Meyer dibuat dengan cara menambahkan 1,36 gram $HgCl_2$ dengan 0,5 gram KI lalu dilarutkan dan diencerkan dengan akuades menjadi 100 mL dengan labu takar. Pereaksi ini tidak berwarna. Pereaksi Wagner dibuat dengan cara 10 mL akuades ditambahkan 2,5 gram iodine dan 2 gram KI lalu dilarutkan dan diencerkan dengan akuades menjadi 200 mL dalam labu takar. Pereaksi ini berwarna coklat. Hasil uji dinyatakan positif bila dengan pereaksi Dragendorff terbentuk endapan merah hingga jingga, endapan putih kekuningan dengan pereaksi Meyer dan endapan coklat dengan pereaksi Wagner.

b) Steroid

Sejumlah sampel dilarutkan dalam 2 mL kloroform dalam tabung reaksi yang kering. Setelah itu ditambahkan 10 tetes anhidra asetat dan 3 tetes asam sulfat pekat. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya larutan berwarna merah untuk pertama kali kemudian berubah menjadi biru dan hijau.

c) Flavonoid

Sejumlah sampel ditambahkan 0,1 mg serbuk magnesium dan 0,4 mL amil alkohol (campuran asam klorida 37% dan etanol 95% dengan volume yang sama) dan 4 mL alkohol kemudian campuran dikocok. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alcohol.

d) Saponin

Saponin dapat dideteksi dengan uji busa dalam air panas. Busa yang stabil selama 30 menit dan tidak hilang pada penambahan 1 tetes HCl 2 N menunjukkan adanya saponin.

e) Fenol hidrokuinon

Sampel sebanyak 1 gram diekstrak dengan 20 mL etanol 70%. Larutan yang dihasilkan diambil sebanyak 1 mL kemudian ditambahkan 2 tetes larutan FeCl_3 5%. Adanya senyawa fenol dalam bahan ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau atau hijau biru.

f) Tanin

Sampel sebanyak 1 gram ditambah pereaksi FeCl_3 3%. Adanya warna hijau kehitaman menandakan suatu bahan mengandung komponen tanin.

4.4.5 Pembuatan sediaan dan penentuan formula terbaik pangan fungsional

Tahap pembuatan dan formulasi pangan fungsional dalam bentuk sediaan sirup menurut Formularium Nasional (1978) adalah dengan melarutkan sebanyak 64% gula pasir/sukrosa di dalam akuades yang mengandung 0,25% metil paraben diatas hotplate magnetig stearer sampai semua bahan larut sempurna. Ekstrak buah bakau yang telah dilarutkan dalam sedikit akuades (sesuai perlakuan konsentrasi, yaitu 0%, 5%, 15%, 25%, dan 50%) ditambahkan ke dalam larutan gula tersebut, kemudian diberi penambahan akuades hingga volume 100 mL. Pengujian yang dilakukan untuk menentukan formula sediaan sirup terbaik melalui parameter fisik yang meliputi pengukuran viskositas, nilai pH, dan berat jenis sediaan sirup.

a) Pengukuran viskositas sediaan sirup

Viskositas sediaan sirup diukur menggunakan alat viskometer Brookfield RV. Sampel sediaan sirup dimasukkan sebanyak 300 mL ke dalam gelas sampel viskometer. Memasang spindel/pengaduk yang sesuai dengan karakteristik sampei yang akan digunakan, sediaan sirup buah bakau diukur dengan spindel 2. Viskometer kemudian dihidupkan menjadi mode *stanby*, kecepatan diatur sebesar 50 rpm. Spindel kemudian diturunkan hingga tercelup pada cairan sampel, *switch* pada posisi "on" dan spindel akan mulai berputar. Nilai viskositas akan tampil pada monitor viskometer.

b) Pengukuran nilai pH sediaan sirup

Nilai pH sediaan sirup diukur dengan alat pH-meter. Sebelum digunakan pH-meter dikalibrasi dahulu dengan larutan masing-masing pH 4,0 dan pH 7,0. Pengujian dilakukan dengan mencelupkan pH-meter ke dalam sampel hingga nilai pH sampel terukur.

c) Pengukuran berat jenis sediaan sirup

Berat jenis sediaan sirup diukur dengan alat piknometer. Piknometer kosong dibilas dengan air, lalu dibilas dengan akuades, kemudian dibilas dengan alkohol 70%. Piknometer kosong kemudian dikeringkan di dalam oven pada suhu 40 °C selama 30

menit. Piknometer kemudian disimpan di dalam desikator selama 30 menit, setelah itu ditimbang bobot piknometer kosong tersebut. Piknometer kemudian diisi dengan akuades hingga penuh dan tumpah saat ditutup, lalu timbang berat piknometer yang berisi air tersebut. Setiap akan digunakan untuk mengukur sampel, piknometer dibilas dan dikeringkan kembali seperti prosedur diatas, kemudian baru diisi sampel dan ditimbang piknometer yang berisi sampel, hingga seluruh konsentrasi sediaan sirup (0%, 5%, 15%, 25% dan 50%) diperoleh data berat jenisnya. Berat jenis/densitas (d) dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$d = \frac{\text{Massa piknometer berisi sampel} - \text{Massa piknometer kosong}}{\text{Massa piknometer berisi Air} - \text{Massa piknometer kosong}}$$

4.4.6 Pengujian efek hepatoprotektif sediaan sirup secara *in vivo* dan perbandingan dengan produk komersial

Pengujian efek hepatoprotektif menggunakan tikus jantan strain *Sprague Dawley*. Sebelum percobaan dimulai semua hewan coba diaklimatisasi selama kurang lebih 7 hari untuk beradaptasi dengan lingkungan yang baru. Selama masa aklimatisasi, hewan coba diberi makan dengan pakan standar dan minum *ad libitum*. Pada hari terakhir adaptasi tikus ditimbang dan dikelompokkan menjadi 7 kelompok ($n=3$) di dalam kandang secara terpisah. Kelompok perlakuan adalah sebagai berikut:

Kelompok 1 : Kontrol negatif (normal)

Kelompok 2 : Kontrol positif, yaitu tikus diinduksi dengan CCL_4 dengan dosis 2 ml/kg BB (diencerkan 1:1 (v/v) dalam cairan parafin) secara *intraperitoneal* pada hari pertama.

Kelompok 3 : Perlakuan sediaan sirup *Rhizophora mucronata*. Tikus diinduksi pada hari pertama (Kelompok 1), kemudian diberikan sediaan sirup buah bakau dengan konsentrasi 0 mg/kg BB diinduksi secara oral pada hari ke-2 sampai hari ke-8.

Kelompok 4: Perlakuan sama dengan kelompok 3. Dosis sediaan sirup *Rhizophora mucronata* yang diberikan 5 mg/kg BB.

Kelompok 5: Perlakuan sama dengan kelompok 3. Dosis sediaan sirup *Rhizophora mucronata* yang diberikan 15 mg/kg BB.

Kelompok 6: Perlakuan sama dengan kelompok 3. Dosis sediaan sirup *Rhizophora mucronata* yang diberikan 25 mg/kg BB.

Kelompok 7: Perlakuan sama dengan kelompok 3. Dosis sediaan sirup *Rhizophora mucronata* yang diberikan 50 mg/kg BB.

Kelompok 8: Perlakuan sama dengan kelompok 3. Kemudian diberikan obat komersial merek dr. Xenichi dengan konsentrasi 25 mg/kg BB

Kelompok 9: Perlakuan hepatoprotektor standar, yaitu *sylimarin*. Tikus diinduksi pada hari pertama, kemudian diberikan *sylimarin* (dilarutkan dalam 0,5% Tween 80) dosis 25 mg/kg BB secara oral pada hari ke-2 sampai hari ke-8.

Setelah 8 hari perlakuan semua tikus dikorbankan dengan cara eutanasi intraperitoneal dengan Ketamin, kemudian dilakukan pengambilan sampel darah dari jantung. Untuk mendapatkan serum darah, sampel darah yang diperoleh kemudian disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10-15 menit (Panjaitan 2007). Sampel darah digunakan untuk menganalisis kadar enzim AST dan enzim ALT (Kit AMP diagnostic®), sedangkan hati untuk pengamatan preparat hispatologi hati (Panjaitan 2007) dan analisis kadar MDA (Iskandar *et al.* 2009).

a) Analisis kadar enzim AST dan ALT darah (Kit AMP diagnostic®)

Sampel darah diambil dari jantung. Sampel darah yang diperoleh kemudian disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10-15 menit untuk mendapatkan serum darah. Serum tersebut kemudian dipisahkan ke dalam tabung ependorf. Kadar enzim AST dan ALT dianalisis dengan menggunakan Kit AMP diagnostic®.

b) Persiapan preparat histopalogi hati (Panjaitan 2007)

Hewan dikorbankan dengan cara eutanasi *intraperitoneal*, kemudian dibedah untuk mengambil organ. Organ hati yang diambil kemudian dicuci dengan NaCl fisiologis, selanjutnya difiksasi dengan menggunakan buffer formalin 10%. Jaringan yang telah difiksasi kemudian didehidrasi dengan alkohol mulai dari konsentrasi 70%, 80%, 90%, 95% masing-masing selama 24 jam dilanjutkan dengan alkohol 100% selama 1 jam. Setelah dehidrasi dilanjutkan dengan penjernihan dengan menggunakan xilol sebanyak tiga kali masing-masing selama 1 jam, dilanjutkan dengan infiltrasi parafin. Jaringan kemudian ditanam dalam media parafin. Berikutnya dilakukan penyayatan dengan ketebalan 4-5 mikron. Hasil sayatan dilekatkan pada kaca objek, kemudian diwarnai dengan pewarnaan hematoksilin-eosin (HE).

c) Analisis kadar MDA hati (Iskandar *et al.* 2009)

Konsentrasi MDA pada organ hati diukur dengan metode *thiobarbituric acid reactive substances* (TBARS) melalui pengukuran malondialdehida sebagai produk akhir oksidasi lipid. Prinsip metode ini MDA bila direaksikan dengan asam tiobarbiturat (*thiobarbituric acid*, TBA), akan membentuk senyawa berwarna merah muda yang

menyerap cahaya pada panjang gelombang 532 nm. Jumlah MDA yang terbentuk dapat menggambarkan proses peroksidasi lipid (Winarsi 2007).

Hati dipotong kemudian digerus dengan mortar sampai homogen dan ditambahkan buffer tris KCL pH 7,4 sebanyak 1 ml. Homogenat dimasukkan ke dalam tabung reaksi, selanjutnya sampel ditambahkan 1 ml asam trikloroasetat (TCA) 100% kemudian divortex. Sampel homogenat kemudian ditambahkan 2ml HCL 1 M dan divortex lagi. Tabung reaksi sampel kemudian dipanaskan didalam waterbath suhu dipanaskan didalam waterbath suhu 100°C selama ± 20 menit. Tabung reaksi yang telah dipanaskan kemudian disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm ± 10 menit. Supernatan diambil dan ditambahkan aquades sampai 3 ml dan dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 532 nm. Kadar MDA dihitung menggunakan kurva baku larutan standar MDA. Larutan standar yang digunakan adalah tetraetoksipropana (TEP). Kadar MDA diketahui dengan melakukan perhitungan menggunakan rumus berikut:

$$\text{Kadar MDA} \left(\frac{\text{mol}}{\text{L}} \right) = \frac{A \times 2000 \times fp}{\text{Berat sampel}}$$

Keterangan: A = Kadar sampel dalam pmol/50 µm TEP

Fp = Faktor pengenceran

4.4.7 Pengujian kestabilan sediaan sirup terbaik selama masa simpan 3 bulan

Sampel sediaan sirup terbaik dengan konsentrasi ekstrak 5% (b/v) dibuat sebanyak 6 botol. Botol yang digunakan adalah botol kaca berwarna gelap dan ditutup rapat. Sediaan sirup di dalam botol, kemudian ditempatkan di tiga kondisi suhu, yaitu suhu ruang (25 °C), suhu dingin disimpan di lemari es (4 °C) dan suhu tinggi disimpan di oven (40 °C). Penyimpanan dilakukan selama 3 bulan dan dilakukan pengamatan setiap minggu. Pengamatan yang dilakukan meliputi parameter organoleptik (warna, aroma, dan rasa), parameter fisik (viskositas, berat jenis dan pH), dan parameter aktivitas antioksidan.

4.4.8 Pengujian organoleptik sediaan sirup terbaik

Uji organoleptik yang dilakukan adalah uji kesukaan atau hedonik terhadap formula sediaan sirup bakau terbaik (konsentrasi ekstrak 5 %) oleh 10 panelis semi terlatih. Parameter mutu yang diuji meliputi warna, aroma, dan rasa. Pemberian skor pada uji hedonik menggunakan sistem skala kategori yaitu sangat tidak suka (1), tidak suka (2), agak tidak suka (3), netral (4), agak suka (5), suka (6), dan sangat suka (7). Dalam uji rangking hedonik, angka satu (1) menyatakan tingkat penerimaan terendah terhadap produk dan angka selanjutnya menyatakan penerimaan yang semakin tinggi.

4.5 Analisa Data

4.5.1 Rancangan percobaan analisis kimia

Data hasil analisis kimia di uji dahulu kenormalan galat. Apabila plot sudah mendekati garis linier, dapat dikatakan bahwa data tersebut memenuhi asumsi yaitu berdistribusi normal. Uji kenormalan data yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji Anderson-Darling. Uji Anderson-darling berdasarkan pada fungsi distribusi empirik. Model statistik uji Anderson-Darling (Anderson & Darling 1952), yaitu

$$A^2 = -n - S; \text{ dengan } S = \sum_{i=1}^N \frac{(2i-1)}{N} [\ln F(Y_i) + \ln(1 - F(Y_{N+1-i}))]$$

Keterangan:

- A = Nilai uji statistik Anderson-Darling
- N = Jumlah data
- F = Fungsi distributif kumulatif
- Y = Data yang telah diurutkan

Perhitungan menghasilkan nilai A^2 hitung dan P_{value} . $P_{value} \geq \alpha_{(0,05)}$, maka data berdistribusi normal. Nilai rata-rata menggambarkan posisi kurva sumbu X, sedangkan standar deviasi menggambarkan sebaran varian (Anderson & Darling 1952).

Data selanjutnya dianalisis menggunakan model rancangan ANOVA (*Analysis Of Variant*) atau uji F dengan formulasi (Steel & Torrie 1993).

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan :

- Y_{ij} = nilai pengamatan pada taraf ke-j ($j=1,2$)
- μ = nilai tengah atau rata-rata umum pengamatan
- τ_i = pengaruh metode pengolahan pada taraf ke-i ($i=1,2,3,4$)
- ε_{ij} = galat atau sisa pengamatan taraf ke-i dengan ulangan ke-j

Jika uji F pada ANOVA memberikan pengaruh nyata, maka dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan, dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Duncan} = \frac{t_{\alpha/2, \text{dbs}} \sqrt{2\text{KTS}}}{r}$$

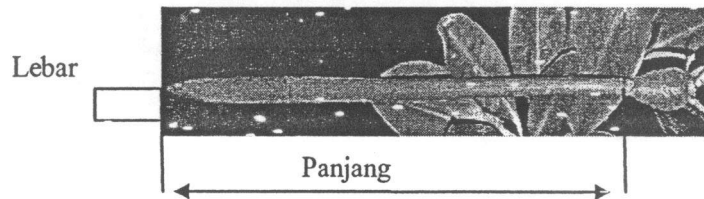
Keterangan :

- KTS = Kuadrat tengah sisa
- dbs = Derajat bebas sisa
- r = Banyaknya ulangan

BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Katakteristik fisik buah bakau (*Rhizophora mucronata*)

Buah bakau yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari Taman Konservasi Mangrove, Pantai Indak Kapuk, Jakarta. Buah bakau terdiri dari dua bagian yaitu kelopak dan buah bakau (hipokotil). Buah bakau mempunyai hipokotil lurus, silindris, berwarna hijau kecoklatan, dan buahnya dipenuhi bintil-bintil dan bila jatuh tertancap ke dalam lumpur akan tumbuh dan membesar. Daging buah yang sudah dikupas dan dihaluskan dengan *blender* memiliki tekstur yang halus dan berwarna cckelat. Pengukuran morfometrik buah bakau dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Pengukuran morfometrik buah bakau

Buah bakau yang digunakan sebanyak 30 buah dengan pengukuran morfometrik yang disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1 Pengukuran morfometrik buah bakau (*R. mucronata*)

No	Parameter	Nilai
1	Panjang (cm)	58,45 ± 4,22
2	Lebar (cm)	1,64 ± 0,12
3	Bobot (cm)	2,497 ± 13,06

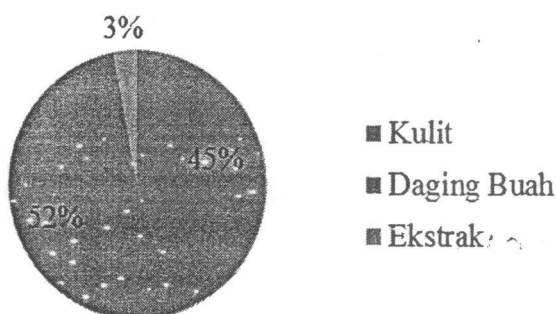
Keterangan: Data diperoleh dari 30 sampel buah bakau

Berdasarkan data yang diperoleh, buah bakau yang digunakan dalam penelitian ini memiliki panjang, lebar, dan bobot rata-rata berturut-turut sebesar 58,45 ± 4,22 cm, 1,64 ± 0,12 cm, dan 2,497 ± 13,06 gr. Buah bakau yang sudah matang mempunyai hipokotil lurus, silindris dengan panjang 30-70 cm dan diameter 1-2 cm (FAO 2000).

5.2 Rendemen buah dan ekstrak buah bakau (*Rhizophora mucronata*)

Rendemen merupakan suatu parameter yang penting untuk mengetahui nilai ekonomis dan efektivitas suatu bahan atau produk. Rendemen adalah persentase bagian bahan baku yang dapat dimanfaatkan. Semakin tinggi nilai rendemen suatu bahan maka nilai ekonomisnya akan lebih tinggi begitu pula dengan pemanfaatannya. Rendemen daging buah yang akan dimanfaatkan dihitung berdasarkan presentase perbandingan bobot daging buah terhadap bobot buah bakau utuh.

Rendemen ekstrak kasar juga dihitung pada penelitian ini. Rendemen ekstrak dihitung dari bobot ekstrak kasar yang dihasilkan terhadap bobot buah bakau utuh. Persentase rendemen buah bakau (*R. mucronata*) dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Persentase rendemen buah bakau (*Rhizophora mucronata*)

Berdasarkan Gambar 4, rendemen daging buah yang didapatkan adalah sebesar 52%, dan rendemen ekstrak kasar yang didapatkan dari total buah yang digunakan adalah sebesar 3%. Hasil penelitian Priyatno (2012) rendemen daging buah bakau yang didapatkan adalah sebesar 44,94% dan rendemen ekstrak kasar metanol sebesar 10,95 %.

Rendemen hasil penelitian tidak terlalu jauh dari literatur, hal tersebut diduga karena perbedaan teknis dalam mengupas sampel. Perbedaan nilai rendemen ekstrak kasar diduga disebabkan karena adanya perbedaan penggunaan suhu evaporasi. Penelitian ini menggunakan suhu evaporasi yang lebih tinggi yaitu 70 °C. Berdasarkan penelitian Ma'mun *et al.* (2006) menyatakan pemanasan akan menyebabkan lebih banyaknya komponen organik yang menghilang, penguapan, sari terlarut dan kandungan bahan aktif yang lebih sedikit. Oleh karena itu, hasil rendemen ekstrak kasar yang didapatkan pada penelitian jauh lebih sedikit.

5.3 Karakteristik kimia buah bakau (*Rhizophora mucronata*)

Informasi mengenai kandungan gizi yang terdapat dalam bahan pangan dapat diketahui melalui analisis komposisi kimia atau proksimat. Kandungan gizi bahan pangan meliputi air, abu, protein, lemak, dan karbohidrat. Menurut Winarno (2008) komposisi kimia yang terkandung dalam suatu bahan pangan menunjukkan seberapa besar kuantitas dan kualitas bahan tersebut untuk memberikan asupan gizi sesuai kebutuhan manusia. Hasil analisis Komposisi kimia buah bakau (*R. mucronata*) segar dan kering dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 Komposisi kimia buah bakau (*R.mucronat*) segar dan kering

Parameter	R.mucronata segar (%)	R.mucronata Kering (%)	R.mucronata*	Bruguiera gymnorrhiza**
Kadar air	31.96	31.51	58.56	8.93
Kadar abu	1.10	1.23	1.25	1.60
Kadar protein	2.59	3.94	2.53	5.59
Kadar lemak	0.86	0.76	0.70	1.79
Karbohidrat	63.50	62.57	36.96	82.09

Keterangan: * Priyanto (2011)
** Sulistyawati *et al.* (2012)

Table 2 menunjukkan bahwa kadar air, dan kadar karbohidrat pada buah bakau (*R.mucronata*) memiliki persentase yang lebih besar jika dibandingkan dengan kara abu, protein, dan lemak. Kadar air buah bakau segar sebesar 31.96% dan pada buah bakau kering mengalami penurunan menjadi 31.51%. hal tersebut dapat disebabkan karena proses pengeringan buah bakau sehingga kadar air menurun. Kadar abu dan kadar protein buah bakau segar masing-masing sebesar 1.10% dan 2.59% dan mengalami peningkatan pada buah bakau kering menjadi 1.23% dan 3.94%. kadar lemak buah bakau segar sebesar 0.86% dan menurun menjadi 0.76%. karbohidrat pada buah bakau segar sebesar 63.50% dan pada buah bakau kering menurun menjadi 62.57%.

Air merupakan komponen yang penting dalam bahan makanan, karena air dapat memberikar pengaruh kepada penampakan, tekstur serta cita rasa. Bahkan di dalam makanan kering sekalipun, terkandung air dalam jumlah tertentu. Produk hasil perikanan memiliki kandungan air yang sangat tinggi, sekitar 80%. Kandungan air dalam bahan makanan ikut menentukan daya terima, kesegaran serta daya simpan bahan tersebut (Winarno 2008).

Berdasarkan hasil analisis proksimat pada buah bakau menunjukkan bahwa kadar air buah bakau segar dan kering berturut-turut sebesar 31.96% dan 31.51%. nilai ini lebih rendah dibandingkan hasil penelitian Priyatno (2011) pada sampel yang sama, bahwa buah bakau memiliki kadar air sebesar 58.56%. Selanjutnya kadar air buah lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) hasil penelitian Sulistyawati *et al.* (2012) sebesar 8.93%. Buah lindur ini satu famili *Rhizophoraceae* dengan buah bakau.

Tingginya nilai kadar air pada buah bakau menyebabkan buah ini mudah mengalami kebusukan. Hal ini didukung oleh pernyataan Wirakusumah (2007), bahwa buah dan sayuran termasuk makanan yang yang mudah mengalami kerusakan (*high perishable food*) karena peranan air dalam bahan pangan dapat mempengaruhi aktivitas metabolisme seperti aktivitas enzim, aktivitas mikroba, aktivitas kimiawi yaitu terjadinya

ketengikan dan reaksi-reaksi non enzimatis. Tingginya nilai kadar air buah bakau didukung karena habitatnya yang berada didekat wilayah perairan dan umumnya tumbuh di pesisir pantai (FAO 2000). Pengurangan kadar air pada buah bakau kering disebabkan karena proses pengeringan. Menurut Winarno (2008) pengeringan dapat menghilangkan air yang terkandung dalam bahan pangan. Semakin lama waktu pengeringan yang dilakukan, kadar air yang terdapat pada suatu bahan pangan akan semakin rendah.

Abu merupakan zat anorganik sisa hasil pembakaran suatu bahan organik. Kandungan abu dan komposisinya tergantung pada macam bahan yang dianalisis. Sebagian besar bahan makanan, sekitar 96% terdiri dari bahan organik dan air. Sisanya terdiri dari unsur-unsur mineral yang juga dikenal sebagai unsur anorganik (kadar abu). Komponen-komponen organik terbakar, tetapi komponen anorganiknya tidak dan komponen ini disebut abu (Winarno 2008).

Hasil proksimat menunjukkan kadar abu pada buah bakau segar sebesar 1.10% dan pada buah bakau kering 1.23%. Hasil ini tidak berbeda jauh dengan hasil penelitian Priyatno (2011) bahwa kadar abu buah bakau sebesar 1.25%. apabila dibandingkan dengan kadar abu buah lindur, kadar abu buah bakau masih lebih rendah dibandingkan penelitian Sulistyawati et al. (2012) yang menyatakan kadar abu buah lindur sebesar 1.60%. Mineral pada tanaman juga berkaitan dengan kandungan serat penyusun dinding sel dari jaringan tanaman. Elemen mineral tidak dapat dirusak oleh panas, cahaya, zat pengoksidasi, pH ekstrim maupun faktor lainnya. Mineral dapat dihilangkan dengan pelepasan secara fisik (Harris & Karmas 1989). Peningkatan kadar abu pada buah bakau kering diduga karena proses pengeringan yang dilakukan di tempat terbuka, sehingga adanya penambahan jumlah komponen anorganik dari lingkungan luar.

Lemak merupakan sumber energi yang lebih efektif dibandingkan karbohidrat dan protein. Satu gram lemak dapat menghasilkan 9 kkal/gram, sedangkan karbohidrat dan protein hanya menghasilkan 4 kkal/gram. Selain itu, lemak juga berfungsi sebagai pelarut vitamin A, D, E dan K (Winarno 2008).

Hasil analisis lemak pada buah bakau segar sebesar 0.86% dan menurun pada buah bakau kering menjadi 0,76%. Nilai ini tidak begitu berbeda dengan hasil penelitian Priyatno (2011) menyatakan bahwa kadar lemak buah bakau sebesar 0.70%. kadar lemak pada buah bakau masih lebih rendah dibandingkan kadar lemak buah lindur hasil penelitian Sulistyawati et al. (2012) menyatakan kadar lemak buah lindur sebesar 1.79%. Menurut Prabandari et al. (2005) menyatakan bahwa kandungan lemak yang rendah pada buah dan sayur mempunyai peranan penting dalam mempertahankan tekstur, rasa, aroma dan warna berupa trigliserida, sterol dan kolestrol.

Menurut Coimbra dan Jorge (2011) menyatakan bahwa lemak pada tumbuhan banyak terkandung di bagian biji dan buah. Di dalam sel tumbuhan lemak disimpan dalam sitoplasma, dan lemak pada bahan nabati umumnya berupa asam lemak tidak jenuh. Penurunan kadar lemak buah bakau kering diduga disebabkan karena proses pemanasan. Menurut Jacob *et al.* (2008) hal tersebut disebabkan karena selama proses pemanasan lemak mencair bahkan menguap (volatil) menjadi komponen lain seperti flavour.

Protein merupakan zat makanan yang penting bagi tubuh, karena berfungsi sebagai bahan bakar dalam tubuh dan berfungsi sebagai zat pembangun serta pengatur. Protein merupakan sumber asam-asam amino yang mengandung unsur-unsur N, C, H, dan O yang tidak dimiliki oleh lemak ataupun karbohidrat. Protein digunakan sebagai bahan bakar apabila keperluan energi mengandung N yang tidak dimiliki oleh lemak dan karbohidrat (Winarno 2008).

Berdasarkan hasil analisis proksimat kadar protein buah bakau segar dan buah bakau kering memiliki nilai masing-masing sebesar 2.59% dan 3.54%. Nilai ini tidak berbeda jauh dengan hasil penelitian Priyatno (2011) bahwa buah bakau segar memiliki kadar protein sebesar 2.53%. Kandungan protein nabati cenderung lebih rendah dari pada protein hewani, kecuali pada kacang-kacangan dan produk olahannya sedangkan protein hewani lebih banyak menyediakan asam amino-asam amino esensial sehingga protein yang dihasilkan lebih bermutu tinggi. Protein di dalam tubuh manusia berfungsi membentuk jaringan baru dan mempertahankan jaringan yang telah ada. Kekurangan protein dalam jangka waktu yang lama dapat mengganggu berbagai proses dalam tubuh dan menurunkan daya tahan tubuh terhadap penyakit. Angka kecukupan protein untuk orang dewasa menurut Kusnandar (2010) yaitu 50 g/hari untuk pria dan 42 g/hari untuk wanita.

Karbohidrat merupakan sumber kalori utama. Jumlah kalori yang dihasilkan oleh 1 gram karbohidrat adalah 4 kkal. Karbohidrat merupakan senyawa karbon, hidrogen, dan oksigen yang terdapat di alam. Karbohidrat memiliki peranan dalam menentukan karakteristik bahan makanan, misal rasa, warna, tekstur, dan lain-lain. Dalam tubuh, karbohidrat berfungsi mencegah timbulnya ketosis, pemecahan kelebihan protein tubuh, kehilangan mineral, membantu metabolisme lemak dan protein (Winarno 2008).

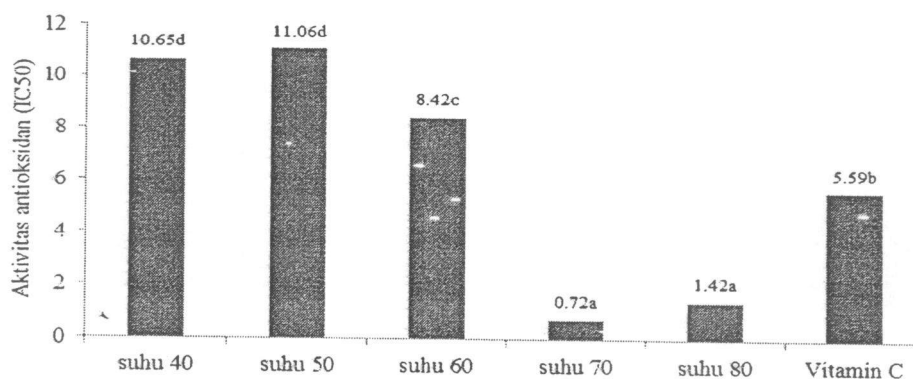
Hasil analisis proksimat mendapatkan bahwa kadar karbohidrat buah bakau segar dan buah bakau kering secara perhitungan *by difference* memiliki nilai masing-masing sebesar 63,50% dan 62,57 %. Penelitian yang dilakukan Priyatno (2011) menunjukkan bahwa buah bakau segar memiliki kadar karbohidrat sebesar 36.96%. kadar karbohidrat

pada buah bakau masih lebih rendah dibandingkan kadar karbohidrat buah lindur hasil penelitian Sulistyawati et al. (2012) menyatakan karbohidrat buah lindur sebesar 82.09%. karbohidrat pada buah dan tanaman ditemukan dalam pati dan gula sederhana. pati akan Pati akan dioksidasi lebih lanjut didalam sel dan digunakan dalam menyediakan energi untuk membuat berbagai senyawa yang dibutuhkan tubuh diantaranya protein, lipid dan asam nukleat (Roswiem et al. 2006).

5.4 Aktivitas antioksidan Buah Bakau (*Rhizophora mucronata*)

Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang dapat menunda, memperlambat, dan mencegah proses oksidasi lipid (Suhartono et al. 2002). Selanjutnya menurut Handayani dan Sulistyio (2008) antioksidan berpotensi menginaktifkan radikal bebas dengan mekanisme menyumbangkan satu atau lebih elektron, sehingga radikal bebas tersebut dapat diredam. Mekanisme antiopksidan juga memungkinkan adanya sifat penstabil molekul radikal bebas yang dihasilkan oleh berbagai jenis proses kimia normal tubuh atau oleh radiasi matahari, asap rokok, dan pengaruh-pengaruh lingkungan lainnya.

Aktivitas antioksidan ekstrak buah bakau (*R.mucronata*) dinyatakan dalam persentase inhibisi radikal bebas DPPH. Antioksidan pembanding yang digunakan adalah vitamin C sebagai antioksidan standar yang merupakan senyawa murni sehingga penghambatan radikal DPPH lebih efektif dengan konsentrasi yang rendah. Aktivitas antioksidan dari sampel ditunjukkan dengan perubahan warna pada larutan DPPH yang semula berwarna ungu pekat menjadi kuning cerah. Menurut Andayani et al. (2008) adanya aktivitas antioksidan dari sampel mengakibatkan perubahan warna pada larutan DPPH dalam etanol yang semula berwarna ungu pekat menjadi kuning. Pengujian analisis antioksidan buah bakau (*R.mucronata*) menggunakan 5 perlakuan suhu evaporasi ekstrak yang berbeda yaitu, suhu 40 °C, 50 °C, 60 °C, 70 °C, dan 80 °C. Hasil uji aktivitas antioksidan buah bakau (*R.mucronata*) dan Vitamin C tersaji pada Gambar 5.



Gambar 5. Nilai rata-rata aktivitas antioksidan ekstrak kasar buah bakau (*R.mucronata*) dengan perlakuan suhu evaporasi

Hasil analisis aktivitas antioksidan pada Gambar 5 menunjukkan perlakuan suhu evaporasi ekstrak buah bakau memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap aktivitas antioksidan sampel buah bakau. Berdasarkan hasil uji lanjut Duncan didapatkan aktivitas antioksidan yang paling baik adalah suhu 70 °C dengan nilai IC50 sebesar 0,72 ppm. Hasil aktivitas antioksidan perlakuan suhu 70 °C secara signifikan berbeda ($p < 0,05$) pada perlakuan suhu 40 °C, 50 °C, 60 °C, dan vitamin C, namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan suhu 80 °C. Antioksidan standar yang digunakan pada penelitian ini adalah vitamin C dengan nilai IC50 sebesar 5.59 ppm. Penelitian yang dilakukan Banerjee *et al.* (2008) nilai IC50 asam askorbat sebesar 3,62 ppm. Hasil pengujian aktivitas antioksidan menunjukkan buah bakau (*R.mucronata*) merupakan senyawa antioksidan kuat, karena semua perlakuan memiliki nilai IC50 kurang dari 50 ppm. Menurut Molyneux (2004), suatu bahan dengan nilai IC50 < 50 ppm merupakan antioksidan yang sangat kuat.

Berdasarkan Gambar 5 aktivitas antioksidan buah bakau pada perlakuan suhu 70 °C lebih tinggi dari vitamin C. Suhu evaporasi 70 °C merupakan perlakuan terbaik dengan nilai IC50 sebesar 0,72 ppm. nilai tersebut tidak jauh berbeda dari hasil penelitian Bunyapraphatsara (2002) aktivitas antioksidan metode DPPH pada buah bakau (*R.mucronata*) di Thailand didapatkan nilai IC50 sebesar 4,33 ppm. Selanjutnya penelitian yang dilakukan oleh Priyatno (2012) dengan sampel yang sama, didapatkan nilai IC50 ekstrak methanol buah bakau (*R.mucronata*) sebesar 58,61 ppm.

Tingginya sifat antioksidan pada ekstrak etanol buah bakau diduga berkorelasi dengan banyaknya senyawa aktif yang dapat terdeteksi melalui uji fitokimia. Komponen bioaktif yang terdapat dalam ekstrak etanol buah bakau meliputi flavonoid, tannin, saponin, dan fenol hidrokuinon. Senyawa tersebut memiliki aktivitas antioksidan. Hal ini sesuai dengan penelitian dari Atta-ur-rahman *et al.* (2001) bahwa senyawa yang berpotensi memiliki antioksidan umumnya adalah senyawa flavonoid, alkaloid dan fenolat yang merupakan senyawa-senyawa polar. Selanjutnya menurut Ravikumar & Gnanadesigan (2012) mengatakan bahwa kehadiran senyawa kimia seperti flavonoid, triterpenoid, tanin, dan alkaloid yang ada pada buah bakau menjadi penyebab timbulnya mekanisme antioksidan pada tikus yang diinduksi CCL4. Menurut Rohaeti *et al.* (2010) buah bakau juga memiliki beberapa senyawa aktif, yaitu flavonoid, saponin, tanin, dan triterpenoid yang berfungsi sebagai senyawa antioksidan.

5.5 Analisis Fitokimia

Sampel yang digunakan adalah ekstrak kasar buah bakau. Penapisan fitokimia secara kualitatif dilakukan sebagai uji awal untuk mengetahui keberadaan senyawa kimia spesifik, yaitu senyawa metabolit sekunder yang diharapkan dapat berperan sebagai antihepatotoksik. Penapisan fitokimia ini berdasarkan pada metode Harborne (1987). Hasil pengujian analisis fitokimia dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji fitokimia ekstrak kasar buah bakau

Uji	Hasil
alkaloid Wagner	-
alkaloid Meyer	-
alkaloid Dragendorf	-
Steroid	-
Flavonoid	+
Tanin	+
Saponin	+
Tripennoid	-
Hidrokuinon	+

Hasil pengujian fitokimia pada Tabel 3 menunjukkan bahwa ekstrak kasar buah bakau mengandung alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, dan hidrokuinon. Pada uji alkaloid sampel menunjukkan hasil positif pada pereaksi Wagner dan Dragendorf. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya larutan berwarna jingga. Tannin ditunjukkan dengan terbentuknya larutan berwarna hijau pekat. Saponin ditunjukkan dengan adanya busa yang stabil setelah didiamkan selama 10 menit pada pereaksi. Hidrokuinon menunjukkan adanya senyawa fenol dalam bahan dengan terbentuknya warna hijau.

Flavonoid dikenal sebagai antioksidan yang berpotensi mengobati penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas. Menurut Redha (2010) Aktivitas antioksidan flavonoid bersumber pada kemampuan mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkelat logam. Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang baik, menghambat banyak reaksi oksidasi, baik secara enzimatis maupun non enzimatis. Alkhali dan Bandy (2009) menyatakan, sebagai antioksidan flavonoid menghambat beberapa kinerja enzim oksidator seperti xantin oksidase, serta mengkelat logam sehingga dapat mencegah terjadinya reaksi redoks yang menghasilkan senyawa radikal bebas. Menurut Miller (1996), sejumlah tanaman obat yang mengandung flavonoid memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antivirus, antiradang, dan antialergi.

Tanin merupakan senyawa polifenol kompleks yang tersebar luas dalam tumbuhan, terutama tumbuhan berpembuluh (Harborne 1987). Hagerman (1998) menyatakan bahwa tanin mempunyai kemampuan menangkap radikal bebas. Tanin sangat efektif sebagai pendonor elektron/atom hidrogen dan pengkelat logam, sebab

senyawa ini memiliki gugus hidroksil dan ikatan rangkap terkonjugasi yang memungkinkan terjadinya delokalisasi elektron.

Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun dan dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa. Xiong *et al* (2010) menyatakan senyawa ini bersifat antioksidatif dan radikal scavenger dengan membentuk hidroperoksida sebagai senyawa antara dan dapat menyumbangkan hidrogen pada senyawa radikal DPPH sehingga mengakhiri reaksi rantai radikal. Kandungan saponin pada tanaman dan obat-obatan memiliki beberapa macam bioaktivitas, seperti antivirus, anti-inflamasi, dan antiparasit (Navarro *et al* 2001), serta meningkatkan sistem imun dan antikanker (Estrada *et al.* 2000).

Komponen fenolat merupakan struktur aromatik yang berikatan dengan satu atau lebih gugus hidroksil dan bersifat larut air (Haborne 1984). Hasil penapisan fitokimia menunjukkan ekstrak kasar buah bakau menunjukkan adanya komponen fenol hidrokuinon yang diduga juga mempunyai aktivitas antioksidan. Hidrokuinon dan senyawa turunannya berfungsi sebagai inhibitor oksidatif untuk mengikat radikal bebas dan bereaksi dengan senyawa *Reactive Oxygen Species* (ROS) membentuk senyawa yang lebih stabil (Eastman 2009).

5.6 Pengujian toksisitas akut (penentuan LD 50) secara *in vivo*

Toksikitas didefinisikan sebagai efek berbahaya yang ditimbulkan oleh suatu zat/bahan/senyawa pada organ yang dijadikan sasaran. Ada beberapa istilah dalam pengkajian toksisitas, yaitu: toksisitas akut, sub-akut dan kronis. Dalam penentuan keamanan suatu zat kimia terhadap organisme, langkah pertama yang biasa dilakukan adalah uji toksisitas dengan menentukan nilai LD50 (*median lethal dose*). Makna LD50 adalah dosis zat/bahan/senyawa yang menyebabkan kematian hewan uji sebanyak 50% dari total populasi berdasarkan data pengamatan pada waktu tertentu (Lu 1995).

Hasil pengujian toksisitas akut ekstrak buah bakau (*Rhizophora mucronata*) pada dosis 15 g/kg BB menunjukkan selama pengamatan 24 jam, semua kelompok tikus tidak ada yang mengalami kematian. Hasil pengamatan perilaku dan kondisi fisik tikus yang diberi ekstrak buah bakau dapat dilihat pada Tabel 4 juga menunjukkan gejala normal atau tidak mengalami keracunan. Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui derajat toksisitas untuk ekstrak buah bakau (*Rhizophora mucronata*) menurut klasifikasi toksisitas relatif Lu (1995) adalah praktis tidak toksik dengan nilai $LD_{50} > 15$ g/kg BB.

Tabel 4 Pengamatan perlakuan dan kondisi fisik hewan uji yang diberi ekstrak buah bakau (*Rhizophora mucronata*) dengan dosis 15 g/kg BB

Pengamatan	Keterangan
Perilaku	Tenang, tidak ada tanda depresi/ketakutan
Nafsu makan dan minum	Baik
Bulu dan kulit	Bulu halus dan mengkilat, Kulit tidak pucat
Nafas	Teratur dan konstan
Denyut jantung	Konstan dan ritmik
Mata	Tidak ada kelainan
Feses	Konsistensi normal, tidak ada kelainan
Otot dan persendian	Tidak ada kelainan
Reflek	Baik
Tremor	Tidak ada
Konvulsi	Tidak ada
Urinasi	Normal (warna dan volume)
Salivasi	Tidak ada yang hipersalivasi
Paralisis	Tidak ada

Berdasarkan hasil penentuan LD50 tersebut, maka ekstrak buah bakau yang akan diformulasikan dalam sediaan sirup masih aman hingga dosis 15 g/kg BB. Menurut Lu (1995), jika sejumlah zat yang diberikan kepada hewan uji dengan dosis tinggi dan tidak ada hewan uji yang mati, maka dianggap bahwa semua toksisitas akut yang berbahaya dapat diabaikan. Hasil pengamatan toksisitas akut dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya spesies, keragaman individu, jenis kelamin, umur, berat badan, cara pemberian, kesehatan hewan dan lingkungan (Balls *et al.* 1991).

5.7 Pembuatan sediaan dan penentuan formula terbaik sediaan sirup

Penggunaan sediaan secara oral dapat menjadi lebih menyenangkan dan menyenangkan bila diformulasikan menjadi suatu sediaan sirup. Selain itu, penggunaan sirup yang diberikan secara oral mempunyai keunggulan dibandingkan dengan bentuk sediaan oral yang lain, yaitu dalam hal absorpsi dan bioavailibility. Suatu sediaan obat selain memiliki kemampuan untuk menyembuhkan suatu penyakit juga dituntut memiliki penampilan yang menarik sehingga dilakukan usaha-usaha untuk menghasilkan suatu sediaan sirup yang stabil (Whidasari 2001).

Ekstrak buah bakau (*Rhizophora mucronata*) memiliki karakter yang dapat larut dengan baik dalam air. Ketika akan dibuat dalam bentuk sediaan cair, sangat cocok untuk diformulasikan ke dalam bentuk sediaan sirup, tidak perlu dibuat dalam bentuk eliksir yang menggunakan pelarut senyawa alkohol. Formulasi sediaan sirup dari ekstrak buah bakau (*Rhizophora mucronata*) dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Formulasi sediaan sirup dari ekstrak buah bakau (*Rhizophora mucronata*)

Formula	Gula pasir (%)	Metil paraben (%)	Ekstrak buah bakau (%)
1	64	0,25	0
2	64	0,25	5
3	64	0,25	15
4	64	0,25	25
5	64	0,25	50

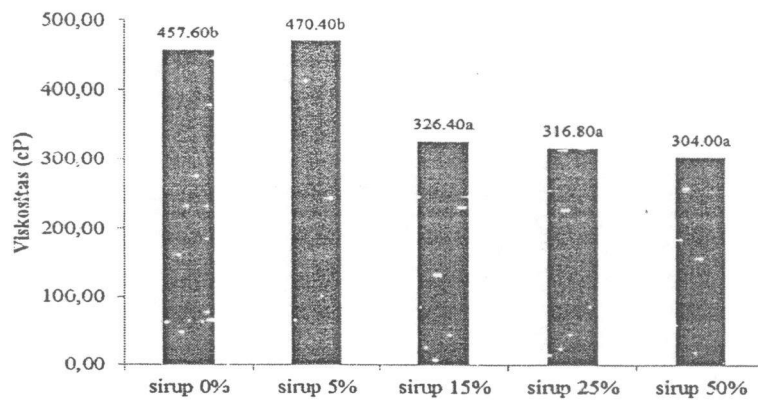
Formulasi sediaan sirup ditentukan berdasarkan definisi sirup menurut Formularium Nasional (1978) yaitu kadar sukrosa dalam sirup tidak boleh kurang dari 64% dan tidak lebih dari 66%. Produk sediaan sirup buah bakau (*Rhizophora mucronata*) hasil formulasi dapat dilihat pada Gambar 6. Penggunaan *Methyl p-hydroxybenzoate* (metil paraben) atau nipagin bertujuan untuk mencegah tumbuhnya mikroorganisme, terutama kapang, jamur, dan ragi sehingga produk tetap awet. Metil paraben adalah salah satu dari jenis paraben yang banyak digunakan untuk pengawet kosmetik dan obat (Chandia 2010).



Gambar 6. Produk sediaan sirup buah bakau (*Rhizophora mucronata*) hasil formulasi

5.7.1 Viskositas sediaan sirup buah bakau (*Rhizophora mucronata*)

Viskositas sediaan menjadi parameter fisik kritis dan harus diamati pada sediaan sirup karena perubahan viskositas dapat mempengaruhi redispersi dan kemudahan untuk dituang, serta dosis konsumsi (Costello 2007). Nilai rata-rata viskositas sediaan sirup buah bakau dapat dilihat pada Gambar 7.

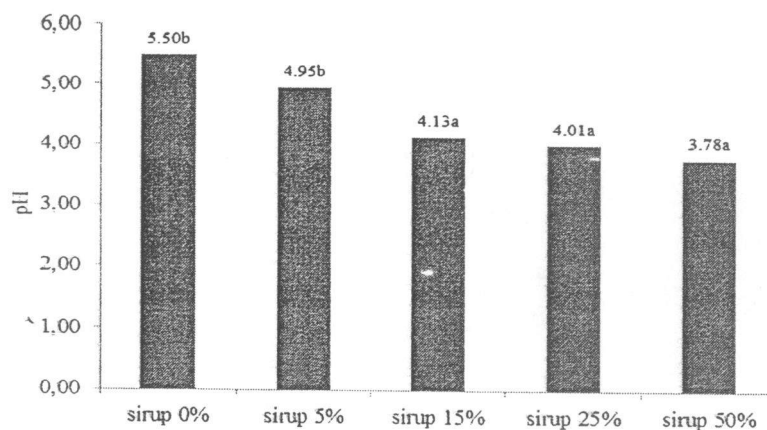


Gambar 7. Nilai rata-rata viskositas sediaan sirup buah bakau (*Rhizophora mucronata*)

Nilai rata-rata viskositas sediaan sirup buah bakau berkisar antara 304,00 cP sampai 470,40 cP. Nilai viskositas tertinggi adalah pada sediaan sirup buah bakau dengan konsentrasi ekstrak 5% (b/v). Berdasarkan pengujian secara statistik pada Gambar 7, konsentrasi sediaan sirup 0% dan 5% memberikan hasil yang tidak berbeda nyata ($p > 0.05$), namun berbeda nyata dengan sirup 15%, 25% dan 50% ekstrak buah bakau. Viskositas (kekentalan) sirup dapat dipengaruhi oleh banyaknya komponen yang ditambahkan ke dalam sediaan sirup. Hasil penelitian pada viskositas sirup racikan erdostein yang ditambahkan beberapa serbuk tablet obat jenis lain, nilai viskositasnya lebih tinggi dibandingkan dengan viskositas sediaan erdostein tunggal (Lestari 2012).

5.7.2 Nilai pH sediaan sirup buah bakau (*Rhizophora mucronata*)

Nilai pH merupakan parameter penting untuk menilai mutu suatu produk pangan atau sediaan farmasi. Produk dengan pH rendah akan lebih awet dibandingkan dengan nilai pH yang lebih, karena umumnya mikroba akan sulit tumbuh pada media dalam suasana asam. Perubahan nilai pH yang signifikan dapat merubah rasa dari suatu produk atau sediaan sehingga mempengaruhi penerimaan oleh konsumen (Mulyohardjo 1993).

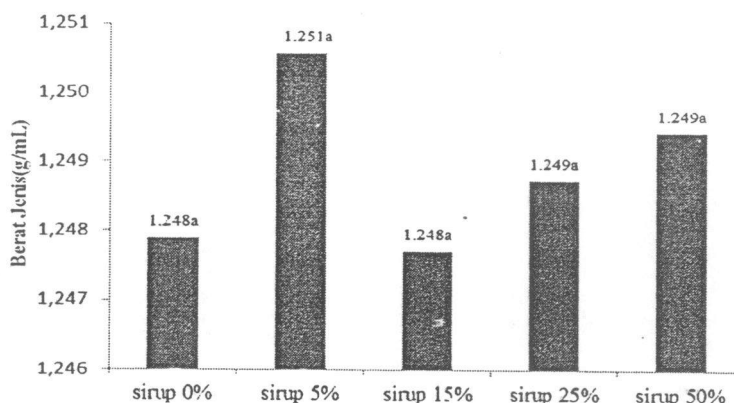


Gambar 8. Nilai rata-rata pH sediaan sirup buah bakau (*Rhizophora mucronata*)

Nilai rata-rata pH sediaan sirup buah bakau berkisar antara 3,78 sampai 5,50. Nilai pH tertinggi adalah pada sediaan sirup buah bakau tanpa penambahan ekstrak (konsentrasi ekstrak 0% (b/v)). Nilai pH sediaan sirup buah bakau semakin menurun seiring dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak buah bakau yang ditambahkan. Berdasarkan pengujian secara statistik pada Gambar 8, seluruh konsentrasi sediaan sirup memberikan hasil yang tidak berbeda nyata ($p>0.05$). Nilai pH (keasaman) sirup dapat dipengaruhi oleh sifat keasaman komponen yang ditambahkan ke dalam sediaan sirup (Lestari 2012). Berdasarkan nilai pH sediaan sirup yang dipilih adalah sirup dengan konsentrasi ekstrak buah bakau 5% (b/v) karena memiliki nilai pH rata-rata sebesar 4,95. Nilai pH tersebut masih sesuai dengan nilai pI untuk SNI sirup, yaitu berkisar pH 4 – 7 (BSN 1995).

5.7.3 Berat jenis sediaan sirup buah bakau (*Rhizophora mucronata*)

Berat jenis adalah perbandingan bobot suatu bahan dengan air pada volume dan suhu yang sama (25°C) dengan menggunakan piknometer (Martindale 1996). Dalam bidang farmasi berat jenis suatu zat atau cairan digunakan sebagai salah satu metode analisis yang berperan dalam menentukan kemurnian dari senyawa obat terutama dalam bentuk cairan atau untuk mengetahui tingkat kelarutan/daya larut suatu zat.



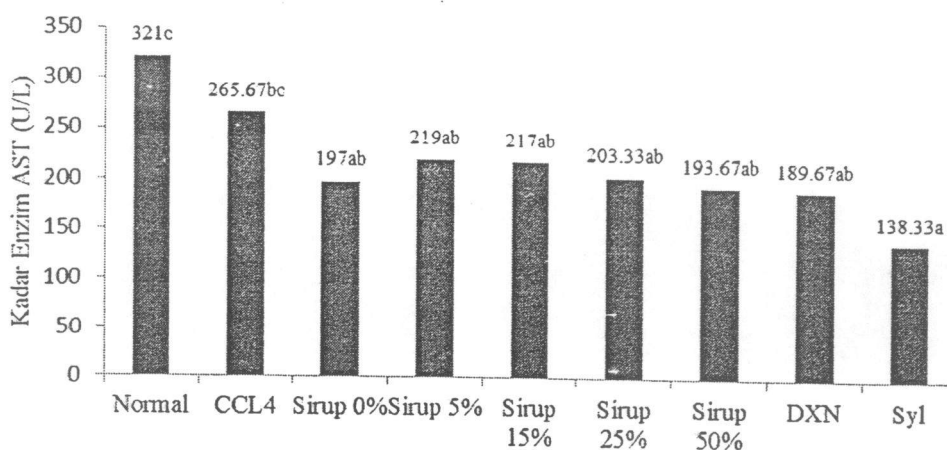
Gambar 9. Nilai rata-rata berat jenis sediaan sirup buah bakau (*Rhizophora mucronata*)

Nilai rata-rata berat jenis sediaan sirup buah bakau berkisar antara 1,248 g/mL sampai 1,251 g/mL. Nilai berat jenis tertinggi adalah pada sediaan sirup buah bakau dengan konsentrasi ekstrak 5% (b/v). Berdasarkan pengujian secara statistik pada Gambar 9, konsentrasi sediaan sirup 0% dan 5% memberikan hasil berat jenis yang tidak berbeda nyata ($p>0.05$), namun berbeda nyata dengan sirup 15%, 25% dan 50% ekstrak buah bakau. Hasil tersebut menunjukkan bahwa berat jenis sirup dapat dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak buah bakau yang ditambahkan ke dalam sediaan sirup buah bakau.

5.8 Kadar AST dan ALT sirup ekstrak buah bakau (*R.mucronata*)

Hati mempunyai fungsi yang sangat banyak, salah satunya adalah fungsi detoksifikasi. Hati bertanggung jawab atas biotransformasi zat-zat berbahaya (misalnya obat) menjadi zat-zat yang tidak berbahaya yang kemudian dieksresikan oleh ginjal. Sel hati merupakan sel kaya organel dan mengandung berbagai enzim, beberapa diantaranya penting untuk diagnostic karena dialirkan ke pembuluh darah dan aktivitasnya dapat diukur sehingga dapat menunjukkan adanya penyakit hati atau tingkat keparahannya (Ganong 2002).

Jaringan hati mengandung enzim-enzim transaminase dalam jumlah yang besar seperti enzim serum aspartate transaminase (AST) dan alanine transaminase (ALT) yang dapat dijadikan indikator kerusakan hati, karena kedua enzim itu akan meningkat terlebih dahulu peningkatannya lebih nyata bila dibandingkan dengan enzim-enzim lainnya di hati (Sujono 2002). Hasil pengukuran kadar AST dan ALT darah tikus dalam serum tikus jantan strain Sprague dawley (n=3) dengan 9 perlakuan kelompok tikus yaitu, normal, CCL4, Sirup 0%, sirup 5%, sirup 15%, sirup 25%, sirup 50%, Dr.Xiniji, dan Sylimarin disajikan pada Gambar 10 dan Gambar 11.



Gambar 10. Nilai rata-rata pengukuran kadar enzim AST tikus yang diberi sediaan sirup buah bakau (*Rhizophora mucronata*)

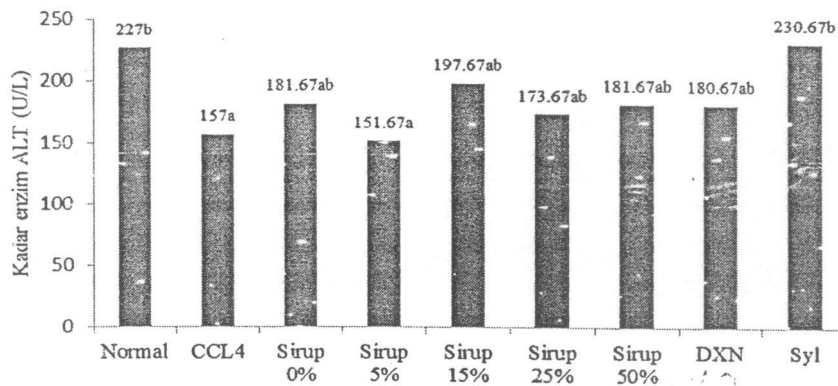
Setelah dilakukan pemberian sirup ekstrak buah bakau (*R.mucronata*) selama 7 hari perlakuan pada Gambar 10, terlihat kadar AST semua kelompok perlakuan sirup berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan kelompok normal, CCL4, dan Sylimarin, namun tidak berbeda secara nyata dengan kelompok Dr.Xiniji. Dari uji lanjut Duncan diketahui penurunan rata-rata kadar AST kelompok perlakuan sirup yang paling tinggi terdapat pada sirup 50%. Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian perlakuan sirup ekstrak buah bakau (*R.mucronata*) dapat menurunkan kadar AST pada serum darah tikus. Hal ini

berarti bahwa sirup ekstrak buah bakau mampu memberikan perlindungan atas kerusakan pada sel hati yang disebabkan radikal bebas yang dihasilkan oleh metabolisme CCL4.

Penurunan kadar enzim AST serum pada kelompok tikus yang diberikan sirup ekstrak buah bakau (*R.mucronata*) diduga berkaitan dengan kandungan komponen bioaktif yang terdapat pada ekstrak yaitu, flavonoid, tanin, saponin, dan fenol hidrokuinon yang berperan sebagai antioksidan. Hasil ini sejalan dengan penelitian Ravikumar dan Gnanadesigan (2012), menyatakan ekstrak buah bakau (*R.mucronata*) dapat menurunkan kadar enzim AST dan ALT serum dari tikus yang diinduksi CCL4 secara nyata ($p < 0,05$) dari perlakuan positif, penurunan kadar AST disebabkan adanya senyawa kimia flavonoid, polifenol, tanin, dan alkaloid. Mekanisme hepatoprotektif pada buah bakau disebabkan senyawa bioaktif tersebut melakukan penghambatan sitokrom P450 untuk menghasilkan senyawa radikal bebas CCL3 hasil metabolisme CCL4.

Hasil pada Gambar 10 terlihat bahwa kelompok CCL4 mengalami penurunan dibanding kontrol. Hal tersebut dimungkinkan dosis pemberian CCL4 yang terlalu tinggi pada hewan coba sehingga menimbulkan kerusakan hati cukup parah. Menurut Panjaitan et al. (2007) pemberian dosis CCL4 yang terlalu tinggi pada tikus Sprague Dawley dapat menyebabkan kerusakan yang meluas, sehingga ketersediaan enzim ALT dan AST di dalam sel hati sudah sangat rendah akibat kemampuan sel hati dalam mensintesis enzim tersebut sudah berkurang atau hilang sama sekali.

Kontrol positif yang dilakukan pada penelitian efek hepatoprotektif sirup ekstrak buah bakau ini adalah obat Dr.Xiniji dan Sylimarin. Berdasarkan hasil penelitian yang tersaji pada Gambar 10 terlihat bahwa kelompok sylimarin yang mengalami penurunan paling tinggi dari pada kelompok obat Dr.Xiniji. Hasil uji lanjut Duncan juga menunjukkan bahwa kelompok sylimarin mengalami penurunan kadar AST serum yang berbeda nyata ($p < 0,05$) dari semua kelompok perlakuan. Sylimarin merupakan senyawa hepatoprotektor standar yang berasal dari tumbuhan *Silybum marianum*, senyawa diketahui benar berperan sebagai hepatoprotektor. Menurut Matkowski (2008) sylimarin digunakan sebagai kontrol standard yang menunjukkan aktivitas hepatoprotektif dari hepatotoksikan CCL4 pada tikus.



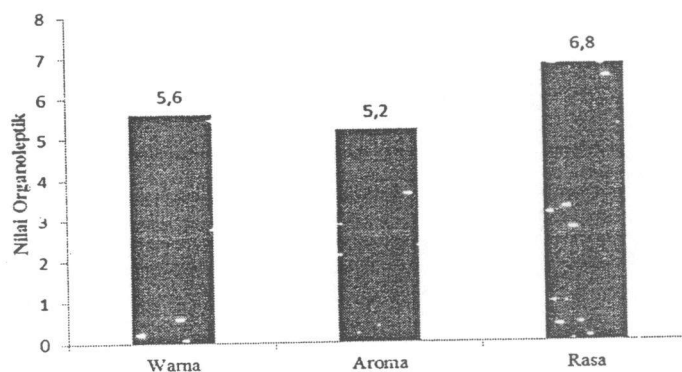
Gambar 11. Nilai rata-rata pengukuran kadar enzim ALT tikus yang diberi sediaan sirup buah bakau (*Rhizophora mucronata*)

Hasil dari pengukuran kadar enzim ALT serum setelah pemberian sirup buah bakau (*R.mucronata*) selama 7 hari perlakuan, pada Gambar 11 terlihat kadar enzim ALT serum semua kelompok perlakuan sirup buah bakau berbeda nyata ($p < 0,05$) dari kelompok perlakuan normal, CCL4, dan sylimarin, namun tidak berbeda secara nyata dengan kelompok obat Dr.Xiniji. Hasil uji lanjut Duncan diketahui rata-rata penurunan kadar enzim ALT yang paling tinggi terdapat pada kelompok perlakuan sirup 5%, bahkan kelompok ini memiliki penurunan kadar enzim yang signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan kelompok perlakuan sirup buah bakau lainnya. Penurunan kadar enzim ALT pada kelompok perlakuan sirup buah bakau juga diduga disebabkan karena nilai IC50 yang tinggi pada sampel buah bakau, dan komponen bioaktif yang ada pada sampel. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Nugraha *et al.* (2008), bahwa buah dengan kandungan senyawa antioksidan tinggi dapat memiliki aktivitas hepatoprotektor karena dapat mengurangi metabolit radikal bebas triklometil peroksida hasil dari transformasi CCL4.

Perubahan kadar ALT perlakuan kontrol positif memiliki perbedaan dari hasil pengukuran kadar AST. Berdasarkan Gambar 11 kelompok obat Dr.Xiniji memiliki penurunan yang lebih baik dibandingkan kelompok sylimarin dengan hasil signifikan ($p < 0,05$). Bahkan, kadar ALT kelompok sylimarin mengalami peningkatan dari kelompok normal walaupun tidak berpengaruh secara nyata. Hasil tersebut diduga bahwa kinerja obat Dr.Xiniji lebih spesifik dari pada sylimarin sebagai hepatoprotektor. Enzim ALT menjadi parameter kerusakan hati yang lebih baik dari pada enzim AST. Enzim ALT adalah ukuran nekrosis hepatoselular spesifik dan paling luas digunakan, AST bekerja serupa tetapi kurang spesifik (Sujono 2002). Hartono *et al.* (2005) menjelaskan bahwa AST tidak hanya terdapat pada hati, namun juga dijumpai pada sel otot jantung, otot rangka, ginjal dan pankreas, sementara ALT hanya ditemukan pada sel hati sehingga efektif untuk mendiagnosis destruksi hepatoselular.

5.9 Analisis organoleptik sediaan sirup buah bakau (*Rhizophora mucronata*) terbaik

Analisis organoleptik yang dilakukan adalah uji kesukaan atau uji hedonik, bertujuan untuk mengetahui tanggapan kesukaan panelis terhadap parameter warna, aroma, dan rasa produk (Soekarto 1985). Uji organoleptik dilakukan pada formula sediaan sirup terbaik, yaitu konsentrasi ekstrak buah bakau 5% (b/v), dengan 10 panelis semi terlatih. Kesukaan dinyatakan dengan skala yang sudah ditentukan yaitu skala penilaian 1 (sangat tidak suka) hingga 7 (sangat suka). Nilai rata-rata hasil uji hedonik sediaan sirup buah bakau (*Rhizophora mucronata*) disajikan pada Gambar 12.



Gambar 12. Nilai rata-rata hasil uji hedonik sediaan sirup buah bakau (*R. mucronata*)

Warna merupakan salah satu parameter yang dapat mempengaruhi tingkat kesukaan konsumen terhadap suatu produk, karena pada saat produk disajikan yang pertama dilihat oleh konsumen adalah warna. Semakin menarik warna suatu produk, maka konsumen akan semakin tertarik terhadap produk tersebut. Nilai rata-rata uji hedonik warna sediaan sirup buah bakau (*Rhizophora mucronata*) pada Gambar 12 sebesar 5,6. Nilai tersebut menunjukkan bahwa para panelis secara umum menyukai warna sediaan sirup buah bakau yang diuji.

Aroma merupakan salah satu faktor yang penting dalam menentukan mutu suatu produk pangan. Pada umumnya sebelum mencicipi rasa, kebanyakan orang akan mencium aroma produk yang akan dikonsumsi sehingga dengan aroma yang ada mereka sudah bisa mengungkapkan enak tidaknya suatu produk. Aroma atau bau yang diterima oleh hidung dan otak lebih banyak merupakan berbagai ramuan atau campuran empat bau utama yaitu harum, asam, tengik dan hangus (Winarno 1992). Nilai rata-rata uji hedonik terhadap aroma sediaan sirup buah bakau (*Rhizophora mucronata*) pada Gambar 12 sebesar 5,2. Nilai tersebut menunjukkan bahwa para panelis secara umum menyukai aroma sediaan sirup buah bakau yang diuji. Aroma sediaan sirup buah bakau dipengaruhi oleh aroma ekstrak kasar buah bakau yang ditambahkan ke dalam sediaan sirup.

Rasa merupakan faktor yang sangat penting dalam menentukan keputusan akhir konsumen untuk dapat menerima atau menolak suatu produk walaupun atribut penilaian yang lain baik, tetapi jika rasa tidak enak maka produk akan segera ditolak oleh konsumen. Citarasa hanya terbatas pada lidah dan menimbulkan sensasi manis, asam, asin, pahit, dan umami (suatu sensasi rasa yang diciptakan oleh adanya asam glutamat dan aspartat). Rasa dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu senyawa kimia, suhu, konsentrasi, dan interaksi dengan komponen rasa yang lain (Aspiatun 2004). Nilai rata-rata uji hedonik terhadap rasa sediaan sirup buah bakau (*Rhizophora mucronata*) pada Gambar 12 sebesar 6,. Nilai tersebut menunjukkan bahwa para panelis secara umum sangat menyukai rasa sediaan sirup buah bakau yang diuji. Rasa sediaan sirup buah bakau yang manis disukai oleh panelis, rasa tersebut dipengaruhi oleh komposisi gula pasir yang digunakan dalam pembuatan sediaan sirup sebesar 64% (b/v).

BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 KESIMPULAN

Buah bakau (*R. mucronata*) positif memiliki aktivitas antioksidan dan hepatoprotektif sehingga berpotensi baik menjadi sediaan pangan fungsional. Dari hasil penelitian buah bakau yang digunakan memiliki panjang, lebar, dan bobot rata-rata berturut-turut sebesar $58,45 \pm 4,22$ cm, $1,64 \pm 0,12$ cm, dan $2,497 \pm 13,06$ g. Rendemen daging buah 52% dan rendemen ekstrak kasar 3% yang didapatkan dari total buah yang digunakan. Komposisi kimia buah bakau didapatkan kadar air (segar 31.96%; kering 31.51%), kadar abu (segar 1.10%; kering 1.23%), kadar protein (segar 2.59%; kering 3.94), kadar lemak (segar 0.86%; abu 0.76%), kadar karbohidrat (segar 63.50%; kering 62.57%). Aktivitas antioksidan optimal didapatkan pada perlakuan suhu evaporasi 70 °C dengan nilai IC_{50} sebesar 0.72 ppm. Hasil pengujian fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak kasar buah bakau mengandung alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, dan hidroquinon. Formulasi pangan fungsional terbaik didapatkan pada perlakuan sirup 5%, dengan nilai rata-rata mutu organoleptik pada parameter warna, aroma, dan rasa berturut-turut sebesar 5.6, 5.2, dan 6.8. Hasil pengujian toksisitas akut ekstrak buah bakau (*Rhizophora mucronata*) pada dosis 15 g/kg BB menunjukkan selama pengamatan 24 jam, semua kelompok tikus tidak ada yang mengalami kematian.

7.2 SARAN

Penelitian ini masih menggunakan ekstrak kasar sehingga masih mengandung senyawa lain yang bukan merupakan senyawa antioksidan, oleh karena itu perlu dilakukannya pemurnian dari ekstrak kasar tersebut dan pengujian antioksidan dari ekstrak murni. Identifikasi senyawa bioaktif lainnya yang terdapat pada buah bakau tersebut serta penentuan golongan senyawa fenolik dan flavonoid terekstraksi agar diketahui senyawa spesifik yang memicu sebagai antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Agoramoorthy G, Chen F, Venkatesalu V, Kuo DH, Shea, PC. 2008. Evaluation of antioxidant polyphenols from selected mangrove plants of India. *Asian Journal of Chemistry* 20(2):1311-1322.
- Alkhali M, Bandy B. 2009. Mechanism of flavonoids protection against myocardial ischemia-reperfusion injury. *J. molec. And Cellul. Cardiology*. 46:309-317
- Andayani R, Lisawati Y, Maimunah. 2008. Penentuan aktivitas antioksidan, kadar fenolat total dan likopen pada buah tomat (*Solanum Lycopersium L.*). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi* 13(1):1-9.
- Anderson TW, Darling DA. 1952. Asymptotic theory of certain goodness of fit, criteria based on stochastic process. *Annals of Mathematical Statistic* 23: 193-212.
- Ansel. 1989. Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi Edisi Ke Empat. Terjemahan dari *Introduction To Pharmaceutical Dosage Forms*. Oleh Farida Ibrahim, Jakarta: UI Press.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2005. *Official Method of Analysis of The Association of Official Analytical of Chemist International* 18th Edition. Maryland, USA: The Association of Official Analytical Chemist International.
- Atta-au-rahman, MI Coudhary. 2001. Bioactive natural product a potential of pharmacophorus. A Theory of Memory. *Pure and Applied Chemistry*. 73(2):555-560.
- Banerjee D, Chakrabarti S, Hazra AK, Banerjee S, Ray J, Mukherjee B. 2008. Antioxidant activity and phenolics of some mangroves in Sudarbans. *Journal of Biotechnology*. 7(3):805-810.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 1995. Minuman Sirup Buah. Dewan Standardisasi Nasional. Jakarta
- Bunyapraphatsara et al. 2002. Pharmacological studies of plants in the mangrove forest. *Forestry J*. 10(2): 2546
- Chandra A. 2010. Mengenal pengawet nipagin. <http://www.kompas.com>.
- Cholisoh Z, Utami W. 2008. Aktivitas penangkap radikal ekstrak ethanol 70% biji jengkol (*Archidendron jiringa*). *Jurnal Pharmacon* 9(1):33-40.
- Eastman. 2009. *Hydroquinonen and Hydroquinon Derivates*. Canada: Eastman Chemical Company
- Ebrahimzadeh MA Pourmorad F, Bekhradnia AR. 2008. Iron chelating activity, phenol and flavonoid content of some medicinal plants from Iran. *African J.Biotech.* 7(18): 3188-3192.
- Estrada A, Katselis GS, Laarveld B, Barl B (2000). Isolation and evaluation of immunological adjuvant activities of saponins from *Polygala senega L*. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 23:27-43
- FAO. 2000. *Mangrove Trees and Shrubs*. Bangkok: Ministry of Fisheries, Agricultural and Marine Resources.
- Ganong F. 2002. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Ed ke-20. Djauhari HM, penerjemah. Jakarta: EGC. Terjemahan dari *Review of Medical Physiology*. Gnanadesigan (2012)
- Hagerman AE. 1998. High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46 : 1887-1892.76
- Handayani R, Sulisty J. 2008. Sintesis senyawa flavonoid- α -glikosida secara reaksi transglikosilasi enzimatis dan aktivitasnya sebagai antioksidan. *J Biodiversitas* 9:1-4.
- Harborne JB. 1984. *Metode fitokimia*. Padmawinata K, Soediro I. Bandung: ITB Press. Terjemahan dari: *Phytochemical method* 2nd

- Hartono, Nurwati I, Ikasari F, dan Wiryanti. 2005. Pengaruh ekstrak rimpang kunyit terhadap peningkatan kadar SGOT dan SGPT tikus putih akibat pemberian asetaminofen. *Biofarmasi* 3(2): 57-60
- Iskandar A, Fitri L E, Nugroho A A. 2009. Efek pemberian kombinasi Artemisin dan N-Acetylcysteine (NAC) terhadap kadar Malondialdehyde (MDA) Ginjal Mencit Galur BALB/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei*. *Jurnal Kesehatan FKUB*.
- Kocher SP, Rossell B. 1990. Detection estimation and evaluation of antioxidants in food system. Di dalam : B.J.F. Hudson, editor. *Food Antioxidants*. Elsevier Applied Science. London.
- Kohn R, Nyska A. 2002. Invited review: oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol. Pathol.* 30(6): 620-650
- Kumar S. 2011. Free radicals and antioxidants: human and food system. *Adv. in Appl. Sci. Res.* 2(1): 129-135.
- Lu FC. 1995. *Basic Toxicology: Fundamental, Target Organs and Risk Assessment*. 2nd Ed. New York: Hemisphere Publ.Co.
- Ma'mun *et al.* 2006. Teknik pembuatan simplisa dan ekstrak purwoceng. Laporan Pelaksanaan Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik 1: 314-324.
- Miller N. J. & Evans C. A. 1996. Antioxidant activities of flavonoids as bioactive components of food. *Biochemical Society Transactions* 24: 790-795
- Martin, A., J. Swarbrick dan A. Cammarat 1993. Farmasi Fisik (Dasar-Dasar Kimia Fisik dalam Ilmu Farmasetik) Edisi Ketiga. Jilid II. Jakarta: UI-Press.
- Martindale. 1996. *The Extra Pharmacopeia. Thirty-first Edition. Edited by James E. R. Raynolds. Royal Pharmaceutical Society*. London.
- Matkowski A. 2008. Plant in vitro culture for the production of antioxidants. *Biotech Adv.* 26:548-560
- Mega IM, Swastini DA. 2010. Skrining fitokimia dan aktivitas antiradikal bebas ekstrak metanol daun gaharu (*Gyrinops versteegii*). *Jurnal Kimia* 4(2): 187-192.
- Molyneux P. 2004. The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (dpph) for estimating antioksidan activity. *Songklanakarin Journal Sciences Technology* 26(2):211-219.
- Muchtadi D. 1989. *Aspek Biokimia dan Gizi dalam Keamanan Pangan*. Bogor: Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor
- Mulyohardjo. M. 1993. *Pengawetan Pangan*. Terjemahan. UI Press. Jakarta.
- Navarro P, Ginera RM, Recio MC, Manez S, Cerda-Nicolas M, Rosa JL (2001). In vivo anti-inflammatory activity of saponins from *Bupleurum rotundifolium*. *Life Sci.*, 68: 1199-1206.
- Panjaitan *et al.* 2007. Pengaruh pemberian karbon tetraklorida terhadap fungsi hati dan ginjal tikus. *Makaira, Kesehatan*, Vol (2): 11-16
- Percival M. 1998. Antioxidants. *Clinical Nutrition Insights* 31(10):1-4.
- Powers SK, Jackson MJ. 2008. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol Rev*, 88: 1243-127.
- Priyatno A. Aktivitas antioksidan dan komponen bioaktif pada buah bakau (*Rhizophora mucronata* Lamk.). [Skripsi] Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan & Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
- Purwaningsih S. 2012. Aktivitas Antioksidan dan Komposisi Kimia Dari Keong Matah merah (*Cerithidea obtusa*). *Indonesian Journal Of Marine Sciences*. 17: 1.
- Ravikumar S dan Gnanadesigan M. 2012. Hepatoprotective and antioxidant properties of rhizophora mucronata mangrove plant in CCl4 intoxicated rats. *J exp Clin Med* 4 (1): 66-72
- Redha A. 2010. Flavonoids: Struktur, sifat antioksidatif dan penerapannya dalam sistem biologis. *Jurnal Belian* 9(2): 196-200

- Rohaeti et al. 2010. Potensi ekstrak rhizophora sp. sebagai inhibitor tirosinase. Prosiding Seminar Nasional Sains (3).
- Sartini, Djide MN, Alam G. 2007. Ekstraksi komponen bioaktif dari limbah buah kakao dan pengaruhnya terhadap aktivitas antioksidan dan antimikroba. *Jurnal Farmasi Indonesia* 5(1):1-7.
- Sen S, Chakraborty R, Sridahar C, Reddy YSR, De B. 2010. Free radical, antioxidant, disease and phytomedicines: current status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*.3(1):91-100
- Soekarto, S. T. 1985. *Penilaian Organoleptik*. Angkasa Bhatara Karya.
- Steel RGD, Torrie JH. 1993. *Prinsip Prosedur Statistika: Suatu Pendekatan Biometrik*. Ed ke-3. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama. Terjemahan dari: *Principle and Procedure of Statistics*.
- Suhartono E, Fujiati, Aflanie I. 2002. Oxygen toxicity by radiation and effect of glutamic piruvat transamine (GPT) activity rat plasma after vitamin C treatment. Diajukan pada International
- Sujono H. 2002. *Gastroenterology*. Bandung: Penerbit Alumni
- Theroux P, Libby P. 2005. Pathophysiology of coronary artery disease. *Circulation* 111: 3481-3488.
- Thompson D, Moldeus P. 1988. Cytotoxicity of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene in isolated rat hepatocytes. *Biochemistry and Pharmacology* 37:2201-2207
- Valko M, Dieter L, Jon M, Mark TD, Milan M, Joshua T. 2006. Free radical and antioxidant in normal physiological functions and human disease. *Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 39(4):44-84
- Wang SY. 2006. Fruits with high antioxidant activity as functional foods. Di dalam: Shi, editor. *Functional Food Ingredient and Nutraceutical: Processing Technologies*. Boca Raton: CRC Press Whidasari 2001
- Wichi HP. 1988. Enhanced tumour development by butylated hydroxytoluene (BHT) from the properties of effect on fure stomach and esophageal aquamoua epithelium. *Food Chemical Toxicology* 26:723-727.
- Winarno FG. 2008. *Kimia Pangan dan Gizi*. Bogor: M-BRIO Press
- Winarsi H. 2007. *Antioksidan Alami & Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius

LAMPIRAN

Lampiran 1. Analisis statistik kadar enzim AST

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Perlakuan

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	63742.519 ^a	8	7967.815	2.498	.051
Intercept	1260576.148	1	1260576.148	395.183	.000
Kode	63742.519	8	7967.815	2.498	.051
Error	57417.333	18	3189.852		
Total	1381736.000	27			
Corrected Total	121159.852	26			

a. R Squared = .526 (Adjusted R Squared = .315)

Perlakuan

Duncan^{a,b}

Kode	N	Subset		
		1	2	3
Syl	3	138.3333		
DXN	3	189.6667	189.6667	
Sirup 50%	3	193.6667	193.6667	
Sirup 0%	3	197.0000	197.0000	
Sirup 25%	3	203.3333	203.3333	
Sirup 15%	3	217.0000	217.0000	217.0000
Sirup 5%	3	219.0000	219.0000	219.0000
CCI4	3		265.6667	265.6667
Normal	3			321.0000
Sig.		.140	.163	.051

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 3189.852.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

Lampiran 2. Analisis statistik kadar enzim ALT

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Perlakuan

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	18130.741 ^a	8	2266.343	2.025	.102
Intercept	942667.593	1	942667.593	842.475	.000
Kode	18130.741	8	2266.343	2.025	.102
Error	20140.667	18	1118.926		
Total	980939.000	27			
Corrected Total	38271.407	26			

a. R Squared = .474 (Adjusted R Squared = .240)

Perlakuan

Duncan^{a,b}

Kode	N	Subset	
		1	2
Sirup 5%	3	151.6667	
CCI4	3	157.0000	
Sirup 25%	3	173.6667	173.6667
DXN	3	180.6667	180.6667
Sirup 0%	3	181.6667	181.6667
Sirup 50%	3	181.6667	181.6667
Sirup 15%	3	197.6667	197.6667
Normal	3		227.0000
Syl	3		230.6667
Sig.		.154	.082

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 1118.926.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

Lampiran 3. Analisis statistik antioksidan buah bakau (*R.mucronata*)

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Perlakuan

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	302.202 ^a	5	60.440	78.152	.000
Intercept	709.514	1	709.514	917.429	.000
Kode	302.202	5	60.440	78.152	.000
Error	9.280	12	.773		
Total	1020.997	18			
Corrected Total	311.482	17			

a. R Squared = .970 (Adjusted R Squared = .958)

Perlakuan

Duncan^{a,b}

Kode	N	Subset			
		1	2	3	4
suhu 70	3	.7200			
suhu 80	3	1.4167			
Vitamin C	3		5.5933		
suhu 60	3			8.2400	
suhu 40	3				10.6433
suhu 50	3				11.0567
Sig.		.351	1.000	1.000	.575

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

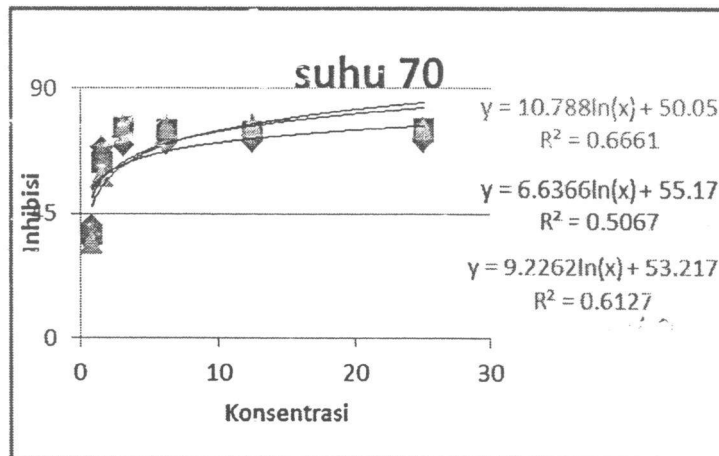
Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .773.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

Lampiran 4. Perhitungan aktivitas antioksidan IC50 perlakuan suhu 70 °C



Ulangan 1 $y = 10.788\ln(x) + 50.05$

IC 50 : nilai x pada persamaan dengan mengganti nilai y sebesar 50

$$x = \frac{(50 - 50.05)}{\ln 10.788}$$

x : 0.458

Ulangan 2 $y = 6.6366\ln(x) + 55.17$

IC 50 : nilai x pada persamaan dengan mengganti nilai y sebesar 50

$$x = \frac{(50 - 55.17)}{\ln 6.6366}$$

x : 0.706

Ulangan 3 $y = 9.2262\ln(x) + 53.217$

IC 50 : nilai x pada persamaan dengan mengganti nilai y sebesar 50

$$x = \frac{(50 - 53.217)}{\ln 9.2262}$$

x : 0.995

Lampiran 5. Analisis statistik sidik ragam karakteristik fisik buah bakau

a) Berat Jenis

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Perlakuan

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	5.44E-005 ^a	4	1.36E-005	.405	.799
Intercept	15.485	1	15.485	460872.4	.000
Kode	5.44E-005	4	1.36E-005	.405	.799
Error	.000	5	3.36E-005		
Total	15.486	10			
Corrected Total	.000	9			

a. R Squared = .245 (Adjusted R Squared = -.360)

Perlakuan

Duncan^{a,b}

Kode	N	Subset
		1
sirup 15%	2	1.2400
sirup 5%	2	1.2450
sirup 25%	2	1.2450
sirup 50%	2	1.2450
sirup 0%	2	1.2470
Sig.		.293

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 3.36E-005.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

b. Alpha = .05.

b) pH

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Perlakuan

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4.182 ^a	4	1.046	22.729	.002
Intercept	199.809	1	199.809	4343.674	.000
Kode	4.182	4	1.046	22.729	.002
Error	.230	5	.046		
Total	204.221	10			
Corrected Total	4.412	9			

a. R Squared = .948 (Adjusted R Squared = .906)

Perlakuan

Duncan^{a,b}

Kode	N	Subset	
		1	2
sirup 50%	2	3.7750	
sirup 25%	2	4.0050	
sirup 15%	2	4.1300	
sirup 5%	2		4.9450
sirup 0%	2		5.4950
Sig.		.168	.050

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is Mean Square(Error) = .046.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.
- b. Alpha = .05.

c) Viskositas

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Viskositas

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model ^a	53428.224 ^a	4	13357.056	11.646	.010
Intercept	1406550.016	1	1406550.016	1226.414	.000
Kode	53428.224	4	13357.056	11.646	.010
Error	5734.400	5	1146.880		
Total	1465712.640	10			
Corrected Total	59162.624	9			

a. R Squared = .903 (Adjusted R Squared = .826)

Viskositas

Duncan^{a,b}

Kode	N	Subset	
		1	2
sirup 50%	2	304.0000	
sirup 25%	2	316.8000	
sirup 15%	2	326.4000	
sirup 0 %	2		457.6000
sirup 5%	2		470.4000
Sig.		.547	.721

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is Mean Square(Error) = 1146.880.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.
- b. Alpha = .05.

Lampiran 6. Dokumentasi penelitian (pengujian secara *in vivo*)

