

repository.ub.ac.id

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI TEH DAUN *Rhizopora mucronata* DENGAN
VARIASI LAMA WAKTU PENGERINGAN TERHADAP BAKTERI *Escherichia
coli* DAN *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

Oleh:
KHOLIFATUL ZAHRO
NIM. 155080300111003



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

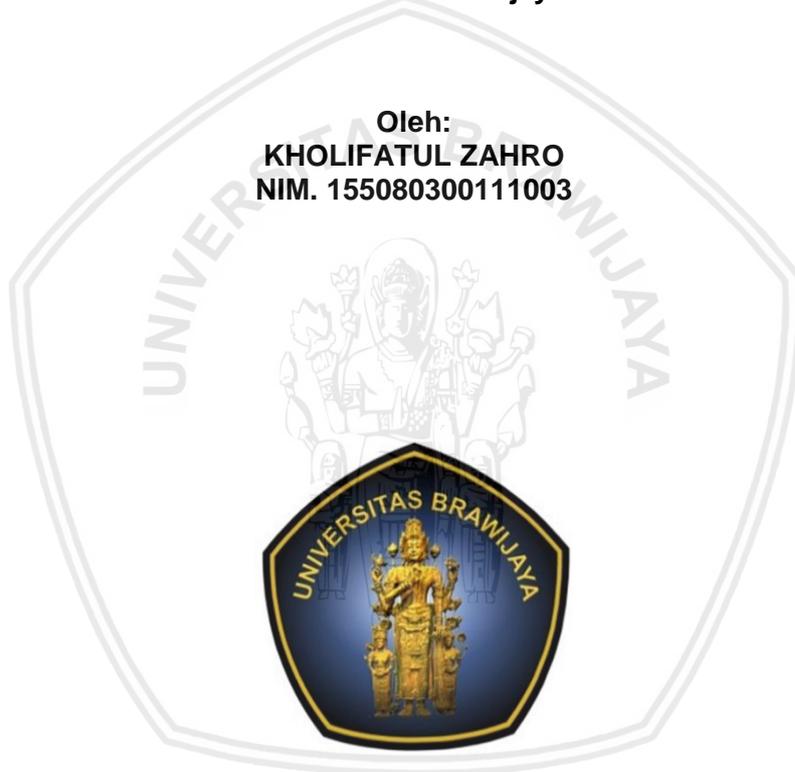


**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI TEH DAUN *Rhizopora mucronata* DENGAN
VARIASI LAMA WAKTU PENGERINGAN TERHADAP BAKTERI *Escherichia
coli* DAN *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

**Sebagai Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar Sarjana Perikanan
Pada Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya**

Oleh:
KHOLIFATUL ZAHRO
NIM. 155080300111003



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

SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI TEH DAUN *Rhizopora mucronata* DENGAN VARIASI LAMA WAKTU PENGERINGAN TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus*

Oleh :
KHOLIFATUL ZAHRO
NIM. 155080300111003

telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 29 Agustus 2019
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Mengetahui,
Ketua Jurusan
Manajemen Sumberdaya Perairan



Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP
NIP. 19680919 200501 1 001

Tanggal:

10 SEP 2019

Menyetujui,
Dosen Pembimbing

Dr. Ir. Bambang Budi S, MS
NIP. 19570119 196601 1 001

Tanggal:

10 SEP 2019



IDENTITAS PENGUJI

Judul : Uji Aktivitas Antibakteri Teh Daun *Rhizopora mucronata* Dengan Variasi Lama Waktu Pengeringan Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Nama Mahasiswa : Kholifatul Zahro
NIM : 155080300111003
Program Studi : Teknologi Hasil Perikanan

PENGUJI PEMBIMBING

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

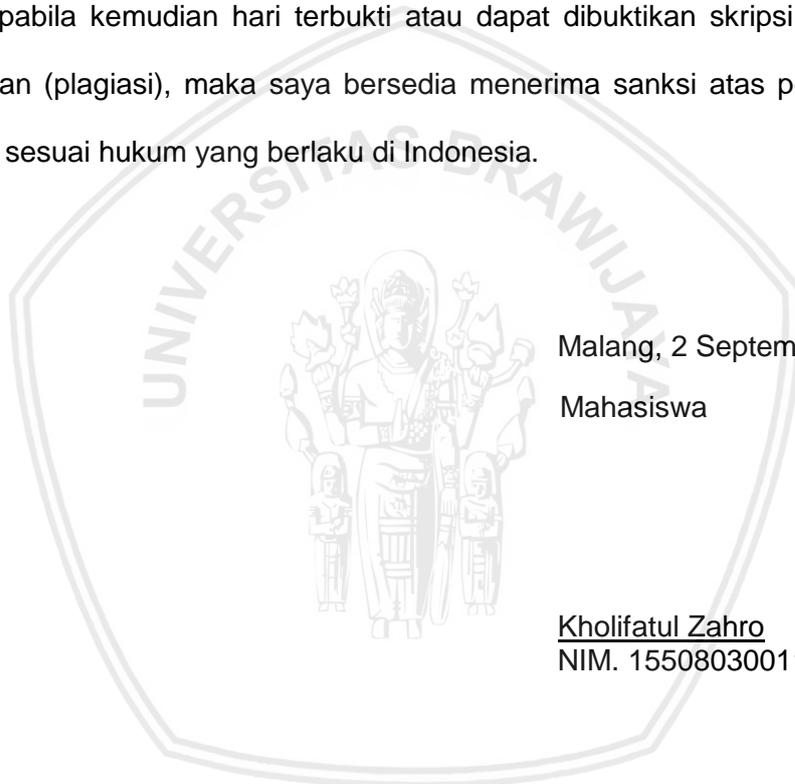
PENGUJI BUKAN PEMBIMBING

Penguji 1 : Dr. Ir. Yahya, MP
Penguji 2 : Bayu Kusuma, S.Pi. M.Sc
Tanggal Ujian : 29 Agustus 2019

PERNYATAAN ORISINALITAS

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

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



Malang, 2 September 2019

Mahasiswa

Kholifatul Zahro
NIM. 155080300111003

UCAPAN TERIMA KASIH

Atas terselesaikan Skripsi ini penulis menyampaikan terima kasih sedalam-dalamnya kepada :

1. Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya yang telah diberikan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
2. Kedua orang tua, adik serta seluruh keluarga yang selalu memberikan doa dan dukungan selama kegiatan dan penyusunan skripsi ini.
3. Dr. Ir. Happy Nursyam, MS, selaku dekan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya.
4. Dr. Ir. Bambang Budi S, MS selaku dosen pembimbing serta Dr. Ir. Yahya, MP dan Bayu Kusuma, S.Pi. M.Sc selaku dosen penguji.
5. Aji Pindah Triutomo yang telah banyak membantu hingga skripsi ini selesai.
6. Pelatih dan senior PPS Betako Merpati Putih yang telah memberikan ilmu serta motivasi.
6. Tim Antibakteri dan Tim Antikolesterol yang telah berjuang bersama.
7. Keluarga Lubis serta teman-teman Teknologi Hasil Perikanan 2015 yang telah memberikan kesan selama 4 tahun ini.
8. Serta seluruh pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi, yang tidak bisa disebutkan satu-persatu, saya ucapkan terima kasih.

Dengan segala keterbatasan kemampuan dan kerendahan hati, semoga skripsi ini bermanfaat dan dapat memberikan informasi bagi pembaca.

Malang, 2 September 2019

Penulis

RINGKASAN

KHOLIFATUL ZAHRO. Uji Aktivitas Antibakteri Teh Daun *Rhizophora mucronata* Dengan Variasi Lama Waktu Pengeringan Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. (dibawah bimbingan **Dr. Ir. Bambang Budi Sasmito, MS**)

Rhizophora mucronata merupakan salah satu jenis mangrove yang mengandung komponen bioaktif. Komponen bioaktif yang terkandung antara lain alkaloid, *anthocyanidins*, karbohidrat, karotenoid, tanin, giberelin, flavonoid, inositol, lipid, mineral, polisakarida, polifenol, prosianidin, protein, saponin, steroid, triterpenoid. Komponen bioaktif dapat bermanfaat untuk kesehatan, salah satunya yaitu antibakteri. *Rhizophora mucronata* agar dapat diambil manfaatnya, maka perlu dibuat menjadi suatu produk minuman, yaitu teh. Teh dalam pembuatannya harus melewati proses pengeringan. Lama waktu pengeringan diduga berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri teh daun *Rhizophora mucronata*. Maka penelitian ini dimaksudkan untuk menguji aktivitas antibakteri teh daun *Rhizophora mucronata* terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh lama pengeringan pada aktivitas antibakteri teh daun *Rhizophora mucronata* terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari - Mei 2019 di Laboratorium Ilmu Teknologi Hasil Perikanan Divisi Keamanan Hasil Perikanan dan Divisi Perekayasaan Hasil Perikanan, serta Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang. Uji LC-MS dilaksanakan di Pusat Laboratorium Forensik, Jakarta pada bulan Mei 2019.

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen. Prosedur penelitian ini terdiri dari 2 bagian yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Pada penelitian utama dilakukan pengurangan tanin daun, ekstraksi maserasi daun, uji tanin daun, pembuatan teh hijau daun *Rhizophora mucronata*, perhitungan rendemen, uji kadar air, uji kadar abu, pembuatan teh hijau *Rhizophora mucronata* dengan variasi lama waktu pengeringan, uji tanin, uji flavonoid, dan uji alkaloid teh hijau daun *Rhizophora mucronata* serta uji antioksidan dengan metode DPPH dan FRAP. Pada penelitian utama yang dilakukan adalah uji organoleptic, pengujian aktivitas antibakteri ekstrak teh daun *Rhizophora mucronata* masing-masing perlakuan terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* serta identifikasi golongan senyawa aktif dengan LC-MS. Rancangan penelitian yang digunakan Acak Lengkap (RAL) sederhana dengan 6 ulangan untuk penelitian pendahuluan dan 4 ulangan untuk penelitian utama.

Hasil penelitian terbaik pada perlakuan C yaitu teh daun *Rhizophora mucronata* lama pengeringan 140 menit dengan nilai skoring warna $1,6 \pm 0,63$, skoring aroma $2,6 \pm 0,72$, skoring rasa $4 \pm 0,64$, hedonik warna $4 \pm 0,61$, hedonik aroma $3,3 \pm 0,60$, hedonik rasa $3,5 \pm 0,94$, daya hambat terhadap *E. coli* $3,90 \pm 0,65$ mm, daya hambat terhadap *S. aureus* $4,94 \pm 0,48$ mm, nilai OD terhadap *E. coli* -0,033, dan nilai OD terhadap *S. aureus* -0,041. Perlu dilakukan penelitian lanjut mengenai teh antibakteri yang diuji secara in vivo.

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur saya panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat serta karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi dengan judul “Uji Aktivitas Antibakteri Teh Daun *Rhizophora mucronata* dengan Variasi Lama Waktu Pengeringan Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*”.

Pemanfaatan daun *Rhizophora mucronata* menjadi suatu produk antibakteri diharapkan dapat meningkatkan kesadaran masyarakat akan manfaat dan pentingnya tanaman mangrove. Dengan segala keterbatasan kemampuan dan kerendahan hati, semoga Skripsi ini bermanfaat dan dapat memberikan informasi bagi pembaca.

Malang, 2 September 2019

Penulis

DAFTAR ISI

COVER	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	III
IDENTITAS PENGUJI	IV
PERNYATAAN ORISINALITAS	V
UCAPAN TERIMA KASIH	VI
RINGKASAN	VII
KATA PENGANTAR	VIII
DAFTAR ISI	IX
DAFTAR TABEL	XII
DAFTAR GAMBAR	XIII
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan.....	3
1.4 Kegunaan Penelitian.....	3
1.5 Hipotesis.....	3
1.6 Waktu dan Tempat.....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Mangrove.....	5
2.2 Jenis Mangrove <i>Rhizophora mucronata</i>	5
2.2.1 Morfologi Mangrove <i>Rhizophora mucronata</i>	6
2.3 Senyawa Bioaktif Mangrove.....	7
2.3.1 Tanin.....	8
2.3.2 Flavonoid.....	10
2.3.3 Alkaloid.....	11
2.4 Teh.....	12
2.5 Teh Hijau.....	13
2.6 Antioksidan.....	14
2.6 Antibakteri.....	15
2.6 <i>Escherichia coli</i>	16
2.7 <i>Staphylococcus aureus</i>	16

3. METODELOGI PENELITIAN	18
3.1 Materi Penelitian.....	18
3.1.1 Bahan Penelitian.....	18
3.1.1 Peralatan Penelitian.....	18
3.2 Metode Penelitian.....	19
3.2.1 Penelitian Pendahuluan.....	19
a. Preparasi Sampel.....	21
b. Pengurangan Tanin Daun <i>Rhizopora mucronata</i>	21
c. Ekstraksi Maserasi Daun <i>Rhizopora mucronata</i>	21
d. Uji Tanin pada Daun <i>Rhizopora mucronata</i>	22
e. Pembuatan Teh Daun <i>Rhizopora mucronata</i>	23
f. Perhitungan Rendemen.....	23
g. Uji Kadar Air.....	24
h. Uji Kadar Abu.....	24
i. Uji Tanin.....	25
j. Uji Flavonoid.....	26
k. Uji Alkaloid.....	27
l. Uji Antioksidan Metode DPPH.....	28
m. Uji Antioksidan Metode FRAP.....	29
3.2.2 Penelitian Utama.....	30
a. Organoleptik.....	31
b. Uji Antibakteri.....	31
c. LC-MS.....	34
d. Penentuan Perlakuan Terbaik.....	35
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	36
4.1 Hasil Penelitian Pendahuluan.....	36
4.1.1 Uji Tanin Setelah Pengurangan Tanin.....	36
4.1.2 Perhitungan Rendemen Teh.....	37
4.1.3 Kadar Air.....	38
4.1.4 Kadar Abu.....	40
4.1.5 Uji Tanin.....	41
4.1.6 Uji Flavonoid.....	42
4.1.7 Uji Alkaloid.....	43
4.1.8 Aktivitas Antioksidan Metode DPPH.....	45
4.1.9 Penentuan Teh Terbaik.....	46
4.1.10 Aktivitas Antioksidan Metode FRAP.....	47
4.2 Hasil Penelitian Utama.....	48
4.2.1 Organoleptik.....	48
4.2.2 Uji Antibakteri.....	53
4.2.3 Penentuan Perlakuan Terbaik.....	57
4.2.4 LCMS.....	58
BAB 5. PENUTUP	61
5.1 Kesimpulan.....	61

5.2 Saran..... 61

DAFTAR PUSTAKA..... 62

LAMPIRAN..... 68



DAFTAR TABEL

Tabel 1. SNI Teh Hijau.....	14
Tabel 2. Rancangan Percobaan Penelitian Pendahuluan	20
Tabel 3. Rancangan Percobaan Penelitian Utama.....	31
Tabel 4. Hasil Tanin Daun Segar (Pembanding) Dan Setelah Pengurangan	36
Tabel 5. Hasil Perhitungan Rendemen Teh Daun <i>Rhizophora mucronata</i>	37
Tabel 6. Kadar Air Daun <i>Rhizophora mucronata</i> Dan Teh Daun <i>Rhizophora mucronata</i>	39
Tabel 7. Kadar Abu Daun <i>Rhizophora mucronata</i> Dan Teh Daun <i>Rhizophora mucronata</i>	40
Tabel 8. Hasil Tanin Teh Daun <i>Rhizophora mucronata</i>	41
Tabel 9. Hasil Flavonoid Teh Daun <i>Rhizophora mucronata</i>	42
Tabel 10. Hasil Flavonoid Teh Daun <i>Rhizophora mucronata</i>	44
Tabel 11. Komposisi Kandungan Teh Terbaik	46
Tabel 12. Hasil Aktivitas Antioksidan Metode FRAP	47
Tabel 13 Hasil Organoleptik Teh Daun <i>Rhizophora mucronata</i>	48
Tabel 14. Hasil Daya Hambat Dengan Variasi Lama Pengeringan	53
Tabel 15. Hasil Pengukuran Nilai OD Pada Uji MIC Teh Daun <i>Rhizophora mucronata</i> Terhadap Bakteri <i>E. coli</i> Dan <i>S. aureus</i>	55
Tabel 16. Hasil Uji MBC Teh Daun <i>Rhizophora mucronata</i> Terhadap Bakteri <i>E. coli</i> dan <i>S. aureus</i>	56
Tabel 17. Komposisi Kandungan Teh Terbaik	58
Tabel 18. Dugaan Senyawa pada Teh Daun <i>Rhizophora mucronata</i>	59

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. <i>Rhizophora mucronata</i>	6
Gambar 2. Struktur Tanin Terhidrolisis	9
Gambar 3. Struktur Tanin Terkondensasi	10
Gambar 4. Kerangka C6-C3-C6.....	11
Gambar 5. Struktur Kimia Alkaloid	12
Gambar 6. Grafik Nilai IC ₅₀ Dengan Variasi Lama Pengeringan	45
Gambar 7. Grafik Hasil Uji Organoleptik Parameter Warna	49
Gambar 8. Grafik Hasil Uji Organoleptik Parameter Aroma	51
Gambar 9. Grafik Hasil Uji Organoleptik Parameter Rasa.....	52
Gambar 10. Zona Hambat Teh Daun <i>R. mucronata</i> Terhadap <i>E. coli</i>	58
Gambar 11. Zona Hambat Teh Daun <i>R. mucronata</i> Terhadap <i>S. aureus</i>	58
Gambar 12. Uji MIC	58
Gambar 13. Hasil Identifikasi Senyawa Bioaktif Teh Hijau Daun <i>Rhizophora mucronata</i>	58

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Pengurangan Tanin Daun <i>Rhizopora mucronata</i>	68
Lampiran 2. Skema Ekstraksi Maserasi Daun <i>Rhizopora mucronata</i> (Setelah Pengurangan Tanin)	69
Lampiran 3. Skema Uji Tanin Daun <i>Rhizopora mucronata</i> Setelah Pengurangan Tanin	70
Lampiran 4. Skema Pembuatan Teh Daun <i>Rhizopora mucronata</i>	71
Lampiran 5. Skema Uji Kadar Air.....	72
Lampiran 6. Skema Uji Kadar Abu.....	73
Lampiran 7. Skema Uji Tanin	74
Lampiran 8. Skema Uji Flavonoid	75
Lampiran 9. Skema Uji Alkaloid	76
Lampiran 10. Skema Penentuan IC ₅₀ Ekstrak Teh	77
Lampiran 11. Skema Uji Antioksidan Metode Frap	78
Lampiran 12. Skema Uji Antibakteri.....	79
Lampiran 13. Skema Uji LC-MS.....	81
Lampiran 14. Perhitungan dan Pembuatan Konsentrasi Uji Kadar Tanin.....	82
Lampiran 15. Perhitungan Kadar Air.....	86
Lampiran 16. Perhitungan Kadar Abu.....	88
Lampiran 17. Perhitungan dan Pembuatan Konsentrasi Uji Kadar Alkaloid	90
Lampiran 18. Perhitungan dan Pembuatan Konsentrasi Uji Kadar Flavonoid	93
Lampiran 19. Perhitungan DPPH.....	97
Lampiran 20. Penentuan Perlakuan Terbaik Dengan Menggunakan Metode De Garmo dari Penelitian Pendahuluan	106
Lampiran 21. Perhitungan dan Pembuatan Konsentrasi Antioksidan Frap.....	107
Lampiran 22. Kuisisioner Form Organoleptik.....	110
Lampiran 23. Hasil Organoleptik.....	111

Lampiran 24. Hasil Analisa Keragaman Dan Kruskal Wallis Skoring.....	115
Lampiran 25. Hasil Analisa Keragaman Dan Kruskal Wallis Hedonik.....	117
Lampiran 26. Perhitungan Pembuatan Media	119
Lampiran 27. Hasil Uji Antibakteri	120
Lampiran 28. Penentuan Perlakuan Terbaik dengan Menggunakan Metode De Garmo Dari Penelitian Utama	125
Lampiran 29. Dokumentasi Pengurangan Tanin Daun <i>R. mucronata</i>	127
Lampiran 30. Dokumentasi Ekstraksi Maserasi Daun <i>R. mucronata</i>	128
Lampiran 31. Dokumentasi Uji Tanin Pada Daun <i>R. mucronata</i>	129
Lampiran 32. Dokumentasi Pembuatan Teh Hijau Daun <i>R. mcronata</i>	130
Lampiran 33. Dokumentasi Kadar Air	131
Lampiran 34. Dokumentasi Uji Kadar Abu	132
Lampiran 35. Dokumentasi Uji Fitokimia Teh Hijau Daun <i>R. mucronata</i>	133
Lampiran 36. Dokumentasi Uji Antioksidan.....	136
Lampiran 37. Dokumentasi Uji Antibakteri	1388



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman bakau merupakan tanaman yang memiliki potensi kandungan bioaktif yang sangat tinggi dan tumbuh subur di kawasan pesisir pantai. Wilayah perairan Indonesia yang sangat luas (2/3 dari luas wilayah) serta iklim tropis menjadi tempat yang ideal bagi pertumbuhan tanaman bakau. Hutan bakau di Indonesia memiliki luas sekitar 3,5 juta hektar. Oleh karena itu, Indonesia disebut merupakan negara yang memiliki hutan bakau terluas di dunia. Tanaman bakau di Indonesia tumbuh dengan subur, dan sekitar 202 jenis spesies bakau telah teridentifikasi (Purwaningsih *et al.*, 2013).

Rhizophora mucronata merupakan salah satu jenis mangrove yang ditemukan di wilayah pesisir dan digunakan dalam pengobatan berbagai penyakit. Kulit dan ekstrak daunnya dalam pengobatan tradisional telah digunakan sebagai astringen, anti-septik dan hemostatik dengan antibakteri, aktivitas anti-ulserogenik dan anti inflamasi. Pada peneitian fitokimia sebelumnya menunjukkan bahwa *Rhizophora mucronata* mengandung alkaloid, *anthocyanidins*, karbohidrat, karotenoid, tanin, giberelin, flavonoid, inositol, lipid, mineral, polisakarida, polifenol, prosianidin, protein, saponin, steroid, triterpenoid (Arumugam *et al.*, 2014).

Senyawa *quercetin* yang merupakan senyawa golongan flavonoid memiliki potensi sebagai agen antidiare dengan menghambat pelepasan asetilkolin yang dapat meningkatkan kontraksi usus akibat adanya iritasi oleh bakteri penyebab diare seperti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Bacillus cereus*, dan *Vibrio cholera*. Tanin mempunyai sifat sebagai pengelat berefek spasmolitik yang mengkerutkan usus sehingga gerak

peristaltik usus berkurang. Sedangkan alkaloid berperan sebagai antibakteri (Fратиwi, 2015).

Bakteri dapat menyebabkan terjadinya proses invasi dan pembiakan mikroorganisme di dalam jaringan tubuh yang disebut juga sebagai agen penyebab infeksi. Apabila pembiakan mikroorganisme terjadi melebihi batas normal, hal tersebut akan sangat merugikan tubuh penderitanya. Salah satu agen yang dapat menyebabkan infeksi bakterial adalah bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*). *E. coli* merupakan bakteri yang hidup dalam saluran pencernaan bagian bawah. Apabila perkembangannya di dalam tubuh melebihi batas normal, bakteri tersebut dapat berubah menjadi patogen (Febrina *et al.*, 2017).

Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk menghasilkan produk antibakteri yaitu dengan mengolah bahan yang berpotensi sebagai antibakteri, yaitu daun *Rhizophora mucronata* menjadi minuman fungsional berupa teh. Berbagai macam manfaat dapat diambil dengan konsumsi teh. Teh dapat memberikan rasa segar serta memulihkan kesehatan. Manfaat teh untuk kesehatan dihasilkan dari komponen bioaktifnya (Sudaryat *et al.*, 2015).

Tahapan pembuatan teh meliputi pelayuan, penggulungan, pengeringan dan sortasi. Salah satu proses yang paling penting adalah proses pengeringan. Tujuan utama pengeringan yaitu menghambat pertumbuhan mikroba yang tidak diinginkan dengan mengurangi kandungan kadar air bahan pangan. Pengeringan dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti suhu dan lama pengeringan. Pengeringan dengan suhu tinggi dan waktu yang cukup lama dapat menurunkan aktivitas antioksidan pada bahan yang dikeringkan (Yamin *et al.*, 2017).

Lama pengeringan diduga dapat berpengaruh terhadap komponen bioaktif dan aktivitas antibakteri pada teh daun *Rhizophora mucronata*. Hingga saat ini, belum ada penelitian yang menjelaskan secara pasti mengenai lama pengeringan teh daun *Rhizophora mucronata* yang optimal. Oleh karena itu,

penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh lama pengeringan teh daun mangrove *Rhizophora mucronata* terhadap aktivitas antibakteri.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Bagaimana pengaruh lama waktu pengeringan teh daun *Rhizophora mucronata* terhadap aktivitas antibakteri?
2. Berapakah lama waktu pengeringan teh daun *Rhizophora mucronata* yang dapat menghasilkan aktivitas antibakteri terbaik?

1.3 Tujuan

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh perbedaan lama pengeringan teh daun mangrove *Rhizophora mucronata* sebagai antibakteri.

Adapun tujuan penelitian secara khusus adalah :

1. Mengetahui pengaruh lama waktu pengeringan teh daun mangrove *Rhizophora mucronata* terhadap aktivitas antibakteri
2. Mengetahui lama pengeringan teh daun *Rhizophora mucronata* yang dapat menghasilkan aktivitas antibakteri terbaik

1.4 Kegunaan Penelitian

Kegunaan dari penelitian ini yaitu untuk meningkatkan kegunaan dari daun mangrove *Rhizophora mucronata* dalam bentuk teh sebagai salah satu produk perikanan yang mempunyai manfaat sebagai antibakteri.

1.5 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian yang dilakukan adalah :

1. Terdapat pengaruh aktivitas antibakteri dari variasi lama waktu pengeringan teh daun *Rhizopora mucronata* terhadap *E. coli* dan *S. aureus*.
2. Lama waktu pengeringan teh daun *Rhizopora mucronata* terlama menghasilkan aktivitas antibakteri terbaik terhadap *E. coli* dan *S. aureus*.

1.6 Waktu dan Tempat

Penelitian ini akan dilakukan pada Januari - Mei 2019 di Laboratorium Perekayasaan hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Keamanan Hasil Pangan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, dan PUSLABFOR POLRI Kebayoran Baru Jakarta Selatan.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mangrove

Hutan Mangrove merupakan vegetasi yang dijumpai di tepi sungai, muara sungai dan tepi pantai yang dipengaruhi oleh pasang surut air laut serta merupakan vegetasi khas daerah tropis dan sub-tropis. Istilah mangrove sering juga disebut bakau yang merupakan jenis dari marga *Rhizophora* sebagai individu. Mangrove lebih mengarah pada suatu ekosistem dalam hubungannya sebagai vegetasi dimana faktor biotik dan abiotik saling berhubungan dan saling ketergantungan. Ekosistem mangrove adalah ekosistem unik karena terdapat pada daerah peralihan (ekoton) antara ekosistem darat dan laut yang keduanya mempunyai kaitan erat (Atmoko dan Sidiyasa, 2007).

Mangrove mempunyai banyak manfaat yang bersinggungan langsung dengan kehidupan manusia, mulai dari manfaat ekologi sampai sebagai sumber pangan. Masyarakat pesisir memanfaatkan tumbuhan mangrove untuk keperluan pengobatan alamiah dengan ekstrak dan bahan mentahnya. Masyarakat memanfaatkan mangrove sebagai obat tradisional karena memiliki potensi kandungan bioaktif yang sangat tinggi. Kandungan dari tumbuhan ini salah satunya dapat digunakan sebagai antioksidan (Paputungan *et al.*, 2017).

2.2 Jenis Mangrove *Rhizophora mucronata*

Rhizophora mucronata termasuk kedalam family *Rhizophoraceae* yang umumnya dikenal sebagai mangrove looproot, mangrove merah dan mangrove Asiatic. *Rhizophora mucronata* ditemukan di wilayah Indo Pasifik di tepi sungai dan di tepi laut. Mangrove tersebut adalah satu-satunya spesies mangrove yang dapat ditemukan di Afrika Timur. Di Asia, *Rhizophora mucronata* dapat ditemukan di Kamboja, India, Indonesia, Malaysia Pakistan, Sri Lanka, Thailand

dan Vietnam. Spesies *Rhizophora mucronata* juga ditemukan di Sulawesi Selatan, Kepulauan Solomon Pasifik, Vanuatu dan wilayah Australia utara. Di Pakistan juga terdapat beberapa populasi kecil yang terletak di muara Miani, Baluchistan dan Delta Indus (Batool *et al.*, 2014).

Klasifikasi dari mangrove hitam (*Rhizophora mucronata*) menurut Puspayanti *et al.*, (2013) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Divisio : Magnoliophyta

Clasis : Magnoliopsida

Ordo : Myrtales

Familia : Rhizophoraceae

Genus : *Rhizophora*

Species : *Rhizophora mucronata* Lmk.



Gambar 1. *Rhizophora mucronata*
(Sumber: Puspayanti *et al.*, 2018)

Rhizophora mucronata merupakan salah satu tanaman yang diketahui sebagai tanaman obat yang dapat digunakan untuk mengobati angina, desentri, hematuria, dan lain lain. Kandungan kimia aktif tumbuhan ini antara lain tanin yang memiliki mekanisme menghambat enzim ekstraseluler mikroba, sehingga dapat mengakibatkan kematian pada bakteri tersebut sedangkan kandungan lainnya seperti alkaloid, flavanoid, terpenoid, dan saponin juga memiliki kemampuan anti bakteri dengan merusak membran bakteri (Andriani dan Rizka, 2014).

2.2.1 Morfologi Mangrove *Rhizophora mucronata*

Tumbuhan dari suku *Rhizophoraceae* ini memiliki batang pendek, bercabang banyak dengan akar tunjang. Bentuk batangnya menyilinder serta

permukaan batang kasar dengan warna hitam atau kemerahan. Akar *Rhizophora mucronata* tumbuh melengkung, tetapi sebelum mencapai tanah biasanya masih terdapat percabangan lagi. Akar tumbuh dari bagian batang yang agak tinggi, bahkan akar-akarnya ada yang tumbuh dari dahan-dahan yang disebut dengan akar udara. Tanaman ini memiliki daun tebal yang berwarna hijau cerah dan berkelompok di ujung cabang atau ranting. Bagian bawah daun terdapat bintik-bintik cokelat. *Rhizophora mucronata* memiliki bunga kecil kecil, tebal dan berwarna putih kekuningan. Buahnya berbentuk memanjang seperti telur, berbiji satu dan berwarna kecokelatan. Kulit tumbuhan ini banyak mengandung tanin (Puspayanti *et al.*, 2013).

Rhizophora mucronata di Gili Sulat merupakan tumbuhan mangrove yang memiliki tajuk paling tinggi. Tinggi pohon mangrove ini berkisar antara 18 – 27 m. Pohon mangrove khas untuk Gili Sulat yaitu pohon yang mencapai tinggi 27 m. Sedangkan tinggi maksimum pohon mangrove *Rhizophora mucronata* di Pulau Lombok yang pernah dilaporkan yaitu mencapai 25 m (Idrus *et al.*, 2014).

2.3 Senyawa Bioaktif Mangrove

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

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

2.3.1 Tanin

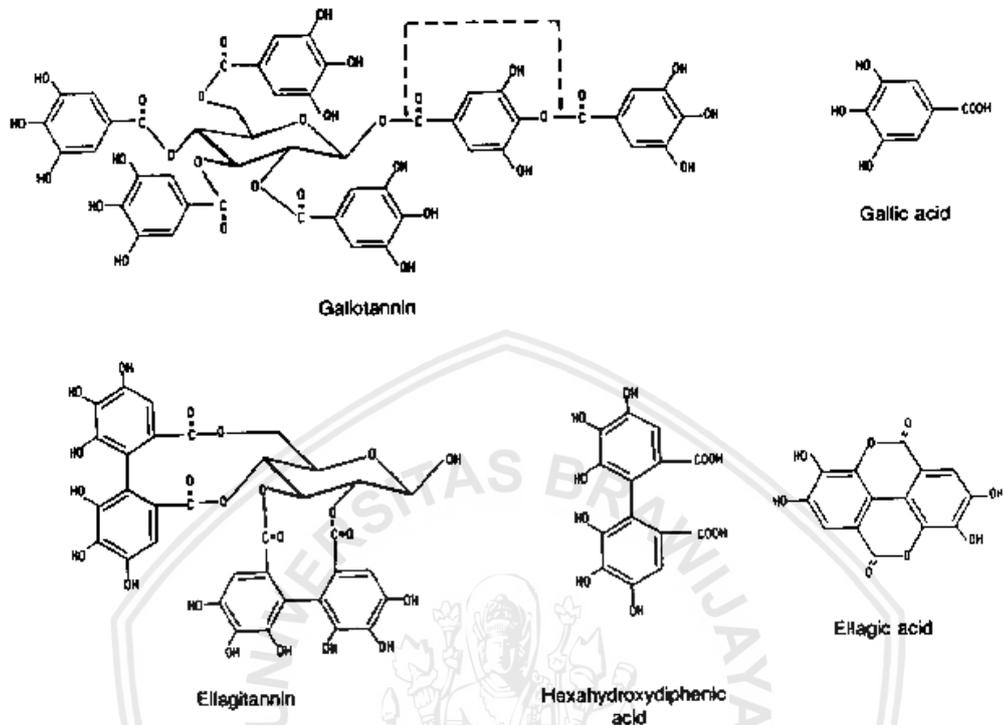
Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang mempunyai beberapa khasiat, diantaranya yaitu sebagai astringen, antidiare, antibakteri dan antioksidan. Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal, mengendapkan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

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

a. Tanin Terhidrolisis

Pada pusat molekul tanin terhidrolisis terdapat karbohidrat (biasanya D-glukosa). Kelompok hidroksil dari karbohidrat sebagian atau seluruhnya diesterifikasi dengan kelompok fenolik seperti asam galat (dalam gallotannins) atau asam ellagic (dalam ellagitannins). Tanin terhidrolisis dihidrolisis oleh asam lemah atau basa lemah untuk menghasilkan asam karbohidrat dan fenolik. Contoh-contoh dari gallotannin adalah ester asam

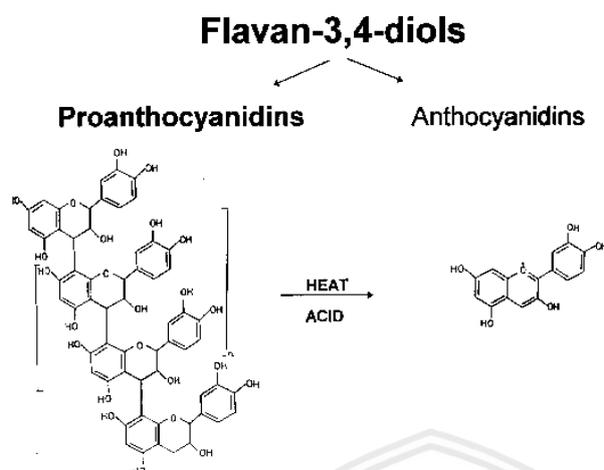
galat glukosa dalam asam tannic ($C_{76}H_{52}O_{46}$), ditemukan didaun dan kulit pada banyak spesies tanaman.



Gambar 2. Struktur Tanin Terhidrolisis
(Sumber: Google Image, 2019)

b. Tanin Terkondensasi

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



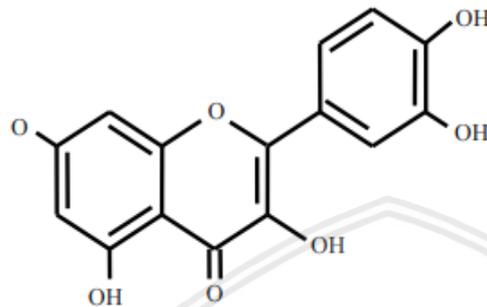
Gambar 3. Struktur Tanin Terkondensasi
(Sumber: Google Image, 2019)

2.3.2 Flavonoid

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

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa phenolik dengan struktur kimia C6-C3-C6. Kerangka flavonoid terdiri atas satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin

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

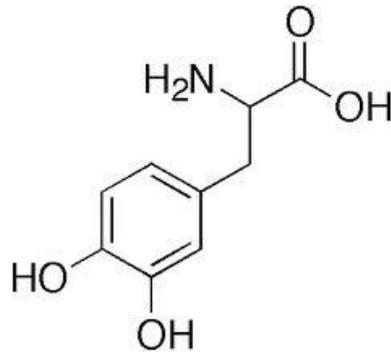


Gambar 4. Kerangka C6-C3-C6
(Sumber: Google Image, 2019)

2.3.3 Alkaloid

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

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



Gambar 5. Struktur Kimia Alkaloid

(Sumber: Google Image, 2019)

2.4 Teh

Teh (*Camellia sinensis* L.O. Kuntze) merupakan salah satu minuman yang paling populer di dunia. Kepopulerannya tersebut dikarenakan teh mempunyai aroma dan rasa yang atraktif. Teh diklasifikasikan menjadi tiga jenis berdasarkan proses pengolahannya, yaitu teh fermentasi (teh hitam), teh semi fermentasi (teh oolong) dan teh tanpa fermentasi (teh hijau) (Rohdiana *et al.*, 2005).

Teh merupakan minuman yang paling banyak dikonsumsi setelah air. Aroma teh yang harum serta rasanya yang khas membuat minuman ini banyak dikonsumsi. Teh juga dapat digunakan sebagai antioksidan, memperbaiki sel-sel yang rusak, menghaluskan kulit, melangsingkan tubuh, mencegah kanker, mencegah penyakit jantung, mengurangi kolesterol dalam darah, dan melancarkan sirkulasi darah. Hal ini disebabkan karena teh mengandung senyawa-senyawa bermanfaat seperti polifenol, theofilin, flavonoid/ metilxantin, tanin, vitamin C dan E, catechin, serta sejumlah mineral seperti Zn, Se, Mo, Ge, dan Mg. Maka, tidak heran bila teh disebut-sebut sebagai minuman kaya manfaat (Yuningsih *et al*, 2012).

2.5 Teh Hijau

Teh hijau (*Camelia sinensis*) merupakan salah satu jenis tanaman herbal yang berasal dari Cina yang banyak dibudidayakan di Asia Tenggara sebagai bahan baku pembuatan obat tradisional (*herbal medicine*). Teh hijau dapat meningkatkan sistem pertahanan dan memperbaiki fungsi organ tubuh apabila dikonsumsi secara teratur. Hal ini disebabkan kandungan polifenol dalam teh hijau yang tinggi. Kandungan polifenol pada daun teh hijau lebih tinggi dibanding teh hitam dengan persentase pada daun teh hijau sebanyak 30-40 %, pada daun teh hitam sebanyak 3-10 % (Anindita et al., 2012)

Teh hijau mengalami proses pengolahan hampir sama dengan pengolahan teh hitam, namun ada sedikit perbedaan dalam proses pelayuan, penggilingan dan fermentasinya. Proses pelayuan pada pengolahan teh hijau dilakukan dengan pemanasan menggunakan uap panas. Proses tersebut bertujuan untuk menginaktif enzim oksidase atau fenolase yang terdapat dalam pucuk daun teh segar. Enzim oksidase atau fenolase yang inaktif tersebut akan menyebabkan proses oksidasi enzimatik terhambat. Proses penggilingan teh hijau berjalan lebih cepat dibandingkan dengan teh hitam, yaitu sekitar 30 menit. Hasil proses penggilingan diusahakan tidak sampai membuat daun teh remuk dan hancur (Wardani dan Fernanda, 2016).

Parameter mutu teh hijau menurut Badan Standarisasi Nasional (2016) dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. SNI Teh Hijau

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

(Sumber: BSN, 2016)

2.6 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat meredam aktivitas radikal bebas. Antioksidan dapat meendonorkan elektronnya (memberikan atom hidrogen) kepada radikal bebas, sehingga dapat menghentikan reaksi berantai dari radikal bebas dan mengubahnya menjadi bentuk yang stabil. Apabila reaksi berantai tersebut tidak dihentikan, mska dapat merusak struktur sel dan menimbulkan berbagai macam penyakit seperti penyakit kanker, jantung, dan penyakit degeneratif lainnya (Hamid *et al.*, 2010).

Sistem kerja antioksidan secara umum dibagi menjadi dua,yaitu enzimatik dan non enzimatik. Enzimatik meliputi Superoxide dismutase (SOD), Katalase

(CAT), Peroksidase (POX), Asam askorbat peroksidase (APX), glutation reduktase (GR) dan polifenol oksidase (PPO). Non enzimatis meliputi asam askorbat (vitamin C), senyawa fenolik, karotin dan tokoferol.

Pengujian aktivitas antioksidan non enzimatis pada bahan pangan dan tanaman pada umumnya menggunakan metode yang berbasis air 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), yaitu reaksi dengan radikal bebas; *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP), yaitu reaksi reduksi-oksidasi; *Ferrous Ion Chelating* (FIC), yaitu reaksi kelat atau melalui pembentukan kompleks. Sedangkan yang berbasis lemak contohnya yaitu dengan *Thiobarbituric acid* (TBA). Banyaknya metode uji aktivitas antioksidan dapat menghasilkan hasil uji yang beragam. Hal tersebut dipengaruhi oleh adanya pengaruh dari sumber radikal bebas, struktur kimiawi antioksidan, dan sifat fisiko-kimia sediaan sampel (Maesaroh *et al.*, 2018).

2.6 Antibakteri

Antibakteri merupakan senyawa yang berfungsi untuk membunuh atau menekan pertumbuhan bakteri. Berdasarkan aktivitas zat antibakteri dapat bersifat bakterisidal dan bakteristatik. Bakterisidal yaitu dapat membunuh bakteri, sedangkan bakteristatik yaitu menghambat pertumbuhan bakteri atau menghambat germinasi spora bakteri (Sartika *et al.*, 2013).

Kemampuan antimikroba dalam melawan bakteri dapat diuji menggunakan 2 metode, yaitu metode difusi dan metode dilusi.

1. Metode Dilusi

Metode dilusi terdiri dari 2 teknik pengerjaan, yaitu teknik dilusi pembenihan cair dan teknik dilusi agar. Tujuan dari teknik tersebut yaitu untuk menentukan aktivitas antibakteri secara kuantitatif. Caranya yaitu antimikroba dilarutkan ke media agar yang kemudian ditanami bakteri uji. Setelah dilakukan inkubasi

selama 24 jam, konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri disebut MIC (*minimal inhibitory concentration*).

2. Metode Difusi

Metode difusi dilakukan dengan cakram kertas yang telah diberi sejumlah antibakteri, kemudian ditempatkan pada media yang telah ditanami bakteri uji. Tingginya konsentrasi antibakteri ditentukan oleh difusi cakram dan pertumbuhan bakteri uji yang dihambat pertumbuhannya sepanjang difusi antibakteri (terbentuknya zona bening disekitar cakram), sehingga bakteri tersebut sensitif terhadap antibakteri. Zona hambat cakram berbanding terbalik dengan MIC. Semakin luas zona hambat, maka semakin kecil konsentrasi daya hambat minimum MIC (Soleha, 2015)

2.6 *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri yang hidup dalam saluran cerna hewan berdarah panas, termasuk hewan menyusui dan burung-burung. Pertama kali diisolasi pada tahun 1885 oleh Theodor Escherich dan dinamai sesuai dengan nama penemunya. *Escherichia*, sebagaimana halnya *Shigella*, *Salmonella*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* dan *Proteus* diklasifikasikan dalam famili *Enterobacteriaceae*. *Escherichia* dibedakan dalam beberapa spesies seperti *coli*, *adecarboxylata*, *hermanii* dan *vulneris* (Sumampouw, 2010).

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk basil, ada yang individu (monobasil), saling berpasangan (diplobasil) atau berkoloni membentuk rantai pendek (streptobasil). *Escherichia coli* tidak membentuk spora maupun kapsula, ukurannya berdiameter $\pm 1,1 - 1,5 \times 2,0 - 6,0 \mu\text{m}$, dapat bertahan hidup di medium sederhana dan memfermentasi laktosa menghasilkan asam dan gas, kandungan G+C DNA ialah 50 – 51 mol %. Pergerakan bakteri ini

motil, tidak motil, dan peritrikus. *Escherichia coli* ada yang bersifat aerobik dan anaerobik fakultatif dan merupakan penghuni normal usus, dan seringkali menyebabkan infeksi (Elfidasari *et al.*, 2011).

2.7 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan salah satu bakteri patogen yang berperan penting berkaitan dengan virulensi toksin, invasif, dan ketahanan terhadap antibiotik. Bakteri *S. aureus* dapat menjadi penyebab terjadinya berbagai jenis infeksi, mulai dari infeksi kulit ringan, keracunan makanan, sampai dengan infeksi sistemik. Infeksi yang terjadi pada kasus keracunan makanan yang disebabkan oleh *Staphylococcus*, salah satu jenis faktor virulensi yaitu *Staphylococcus enterotoxin* (Ses). Gejala keracunan makanan yang terjadi akibat *Staphylococcus* antara lain kram perut, muntah-muntah yang kadang-kadang disertai buang air besar berkali-kali dalam sehari (diare) (Karimela *et al.*, 2017).

Staphylococcus aureus bersifat non- spora, non-motil, anaerob fakultatif, katalase positif dan oksidase negatif. Koloni *Staphylococcus aureus* dalam waktu 24 jam tumbuh hingga diameter mencapai 4 mm pada suhu 6,5-46° C dan pada pH 4,2-9,3. Koloni pada perbenihan padat berbentuk bundar, halus, menonjol dan berkilau. *Staphylococcus aureus* membentuk koloni berwarna abu-abu sampai kuning emas tua. Bakteri ini membentuk pigmen lipochrom yang menyebabkan koloni tampak berwarna kuning keemasan dan kuning jeruk. Pigmen kuning yang tampak tersebut membedakannya dari *Staphylococcus epidermidis* yang menghasilkan pigmen putih. Pigmen kuning keemasan timbul pada pertumbuhan selama 18-24 jam dengan suhu 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25°C) (Dewi, 2013).

3. METODELOGI PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun mangrove *Rhizophora mucronata* yang diperoleh dari Kawasan *Clungup Mangrove Conservation* Sendang Biru Kabupaten Malang. Bahan yang digunakan pada proses pengurangan tanin dan ekstraksi yaitu abu sekam, air, n-heksana, etil asetat, metanol, *aquades*. Pada uji tanin yaitu FeCl_3 , asam tanat, *aquades*, *aquabidestilata*, folin denis, Na_2CO_3 20%. Uji flavonoid yaitu serbuk magnesium, amil alkohol, etanol, kuarsetin, AlCl_3 , kalium asetat, *aquabidestilata*. Bahan untuk uji alkaloid yaitu HCl, pereaksi meyer, kafein, *aquades*, buffer phosphate, larutan BCG, kloroform. Pada uji antioksidan DPPH bahan yang digunakan yaitu serbuk DPPH, vitamin C (asam askorbat), metanol. Pada uji antioksidan Metode FRAP yaitu asam askorbat, etanol, dapar fosfat, kalium ferrisianida, TCA (Trikloroasetat), *aquades*, FeCl_3 . Pada proses uji antibakteri bahan yang digunakan yaitu NA (*Nutrient Agar*), bakteri *Escherichia coli*, bakteri *Staphylococcus aureus*, NB (*Nutrient Broth*), MHA (*Muller Hinton Agar*), MHB (*Mueller Hinton Broth*), *blank disc*, kloramfenikol, teh hijau komersial (Tong Tji), teh hijau antibakteri jati belanda, dan standar Mc Farland.

3.1.1 Peralatan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini untuk pengurangan tanin, pembuatan teh daun mangrove *Rhizophora mucronata*, ekstraksi dan pembuatan seduhan teh terdiri dari panci, kompor, *rotary* evaporator, oven termometer, *water bath*, *beaker glass*. Alat yang digunakan pada uji proksimat yaitu cawan porselen, oven, desikator, timbangan, kompor listrik, *muffle furnace*. Pada uji

tanin, alkaloid dan flavonoid, alat yang digunakan yaitu botol vial, erlenmeyer, pipet volume, gelas ukur, inkubator, spektrofotometer UV-Vis. Alat yang digunakan untuk uji antioksidan yaitu gelas ukur, erlenmeyer, botol vial, tabung reaksi, pipet volume, inkubator, oven, botol sentrifuge, sentrifuge. Pada uji organoleptik yaitu form kuisisioner organoleptik, alat tulis, gelas. Pada proses uji antibakteri alat yang dibutuhkan yaitu erlenmeyer, autoklaf, pipet serologis, pipet volume, cawan petri, bunsen, jangka sorong, hot plate, autoclave, jarum ose, pinset, LAF, *cotton swap*, tabung reaksi, spektrofotometri Uv-Vis. Pengujian kandungan bioaktif menggunakan alat LCMS/MS.

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian adalah metode eksperimen yang bersifat laboratoris. Metode eksperimen menurut Noor (2014) adalah suatu rancangan percobaan dengan setiap langkah dan tindakan yang terdefiniskan, sehingga informasi yang berhubungan atau diperlukan untuk persoalan yang akan diteliti dapat dikumpulkan secara faktual. Maka dari itu, metode eksperimen merupakan suatu metode yang setiap langkahnya memiliki arti dan harus dianalisis.

Metode penelitian dalam penelitian ini dibagi menjadi penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Rancangan percobaan pada eksperimen yang dilakukan adalah pengaruh lama waktu pengeringan teh hijau daun *Rhizophora mucronata* yang menghasilkan aktivitas antibakteri terbaik.

3.2.1 Penelitian Pendahuluan

Prosedur penelitian pendahuluan yang dilakukan yaitu pengurangan tanin, ekstraksi daun *Rhizophora mucronata* setelah dilakukan pengurangan tanin, pembuatan teh daun *Rhizophora mucronata*, penyeduhan teh daun

Rhizophora mucronata. Pengujian yang dilakukan yaitu perhitungan rendemen, uji kadar air, uji kadar abu, uji tanin, uji flavonoid, dan uji alkaloid teh hijau daun *Rhizophora mucronata*. Tujuan dari penelitian pendahuluan untuk mengetahui lama waktu pengeringan teh daun *Rhizophora mucronata* terbaik yang menghasilkan nilai fitokimia tertinggi. Hasil terbaik dari pengujian pada penelitian pendahuluan akan dilanjutkan pada penelitian utama.

Rancangan penelitian pendahuluan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana, dengan menggunakan 1 faktor yaitu faktor variasi lama waktu pengeringan teh. Rancangan ini digunakan dalam penelitian dengan medium yang seragam. Data kemudian diolah menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) pada taraf 5%. Rancangan percobaan penelitian dapat dilihat pada Tabel 2. Pada penelitian pendahuluan didapatkan pengulangan sebanyak 6 kali yang diperoleh dari rumus berikut:

$n = \text{perlakuan}; r = \text{ulangan}$

$$n(r - 1) \geq 15$$

$$3(r - 1) \geq 15$$

$$3r - 3 \geq 15$$

$$3r \geq 18$$

$$r = 6$$

Jadi, pada penelitian ini menggunakan r (ulangan) sebanyak 6 kali.

Tabel 2. Rancangan Percobaan Penelitian Pendahuluan

Perlakuan	Ulangan					
	1	2	3	4	5	6
A	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅	A ₆
B	B ₁	B ₂	B ₃	B ₄	B ₅	B ₆
C	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆

Keterangan: A= Lama Pengeringan 130 menit, B= Lama Pengeringan 150 menit, C= Lama Pengeringan 170 menit

Prosedur penelitian pendahuluan antara lain:

a. Preparasi Sampel

Daun *Rhizophora mucronata* diperoleh dari Kawasan Clungup Mangrove Conservation Malang, Jawa Timur. Daun yang dipilih adalah dua sampai tiga pucuk daun yang paling ujung (*terminal leaves*) yang berwarna hijau segar. Sampel atau daun yang sudah dipilih kemudian ditimbang agar diperoleh berat awal. Selanjutnya daun dicuci untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel pada daun. Kemudian dilakukan pengurangan tanin daun *Rhizophora mucronata* sebelum dilakukan pembuatan teh.

b. Pengurangan Tanin Daun *Rhizophora mucronata* (Chrissanty, 2011 dengan Modifikasi)

Daun *Rhizophora mucronata* yang telah ditimbang dicuci menggunakan air bersih. Kemudian daun direbus dalam air dengan perbandingan 1:1,5 dan abu sekam padi (30% b/b) sampai mendidih. Daun yang telah direbus diangkat kemudian dicuci untuk menghilangkan sisa abu sekam yang masih menempel. Kemudian daun direndam menggunakan air selama 48 jam dan air rendaman diganti setiap 24 jam sekali.

c. Ekstraksi Maserasi Daun *Rhizophora mucronata* (Ridlo *et al.*, 2017)

Daun yang telah melalui proses pengurangan tanin dilakukan ekstraksi dengan cara maserasi bertingkat berturut-turut menggunakan n-heksana, etil asetat, dan metanol. Sebanyak 150 g sampel dipotong terlebih dahulu dengan ukuran ± 5 mm, selanjutnya dimaserasi dalam n-heksana sebanyak 400 mL selama 24 jam pada suhu ruang $\pm 27^{\circ}\text{C}$. Setelah 24 jam, maserat disaring, kemudian filtrat diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 37°C . Sedangkan residu dilakukan maserasi kembali berturut-turut dalam larutan etil

asetat dan metanol dengan cara yang sama seperti di atas, selanjutnya dilakukan evaporasi sampai diperoleh ekstrak.

d. Uji Tanin pada Daun *Rhizophora mucronata* (Kasitowati *et al.*, 2017 dan Mukhriani *et al.*, 2014)

Uji tanin pada daun *Rhizophora mucronata* dilakukan setelah proses pengurangan tanin. Hal ini dilakukan untuk memastikan adanya penurunan kadar tanin pada daun. Mula-mula ekstrak daun *Rhizophora mucronata* dilakukan uji tanin secara kualitatif. Ekstrak yang telah disiapkan ditambahkan larutan FeCl_3 1% sebanyak 1 ml. Setelah itu amati perubahan yang terjadi. Indikasi adanya senyawa tanin ditandai dengan terbentuknya warna biru atau hijau kehitaman. Apabila hasil yang didapat positif, maka dilanjutkan dengan uji kuantitatif. Uji fitokimia dilakukan dengan metode kualitatif dengan tes perubahan warna dan kuantitatif menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Sebelum dilakukan penetapan kadar tanin, langkah awal yaitu membuat kurva standar asam tanat. Cara membuat kurva standar asam tanat adalah asam tanat sebanyak 0,1 gram dilarutkan dalam 100 ml aquades. Kemudian dibuat seri pengenceran 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm. Selanjutnya, dari masing-masing seri pengenceran diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 ml yang telah berisi 7,5 ml aquabidestilata. Kemudian larutan tersebut ditambahkan pereaksi folin denis sebanyak 0,5 ml dan didiamkan 3 menit. Setelah didiamkan, ditambahkan larutan Na_2CO_3 20% sebanyak 1 ml dan diinkubasi selama 15 menit. Kemudian dibaca serapannya pada panjang gelombang 740 nm.

Penetapan kadar tanin dilakukan dengan cara melarutkan sebanyak 0,5 gram maserat yang telah ditimbang dengan aquabidestilata sampai volume mencapai 10 ml. Kemudian 1 ml sampel dimasukkan ke dalam labu tentukur 10

ml yang telah berisi 7,5 ml aquabidestilata. Selanjutnya larutan tersebut ditambahkan pereaksi folin denis sebanyak 0,5 ml dan didiamkan 3 menit. Setelah didiamkan, ditambahkan larutan Na_2CO_3 20% sebanyak 1 ml dan diinkubasi selama 15 menit. Kemudian dibaca serapannya pada panjang gelombang 740 nm. Setelah didapatkan hasil serapannya, dihitung dengan menggunakan kurva baku yang telah didapat sehingga akan diketahui konsentrasi sampel yang telah diukur.

e. Pembuatan Teh Daun *Rhizopora mucronata* (Modifikasi Adri dan Hersoelistyorini, 2013; Lubis *et al.*, 2016 dengan Modifikasi)

Daun *Rhizopora mucronata* yang telah dilakukan proses pengurangan tani, selanjutnya diangin-anginkan. Setelah agak kering dilakukan penggulungan pada daun. Setelah digulung dilanjutkan dengan proses pengeringan menggunakan oven dengan suhu 50°C dan variasi lama pengeringan 130 menit, 150 menit dan 170 menit. Setelah dilakukan pengeringan, daun dihaluskan dengan menggunakan blender. Selanjutnya ditimbang untuk mendapatkan hasil rendemen, dan diuji kadar air serta kadar abu. Setelah itu teh dimasukkan ke dalam kantong sebanyak 2 gram. Kemudian dilakukan penyeduhan teh hijau dengan air dengan perbandingan 1:50 pada suhu 85°C selama 5 menit sambil terus diaduk.

f. Perhitungan Rendemen (Prihanto, 2011)

Rendemen didapatkan dari perbandingan berat akhir dengan berat awal dikalikan dengan 100%. Perhitungan rendemen menunjukkan jumlah ekstrak sampel yang diperoleh dari setiap gram sampel hasil ekstrak (% b/b). Berat akhir pada penelitian ini yaitu daun *Rhizopora mucronata* yang telah dilakukan proses pengeringan, sedangkan berat awal yaitu daun *Rhizopora mucronata* segar atau sebelum proses. Rumus perhitungan rendemen adalah sebagai berikut:

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

g. Uji Kadar Air (AOAC, 2005)

Uji kadar air dalam penelitian ini dilakukan sebanyak dua kali, yaitu sebelum perlakuan dan setelah perlakuan. Proses penguapan air dari suatu bahan yang dilakukan dengan cara pemanasan merupakan prinsip dari analisis kadar air. Perbedaan berat sampel sebelum dan sesudah dikeringkan merupakan dasar penentuan kadar air (Kusumaningrum, 2013).

. Prosedur analisa kadar air yaitu cawan perselen kosong yang akan digunakan dikeringkan terlebih dahulu dalam oven selama 15 menit, kemudian cawan dari oven dimasukkan ke dalam desikator selama 30 menit. Setelah dingin, ditimbang berat cawan kosong. Selanjutnya sampel ditimbang sebanyak \pm 2 gram, lalu dimasukkan dalam cawan dan dikeringkan dalam oven dengan suhu 105°C selama 6 jam. Setelah itu cawan dimasukkan ke dalam desikator selama 30 menit, setelah dingin cawan ditimbang kembali. Kemudian cawan tersebut dikeringkan dalam oven kembali sehingga didapat berat konstan. Persentase kadar air dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\frac{B1(S + C \text{ sebelum dikeringkan}) - B2(S + C \text{ setelah dikeringkan})}{B(\text{Berat Sampel})} \times 100\%$$

Keterangan :

B = Berat sampel (g)

B1 = Berat (sampel + cawan) sebelum dikeringkan (g)

B2 = Berat (sampel + cawan) sesudah dikeringkan (g)

h. Uji Kadar Abu (AOAC, 2005)

Prinsip analisis kadar abu menurut Kusumaningrum (2013) adalah proses pembakaran senyawa organik pada sampel, sehingga didapatkan residu

anorganik yang disebut abu. Prosedur analisa kadar abu diawali dengan memanaskan cawan porselen kosong dalam oven. Selanjutnya cawan dimasukkan ke dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang beratnya. Kemudian sampel ditimbang sebanyak ± 2 g dan diletakkan dalam cawan porselen. Setelah itu, cawan berisi sampel dipanaskan diatas kompor listrik sampai sampel tidak berasap. Cawan berisi sampel selanjutnya dimasukkan dalam *muffle furnace*. Proses pengabuan dilakukan pada suhu 550°C selama $\pm 2-3$ jam hingga sampel berbentuk abu dengan warna abu keputihan. Setelah terbentuk abu, cawan berisi sampel dimasukkan ke dalam desikator hingga dingin. Kemudian cawan tersebut ditimbang. Persentase dari kadar abu dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{Kadar abu} = \frac{\text{Berat Abu (g)}}{\text{Berat Sample (g)}} \times 100\%$$

i. Uji Tanin (Kasitowati *et al.*, 2017; Mukhriani *et al.*, 2014 dengan Modifikasi)

Uji kualitatif tanin pada seduhan teh daun mangrove *Rhizophora mucronata* dilakukan dengan cara sebagai berikut, sebanyak 3 ml seduhan teh dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian sampel ditambahkan beberapa tetes larutan FeCl_3 1%. Adanya tanin akan ditandai dengan terbentuknya warna hijau kecoklatan atau biru kehitaman pada sampel. Jika hasil sampel positif, dilanjutkan dengan uji kuantitatif menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Sebelum dilakukan uji kadar tanin secara kuantitatif, kurva standar asam tanat dibuat terlebih dahulu. Setelah itu, seduhan teh sebanyak 1 ml dilarutkan dengan aquabidestilata sampai 10 ml. Kemudian 1 ml sampel dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 ml yang telah berisi 7,5 ml aquabidestilata. Selanjutnya larutan ditambahkan pereaksi folin denis sebanyak 0,5 ml dan didiamkan selama 3 menit. Setelah didiamkan, ditambahkan 1,0 ml

larutan Na_2CO_3 dan diinkubasi selama 15 menit. Kemudian dibaca serapannya pada panjang gelombang maksimum yaitu 740 nm dan dihitung menggunakan kurva baku yang telah dibuat, sehingga diketahui konsentrasi dari sampel.

j. Uji Flavonoid (Kasitowati *et al.*, 2017; Yulianti *et al.*, 2014 dengan Modifikasi)

Uji kualitatif flavonoid pada sampel dilakukan dengan cara 1 ml seduhan teh ditambah 0,1 mg serbuk magnesium dan 0,4 mL amil alkohol (campuran asam klorida 37% dan etanol 95% dengan volume yang sama) serta 4 mL alkohol kemudian campuran dikocok hingga homogen. Sampel yang positif mengandung flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan. Apabila hasil yang didapatkan positif, dilanjutkan dengan uji kuantitatif menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Sebelum dilakukan uji kuantitatif, kurva standar kuersetin dibuat terlebih dahulu. Pembuatan larutan standar kuersetin yaitu sebanyak 25 mg baku standar kuersetin dilarutkan ke dalam 25 mL etanol 96%. Larutan stok diambil sebanyak 1 mL dan ditambahkan etanol 96% hingga volumenya mencapai 10 mL untuk 1000 ppm. Larutan diambil kembali 5 mL kemudian ditambahkan etanol 96% hingga volumenya mencapai 50 mL untuk 100 ppm. Dari larutan standar kuersetin 100 ppm, dibuat beberapa konsentrasi yaitu 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm. Masing-masing konsentrasi larutan standar kuersetin yang telah dibuat ditambahkan 3 mL etanol 96%, 0,2 mL AlCl_3 , 0,2 mL kalium asetat 1 M, dan 5,6 mL aquabidestillata. Selanjutnya larutan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Kemudian diukur serapannya pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 440 nm.

Untuk mengetahui kandungan flavonoid total, sebanyak 1 mL seduhan teh diambil dan ditambahkan dengan etanol 96% hingga volumenya mencapai 10 mL. Kemudian diambil 1 mL larutan dan ditambahkan 3 mL etanol 96%, 0,2

mL AlCl_3 , 0,2 mL kalium asetat 1 M, dan 5,6 mL aquabidestillata. Selanjutnya larutan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Setelah itu diukur serapannya pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 440 nm.

k. Uji Alkaloid (Nisa *et al.*, 2018; Kasitowati *et al.*, 2017 dengan Modifikasi)

Uji kualitatif sampel dilakukan dengan mengambil 1 ml seduhan teh dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambahkan 1 tetes HCl dan dihomogenkan. Kemudian ditambahkan 3 tetes pereaksi meyer. Apabila terbentuk endapan warna putih kekuningan, maka hasil uji dianggap positif mengandung alkaloid. Jika didapatkan hasil positif pada sampel, dilanjutkan dengan uji kuantitatif menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Sebelum dilakukan uji kuantitatif alkaloid pada sampel, kurva standar kafein dibuat terlebih dahulu. Pertama dilakukan pembuatan larutan induk kafein 1000 ppm dengan cara melarutkan 100 mg kafein dengan akuades 100 mL ke dalam beaker glass. Selanjutnya dilakukan pembuatan larutan dengan konsentrasi 100, 200, 300, 400, dan 500 ppm. Larutan dari konsentrasi tersebut diambil masing-masing 1 mL kemudian ditambahkan HCl 2N 1 mL lalu 5 mL pH 4,7 *buffer phosphate* dan 5 mL larutan *Bromocresol Green* (BCG). Setelah itu dikocok dan diekstraksi dengan 5 mL kloroform sebanyak dua kali. Kemudian filtrat hasil ekstraksi dimasukkan kedalam botol vial 10 mL dan ditambahkan dengan kloroform 10 mL. Selanjutnya diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh yaitu 480 nm.

Penentuan kadar alkaloid total pada sampel dilakukan dengan mengambil sebanyak 1 ml seduhan teh ditambahkan HCl 2N 1 mL lalu 5 mL *buffer phosphate* pH 4,7 dan 5 mL larutan BCG. Setelah itu dikocok dan diekstraksi dengan 5 mL kloroform sebanyak dua kali. Kemudian filtrat hasil

ekstraksi dimasukkan kedalam botol vial 10 mL dan ditambahkan dengan kloroform 10 mL. Selanjutnya diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh yaitu 480 nm. Hasil serapan yang dihasilkan dimasukkan ke dalam persamaan regresi dari kurva standar kafein sehingga didapatkan nilai konsentrasinya.

I. Uji Antioksidan Metode DPPH (Handayani *et al.*, 2016)

Pengujian antioksidan dengan metode DPPH, langkah pertama yang dilakukan yaitu pembuatan larutan DPPH. Larutan DPPH dibuat dengan melarutkan 15 mg serbuk DPPH dengan 100 ml metanol. Larutan yang telah dibuat disimpan pada suhu kamar serta terlindung dari cahaya. Penetapan panjang gelombang (λ) maksimum DPPH yaitu 515 nm. Selanjutnya dilakukan pengukuran aktivitas antioksidan vitamin C dengan cara melarutkan 10 mg vitamin C dengan 100 ml metanol, sehingga diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 100 ppm. Kemudian larutan stok diambil masing-masing 0,5 ml, 1 ml, 1,5 ml, dan 2 ml, kemudian ditambahkan 1 ml larutan DPPH dan ditambahkan metanol hingga volumenya mencapai 5 ml, sehingga diperoleh konsentrasi vitamin C 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, dan 40 ppm. Campuran tersebut dikocok dan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Setelah diinkubasi, masing-masing larutan tersebut diukur serapannya pada panjang gelombang 515 nm.

Pengukuran aktivitas antioksidan seduhan teh daun *Rhizopora mucronata* dilakukan dengan mengambil seduhan teh sebanyak 0,1 ml dan dilarutkan dengan metanol 100 ml, diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 1000 ppm. Dari larutan stok diambil sebanyak 1 ml, 2 ml, 4 ml, dan 5 ml. Kemudian larutan stok yang telah diambil masing-masing ditambahkan larutan DPPH sebanyak 1 ml dan ditambahkan metanol sampai volume 5 ml, sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, dan 800 ppm. Campuran

tersebut dikocok dan diinkubasi selama 30 menit. Setelah diinkubasi, masing-masing larutan diukur serapannya pada panjang gelombang 515 nm. Selanjutnya dilakukan pengukuran serapan blangko dengan mengambil 1 ml larutan DPPH dan dicukupkan volumenya sampai 5 ml. Campuran kemudian dikocok dan dibiarkan selama 30 menit pada suhu kamar dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 515 nm. Untuk rumus % pengikatan DPPH adalah sebagai berikut:

$$\% \text{ pengikatan DPPH} = \left[\frac{\text{Absorbansi Blanko} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Blanko}} \right] \times 100\%$$

m. Uji Antioksidan Metode FRAP (Pardede et al., 2018)

Pengujian Antioksidan dengan metode FRAP diawali dengan pembuatan kurva standar terlebih dahulu. Kurva standar dibuat dengan melarutkan 25 mg asam askorbat dengan etanol 96% Pa 25 ml sebagai larutan stok 1000ppm. Larutan tersebut diambil 0,9 ml, 1 ml, 1,1 ml, 1,2 ml, 1,3 ml, lalu masing-masing ditambahkan etanol hingga 10 ml dan dihomogenkan. Konsentrasi larutan standar asam askorbat yakni 90, 100, 110, 120, 130 ppm. Setiap konsentrasi larutan diambil sebanyak 1 ml dan di tambahkan dengan reagensia FRAP yaitu 1 ml dapar fosfat 0,2 M (pH 6,6) dan 1 ml kalium ferrisianida $K_3Fe(CN)_6$ 1%, kemudian diinkubasi selama 20 menit. Setelah diinkubasi, larutan ditambahkan 1 ml TCA (Trikloroasetat) 10% dan disentrifugasi dengan kecepatan 3000 ppm selama 10 menit. Setelah disentrifugasi, lapisan bagian atas larutan diambil sebanyak 1 ml ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 mL aquades dan 0,5 mL $FeCl_3$ 0,1%. Selanjutnya larutan didiamkan selama 10 menit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 720 nm.

Pengujian aktivitas antioksidan teh daun *Rhizophora mucronata* dilakukan dengan melarutkan sebanyak 0,01 ml seduhan teh ke dalam 5 ml etanol 96% Pa. Larutan tersebut diambil sebanyak 1 ml dan ditambahkan reagensia FRAP. Campuran etanol digunakan sebagai blanko. Kurva kalibrasi dibuat menggunakan larutan asam askorbat dengan berbagai konsentrasi.

3.2.2 Penelitian Utama

Penelitian utama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah uji organoleptik, uji aktivitas antibakteri seduhan teh daun *Rhizophora mucronata* masing-masing perlakuan terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, serta identifikasi golongan senyawa aktif dengan LC-MS. Tujuan dari penelitian utama untuk mengetahui tingkat kesukaan panelis terhadap produk, aktivitas antibakteri, serta golongan senyawa aktif ekstrak teh daun *Rhizophora mucronata* dengan LC-MS.

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian utama adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana, yaitu menggunakan 1 faktor yaitu faktor variasi lama waktu pengeringan teh terbaik dari penelitian pendahuluan. Rancangan ini digunakan dalam penelitian dengan medium yang seragam. Data kemudian diolah menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) pada taraf 5%. Rancangan percobaan penelitian dilakukan dua kali yaitu terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Pada penelitian utama didapatkan pengulangan sebanyak 4 kali. Rancangan percobaan dapat dilihat pada tabel 3. Pada penelitian utama didapatkan pengulangan sebanyak 4 kali yang diperoleh dari rumus berikut:

$n = \text{perlakuan}; r = \text{ulangan}$

$$n(r - 1) \geq 15$$

$$5(r - 1) \geq 15$$

$$5r - 5 \geq 15$$

$$5r \geq 20$$

$$r = 4$$

Jadi, pada penelitian ini menggunakan r (ulangan) sebanyak 4 kali.

Tabel 3. Rancangan Percobaan Penelitian Utama

Perlakuan	Ulangan			
	1	2	3	4
A	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄
B	B ₁	B ₂	B ₃	B ₄
C	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄
D	D ₁	D ₂	D ₃	D ₄
E	E ₁	E ₂	E ₃	E ₄

Keterangan: A= Lama Pengeringan 120 menit, B= Lama Pengeringan 130 menit, C= Lama Pengeringan 140 menit, D : Kontrol negatif (teh hijau komersial), E=Kontrol positif (teh hijau antibakteri komersial)

Prosedur penelitian utama antara lain:

a. Organoleptik (Negara et al., 2016)

Tujuan dari pengujian organoleptik untuk mengetahui tingkat kesukaan teh daun *Rhizophora mucronata*, sehingga dapat diketahui penerimaan panelis terhadap teh tersebut. Pengujian organoleptik dalam penelitian ini dilakukan dengan uji hedonik dan skoring terhadap 30 panelis. Aspek yang dinilai yaitu warna, aroma, rasa dan penerimaan secara keseluruhan. Skala mutu penilaian pada teh daun *Rhizophora mucronata* yaitu sangat tidak suka diberi skor (1), tidak suka diberi skor (2), agak tidak suka diberi skor (3), biasa diberi skor (4), agak suka diberi skor (5), suka diberi skor (6), sangat suka diberi skor (7).

b. Uji Antibakteri (Mahmudah dan Sri, 2017; Assidqi et al., 2012 dengan Modifikasi)

- Peremajaan Bakteri

Uji Aktivitas Antibakteri diawali dengan proses peremajaan bakteri. Peremajaan bakteri dilakukan dengan membuat media Nutrient Agar (NA). Pembuatan 100 ml media NA dilakukan dengan memasukkan 2,8 gram NA ke

dalam erlenmeyer 200 ml dan ditambahkan 100 ml aquades. Kemudian media dipanaskan menggunakan hot plate sampai mendidih agar media larut sempurna. Selanjutnya media disterilkan dalam autoclave selama 15 menit dengan suhu 121°C. Selanjutnya media diangkat dari autoklaf dan ditunggu hingga hangat kuku, lalu tuangkan sekitar 20 ml NA kedalam cawan petri dan ditunggu hingga mengeras. Kemudian kultur bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* diambil menggunakan jarum ose bundar dan digoreskan pada media NA secara zig-zag. Selanjutnya biakan diinkubasi pada suhu kamar (37°C) selama 24 jam.

- **Pembuatan Suspensi Bakteri**

Pembuatan suspensi bakteri menggunakan media cair Nutrient Broth (NB). Pembuatan media NB 5ml yaitu media NB sebanyak 0,04 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 5 ml aquades dan dihomogenkan. Media yang telah homogen disterilkan dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Selanjutnya dilakukan penanaman bakteri uji pada media cair dengan mengambil satu koloni bakteri yang telah ditumbuhkan pada media NA menggunakan jarum ose steril. Koloni bakteri yang telah diambil dimasukkan ke dalam media cair. Kemudian bakteri pada media cair diinkubasi selama 16 jam hingga didapatkan kekeruhan setara dengan Mc Farland 0,5 (kandungan $1,5 \times 10^8$ CFU/mL).

- **Uji Daya Hambat dengan Cakram**

Uji daya hambat dengan cakram menggunakan media Muller Hinton Agar (MHA). Pembuatan media MHA 100 ml dilakukan dengan menimbang media MHA sebanyak 3,8 gram, kemudian ditambahkan aquades 100 ml. Selanjutnya media MHA dihomogenkan dan dipanaskan menggunakan hot plate. Setelah

homogen, media MHA disterilisasi dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Media steril ditunggu hingga hangat kuku kemudian dituang ke dalam cawan petri steril sebanyak 20 ml. Setelah media MHA mengeras, suspensi bakteri yang telah ditumbuhkan pada media NB diusapkan pada media MHA menggunakan *cotton swab*. Selanjutnya dilakukan uji daya hambat (zona inhibisi) dengan merendam *blank disc* pada seduhan teh terlebih dahulu selama 15 menit dengan masing-masing perlakuan. Setelah direndam, blank disc ditempelkan pada media yang telah ditanamkan bakteri. Selanjutnya dilakukan inkubasi selama 16 jam. Setelah 16 jam, zona bening yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong.

Zona bening sekitar cakram menurut Toy *et al.* (2015) merupakan petunjuk kepekaan bakteri terhadap antibakteri yang digunakan sebagai bahan uji dan dinyatakan dengan luas zona hambat. Zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram kertas saring diukur diameter vertikal dan horizontal dengan satuan mm. Diameter zona hambat diukur dengan rumus:

$$\text{Zona hambat} = \frac{(Dv - Dc) + (Dh - Dc)}{2}$$

Keterangan: Dv= Diameter Vertikal, Dc= Diameter Cakram, Dh=Diameter Horizontal

- **Penentuan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC)**

Tujuan dari MIC yaitu untuk mengetahui konsentrasi minimal dari suatu larutan antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri tertentu (Lay, 1994). Penentuan MIC dilakukan dengan cara tabung reaksi steril diisi media MHB (Mueller Hinton Broth) sebanyak 5 ml, kemudian masing-masing tabung diberi sampel (teh dengan perlakuan pengeringan 120 menit; 130 menit; 140 menit; kontrol negatif; kontrol positif) sebanyak 1 ml. Pengujian ini menggunakan kontrol negatif teh hijau komersial dan kontrol positif antibiotik kloramfenikol 30

mg/ml. Selanjutnya masing-masing tabung ditambahkan bakteri (*Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada tabung berbeda) sebanyak 0,1 ml. Selanjutnya diukur serapannya pada spektrofotometri UV-Vis panjang gelombang 570 nm. Kemudian diinkubasi pada suhu 30° C selama 16 jam. Setelah diinkubasi selama 16 jam kemudian diukur kembali serapannya dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 570 nm. Hasil inkubasi dapat dilihat dari tingkat kekeruhannya. Pengamatan hasil uji MIC secara visual memiliki kelemahan yaitu sulit untuk membedakan tingkat kekeruhan secara pasti, sehingga perlu dilakukan pengujian lebih lanjut dengan menggunakan spektrofotomete UV-Vis. Setelah didapatkan serapannya, dihitung nilai OD dengan cara menghitung selisih antara nilai OD sebelum dan sesudah inkubasi. Jika selisih nilai OD negatif, maka menunjukkan adanya penurunan jumlah bakteri. Apabila nilai OD positif, maka menunjukkan peningkatan jumlah bakteri.

Tujuan Metode MBC yaitu untuk menguji kemampuan daya bunuh yang dimiliki suatu senyawa antibakteri pada ekstrak (Magdalena dan Kusnaldi, 2015). Pengujian MBC dilakukan dengan menyiapkan cawan petri steril, kemudian sebanyak 1 ml dari larutan uji MIC dimasukkan ke dalam cawan petri lalu dituang media NA sebanyak 20 ml. Selanjutnya media dan sampel dihomogenkan dan ditunggu sampai media memadat. Kemudian diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Hasil MBC dapat diketahui dari ada tidaknya pertumbuhan koloni bakteri pada media NA.

c. LC-MS (Lisdawati et al., 2006; Maharani et al., 2016)

Identifikasi senyawa menggunakan *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS)* dilakukan pada seduhan teh dengan perlakuan terbaik pada uji aktivitas antibakteri. Identifikasi senyawa dilakukan dengan mengambil sebanyak 0,001 ml seduhan teh dan dilarutkan dalam metanol. Kemudian

diambil 10 μ L sampel dan disuntikkan pada LCMS/MS melalui kolom C-18 (2 x 150 mm) dengan kecepatan alir 0.3 mL/menit. Selanjutnya larutan dipompa selama 10-15 menit dan masuk kedalam katup kolom selektor. Setelah itu dilakukan pemisahan oleh UV detektor. Berat molekul yang dideteksi dihitung dengan spektrometer.

d. Penentuan Perlakuan Terbaik (De Garmo *et al.*, 1984)

Uji pembobotan dilakukan untuk menentukan perlakuan terbaik dengan langkah-langkah sebagai berikut:

1. Besar bobot ditentukan berdasarkan tingkat kepentingan parameter. Masing-masing parameter diberikan bobot variabel angka 0 sampai 1.
2. Bobot normal dari setiap parameter ditentukan dengan cara membagi bobot variabel dengan bobot total

$$\text{Bobot Normal} = \frac{\text{Bobot Variabel}}{\text{Bobot Total}}$$

3. Menghitung nilai efektifitas dengan rumus:

$$\text{Nilai Efektifitas} = \frac{\text{Nilai perlakuan} - \text{Nilai terburuk}}{\text{Nilai terbaik} - \text{Nilai terburuk}}$$

4. Nilai hasil dari masing-masing parameter ditentukan dari hasil perkalian antara efektifitas dan bobot normal

$$\text{Nilai Hasil} = \text{Nilai Efektifitas} \times \text{Bobot Normal}$$

5. Nilai total semua kombinasi perlakuan dihitung dengan menjumlahkan semua nilai dari hasil masing-masing parameter.
6. Nilai total terbesar menunjukkan hasil perlakuan terbaik.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan untuk mengetahui lama pengeringan terbaik berdasarkan hasil uji tanin daun *Rhizopora mucronata* setelah pengurangan tanin, perhitungan rendemen, uji kadar air, uji kadar abu daun *Rhizopora mucronata* sebelum pemanasan dan sesudah pemanasan, uji tanin, uji alkaloid dan uji flavonoid seduhan.

4.1.1 Uji Tanin Setelah Pengurangan Tanin

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

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

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

Pelarut	Tanin Daun Segar (Kasitowati et al., 2017)		Tanin setelah Perlakuan Abu Sekam	
	Kualitatif	Kuantitatif (ppm)	Kualitatif	Kuantitatif (ppm)
Metanol	Ada	576,7	Ada	55,16
Etil	Ada	84,84	Ada	45,66
Asetat	Ada	67,3	Ada	42,25
N- Heksan	Ada		Ada	

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

Hasil pada penelitian menunjukkan bahwa daun *Rhizophora mucronata* setelah pengurangan tanin dengan abu sekam masih terdeteksi adanya tanin. Hal tersebut dapat dilihat dari terbentuknya warna biru kehitaman pada uji kualitatif. Sedangkan pada uji kuantitatif terdapat penurunan dibandingkan dengan daun segar pada jurnal. Penurunan kadar tanin pada daun disebabkan oleh proses osmosis pada saat perebusan dengan abu sekam dan difusi pada saat perendaman. Difusi pada saat perendaman terjadi dengan larutnya sisa zat yang ada pada daun. Hal ini ditandai dengan kondisi air yang berubah warna atau berbuih. Diduga salah satu zat yang larut ini adalah tanin karena sifat tanin sendiri yang mudah larut dalam air. Proses osmosis terjadi saat proses perebusan dimana zat yang ada pada daun akan keluar terbawa air (Soenardjo dan Endang, 2017).

4.1.2 Perhitungan Rendemen Teh

Rendemen teh daun *Rhizophora mucronata* diperoleh dari persentase berat akhir, yaitu daun yang telah melalui proses pengeringan dibandingkan dengan berat awal, yaitu daun segar mangrove *Rhizophora mucronata*. Berat awal dari daun segar masing-masing 48 gram. Selanjutnya daun segar diproses dan melalui proses pengeringan. Proses pengeringan menggunakan lama pengeringan yang berbeda, yaitu lama pengeringan 130 menit, 150 menit dan 170 menit. Hasil perhitungan rendemen teh daun *Rhizophora mucronata* dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil Perhitungan Rendemen Teh Daun *Rhizophora mucronata*

Lama Pengeringan	Rata-rata
130 menit	23,96 ±0,71c
150 menit	22,88±0,57b
170 menit	21,7±0,52a

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

Perhitungan rendemen berdasarkan hasil ANOVA menggunakan SPSS 25.0 diketahui bahwa faktor lama pengeringan berbeda nyata ($P < 0,05$). Hal tersebut dapat diartikan bahwa faktor lama pengeringan berpengaruh terhadap rendemen teh daun *Rhizophora mucronata*. Hasil perhitungan rendemen pada tabel diatas menunjukkan bahwa didapatkan rendemen tertinggi dengan lama pengeringan 130 menit 23,96%, sedangkan rendemen terendah didapatkan dengan lama pengeringan 170 menit sebesar 21,7%. Semakin lama waktu pengeringan, rendemen semakin menurun. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Yamin *et al.*(2017) tentang lama pengeringan terhadap aktivitas antioksidan dan mutu teh herbal daun ketepeng cina (*Cassia alata* L.) yang menunjukkan bahwa semakin lama waktu pengeringan, rendemen teh herbal daun ketepeng cina cenderung menurun. Semakin lama waktu pengeringan yang dilakukan dapat meningkatkan lama kontak bahan pangan dengan panas sehingga kesempatan waktu untuk bersentuhan semakin besar dan air yang teruapkan semakin besar dan rendemen yang didapatkan semakin sedikit.

4.1.3 Kadar Air

Kadar air menurut Bawinto *et al.*(2015) dihitung sebagai persen berat, yang artinya berapa gram berat sampel dengan yang selisih berat dari sampel yang belum diuapkan dengan sampel yang telah dikeringkan (dioven). Oleh karena itu, kadar air dapat diperoleh dengan menghitung kehilangan berat sampel yang dipanaskan. Pengujian kadar air dalam penelitian ini dilakukan pada daun segar *Rhizophora mucronata* dan teh daun *Rhizophora mucronata* dengan lama pengeringan yang berbeda. Hasil kadar air dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Kadar Air Daun *Rhizophora mucronata* dan Teh Daun *Rhizophora mucronata*

Lama Pengeringan	Daun Segar <i>Rhizophora mucronata</i> (%)	Teh Daun <i>Rhizophora mucronata</i> (%)
130 menit		8,4±0,43c
150 menit	27,35%	7,5±0,41b
170 menit		6,7±0,55a

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

Hasil penelitian Ridlo et al.(2017) menunjukkan kadar air daun *Rhizophora mucronata* yang diambil dari daerah Tugurejo Kodya Semarang adalah 16,6%. Sedangkan daun *Rhizophora mucronata* pada penelitian ini yang diambil dari daerah CMC Sendang Biru Kabupaten Malang memiliki kadar air 27,35%. Secara umum kadar air pada daun mangrove relatif rendah. Hal ini diduga karena habitat mangrove yang bersuhu tinggi karena pengaruh transfer panas dari laut dan bersalinitas. Adanya perbedaan kadar air untuk beberapa spesies tergantung pada musim dan lokasi pengambilan sampel.

Kadar air teh daun *Rhizophora mucronata* berdasarkan hasil ANOVA menggunakan SPSS 25.0, diketahui bahwa faktor lama pengeringan berbeda nyata ($P < 0,05$). Hal ini dapat diartikan bahwa lama pengeringan berpengaruh terhadap kadar flavonoid teh daun *Rhizophora mucronata*. Hasil kadar air pada tabel diatas menunjukkan bahwa kadar air tertinggi pada lama pengeringan 130 menit sebesar 8,4% dan kadar air terendah pada lama pengeringan 170 menit sebesar 6,7%. Semakin lama proses pengeringan maka kadar air teh akan semakin menurun. Menurunnya kadar air pada teh dipengaruhi oleh penguapan air akibat dari proses pengeringan. Semakin lama proses pengeringan menyebabkan penguapan air yang terdapat pada teh semakin tinggi sehingga kadar air yang terdapat pada teh akan semakin rendah (Angraiyati dan Faizah, 2017).

4.1.4 Kadar Abu

Pengujian kadar abu dilakukan pada daun segar *Rhizophora mucronata* dan teh daun *Rhizophora mucronata* dengan lama pengeringan yang berbeda. Hasil kadar abu dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Kadar Abu Daun *Rhizophora mucronata* dan Teh Daun *Rhizophora mucronata*

Lama Pengeringan	Daun Segar <i>Rhizophora mucronata</i>	Teh Daun <i>Rhizophora mucronata</i>
130 menit		5±0,32c
150 menit	3,3	5,7±0,41b
170 menit		6,2±0,41a

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

Hasil penelitian Purwaningsih *et al.*(2013) menunjukkan kadar abu daun segar yang diperoleh dari Pulau Seribu sebesar 1,10%. Sedangkan daun *Rhizophora mucronata* pada penelitian ini yang diambil dari daerah CMC Sendang Biru Kabupaten Malang memiliki kadar abu sebesar 3,3%. Kadar abu merupakan campuran dari komponen anorganik atau mineral yang terdapat dalam suatu bahan pangan. Perbedaan kadar abu atau mineral pada daun *Rhizophora mucronata* dapat dipengaruhi oleh banyak faktor, antara lain genetika tanaman, kesuburan tanah, dan lingkungan dimana tanaman itu tumbuh.

Hasil pengujian kadar abu pada teh daun *Rhizophora mucronata* didapatkan hasil tertinggi pada lama pengeringan 170 menit sebesar 6,2%, sedangkan hasil terendah pada pengeringan 130 menit sebesar 5%. Kadar abu tergantung pada jenis bahan, cara pengabuan, serta waktu dan suhu yang digunakan saat pengeringan. Jika bahan yang diolah melalui proses pengeringan maka lama waktu dan suhu pengeringan yang semakin tinggi akan meningkatkan kadar abu, karena air yang keluar dari bahan semakin besar.

Kandungan abu dalam teh daun *Rhizophora mucronata* telah memenuhi standar mutu teh kering (SNI 01-3836-2013) yaitu tidak lebih dari 8 % (Angraiyati dan Faizah, 2017).

4.1.5 Uji Tanin

Uji tanin dilakukan pada seduhan teh daun *Rhizophora mucronata* secara kualitatif dan kuantitatif. Teh positif mengandung tanin apabila terbentuk warna biru, hijau, merah, ungu atau hitam. Apabila hasil uji tanin secara kualitatif bernilai positif, maka dilanjutkan dengan uji kuantitatif. Hasil uji tanin dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil Tanin Teh Daun *Rhizophora mucronata*

Pengeringan	Uji Kualitatif	Rata-rata Kadar Tanin(ppm)
130 menit	Positif	91,42±0,74a
150 menit	Positif	138,87±0,85b
170 menit	Positif	173±0,70c

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

Hasil uji tanin secara kualitatif menunjukkan bahwa teh daun *Rhizophora mucronata* dengan lama pengeringan 130 menit, 150 menit dan 170 menit bernilai positif. Hal ini dapat diketahui dengan terbentuknya warna biru kehitaman pada teh yang diuji. Uji fitokimia dengan menggunakan FeCl_3 digunakan untuk mengetahui adanya gugus fenol dalam sampel. Adanya gugus fenol ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman atau biru tinta setelah ditambahkan dengan FeCl_3 , sehingga apabila uji fitokimia dengan FeCl_3 memberikan hasil positif dimungkinkan dalam sampel terdapat senyawa fenol dan dimungkinkan salah satunya adalah tanin karena tanin merupakan senyawa polifenol (Ergina *et al.*, 2014).

Kadar tanin teh daun *Rhizophora mucronata* berdasarkan hasil ANOVA menggunakan SPSS 25.0 diketahui bahwa faktor lama pengeringan berbeda

nyata ($P < 0,05$). Hal ini dapat diartikan bahwa lama pengeringan berpengaruh terhadap kadar tanin teh daun *Rhizophora mucronata*. Hasil tanin pada tabel diatas menunjukkan bahwa didapatkan tanin tertinggi dengan lama pengeringan 170 menit sebesar 173 ppm, sedangkan kadar tanin terendah dengan lama pengeringan 130 menit sebesar 91,42 ppm. Semakin lama waktu pengeringan kadar tanin semakin meningkat. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Katno *et al.*(2008) tentang pengaruh waktu pengeringan terhadap kadar tanin teh daun jati belanda yang menunjukkan bahwa semakin lama waktu pengeringan, kadar tanin semakin meningkat.

4.1.6 Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan pada seduhan teh daun *Rhizophora mucronata* secara kualitatif dan kuantitatif. Teh dinilai positif mengandung tanin apabila terbentuk warna merah, kuning atau jingga. Apabila hasil uji flavonoid secara kualitatif bernilai positif, maka dilanjutkan dengan uji kuantitatif. Hasil uji flavonoid dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Hasil Flavonoid Teh Daun *Rhizophora mucronata*

Pengeringan	Kualitatif	Rata-rata Kadar Flavonoid(ppm)
130 menit	Positif	17,38±0,79c
150 menit	Positif	12,83±0,69b
170 menit	Positif	3,15±0,71a

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

Hasil uji flavonoid secara kualitatif menunjukkan bahwa teh daun *Rhizophora mucronata* dengan lama pengeringan 130 menit, 150 menit dan 170 menit bernilai positif. Hal ini dapat diketahui dengan terbentuknya warna kuning pada teh yang diuji. Terbentuknya larutan berwarna kuning menandakan adanya senyawa flavonoid. Uji kualitatif dengan penambahan logam Mg dan HCl adalah untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat dalam struktur flavonoid. Reduksi

tersebut menyebabkan terbentuknya garam flavilium berwarna merah atau jingga (Ergina *et al.*, 2014).

Berdasarkan hasil ANOVA kadar flavonoid teh daun *Rhizophora mucronata* menggunakan SPSS 25.0, diketahui bahwa faktor lama pengeringan berbeda nyata ($P < 0,05$). Hal ini dapat diartikan bahwa lama pengeringan berpengaruh terhadap kadar flavonoid teh daun *Rhizophora mucronata*. Hasil uji flavonoid pada tabel di atas menunjukkan bahwa didapatkan kadar flavonoid tertinggi dengan lama pengeringan 130 menit sebesar 17,38 ppm, sedangkan kadar flavonoid terendah dengan lama pengeringan 170 menit sebesar 3,15 ppm. Semakin lama waktu pengeringan, kadar flavonoid pada teh semakin menurun. Hal ini sesuai dengan pernyataan Utami *et al.* (2015) yang menyatakan bahwa proses pengeringan dapat menurunkan kandungan flavonoid hingga 15-78%. Senyawa flavonoid merupakan hasil metabolisme sekunder, apabila daun dikeringkan maka kandungan flavonoid akan berkurang karena sensitif terhadap suhu (termolabil). Waktu pengeringan yang semakin lama menyebabkan bahan semakin lama kontak dengan suhu panas. Peningkatan suhu lebih lanjut dapat menyebabkan penurunan yang disebabkan dekomposisi senyawa flavonoid karena flavonoid memiliki sifat yang termolabil (tidak tahan terhadap suhu panas) dan mudah teroksidasi pada suhu tinggi.

4.1.7 Uji Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan pada seduhan teh daun *Rhizophora mucronata* secara kualitatif dan kuantitatif. Teh dinilai positif mengandung tanin apabila terbentuk putih kekuningan. Apabila hasil uji alkaloid secara kualitatif bernilai positif, maka dilanjutkan dengan uji kuantitatif. Hasil uji flavonoid dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Hasil Flavonoid Teh Daun *Rhizophora mucronata*

Pengeringan	Kualitatif	Rata-rata Kadar Alkaloid (ppm)
130 menit	Positif	6,83±0,23c
150 menit	Positif	6,40±0,21b
170 menit	Positif	5,55±0,32a

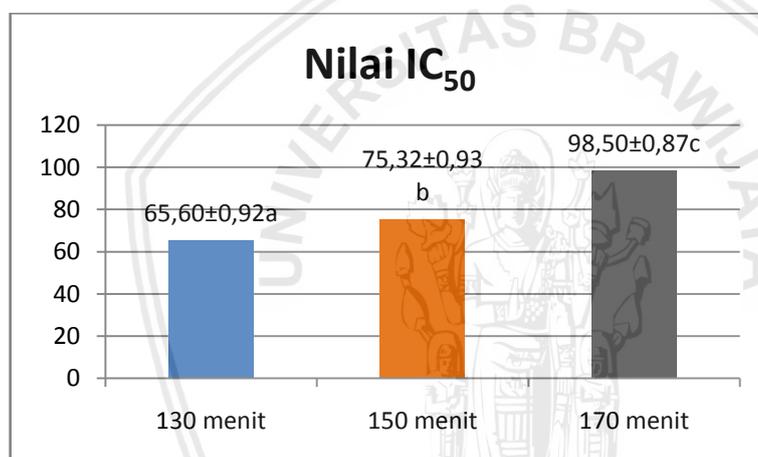
(Sumber : Laboratorium Ilmu Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, 2019)

Hasil uji alkaloid secara kualitatif menunjukkan bahwa teh daun *Rhizophora mucronata* seluruh perlakuan bernilai positif. Hal ini dapat diketahui dengan terbentuknya warna putih kekuningan pada teh yang diuji. Hal ini sesuai dengan pernyataan Ergina *et al.*(2014) yang menyebutkan bahwa hasil positif alkaloid pada uji Mayer ditandai dengan terbentuknya endapan putih. Alkaloid mengandung atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas sehingga dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam. Uji alkaloid dengan menggunakan pereaksi Mayer, diperkirakan nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K⁺ dari kalium tetraiodomercurat(II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap.

Berdasarkan hasil ANOVA kadar alkaloid teh daun *Rhizophora mucronata* menggunakan SPSS 25.0, diketahui bahwa faktor lama pengeringan berbeda nyata ($P < 0,05$). Hal ini dapat diartikan bahwa lama pengeringan berpengaruh terhadap kadar alkaloid teh daun *Rhizophora mucronata*. Hasil uji alkaloid pada tabel diatas menunjukkan bahwa didapatkan kadar alkaloid tertinggi dengan lama pengeringan 130 menit sebesar 6,83 ppm, sedangkan kadar alkaloid terendah dengan lama pengeringan 170 menit sebesar 5,55 ppm. Semakin lama waktu pengeringan, kadar alkaloid cenderung menurun. Senyawa alkaloid umumnya bersifat basa. Sifat basa pada alkaloid menyebabkan senyawa tersebut mudah mengalami dekomposisi terutama oleh panas dan sinar dengan adanya oksigen, hasil dari reaksi ini sering berupa N-oksida (Putri *et al.*, 2017).

4.1.8 Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan radikal DPPH (2,2 difenil-1-pikrilhidrazil). Menurut Widyasanti *et al.*(2016), senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan peluruhan warna DPPH dari ungu menjadi kuning yang diukur pada panjang gelombang 517 nm. Parameter dari metode DPPH ini adalah nilai inhibition concentration 50% (IC_{50}) atau konsentrasi yang dapat meredam aktivitas radikal bebas sebesar 50%. Hasil nilai IC_{50} dapat dilihat pada gambar 6.



Gambar 6. Grafik Nilai IC_{50} dengan Variasi Lama Pengeringan

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

Berdasarkan hasil ANOVA nilai IC_{50} teh daun *Rhizophora mucronata* menggunakan SPSS 25.0, diketahui bahwa faktor lama pengeringan berbeda nyata ($P < 0,05$). Hal ini dapat diartikan bahwa lama pengeringan berpengaruh terhadap nilai IC_{50} teh daun *Rhizophora mucronata*. Hasil IC_{50} pada gambar diatas menunjukkan bahwa didapatkan nilai IC_{50} tertinggi dengan lama pengeringan 170 menit sebesar 98,50 ppm, sedangkan nilai IC_{50} terendah dengan lama pengeringan 130 menit sebesar 65,60 ppm. Semakin rendah nilai IC_{50} , maka aktivitas antioksidan semakin tinggi. Aktivitas antioksidan tertinggi

diperoleh dari lama pengeringan 130 menit dan terendah pada lama pengeringan 170 menit. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Hely *et al.*(2018) tentang pengaruh lama pengeringan terhadap sifat fisiko kimia teh daun kersen yang menunjukkan bahwa semakin lama waktu pengeringan maka aktivitas antioksidan semakin turun. Hal ini dikarenakan antioksidan kuat akan rusak oleh panas dan pemasakan. Semakin tinggi suhu dan lama pemanasan mengakibatkan senyawa metabolit sekunder yang bertindak sebagai antioksidan rusak.

4.1.9 Penentuan Teh Terbaik

Penentuan teh daun *Rhizophora mucronata* terbaik menggunakan metode de Garmo. Metode de Garmo dilakukan dengan memberi bobot variabel (skor) pada tiap parameter yang memberikan pengaruh terhadap teh yang dihasilkan setiap perlakuan. Parameter yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kadar tanin, flavonoid, alkaloid, kadar air, kadar abu dan antioksidan metode DPPH. Berdasarkan penentuan perlakuan terbaik dengan metode de Garmo dapat disimpulkan bahwa perlakuan terbaik yaitu pada lama pengeringan 130 menit. Komposisi kandungan teh daun *Rhizophora mucronata* dengan lama pengeringan terbaik dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Komposisi kandungan teh terbaik

Parameter	Hasil Analisa
Kadar Tanin	91,42±0,74 ppm
Flavonoid	17,38±0,79 ppm
Alkaloid	6,83±0,23 ppm
Antioksidan DPPH IC ₅₀	65,60±0,92 ppm
Rendemen	23,96±0,71 %
Kadar Air	8,4±0,43%
Kadar Abu	5±0,32 %

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

4.1.10 Aktivitas Antioksidan Metode FRAP

Metode FRAP menurut Ufrianto *et al.*(2019) dapat menentukan kandungan antioksidan total dari suatu bahan berdasarkan kemampuan senyawa antioksidan untuk mereduksi ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} , sehingga kekuatan antioksidan suatu senyawa dianalogikan dengan kemampuan mereduksi dari senyawa tersebut. Pengujian aktivitas antioksidan metode FRAP dilakukan pada teh terpilih dari perhitungan de Garmo. Hasil aktivitas antioksidan dapat dilihat pada tabel 12.

Tabel 12. Hasil Aktivitas Antioksidan Metode FRAP

Ekstrak Teh Hijau Daun <i>R. mucronata</i>	Absorbansi (720 nm)	Aktivitas Antioksidan (mg AAE/g ekstrak)	Rerata Aktivitas Antioksidan (mg AAE/g ekstrak)
Replikasi 1	0,589	0,13280	0,13306
Replikasi 2	0,591	0,13299	
Replikasi 3	0,593	0,13318	
Replikasi 4	0,594	0,13327	

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

Larutan standar yang digunakan dalam penelitian ini adalah asam askorbat. Asam askorbat digunakan sebagai pembanding karena dapat berfungsi sebagai antioksidan sekunder, yaitu menangkap radikal bebas serta mencegah terjadinya reaksi berantai. Hal itu dikarenakan asam askorbat mempunyai gugus hidroksi bebas yang bertindak sebagai penangkap radikal bebas. Jika suatu senyawa mempunyai gugus polihidroksi yang akan meningkatkan aktivitas antioksidan (Kim, 2005).

. Pada pengujian FRAP pada sampel dilakukan penambahan TCA yang bertujuan untuk mengendapkan kompleks kalium ferrosianida. Penambahan $FeCl_3$ juga dilakukan untuk membentuk kompleks berwarna hijau sampai biru (biru berlin). Daya reduksi merupakan indikator potensi suatu senyawa

antioksidan. Daya reduksi dalam hal ini diukur dari kemampuan suatu antioksidan untuk mengubah Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} . Senyawa yang mempunyai daya reduksi kemungkinan dapat berperan sebagai antioksidan karena dapat menstabilkan radikal dengan mendonorkan elektron atau atom hidrogen sehingga senyawa radikal berubah menjadi lebih stabil (Maryam *et al.*,2016)

Hasil regresi dari konsentrasi (x) dengan nilai absorbansi (y) larutan pembanding asam askorbat diperoleh persamaan yaitu $y=0,010x-0,818$ dengan nilai $R^2 = 0,971$ dan untuk menghitung nilai aktivitas antioksidan dimasukkan nilai absorbansi sampel kedalam persamaan tersebut. Nilai FRAP dinyatakan dalam mg equivalen asam askorbat/ gr ekstrak (AAE). Hasil pengukuran absorbansi dan nilai aktivitas antioksidan teh daun *Rhizophora mucronata* terdapat pada tabel hasil penelitian, sehingga didapatkan nilai rata-rata dari sampel sebesar 0,13306 mgAAE/g ekstrak atau 133,06 ppm yang artinya dalam setiap gram ekstrak setara dengan 7,923 mg asam askorbat.

4.2 Hasil Penelitian Utama

Penelitian utama dilakukan untuk mengetahui hasil uji organoleptik dan antibakteri.

4.2.1 Organoleptik

Uji organoleptik teh daun *Rhizophora mucronata* dengan lama pengeringan yang berbeda dengan metode skoring dan hedonik meliputi warna, aroma, dan rasa. Hasil uji organoleptik teh dapat dilihat pada Tabel 13.

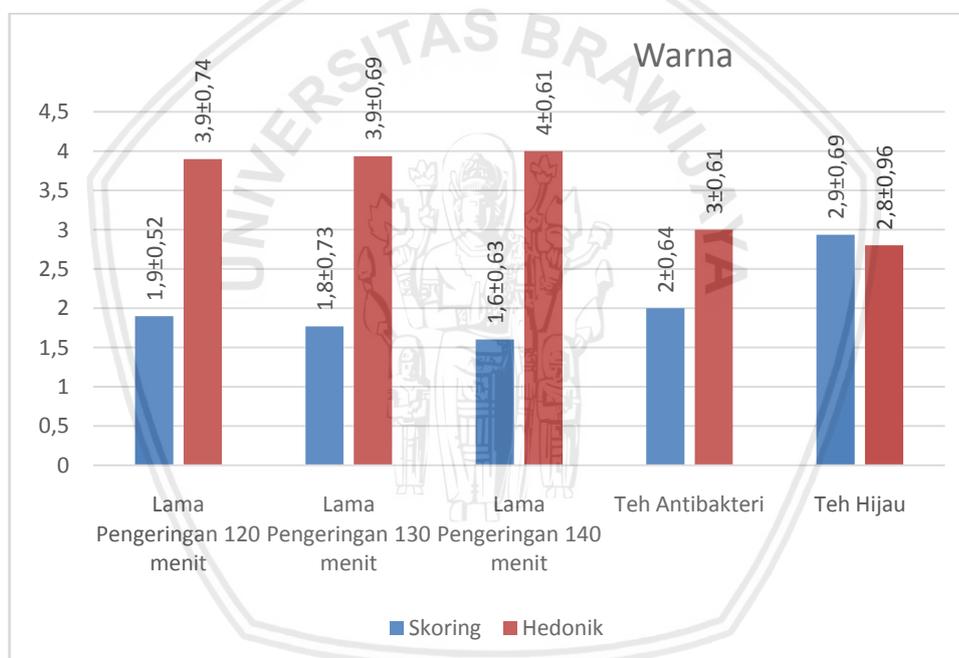
Tabel 13 Hasil Organoleptik Teh Daun *Rhizophora mucronata*

Perlakuan	Warna		Aroma		Rasa	
	Skor	Hedonik	Skor	Hedonik	Skor	Hedonik
A	1,9±0,52	3,9±0,74	2,9±0,31	3,4±1,00	3,4±0,93	3,1±0,90
B	1,8±0,73	3,9±0,69	2,7±0,84	3,4±0,76	3,4±0,86	3,1±0,78
C	1,6±0,63	4±0,61	2,6±0,72	3,3±0,60	4±0,64	3,5±0,94
D	2±0,64	3±0,61	3,1±0,43	3,5±0,94	1,8±0,38	2,5±0,51
E	2,9±0,69	2,8±0,96	3,6±0,93	3,7±0,88	2,8±0,90	3,3±0,96

Keterangan: A = Lama Pengeringan 120 menit); B = Lama Pengeringan 130 menit; C = Lama Pengeringan 140 menit; D = Kontrol Positif Teh Antibakteri Jati Belanda; E = Kontrol Negatif Teh Hijau Komersial.

a. Warna

Warna merupakan sensori pertama yang dapat dilihat langsung oleh panelis. Penentuan mutu bahan makanan umumnya bergantung pada warna yang dimiliki. Warna bahan makanan yang tidak menyimpang dari warna yang seharusnya akan memberi kesan penilaian tersendiri oleh panelis. Uji organoleptik parameter warna pada teh dilakukan menggunakan metode skoring dan hedonik. Hasil organoleptik parameter warna dapat dilihat pada gambar 7.



Gambar 7. Grafik Hasil Uji Organoleptik Parameter Warna

Berdasarkan hasil uji Kruskal-Wallis dapat dianalisa bahwa lama pengeringan yang berbeda berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap teh daun *Rhizophora mucronata*. Nilai warna untuk skoring dengan perlakuan tertinggi yaitu pada teh hijau komersial (kontrol negatif) sebesar ($2,9 \pm 0,69$) sedangkan rata-rata terendah pada perlakuan dengan lama pengeringan 120 menit yaitu sebesar ($1,6 \pm 0,63$). Nilai warna untuk hedonik perlakuan tertinggi yaitu pada

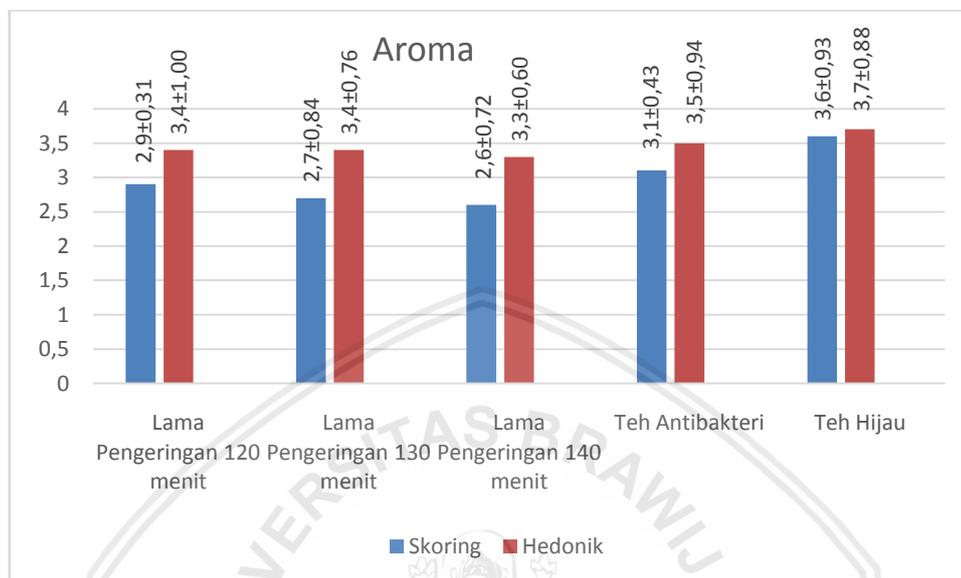
perlakuan dengan lama pengeringan 140 menit sebesar ($4\pm 0,61$), sedangkan rata-rata terendah pada teh hijau komersial (kontrol negatif) yaitu sebesar ($2,8\pm 0,96$). Semakin lama pengeringan warna yang dihasilkan akan semakin gelap (kecoklatan). Semakin lama waktu pengeringan kandungan tanin semakin meningkat, sehingga warna yang dihasilkan semakin gelap. Hal ini sesuai dengan pernyataan Mawardi *et al.*(2016) yang menyatakan bahwa warna air seduhan daun sirsak yang berwarna kuning kegelapan berhubungan dengan kadar tanin yang terkandung di dalam daun. Semakin besar kadar tanin yang terkandung di dalam minuman fungsional daun sirsak maka semakin gelap pula warna air merah kecoklatan berhubungan dengan kadar tanin yang terkandung di dalam daun. Semakin besar kadar tanin yang terkandung di dalam teh maka semakin gelap pula warna yang dihasilkan.

Teh daun *Rhizophora mucronata* berwarna merah kecoklatan. Warna tersebut diperoleh dari peran tearubigin yang terdapat pada teh. Prabawati *et al.*(2015) menyebutkan bahwa penyeduhan akan menyebabkan teh teroksidasi. Oksidasi ini berperan dalam merubah tannin menjadi teaflavin dan tearubigin. Teaflavin berperan dalam penentuan kecerahan warna pada seduhan teh (kuning kemerahan). Tearubigin merupakan senyawa yang sulit larut dalam air dan berperan dalam menentukan warna seduhan teh (merah kecoklatan agak gelap).

b. Aroma

Menurut Lamusu (2018), aroma merupakan salah satu parameter yang diuji dalam pengujian sifat sensori (organoleptik). Pengujian aroma dilakukan dengan menggunakan indera penciuman. Aroma dapat diterima apabila bahan yang dihasilkan mempunyai aroma spesifik. Uji organoleptik parameter aroma

pada teh dilakukan menggunakan metode skoring dan hedonik. Hasil organoleptik parameter aroma dapat dilihat pada gambar 8.



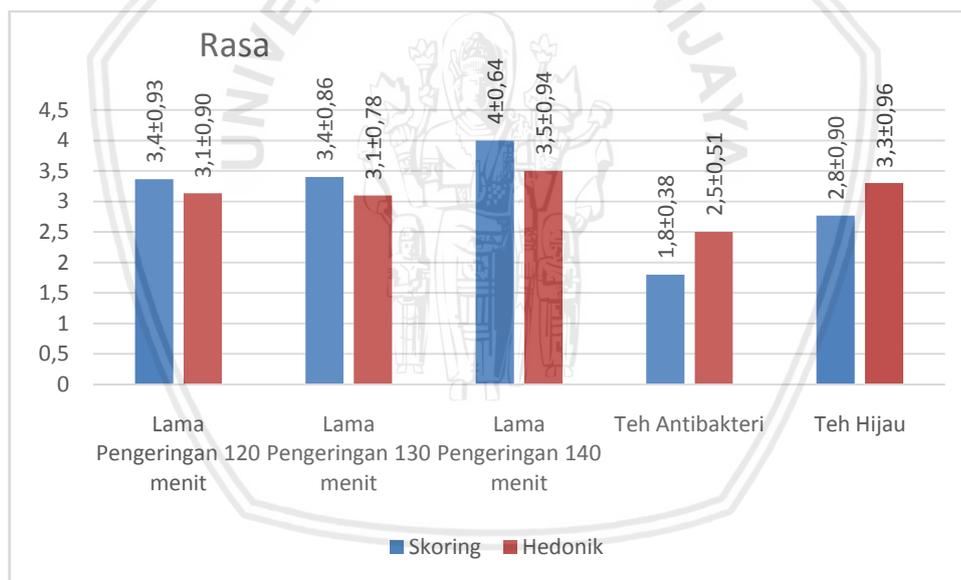
Gambar 8. Grafik Hasil Uji Organoleptik Parameter Aroma

Berdasarkan hasil uji Kruskal-Wallis dapat dianalisa bahwa lama pengeringan yang berbeda berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap teh daun *Rhizophora mucronata*. Nilai aroma untuk skoring dengan perlakuan tertinggi yaitu pada teh hijau komersial (kontrol negatif) sebesar ($3,6 \pm 0,93$) sedangkan rata-rata terendah pada perlakuan dengan lama pengeringan 140 menit yaitu sebesar ($2,6 \pm 0,72$). Nilai aroma untuk hedonik perlakuan tertinggi yaitu pada perlakuan teh hijau komersial (kontrol negatif) sebesar ($3,7 \pm 0,88$), sedangkan rata-rata terendah pada lama perlakuan 120 menit yaitu sebesar ($3,1 \pm 0,99$). Semakin lama pengeringan aroma pada teh cenderung semakin menurun. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Angraiyati dan Faizah(2017) tentang lama pengeringan pada pembuatan teh herbal daun pandan wangi terhadap aktivitas antioksidan yang menunjukkan bahwa semakin lama pengeringan maka aroma teh herbal daun pandan wangi semakin menurun. Penurunan ini disebabkan oleh

kerusakan yang terjadi pada pigmen pigmen akibat waktu pengeringan yang semakin lama.

c. Rasa

Menurut Lamusu (2018), Rasa merupakan salah satu faktor yang menentukan dapat diterimanya suatu produk atau tidak oleh konsumen. Rasa merupakan sesuatu yang diterima oleh indera pengecap lidah. Dalam pengindraan cecapan manusia dibagi empat cecapan utama yaitu manis, pahit, asam dan asin serta ada tambahan respon bila dilakukan modifikasi. Uji organoleptik parameter rasa teh dilakukan menggunakan metode skoring dan hedonik. Hasil organoleptik parameter rasa dapat dilihat pada gambar 9.



Gambar 9. Grafik Hasil Uji Organoleptik Parameter Rasa

Berdasarkan hasil uji Kruskal-Wallis dapat dianalisa bahwa lama pengeringan yang berbeda berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap teh daun *Rhizophora mucronata*. Nilai rasa untuk skoring dengan perlakuan tertinggi yaitu pada lama pengeringan 140 menit sebesar $(4 \pm 0,64)$ sedangkan rata-rata terendah pada teh antibakteri (kontrol positif) yaitu sebesar $(1,8 \pm 0,38)$. Nilai rasa untuk hedonik perlakuan tertinggi yaitu pada perlakuan dengan lama

pengeringan 140 menit sebesar (3,5±0,94), sedangkan rata-rata terendah pada teh antibakteri (kontrol positif) yaitu sebesar (2,5±0,51). Semakin lama pengeringan rasa sepat pada teh cenderung semakin menurun. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Yamin et al.(2017) bahwa rasa sepat pada teh herbal daun ketepeng cina akan semakin berkurang disebabkan oleh lama pengeringan dan kadar polifenol yang semakin menurun. Rasa yang terbentuk pada teh herbal dipengaruhi oleh adanya kandungan flavonoid dan polifenol. Flavonoid memiliki sifat tidak berwarna, larut dalam air, serta membawa rasa pahit dan sepat pada seduhan teh.

4.2.2 Uji Antibakteri

a. Uji Daya Hambat

Menurut Kusmarwati dan Indriati (2008), aktivitas antibakteri dikelompokkan menjadi 4 kategori yaitu aktivitas lemah (<5mm), sedang (5-10 mm), kuat (>10-20 mm), sangat kuat (>20-30 mm). Hasil daya hambat teh daun *Rhizophora mucronata* dapat dilihat pada tabel 14.

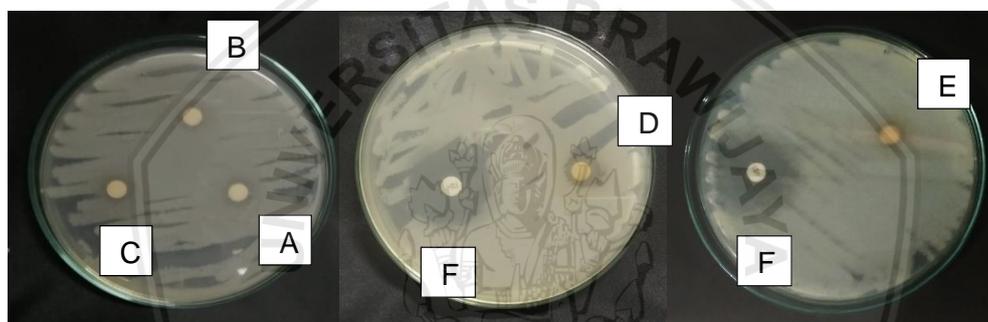
Tabel 14. Hasil Daya Hambat dengan Variasi Lama Pengeringan

Perlakuan	Rerata Daya Hambat (mm) Terhadap <i>E. coli</i>	Kekuatan Antibakteri	Rerata Daya Hambat (mm) Terhadap <i>S. aureus</i>	Kekuatan Antibakteri
A	2,83±0,47	Lemah	4,18±0,62	Lemah
B	2,64±0,63	Lemah	4,55±0,43	Lemah
C	3,90±0,65	Lemah	4,94±0,48	Lemah
D	4,91±0,60	Lemah	5,34±0,59	Sedang
E	2,70±0,35	Lemah	2,95±0,64	Lemah

Keterangan: A = Lama Pengeringan 120 menit; B = Lama Pengeringan 130 menit; C = Lama Pengeringan 140 menit; D = Kontrol Positif Teh Antibakteri Jati Belanda; E = Kontrol Negatif Teh Hijau Komersial.

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

Hasil pengukuran zona hambat pada tabel tersebut dapat dilihat bahwa kontrol positif (Teh Jati Belanda) memiliki nilai tertinggi yaitu sebesar 4,91 mm pada *E. coli* dan 5,34 mm pada *S. aureus*. Nilai daya hambat terkecil yaitu pada kontrol negatif (teh hijau komersial) sebesar 2,70 mm pada *E. coli* dan 2,95 mm pada *S. aureus*. Uji daya hambat juga dilakukan pada kloramfenikol sebagai pembandingan antibiotik yang menghasilkan zona hambat sebesar 22,51 mm pada *E. coli* dan 22,6 mm pada *S. aureus*. Pada teh daun *Rhizophora mucronata* daya hambat semakin meningkat seiring dengan meningkatnya lama waktu pengeringan.



Keterangan: A = 120 menit; B = 130 menit; C = 140 menit; D = Kontrol (+); E = Kontrol (-); F = Kloramfenikol

Gambar 10. Zona Hambat Teh Daun *R. mucronata* Terhadap *E. coli*



Keterangan: A = 120 menit; B = 130 menit; C = 140 menit; D = Kontrol (+); E = Kontrol (-); F = Kloramfenikol

Gambar 11. Zona Hambat Teh Daun *R. mucronata* Terhadap *S. aureus*

b. Uji MIC dan MBC

Hasil pengukuran nilai OD (*Optical Density*) pada uji MIC dengan menggunakan spektrofotometer (panjang gelombang 600 nm) menurut Soleha

(2015), menunjukkan hambatan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* secara pasti yaitu dengan melihat penurunan nilai OD sebelum dan sesudah inkubasi. Nilai ΔOD negatif menunjukkan adanya penurunan nilai absorbansi yang berarti terjadi penurunan jumlah sel bakteri setelah inkubasi 16 jam, sedangkan nilai ΔOD positif menunjukkan tidak adanya penurunan melainkan terjadi peningkatan nilai absorbansi yang berarti masih terjadi peningkatan jumlah sel bakteri setelah inkubasi 16 jam. Hasil nilai OD dapat dilihat pada tabel 15

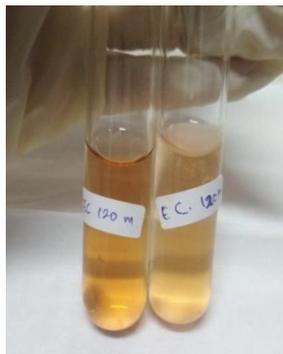
Tabel 15. Hasil Pengukuran Nilai OD pada Uji MIC Teh Daun *Rhizophora mucronata* Terhadap Bakteri *E. coli* dan *S. aureus*

Perlakuan	Rerata ΔOD Terhadap <i>E. coli</i>	Rerata ΔOD Terhadap <i>S. aureus</i>
A	-0,017	-0,022
B	-0,025	-0,030
C	-0,033	-0,041
D	-0,042	-0,052
E	-0,012	-0,015

Keterangan: A = Lama Pengeringan 120 menit; B = Lama Pengeringan 130 menit; C = Lama Pengeringan 140 menit; D = Kontrol Positif Teh Antibakteri Jati Belanda; E = Kontrol Negatif Teh Hijau Komersial.

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

Hasil pengukuran nilai OD pada tabel tersebut dapat dilihat bahwa kontrol positif (Teh Jati Belanda) memiliki nilai OD tertinggi yaitu sebesar -0,042 pada *E. coli* dan -0,052 pada *S. aureus*. Nilai OD terkecil yaitu pada kontrol negatif (teh hijau komersial) yaitu sebesar -0,012 pada *E. coli* dan sebesar -0,015 pada *S. aureus*. Pengukuran nilai OD juga dilakukan pada kloramfenikol sebagai pembanding antibiotik yang menghasilkan nilai OD sebesar -0,0715 terhadap *E. coli* dan -0,1113 terhadap *S. aureus*. Pada teh daun *Rhizophora mucronata* nilai OD semakin meningkat seiring dengan meningkatnya lama waktu pengeringan.



Gambar 12. Uji MIC

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

Aktivitas antibakteri pada teh daun *Rhizophora mucronata* dipengaruhi oleh adanya senyawa aktif flavonoid, alkaloid, dan tanin. Senyawa flavonoid menghambat pertumbuhan bakteri dengan jalan merusak membran sel melalui pembentukan senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler. Aktifitas lain dari flavonoid yang dapat menghambat bakteri adalah melalui jalur metabolisme energi. Senyawa alkaloid menghambat bakteri dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh. Mekanisme lain antibakteri alkaloid yaitu komponen alkaloid diketahui sebagai interkelator DNA dan menghambat enzim topoisomerase sel bakteri. Berbeda dengan flavonoid dan alkaloid. Adanya tanin pada dinding sel, dapat mengakibatkan sel bakteri lisis sehingga sel bakteri akan mati (Vifta *et al.*, 2017).

Tabel 16. Hasil Uji MBC Teh Daun *Rhizophora mucronata* Terhadap Bakteri *E. coli* dan *S. aureus*

Perlakuan	Hasil Uji MBC (Tumbuh/Tidak Tumbuh) Terhadap <i>E. coli</i>	Hasil Uji MBC (Tumbuh/Tidak Tumbuh) Terhadap <i>S.</i> <i>aureus</i>
A	Tumbuh	Tumbuh
B	Tumbuh	Tumbuh
C	Tumbuh	Tumbuh
D	Tumbuh	Tumbuh
E	Tumbuh	Tumbuh

Keterangan: A = Lama Pengeringan 120 menit; B = Lama Pengeringan 130 menit; C = Lama Pengeringan 140 menit; D = Kontrol Positif Teh Antibakteri Jati Belanda; E = Kontrol Negatif Teh Hijau Komersial.

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

Hasil uji MBC teh daun *Rhizophora mucronata* terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dengan perbedaan lama pengeringan menunjukkan adanya pertumbuhan koloni *E. coli* dan *S. aureus* pada uji MBC. Seluruh perlakuan menunjukkan adanya pertumbuhan koloni bakteri sehingga semua perlakuan tidak bersifat bakteriosida serta belum mampu membunuh setiap koloni bakteri. Uji MBC juga dilakukan pada kloramfenikol sebagai pembanding antibiotik yang menunjukkan tidak ada pertumbuhan koloni terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa seduhan teh dengan perbedaan lama pengeringan tidak menunjukkan kemampuan membunuh bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, sehingga MBC belum dapat ditentukan. Hal yang dapat disimpulkan dari hasil tersebut yaitu perbedaan lama pengeringan teh daun *Rhizophora mucronata* hanya menunjukkan kemampuan untuk menghambat bakteri.

4.2.3 Penentuan Perlakuan Terbaik (Metode de Garmo)

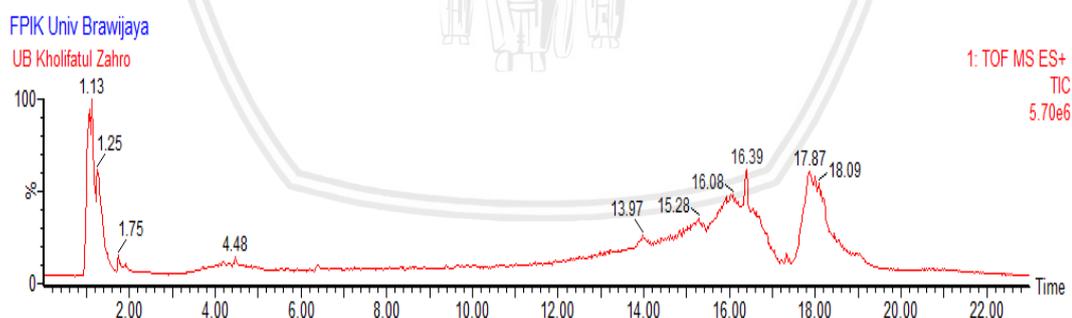
Penentuan teh daun *Rhizophora mucronata* terbaik menggunakan metode de Garmo. Metode de Garmo dilakukan dengan memberi bobot variabel (skor) pada tiap parameter yang memberikan pengaruh terhadap teh yang dihasilkan setiap perlakuan. Parameter yang digunakan dalam penelitian ini yaitu organoleptik, daya hambat dan MIC. Berdasarkan penentuan perlakuan terbaik dengan metode de Garmo dapat disimpulkan bahwa perlakuan terbaik yaitu pada lama pengeringan 140 menit. Komposisi kandungan teh daun *Rhizophora mucronata* dengan lama pengeringan terbaik dapat dilihat pada Tabel 17.

Tabel 17. Komposisi kandungan teh terbaik

Parameter	Hasil Analisa
Organoleptik Hedonik Warna	1,6±0,63
Organoleptik Hedonik Aroma	2,6±0,72
Organoleptik Hedonik Rasa	4±0,64
Organoleptik Skoring Warna	4±0,61
Organoleptik Skoring Aroma	3,3±0,60
Organoleptik Skoring Rasa	3,5±0,94
Daya Hambat Terhadap <i>E. coli</i>	3,90±0,65 mm
Daya Hambat Terhadap <i>S. aureus</i>	4,94±0,48 mm
Nilai OD Terhadap <i>E. coli</i>	-0,033
Nilai OD Terhadap <i>S. aureus</i>	-0,041

4.2.4 LCMS

Identifikasi senyawa bioaktif dilakukan dengan menggunakan metode LC-MS pada lama pengeringan yang terpilih yaitu teh daun *Rhizophora mucronata* dengan lama pengeringan 140 menit dari perlakuan terbaik dengan metode de Garmo. Hasil identifikasi senyawa bioaktif disajikan dalam bentuk kromatogram dengan peak (puncak) dalam waktu retensi tertentu. Hasil identifikasi senyawa bioaktif teh hijau daun *R. mucronata* dengan lama pengeringan 140 menit dapat dilihat pada gambar 10.



Gambar 13. Hasil Identifikasi Senyawa Bioaktif Teh Hijau Daun *Rhizophora mucronata*

Berdasarkan senyawa hasil kromatogram di atas, dapat diketahui bahwa senyawa-senyawa yang berhasil terlihat pada detik 1,13; 1,25; 1,75; 4,48; 13,97; 15,28; 16,08; 16,39; 17,87; 18,09. Senyawa yang teridentifikasi dari retensi waktu tersebut hanya terdapat pada detik; 1,39; 16,55; 1,25; 4,511. Dugaan

Senyawa pada Teh Hijau Daun *R. mucronata* dengan lama pengeringan 140 menit dapat dilihat pada Tabel 18.

Tabel 18. Dugaan Senyawa pada Teh Daun *Rhizophora mucronata*

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

5-6-isopropylidene-l-ascorbic acid merupakan *prodrugs* dari vitamin C. Vitamin C adalah agen pereduksi kuat dan penangkap radikal bebas dalam sistem metabolisme tubuh. Vitamin C terlibat dalam lini pertama pertahanan antioksidan, melindungi membran lipid, dan protein dari kerusakan oksidatif. Sebagai molekul yang larut dalam air, vitamin C dapat bekerja baik di dalam maupun di luar sel, dan dapat menetralkan radikal bebas serta mencegah kerusakan akibat radikal bebas. Vitamin C merupakan sumber elektron untuk radikal bebas yang mencari elektron untuk mendapatkan kembali stabilitasnya. Vitamin C sapat menyumbangkan elektron untuk radikal bebas dan menghentikan reaktivitasnya (Pehlivan, 2017)

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

Kafein adalah salah satu jenis alkaloid yang banyak terdapat dalam biji kopi, daun teh, dan biji coklat. Kafein bersifat antibakteri dan termasuk kelompok

senyawa “metilxantin”. Metilxantin merupakan senyawa yang terbentuk secara alami dan termasuk ke dalam derivat xantin yang merupakan golongan senyawa alkaloid. Anggota kelompok metilxantin lainnya adalah teofilin yang terkandung di dalam teh, dan teobromin yang terkandung dalam coklat (Weinberg, 2010).

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



BAB 5. PENUTUP

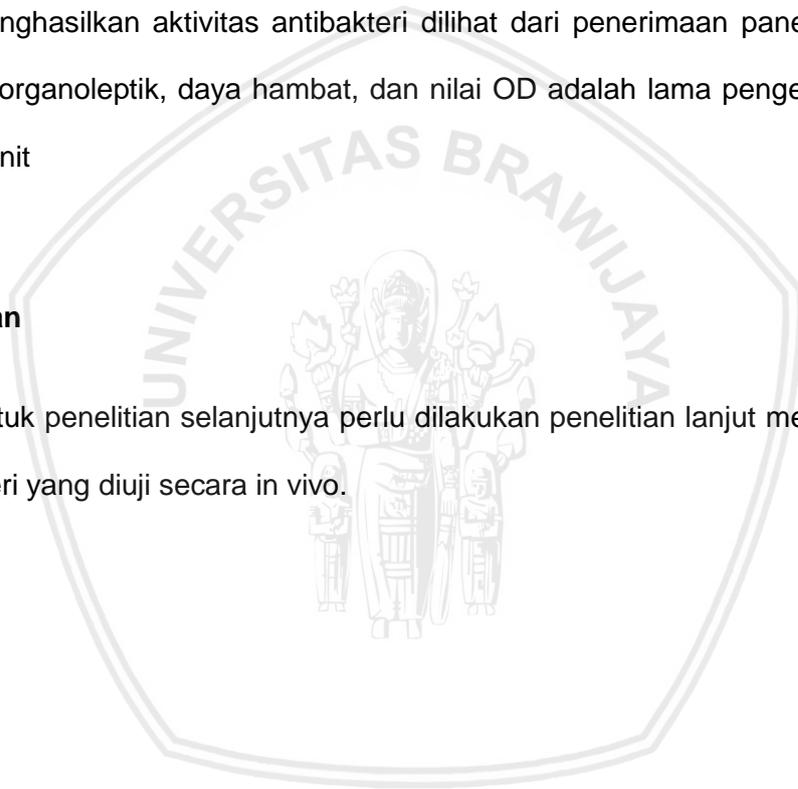
5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diberikan pada penelitian ini adalah:

1. Terdapat pengaruh perbedaan lama waktu pengeringan teh daun *Rhizopora mucronata* terhadap aktivitas antibakteri.
2. Lama waktu pengeringan teh daun *Rhizopora mucronata* terbaik dalam menghasilkan aktivitas antibakteri dilihat dari penerimaan panelis dengan uji organoleptik, daya hambat, dan nilai OD adalah lama pengeringan 140 menit

5.2 Saran

Untuk penelitian selanjutnya perlu dilakukan penelitian lanjut mengenai teh antibakteri yang diuji secara in vivo.



DAFTAR PUSTAKA

- Adri, D., dan Hersoelistyorini, W. 2013. Aktivitas antioksidan dan sifat organoleptik teh daun sirsak (*Annona muricata* linn.) berdasarkan variasi lama pengeringan. *Jurnal Pangan dan Gizi*. **4** (7): 1-12.
- Aksara, R., Musa, W.J.A., Alio, L. 2013. Identifikasi senyawa alkaloid dari ekstrak metanol kulit batang mangga (*mangifera indica* l.). *Jurnal Entropi* 8(1): 514-519.
- Andriani, D dan Rizka, Y. 2014. Potensi antibakteri ekstrak tumbuhan mangrove *Rhizophora mucronata* terhadap pertumbuhan bakteri *Mixedperiodontopatogen*. *Jurnal Kegiatan Gigi* 8 (1): 60-66.
- Angelina, M., Turnip, M., Khotimah, S. 2015. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kemangi (*ocimum sanctum* l.) terhadap pertumbuhan bakteri *escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Protobiont* 4(1): 184-189.
- Angraiyati, D. dan F. Hamzah. 2017. Lama pengeringan pada pembuatan teh herbal daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) terhadap aktivitas antioksidan. *JOM FAPERTA*. **4**(1): 1-12.
- Anindita, R., Retnaningsih., Suprapti, N.H. 2012. Potensi teh hijau (*camelia sinensis* l.) dalam perbaikan fungsi Hepar pada mencit yang diinduksi monosodium glutamat (msg). *Buletin Anatomi dan Fisiologi* **20**(2): 15-23.
- Arima, H., H. Ashida dan G. Danno. 2014. Rutin-enhanced antibacterial activities of flavonoids against bacillus cereus and salmonella enteritidis. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. **66**(5): 1009-1014.
- Arumugam, S., Palanisamy, D., Sambandam, R.T. 2014. Identification of bioactive compounds of *rhizophora mucronata* poir. Leaves using supercritical fluid extraction and GC-MS. *Word Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* **3**(10): 1621-1631.
- Ashok, P.K dan Upadhyaya. 2012. Tannins are astringent. *Journal of Phytochemistry* **1**(3): 45-50.
- Assidqi, Khoirunnisa, W. Tjahjaningsih dan S. Sigit. 2012. potensi ekstrak daun patikan kebo (*Euphorbia hirta*) sebagai antibakteri terhadap *Aeromonas hydrophila* secara *in vitro*. *Journal of Marine and Coastal Science*. **1** (2): 113 – 124.
- Atmoko, T dan Sidiyasa, K. 2007. Hutan mangrove dan peranannya dalam melindungi ekosistem pantai. *Prosiding Seminar Pemanfaatan HHBK dan Konservasi Biodiversitas menuju Hutan Lestari*.
- Batool, N., Shahzad, A., Ilyas, N. 2014. Asiatic mangrove (*Rhizophora mucronata*) – An overview. *European Academic Research* **2**(3): 3348-3363.
- Bawinto, A.S., Eunike, M., Bertie, E.K. 2015. Analisa Kadar Air, pH, Organoleptik, dan Kapang pada Produk Ikan Tuna (*Thunnus* sp) Asap, di Kelurahan

Girian Bawah, Kota Bitung, Sulawesi Utara. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*. **3**(2): 55-65.

[BSN] Badan Standarisasi Nasional. 2016. SNI 3945:2016 Syarat Mutu Teh Hijau. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional. Hal 8.

Chrissanty, P. A. 2011. Penurunan kadar tanin pada buah mangrove jenis *Brugueira gymnorrhiza*, *Rhizophora stylosa* dan *Avicennia marina* untuk diolah menjadi tepung mangrove. *Jurnal Industria*. **1**(1): 31 – 39.

De Garmo. 1984. *Materials and Processes in Manufacture*, Edisi ke 7. Jakarta: PT. Pradaya Paramita. 1298 hlm..

Dewi, A.K. 2013. Isolasi, identifikasi dan uji sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap *Amoxicillin* dari sampel susu kambing peranakan ettawa (PE) penderita mastitis di wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sain Veteran*. **31**(2): 138-150.

Elfidasari, D., Saraswati, A.M., Nufadianti, G., Samiah, R., Setiowati, V. 2011. Perbandingan kualitas es di lingkungan Universitas Al Azhar Indonesia dengan restoran *fast food* di daerah Senayan dengan indikator jumlah *Escherichia coli* terlarut. *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains Dan Teknologi* **1**(1): 18-23.

Ergina, S. Nuryanti dan I. D. Pursitasari. 2014. Uji kualitatif senyawa metabolit sekunder pada daun palado (*Agave angustifolia*) yang diekstraksi dengan pelarut air dan etanol. *Jurnal Akademika Kimia*. **3**(3): 165-172.

Febrina, L., Ida, D.R., Saronom, S. 2017. Uji aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan antioksidan dari ekstrak air tumbuhan binara (*Artemisia vulgaris* L.). *Jurnal Pendidikan Kimia* **9**(2): 311-317.

Fратиwi, Y. 2015. The potential of guava leaf (*Psidium guajava* L.) for diarrhea. *Journal Majority* **4**(1): 113-118.

Hamid, A.A., O.O, Alyelaagbe., L.A, Usman., O.M, Ameen., A, Lawai. 2010. Antioxidants: Its medicinal and pharmacological applications. *African Journal of Pure and Applied Chemistry* **4**(8): 142-151.

Handayani, V., A. R. Ahmad dan M. Sudir. 2016. Uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol bunga dan daun patikala (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.Sm) menggunakan metode DPPH. *Pharm Sci Res*. **1** (2): 86-93.

Hely, E., Muhammad, A.Z., Ahmad, A. 2018. Pengaruh Lama Pengeringan Terhadap Sifat Fisiko Kimia Teh Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.). *Jurnal AGROTEK*. **5**(1): 1-9.

Idrus, A.A., Mertha, I.G., Hadiprayitno., Ilhamdi, M.L. 2014. Kekhasan morfologi spesies mangrove di Gili Sulat. *Jurnal Biologi Tropis* **14**(2): 120-128.

Karimela, E.J., Ijong, F.G., Dien, H.A. 2017. Karakteristik staphylococcus aureus yang di isolasi dari ikan asap Pinekuhe hasil olahan tradisional Kabupaten Sangihe. *JPHPI*. **20** (1): 188-198.

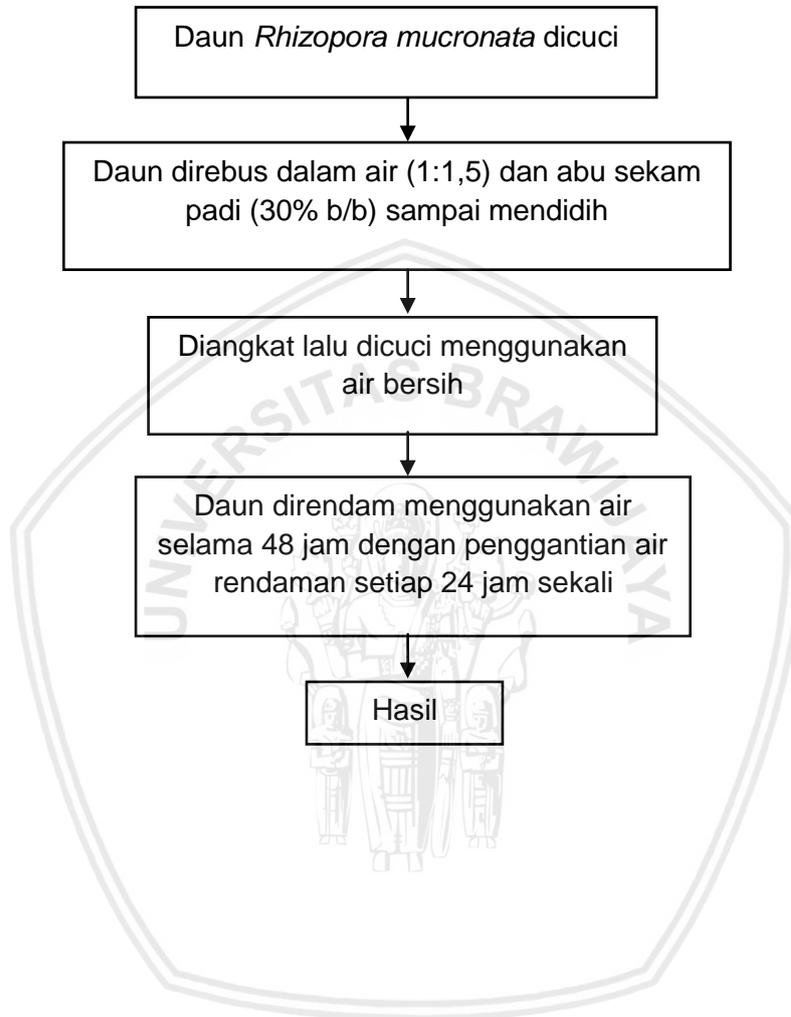
- Kasitowati, R. D., A. Yamindago, M. Safitri. 2017. Potensi Antioksidan dan Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Mangrove *Rhizophora mucronata*, Pilang Probolinggo. *Journal of Fisheries and Marine Science*. **1**(1): 72-77.
- Katno., Awal P.K., Sutjipto. 2008. Pengaruh Waktu Pengeringan terhadap Kadar Tanin Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.). *jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*. **1**(1): 38-46
- Kim,O.S., 2005, Radical Scavenging Capacity and Antioxidant Activity of The Vitamin Fraction In rice bran. *J Food Sci*. (3): 208- 213
- Kusmarwati, A. dan N. Indriati. 2008. Daya hambat ekstrak bahan aktif biji picung (*Pangium edule* Reinw.) terhadap pertumbuhan bakteri penghasil histamin. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. **3** (1): 29-36.
- Kusumaningrum R, Agus Supriadi, Siti Hanggita R.J. 2013. Karakteristik dan mutu teh bunga lotus (*Nelumbo nucifera*). *Jurnal Fishtech* **3** (1): 9-21.
- Lamusu, D. 2018. Uji Oeganoleptik Jalangkote Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L) sebagai Upaya Diversifikasi Pangan. *Jurnal Pengolahan Pangan*. **3**(1): 9-15.
- Lisdawati, V., Sumali W., L. B. S. Kardono. 2006. *Brine shrimp lethality test* (BSLT) dari berbagai fraksi ekstrak daging buah dan kulit biji mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*). *Bulletin Penelitian Kesegatan*. **34** (3) : 111-118.
- Lubis, T. M., Zuhrawati, F. Susanti, Rusli, N. Asmilia, Muttaqien. 2016. Pengaruh Pemberian Ekstrak Teh Hijau (*Camelia sinensis*) Terhadap Penurunan Kadar Hemoglobin Dan Nilai Hematokrit Pada Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Medika Veterinaria*. **10**(2): 141-143.
- Maesaroh, K., Dikdik, K., Jamaludin, A.A. 2018. Perbandingan Metode Uji Aktivitas Antioksidan DPPH, FRAP dan FIC Terhadap Asam Askorbat, Asam Galat dan Kuarsetin. *Jurnal Chrmica et Natura*. **6**(2): 93-100.
- Magdalena, N. V. dan J. Kusnaidi. 2015. Antibakteri dari ekstrak kasar daun gambir (*Uncaria gambir* var *Cubadak*) microwave-assisted extraction method againts bacterial pathogens. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. **3** (1): 124-135.
- Maharani, T., D. Sukandar dan S. Hermanto. 2016. Karakterisasi senyawa hasil isolasi dari ekstrak etil asetat daun namnam (*Cynometra cauliflora* L.) yang memiliki aktivitas antibakteri. *Jurnal Kimia Valensi*. **2** (1) : 55-62.
- Mahmudah, F. L. dan S. Atun. 2017. Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol temukunci (*Boesenbergia pandurata*) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Penelitian Saintek*. **22** (1): 1-10.
- Malangngi, L.P., Sangi, M..S., Paendong, J.J.E. 2012. Penentuan kandungan tanin dan uji aktivitas antioksidan ekstrak biji buah alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal MIPA UNSRAT online* **1**(1): 5-10.

- Maryam S.T, Baits M, Nadia A. 2016. Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) menggunakan metode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 2(2): 115-118.
- Mawardi, Y.S.A., Yoyok, B.P., Bhakti, E.S. 2016. Kadar Air, Tanin, Warna dan Aroma *Off-Flavour* Minuman Fungsional Daun Sirsak (*Annona Muricata*) dengan Berbagai Konsentrasi Jahe (*Zingiber officinale*). *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 5(3): 94-98.
- Mukhriani, F. Y. Nonci, dan Mumang. 2014. Penetapan kadar tanin total ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa*) secara spektrofotometri uv-vis. Jurusan Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar. 2 (4): 154-158.
- Negara, J.K., Sio, A.K., Rifkhan., Arifin, M., Oktaviana, A.Y., Wihansah, R.R.S., Yusuf, M. 2016. Aspek mikrobiologis serta sensori (rasa, warna, tekstur, aroma) pada dua bentuk penyajian keju yang berbeda. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan* 4 (2): 286-290.
- Ningrum, R., Purwanti, E., Sukarsono. 2016. Identifikasi senyawa alkaloid dari batang karamunting (*rhodomyrtus tomentosa*) sebagai bahan ajar biologi untuk SMA kelas X. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia* 2(3): 231-236.
- Nisa, Regina, B. L. Sari, dan N. F. Utami. 2018. Pengaruh jenis pelarut dan waktu ekstraksi senyawa alkaloid total *green bean* kopi arabika. *Widya Teknik*. 2 (1): 1-10.
- Noor, Juliansyah. 2014. Metodologi Penelitian: skripsi, tesis, disertasi, dan karya ilmiah. Jakarta: Kencana Prenadamedia Group. 313 hlm.
- Oo, C. W., Kassim, M. J. dan Pizzi, A. 2009. Characterization and performance of *Rhizophora apiculata* mangrove polyflavonoid tannins in the adsorption of copper (II) and lead (II). *Industrial Crops and Products*. 30 (1): 152-161.
- Paputungan, Z., Wonggo, D., Kasegar, B.E. 2017. Uji fitokimia dan aktivitas antioksidan buah mangrove *sonneratia alba* di Desa Nunuk Kecamatan Pinolosian Kabupaten Bolaang Mongondow Selatan. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan* 5(3): 190-195.
- Pardede, L. P. Sari, H. Rusmarilin dan E. Yusraini. 2018. Uji aktivitas antioksidan pada perbandingan ekstrak buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) ekstrak dan daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) menggunakan metode frap (*ferric reducing antioxidant power*). *J.Rekayasa Pangan dan Pert.* 6 (3): 368-373.
- Pehlivan, F.A. 2017. Vitamin C: An Antioxidant Agent. *Journal of Intech*. 3(2);23-35.
- Prabawati, I.R., Sukatiningsih., Puspita, S. 2015. Karakterisasi Teh Berbahan Dasar Teh Hijau, Kulit Lidah Buaya dan Jahe dengan Variasi Komposisi dan Suhu Penyeduhan. *Jurnal Berkala Ilmiah Pertanian*. 10(10): 1-5.

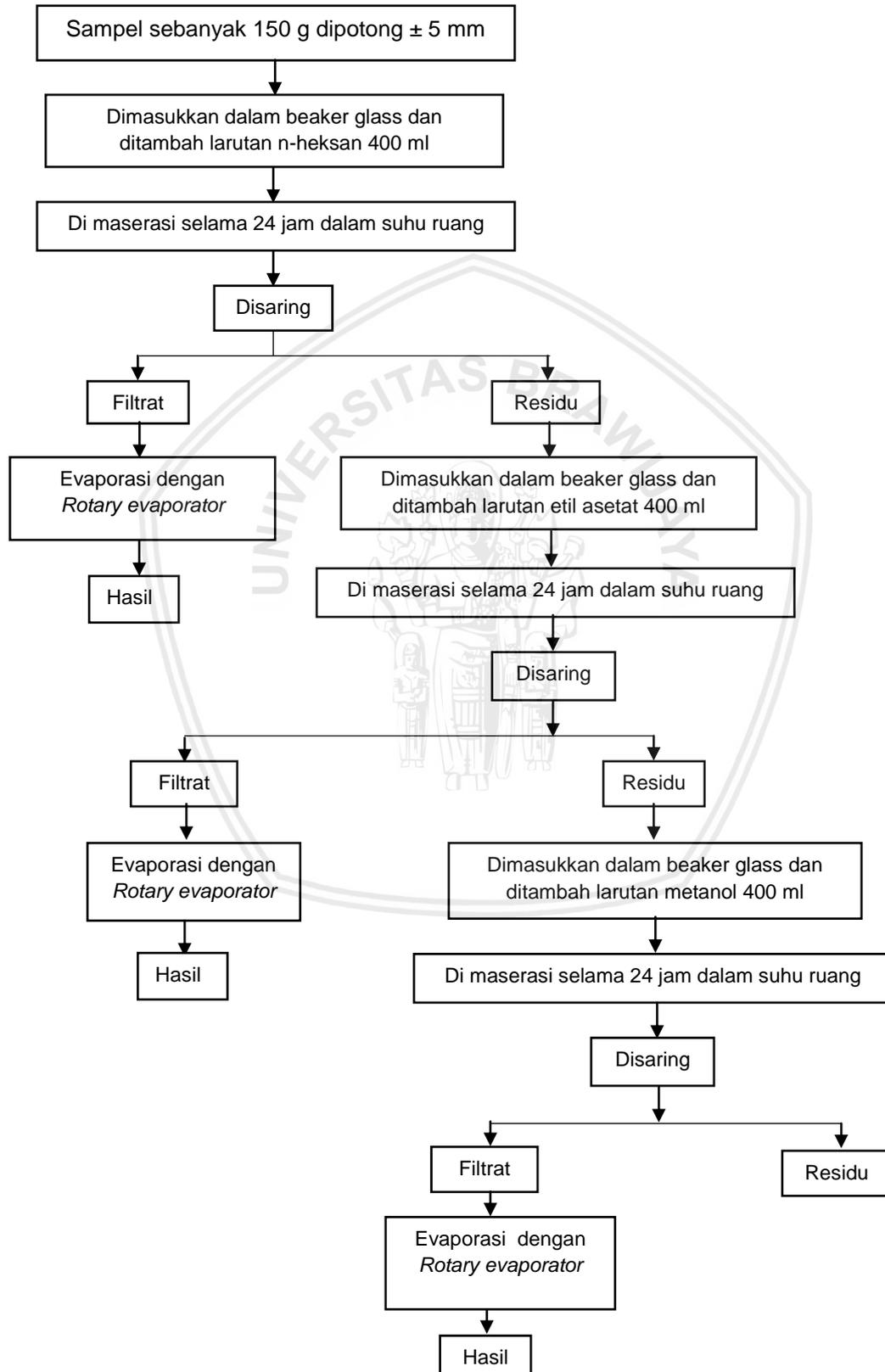
- Prihanto, Asep A., Muhamad Firdaus, Rahmi Nurdiani. 2011. Penapisan Fitokimia dan antibakteri ekstrak metanol mangrove (*Excoecaria agallocha*) dari muara sungai porong. *Berk. Penel. Hayati*. **17**: 69-72.
- Purwaningsih, S., Salamah, E., Sukarno, A.Y.P., Deskawati, E. 2013. *JPHPI* **16**(3): 199-206.
- Puspayanti, N.M., Tellu, H.A.T., Suleman, S.M. 2013. Jenis-jenis tumbuhan mangrove di Desa Lebo Kecamatan Parigi Kabupaten Marigi Moutong dan pengembangannya sebagai media pembelajaran. *Jurnal Ilmu Pendidikan Biologi* **1**: 1-9.
- Putri, S.H., K, Sayuti., H, Nurdin. 2017. Kajian kombinasi daun pepaya (*Carica papaya* L.) dan daun surian (*Toona sureni*, bl, merr) serta aplikasinya pada produk pangan mie basah. *Jurnal Teknotan*. **11** (1): 22-29.
- Redha, A. 2010. Flavonoid: struktur, sifat antioksidatif dan peranannya dalam sistem biologis. *Jurnal Belian* **9**(2): 196-202.
- Ridlo, Ali., R. Pramesti, Koesoemadji, E. Supriyanti, N. Soenardjo. 2017. Aktivitas antioksidan ekstrak daun mangrove *Rhizophora mucronata*. *Buletin Oseanografi Marina*. **6** (2):110–116.
- Rohdiana, D., Raharjo, S., Gardjito, M. 2005. Evaluasi daya hambat tablet *effervescent* teh hijau pada oksidasi asam linoleat. *Majalah Farmasi Indonesia* **16**(2): 76-80.
- Santoso, B., Utomo, R.S., Wiyoga, M.D. 2016. Analisis hubungan senyawa golongan flavonoid dari 24 famili tanaman terhadap aktivitas penangkap radikalnya. *Prosiding Seminar Nasional Kimia UNJANI-HKI 2016* : 139-146.
- Sartika, R., Melki., Anna, I.S.P. Aktivitas antibakteri ekstrak rumput laut *Euचेuma cottonii* terhadap Bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholera* dan *Salmonella typhosa*. *Maspuri Journal* **5**(2): 98-103.
- Setha, B., F.F. Gasperzs, A.P.S. Idris, S. Rahman dan M.N. Mailoa. 2013. Potential of Seaweed *Padina Sp.* as a Source of Antioxidant. *International Journal of Scientific and Technology Research.*, **3**(6): 221-224.
- Soenardjo, N dan Endang, S. 2017. Analisis Kadar Tanin dalam Buah Mangrove *Avicennia marina* dengan Perebusan Dan Lama Perendaman Air yang Berbeda. *Jurnal Kelautan Tropis*. **20**(2): 90-95.
- Soleha, T.U. 2015. Uji kepekaan terhadap antibiotik. *Jurnal Kesehatan Unila* **5** (9): 119-123.
- Sudaryat, Y., Mimin, K., Citra, R.P., Ardi, R., Dadan, R. 2015. Aktivitas antioksidan seduhan sepuluh jenis mutu teh hitam (*Camellia sinensis*(L.) O. Kuntze) Indonesia. *Jurnal Penelitian Teh dan Kina* **2**(18): 95-100.
- Sumampouw, O.J. 2010. Uji *in vitro* aktivitas antibakteri dari daun sirih. *Jurnal Biomedik* **2**(3): 187-193.

- Tarman, K., Purwaningsih, S., Negara, A.A.A.P.P. 2013. Aktivitas antibakteri ekstrak daun bakau hitam (*Rhizophora mucronata*) terhadap bakteri penyebab diare. *JPHPI* **16**(3): 249-258.
- Toy, T.S.S., Benedictus, L.S., Bernat, S.P.H. 2015. Uji daya hambat ekstrak rumput laut *Gracilaria* Sp terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal e-Gigi*. **3**(1):153-159.
- Ufrianto., Tamrin., R.H, Fitri F. 2019. Pemanfaatan bahan-bahan alami yang memiliki aktivitas antioksidan :studi kepustakaan. *Jurnal Sains dan Teknologi Pangan*. **4**(1): 1982-1991.
- Utami, H.F., Rini, B.H., Endah, D.H. 2015. Kualitas Daun Binahong (*Anredera cardifolia*) pada Suhu Pengeringan Berbeda. *Jurnal Biologi*. **4**(2): 51-59.
- Vifta, R. L., M. A. Wansyah dan A. K. Hati. 2017. Perbandingan total rendemen dan skrining antibakteri ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) secara mikrodilusi. *Journal of Science and Applicative Technology*. **1** (2): 87-93.
- Wardani, R.K dan Fernanda, M.A.H.F. 2016. Analisis kadar kafein dari serbuk teh hitam, teh hijau dan teh putih (*Camellia sinensis* L.). *Journal of Pharmacy and Science* **1** (1): 15-17.
- Weinberg, Bennett Alan & Bonnie K. Bealer. 2010. The Miracle of Caffeine: Manfaat Tak Terduga Kafein Berdasarkan Penelitian Paling Mutakhir. Bandung: Qanita.
- Widyasanti, A. dan S. Nurjanah. 2018. Pengaruh lama perebusan jagung (zea mays l) dengan penambahan konsentrasi CaCO₃ pada emping jagung. *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia*. **10** (1): 7-15.
- Yamin, M., Ayu, D.F., Hamzah,F. 2017. Lama pengeringan terhadap aktivitas antioksidan dan mutu teh herbal daun ketepeng cina (*Cassia alata* L.). *Jom Faperta* **4**(2): 1-15.
- Yulianti, Rizki, A. Dahlia dan A. R. Ahmad. 2014. Penetapan kadar flavonoid total dari ekstrak etanolik daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra* L. Miq). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. **1** (1): 15-18.
- Yuningsih, R., Samingan., Muhibbuddin. 2012. Pengaruh Berat dan Lama Waktu Penyeduhan Terhadap Kadar Kafein Teh. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi*. **4**(2): 82-87.

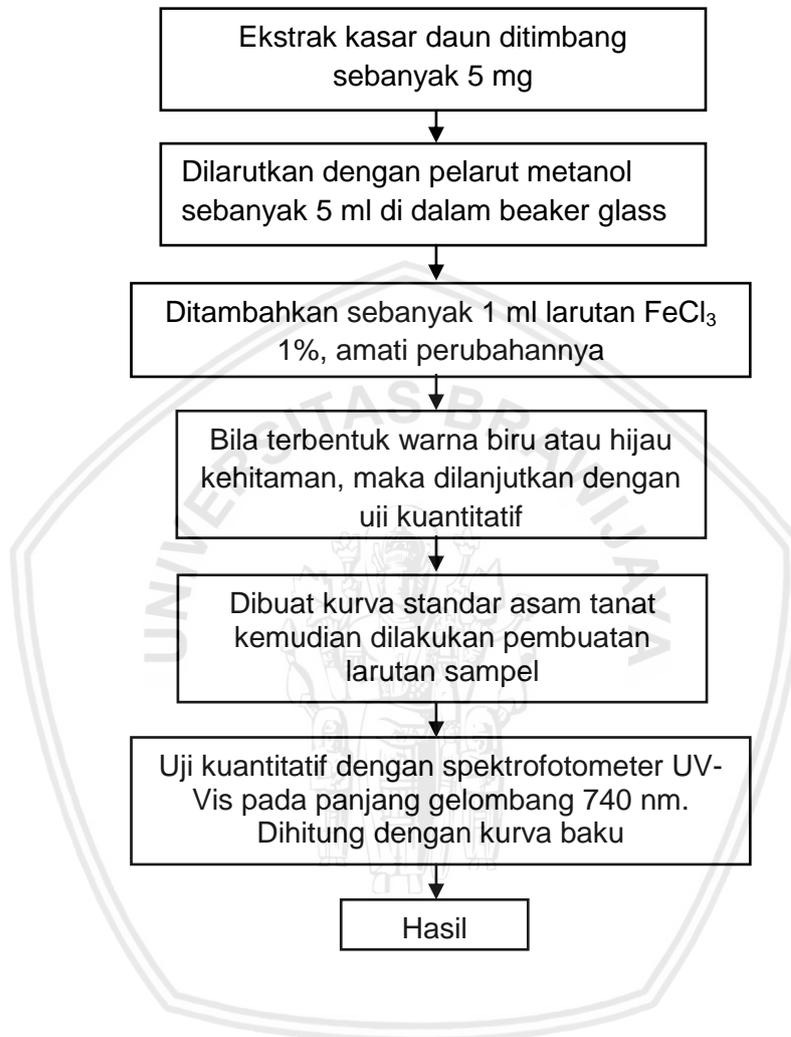
LAMPIRAN

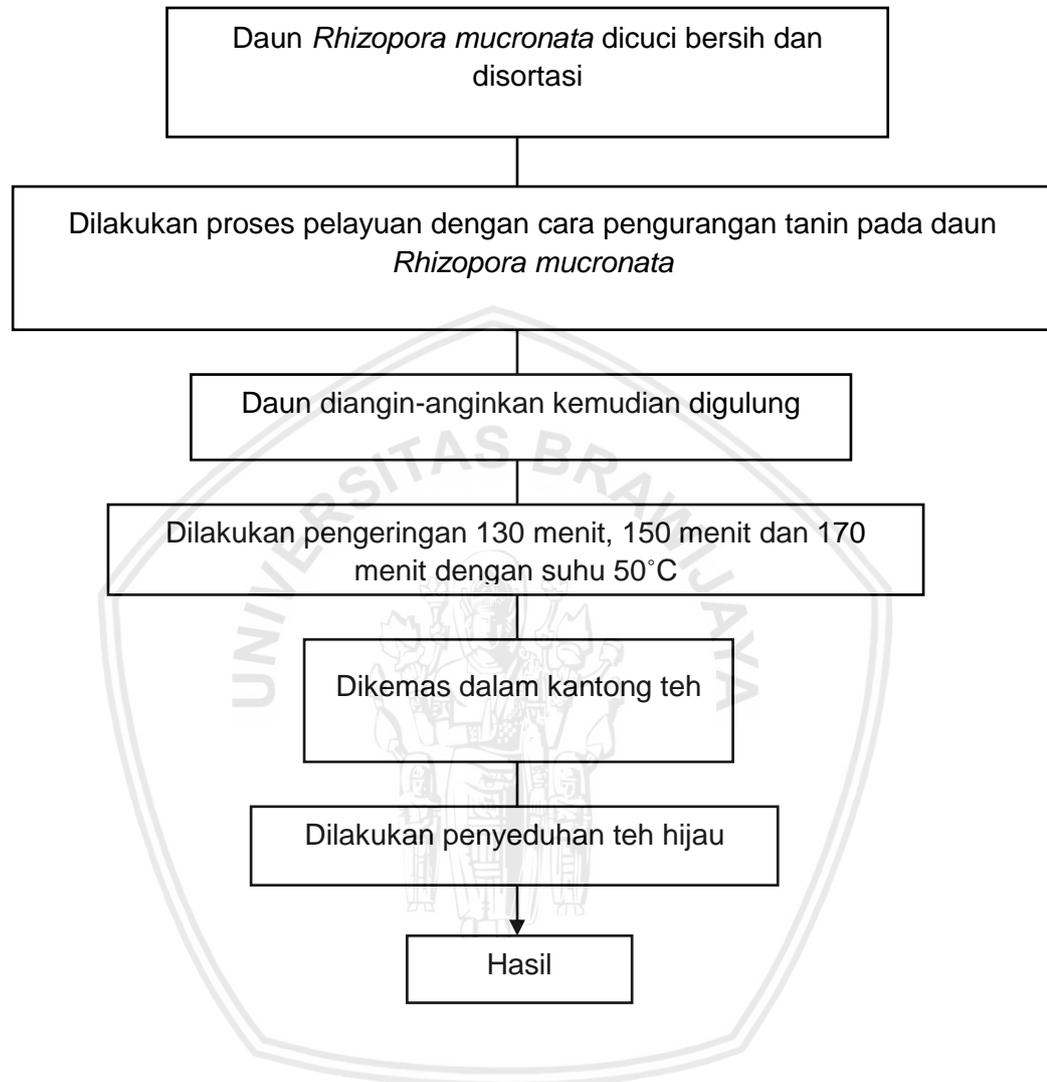
Lampiran 1. Skema Pengurangan Tanin Daun *Rhizopora mucronata*

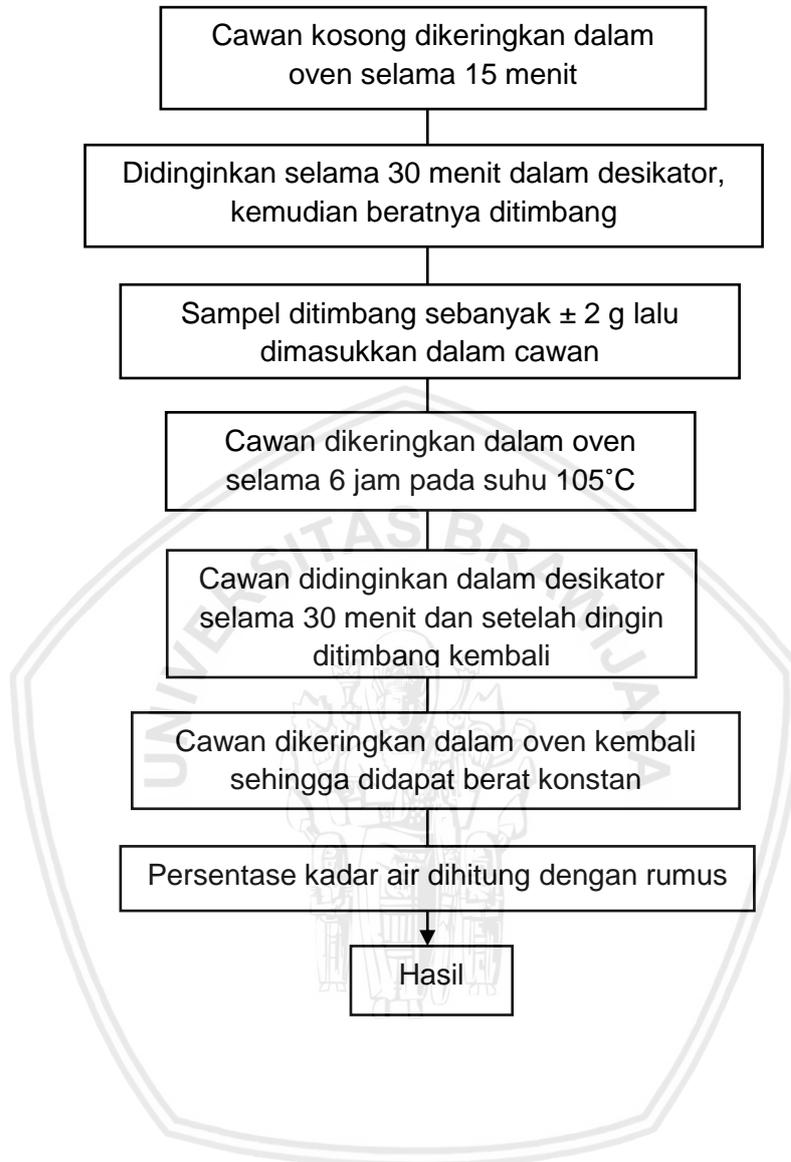
Lampiran 2. Skema Ekstraksi Maserasi Daun *Rhizopora mucronata*
(Setelah Pengurangan Tanin)

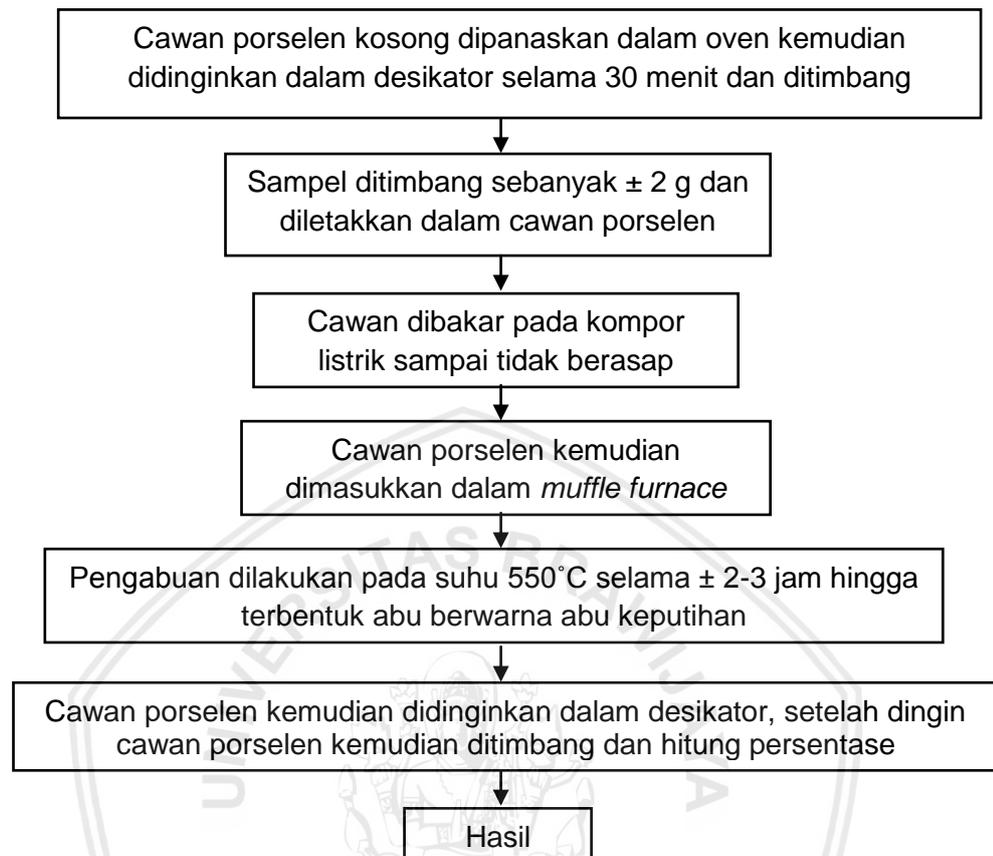


Lampiran 3. Skema Uji Tanin Daun *Rhizopora mucronata* Setelah Pengurangan Tanin

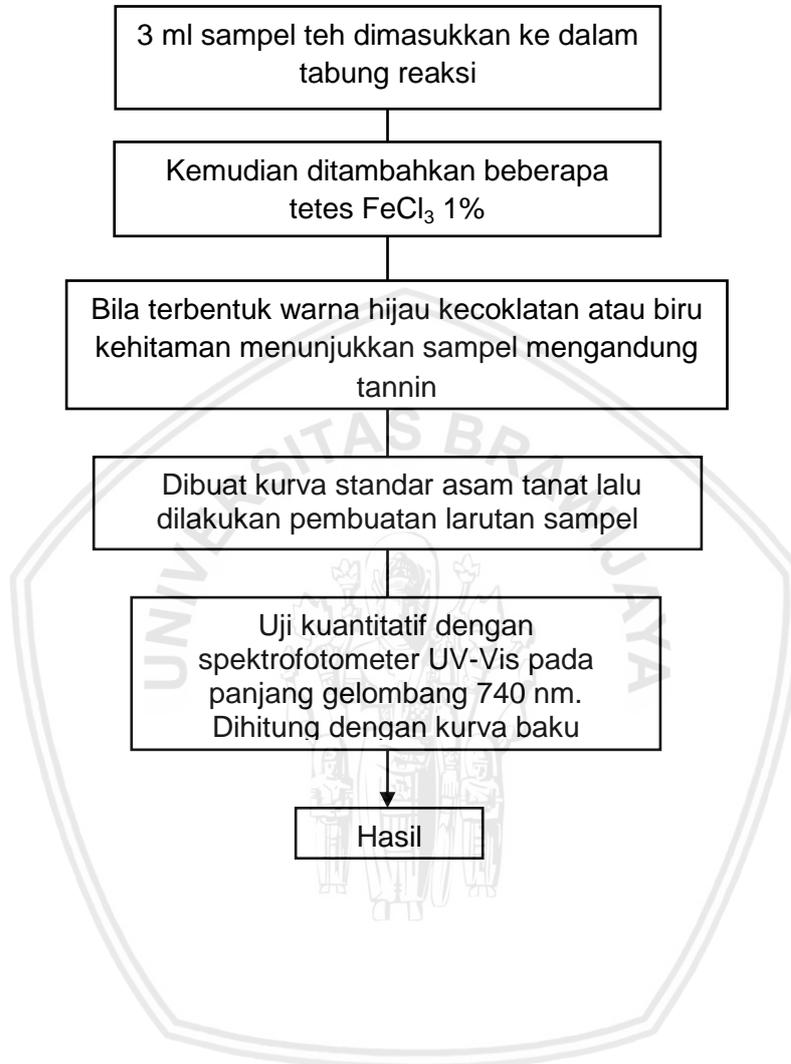


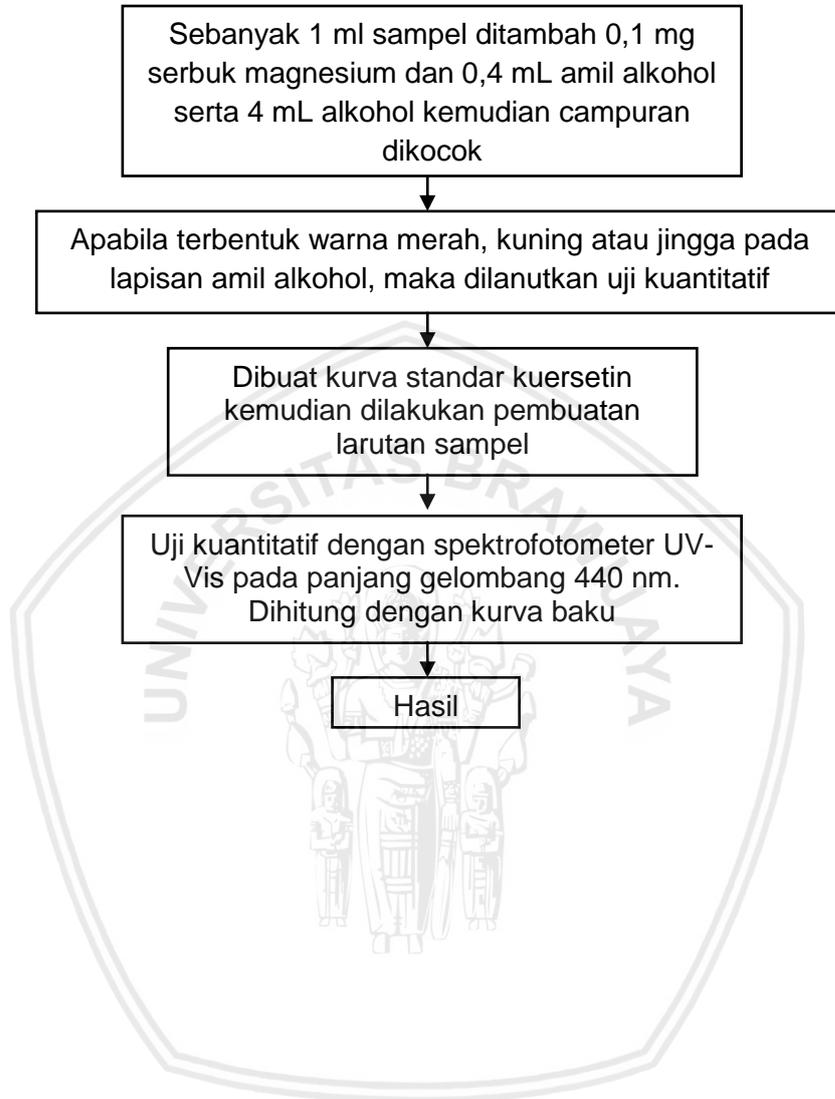
Lampiran 4. Skema Pembuatan Teh Daun *Rhizopora mucronata*

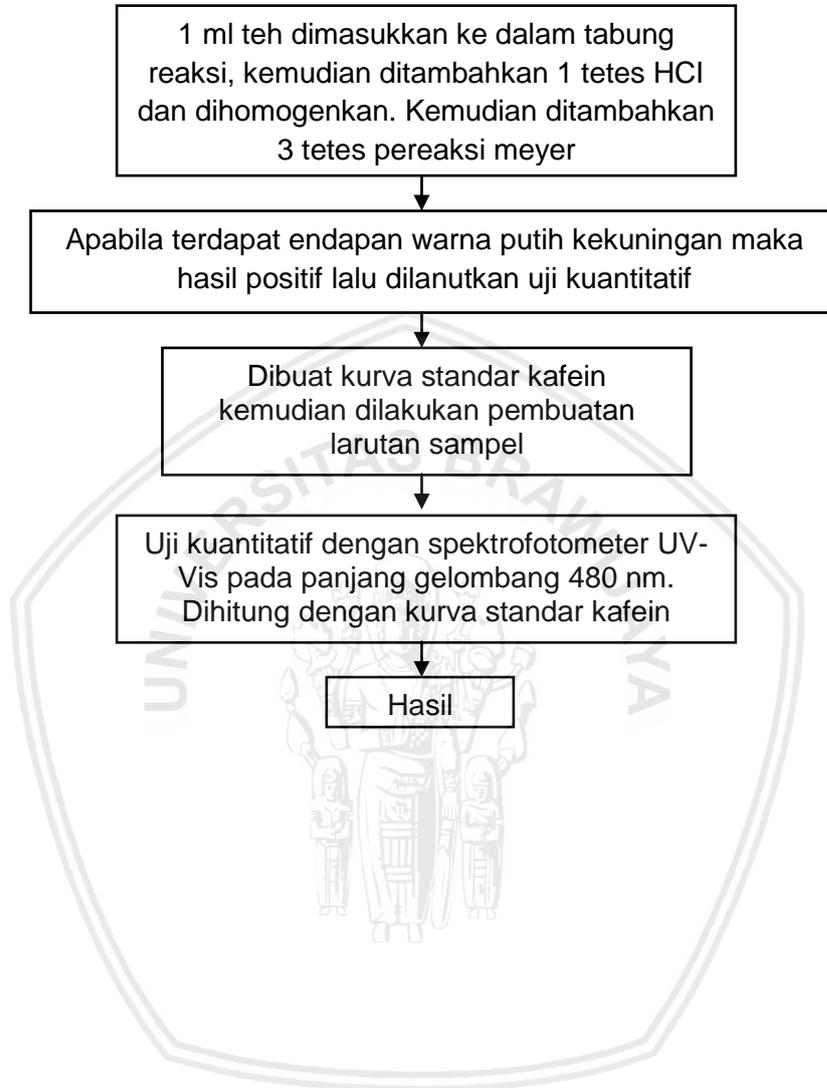
Lampiran 5. Skema Uji Kadar Air

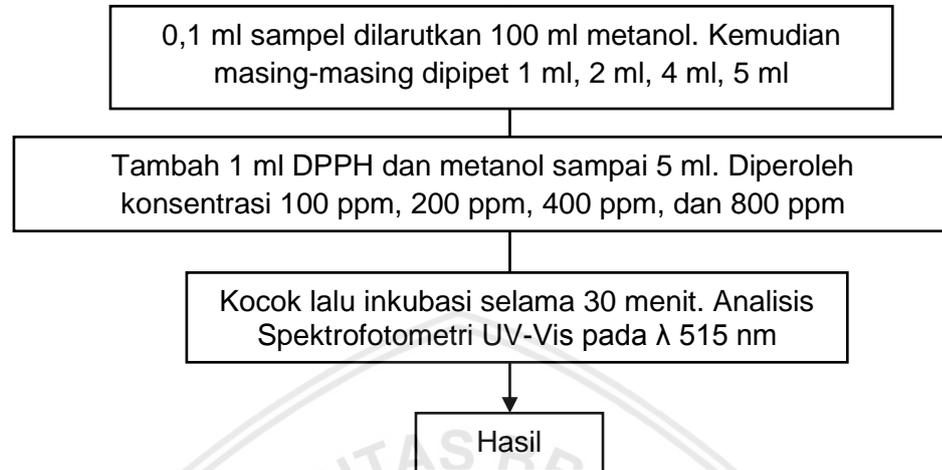
Lampiran 6. Skema Uji Kadar Abu

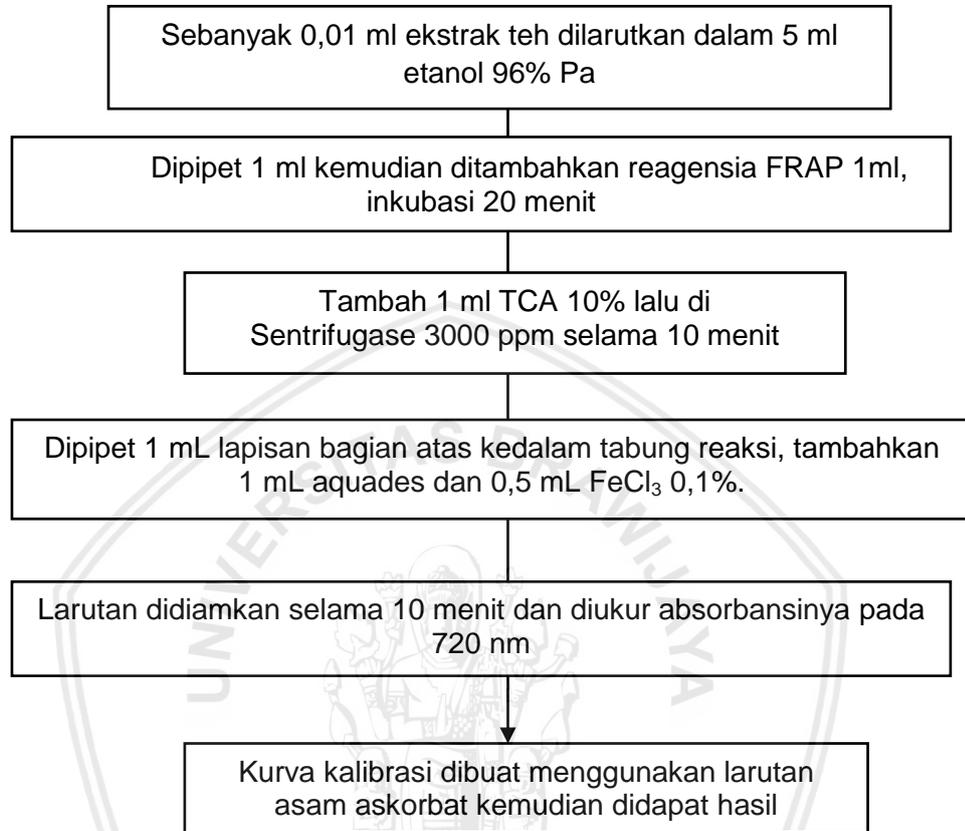
Lampiran 7. Skema Uji Tanin



Lampiran 8. Skema Uji Flavonoid

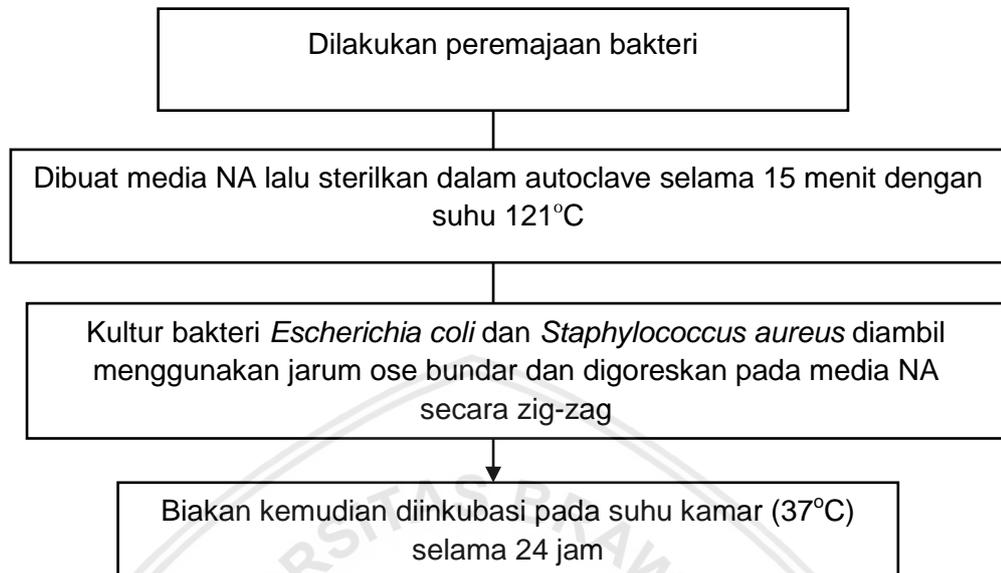
Lampiran 9. Skema Uji Alkaloid

Lampiran 10. Skema Penentuan IC₅₀ Ekstrak Teh

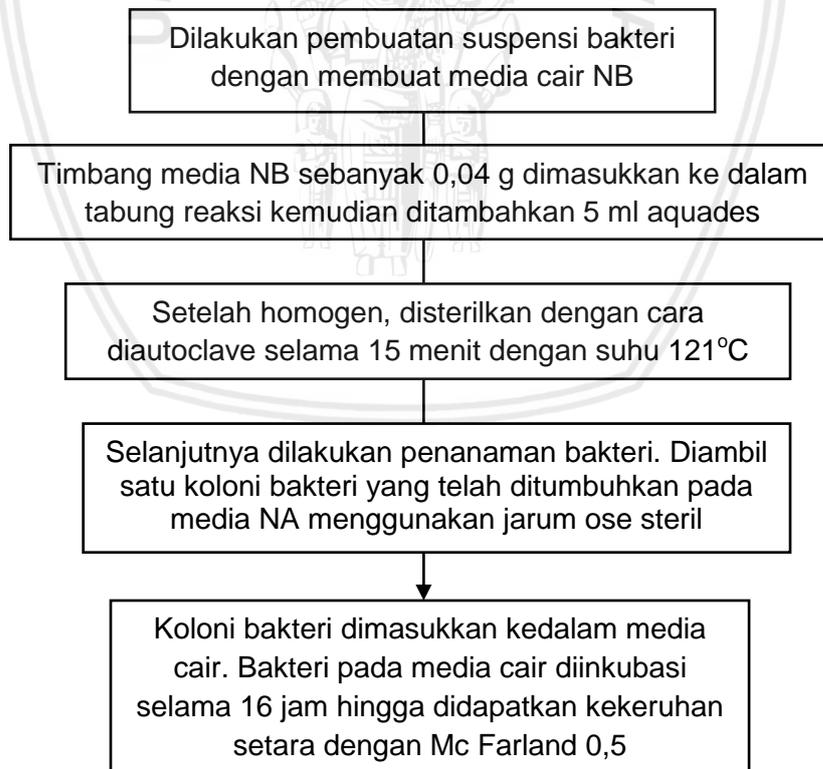
Lampiran 11. Skema Uji Antioksidan Metode FRAP

Lampiran 12. Skema Uji Antibakteri

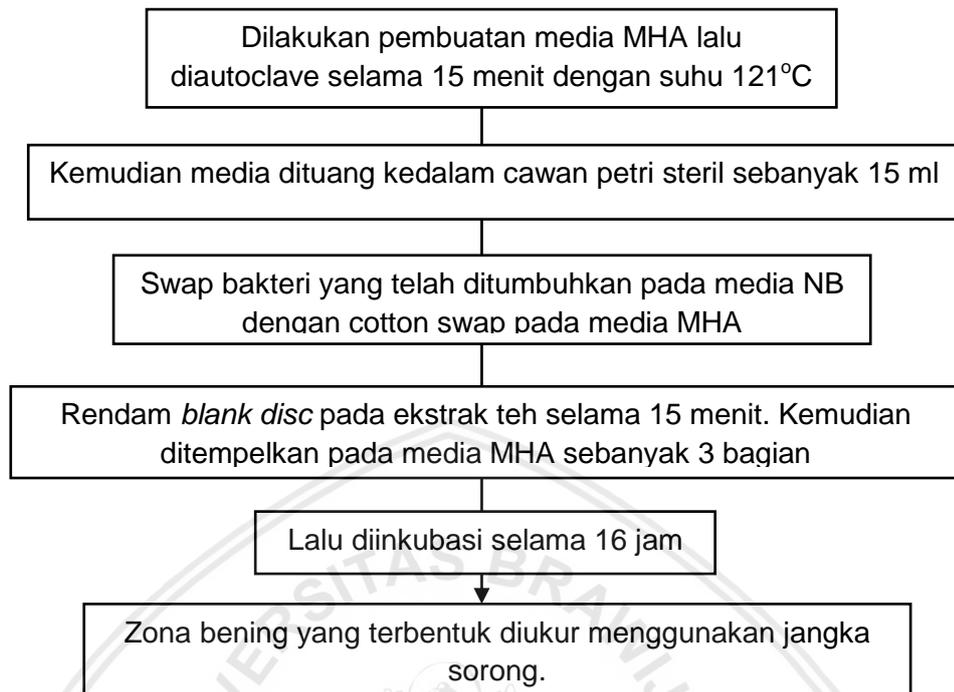
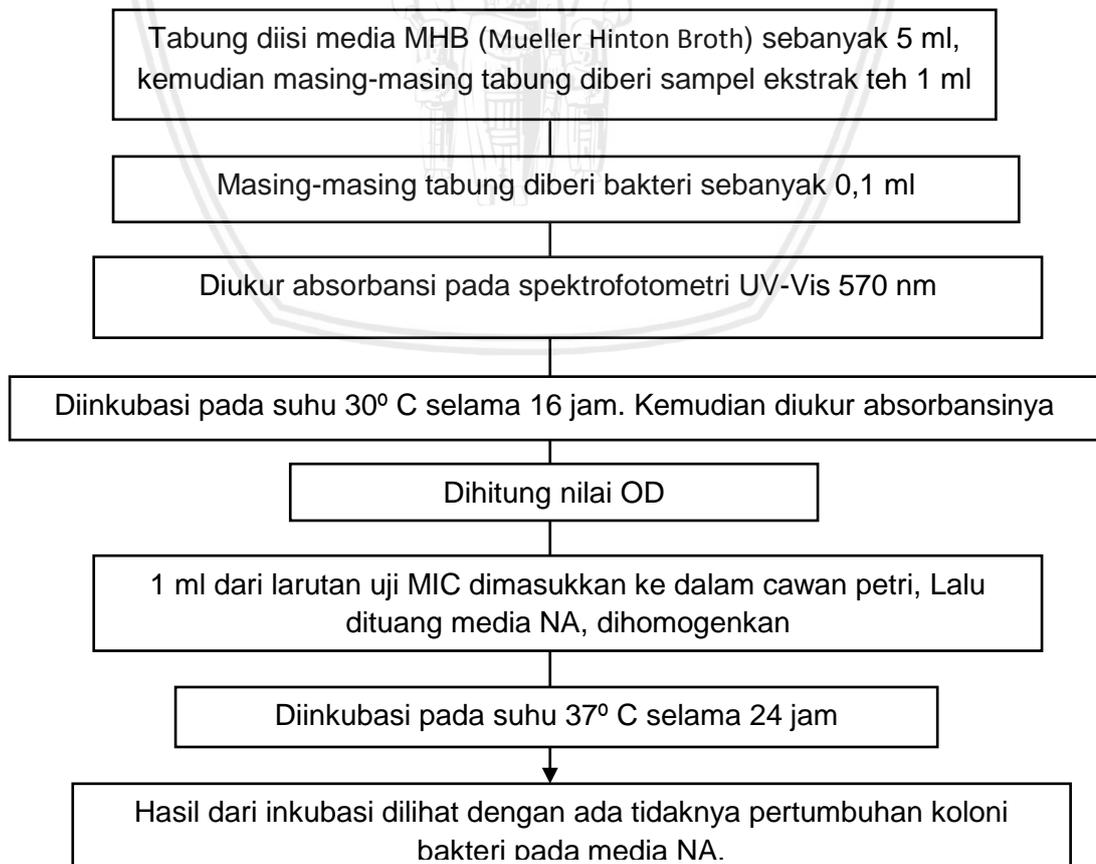
a) Peremajaan Bakteri

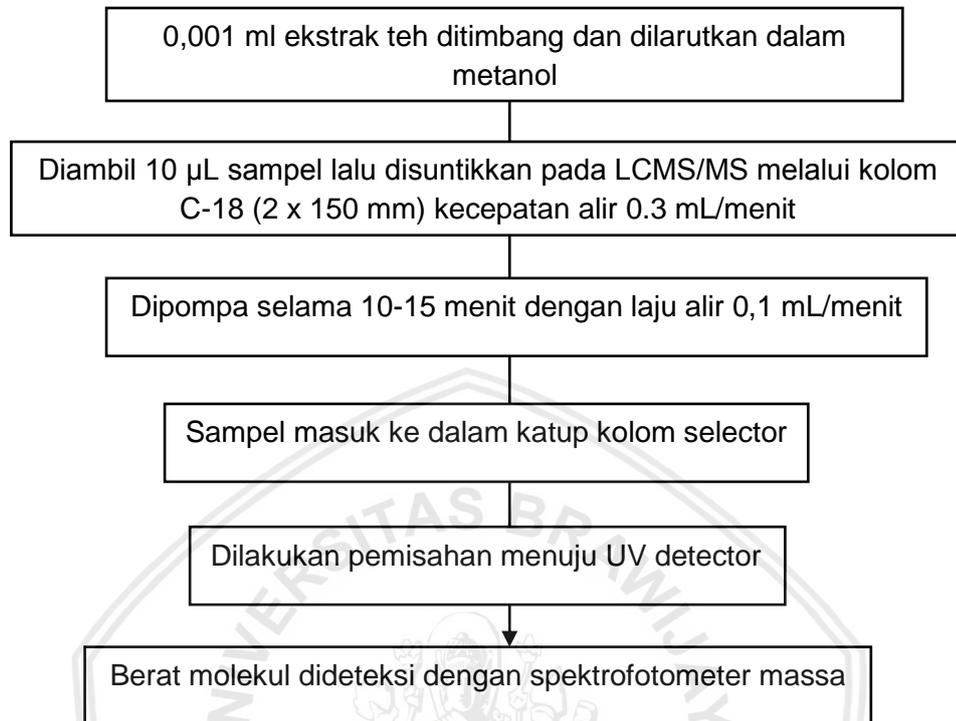


b) Pembuatan Suspensi Bakteri



c) Uji Daya Hambat dengan Cakram

d) Penentuan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC)

Lampiran 13. Skema Uji LC-MS

Lampiran 14. Perhitungan dan Pembuatan Konsentrasi Uji Kadar Tanin

- **Pembuatan Larutan Standar Asam Tanat**

Larutan standar asam tanat (konsentrasi 1000 ppm) dibuat dengan mengambil asam tanat sebanyak 0,1 gram lalu ditambahkan dengan aquadest hingga mencapai volume 100 mL

Konsentrasi 0 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 1000 = 100 \times 0$$

$$V1 \times 1000 = 0$$

$$V1 = 0 \text{ ml}$$

Konsentrasi 60 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 1000 = 100 \times 60$$

$$V1 \times 1000 = 6000$$

$$V1 = 6 \text{ ml}$$

Konsentrasi 20 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 1000 = 100 \times 20$$

$$V1 \times 1000 = 2000$$

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

Konsentrasi 80 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 1000 = 100 \times 80$$

$$V1 \times 1000 = 8000$$

$$V1 = 8 \text{ ml}$$

Konsentrasi 40 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 1000 = 100 \times 40$$

$$V1 \times 1000 = 4000$$

$$V1 = 4 \text{ ml}$$

Konsentrasi 100 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 1000 = 100 \times 100$$

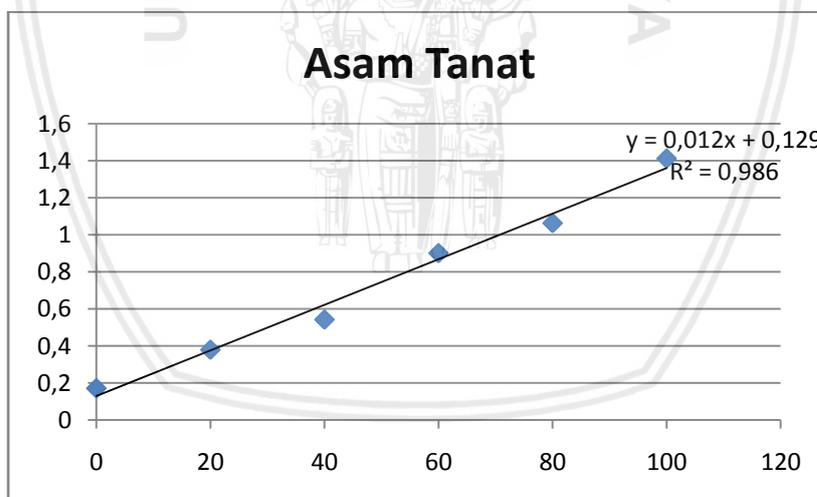
$$V1 \times 1000 = 10000$$

$$V1 = 10 \text{ ml}$$

- **Pembuatan Kurva Standar Asam Tanat**

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
0	0,171
20	0,379
40	0,542
60	0,901
80	1,063
100	1,412

Konsentrasi sampel yang digunakan dalam penelitian dialurkan dengan hasil absorbansi untuk membentuk suatu grafik sehingga menghasilkan persamaan regresi linier seperti pada Gambar.



- **Perhitungan Penurunan Tanin dengan Abu Sekam**

Tanin Setelah Abu Sekam

Pelarut	Absorbansi	Konsentrasi (ppm)
Metanol	0,791	55,166667
Etil Asetat	0,677	45,666667
N-Heksan	0,636	42,25

Berdasarkan persamaan grafik diatas yaitu $y = 0,0123x + 0,1292$. Contoh perhitungan konsentrasi tanin sampel dengan pelarut metanol sebagai berikut:

$$y = a + bx, y = \text{absorbansi}$$

$$y = 0,0123x + 0,1292$$

$$0,791 = 0,0123x + 0,1292$$

$$x = 55,166667 \text{ ppm}$$

- **Perhitungan Konsentrasi Kadar Tanin Teh Hijau Daun *R. mucronata***
- Hasil Pengukuran Konsentrasi Kadar Tanin

Ulangan	Absorbansi Pengeringan			Konsentrasi Tanin (ppm)		
	130 menit	150 menit	170 menit	130 menit	150 menit	170 menit
1	1,214	1,802	2,215	90,4	139,4	173,8
2	1,229	1,807	2,212	91,6	139,8	173,6
3	1,239	1,79	2,193	92,5	138,4	172
4	1,219	1,778	2,204	90,8	137,4	172,9
5	1,226	1,799	2,198	91,4	139,2	172,4
6	1,231	1,797	2,209	91,8	139	173,3

Contoh pengolahan data nilai kadar tanin teh hijau daun *R. mucronata* untuk perlakuan pengeringan 130 menit ulangan 1 dengan mencari konsentrasi yaitu berdasarkan persamaan grafik diatas yaitu $y = 0,0123x + 0,1292$. Perhitungan konsentrasi tanin sampel adalah sebagai berikut:

$$y = a + bx, y = \text{absorbansi}$$

$$y = 0,0123x + 0,1292$$

$$1,214 = 0,0123x + 0,1292$$

$$x = 90,4 \text{ ppm}$$

- Hasil Analisa Keragaman dan Uji Tukey Konsentrasi Kadar Tanin Teh Daun *R. mucronata*

Descriptives

Kadar Tanin(ppm)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error
Pengeringan 130 menit	6	91.4167	.74409	.30377
Pengeringan 150 menit	6	1.3887E2	.85479	.34897
Pengeringan 170 menit	6	1.7300E2	.70143	.28636
Total	18	1.3443E2	34.43129	8.11553

ANOVA

Kadar Tanin(ppm)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	20144.854	2	10072.427	1.701E4	.000
Within Groups	8.882	15	.592		
Total	20153.736	17			

Kadar Tanin(ppm)

Tukey HSD

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Pengeringan 130 menit	6	91.4167		
Pengeringan 150 menit	6		1.3887E2	
Pengeringan 170 menit	6			1.7300E2
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 15. Perhitungan Kadar Air

- Hasil Perhitungan Kadar Air Teh Daun *R. mucronata*

Perlakuan	Ulangan	Berat sampel (g)	Berat Cawan + Sampel (g)	Berat Akhir (g)	Kadar Air (%)
130 menit	1	2	24,1	23,92	9,0
	2	2	24,2	24,03	8,5
	3	2	25,2	25,03	8,7
	4	2	23,9	23,74	8,0
	5	2	24,1	23,94	7,9
	6	2	24,2	24,04	8,2
150 menit	1	2	25,2	25,06	7,0
	2	2	23,9	23,75	7,5
	3	2	24,1	23,94	8,0
	4	2	24,2	24,05	7,5
	5	2	25,2	25,06	7,0
	6	2	23,9	23,74	7,8
170 menit	1	2	24,1	23,97	6,5
	2	2	24,2	24,08	6,0
	3	2	25,2	25,06	6,8
	4	2	23,9	23,76	7,0
	5	2	24,1	23,95	7,5
	6	2	24,2	24,08	6,2

Contoh perhitungan kadar air perlakuan 130 menit pada ulangan 1 yaitu

$$\text{Berat cawan} = 22,1 \text{ g} \qquad \text{Berat Sampel} = 2 \text{ g}$$

$$\text{Berat Akhir} = 23,94 \text{ g}$$

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

$$= \frac{(24,1) - 23,9}{2} \times 100\%$$

$$= 9\%$$

- Hasil Analisa Keragaman dan Uji Tukey Kadar Air Teh Daun *R. mucronata*

Descriptives

Kadar Air

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error
Lama Pengeringan 130 menit	6	8.3833	.42622	.17401
Lama Pengeringan 150 menit	6	7.4667	.40825	.16667
Lama Pengeringan 170 menit	6	6.6667	.55015	.22460
Total	18	7.5056	.84399	.19893

ANOVA

Kadar Air

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8.854	2	4.427	20.402	.000
Within Groups	3.255	15	.217		
Total	12.109	17			

Kadar Air

Tukey HSD

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Lama Pengeringan 170 menit	6	6.6667		
Lama Pengeringan 150 menit	6		7.4667	
Lama Pengeringan 130 menit	6			8.3833
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 14. Perhitungan Kadar Abu

Perhitungan Kadar Abu Teh Daun *R. mucronata*

Perlakuan	Ulangan	Berat sampel (g)	Berat Awal (g)	Berat Akhir (g)	Kadar Abu (%)
130 menit	1	2	23,92	23,82	5,0
	2	2	24,03	23,94	4,5
	3	2	25,03	24,92	5,5
	4	2	23,74	23,64	5,0
	5	2	23,94	23,84	5,0
	6	2	24,04	23,94	5,0
150 menit	1	2	25,06	24,96	5,0
	2	2	23,75	23,63	6,0
	3	2	23,94	23,83	5,5
	4	2	24,05	23,94	5,5
	5	2	25,06	24,94	6,0
	6	2	23,74	23,62	6,0
170 menit	1	2	23,97	23,85	6,0
	2	2	24,08	23,95	6,5
	3	2	25,06	24,95	5,5
	4	2	23,76	23,64	6,0
	5	2	23,95	23,82	6,5
	6	2	24,08	23,95	6,5

Contoh perhitungan kadar abu perlakuan 130 menit pada ulangan 1 yaitu

$$\text{Berat awal} = 23,92 \text{ g} \qquad \text{Berat Sampel} = 2 \text{ g}$$

$$\text{Berat Akhir} = 23,82 \text{ g}$$

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

$$= \frac{(23,92) - 23,82}{2} \times 100\%$$

$$= 5\%$$

- Hasil Analisa Keragaman dan Uji Tukey Kadar Abu Teh Daun *R. mucronata*

Descriptives

KadarAbu

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error
Lama Pengeringan 130 menit	6	5.0000	.31623	.12910
Lama Pengeringan 150 menit	6	5.6667	.40825	.16667
Lama Pengeringan 170 menit	6	6.1667	.40825	.16667
Total	18	5.6111	.60768	.14323

ANOVA

Kadar Abu

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.111	2	2.056	14.231	.000
Within Groups	2.167	15	.144		
Total	6.278	17			

Kadar Abu

Tukey HSD

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Lama Pengeringan 130 menit	6	5.0000	
Lama Pengeringan 150 menit	6		5.6667
Lama Pengeringan 170 menit	6		6.1667
Sig.		1.000	.090

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 17. Perhitungan dan Pembuatan Konsentrasi Uji Kadar Alkaloid

- **Pembuatan Larutan Standar Kafein**

Larutan standar kafein (konsentrasi 1000 ppm) dibuat dengan ditimbang 100 mg kafein dilarutkan 100 ml akuades. Kemudian dibuat deret kurva dari larutan induk kafein 1000 ppm dengan konsentrasi 100, 200, 300, 400, dan 500 ppm.

Konsentrasi 100 ppm

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

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

$$V_1 \times 1000 = 10000$$

$$V_1 = 10 \text{ ml}$$

Konsentrasi 400 ppm

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

$$V_1 \times 1000 = 100 \times 400$$

$$V_1 \times 1000 = 40000$$

$$V_1 = 40 \text{ ml}$$

Konsentrasi 200 ppm

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

$$V_1 \times 1000 = 100 \times 200$$

$$V_1 \times 1000 = 20000$$

$$V_1 = 20 \text{ ml}$$

Konsentrasi 500 ppm

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

$$V_1 \times 1000 = 100 \times 500$$

$$V_1 \times 1000 = 50000$$

$$V_1 = 50 \text{ ml}$$

Konsentrasi 300 ppm

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

$$V_1 \times 1000 = 100 \times 300$$

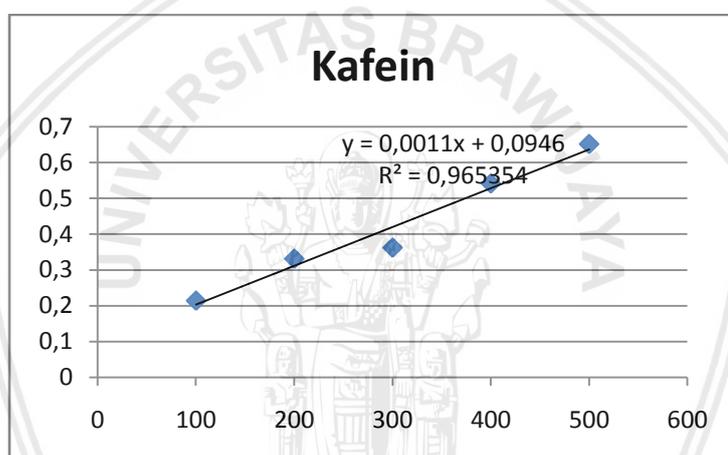
$$V_1 \times 1000 = 30000$$

$$V_1 = 30 \text{ ml}$$

- **Pembuatan Kurva Standar Kafein**

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
100	0,214
200	0,331
300	0,362
400	0,541
500	0,651

Konsentrasi sampel yang digunakan dalam penelitian dialurkan dengan hasil absorbansi untuk membentuk suatu grafik sehingga menghasilkan persamaan regresi linier seperti pada Gambar.



- **Perhitungan Konsentrasi Kadar Alkaloid Teh Hijau Daun *R. mucronata***

- Hasil Pengukuran Konsentrasi Kadar Alkaloid

Ulangan	Absorbansi Pengeringan			Konsentrasi Alkaloid (ppm)		
	130 menit	150 menit	170 menit	130 menit	150 menit	170 menit
1	0,675	0,59	0,553	7,12	6,23	5,83
2	0,66	0,626	0,484	6,97	6,61	5,1
3	0,64	0,608	0,555	6,75	6,4	5,85
4	0,659	0,576	0,527	6,96	6,08	5,56
5	0,634	0,625	0,494	6,69	6,6	5,21
6	0,615	0,611	0,543	6,49	6,45	5,73

Contoh pengolahan data nilai kadar alkaloid teh daun *R. mucronata* untuk perlakuan pengeringan 130 menit ulangan 1 dengan mencari konsentrasi yaitu

berdasarkan persamaan grafik diatas yaitu $y = 0,0011x + 0,0946$. Perhitungan konsentrasi alkaloid sampel adalah sebagai berikut:

$$y = a + bx, y = \text{absorbansi}$$

$$y = 0,0011x + 0,0946$$

$$0,675 = 0,0011x + 0,0946$$

$$x = 7,12 \text{ ppm}$$

- **Hasil Analisa Keragaman dan Uji Tukey Konsentrasi Kadar Alkaloid Teh Hijau Daun *R. mucronata***

Descriptives

Kadar alkaloid (ppm)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error
Pengeringan 130 menit	6	6.8300	.22900	.09349
Pengeringan 150 menit	6	6.3950	.20869	.08520
Pengeringan 170 menit	6	5.5467	.32216	.13152
Total	18	6.2572	.59954	.14131

ANOVA

Kadar alkaloid (ppm)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.112	2	2.556	38.380	.000
Within Groups	.999	15	.067		
Total	6.111	17			

Kadar alkaloid (ppm)

Tukey HSD

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Pengeringan 170 menit	6	5.5467		
Pengeringan 150 menit	6		6.3950	
Pengeringan 130 menit	6			6.8300
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 18. Perhitungan dan Pembuatan Konsentrasi Uji Kadar Flavonoid

- **Pembuatan Larutan Standar Kuersetin**

Larutan standar kuersetin (konsentrasi 100 ppm) dibuat dengan memipet 5 mL dari 1000 ppm kemudian dicukupkan volumenya sampai 50 mL dengan etanol 96%

Konsentrasi 2 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 100 = 50 \times 2$$

$$V1 \times 100 = 100$$

$$V1 = 1 \text{ ml}$$

Konsentrasi 8 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 100 = 50 \times 8$$

$$V1 \times 100 = 400$$

$$V1 = 4 \text{ ml}$$

Konsentrasi 4 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 100 = 50 \times 4$$

$$V1 \times 100 = 200$$

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

Konsentrasi 10 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 100 = 50 \times 10$$

$$V1 \times 100 = 500$$

$$V1 = 5 \text{ ml}$$

Konsentrasi 6 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 100 = 50 \times 6$$

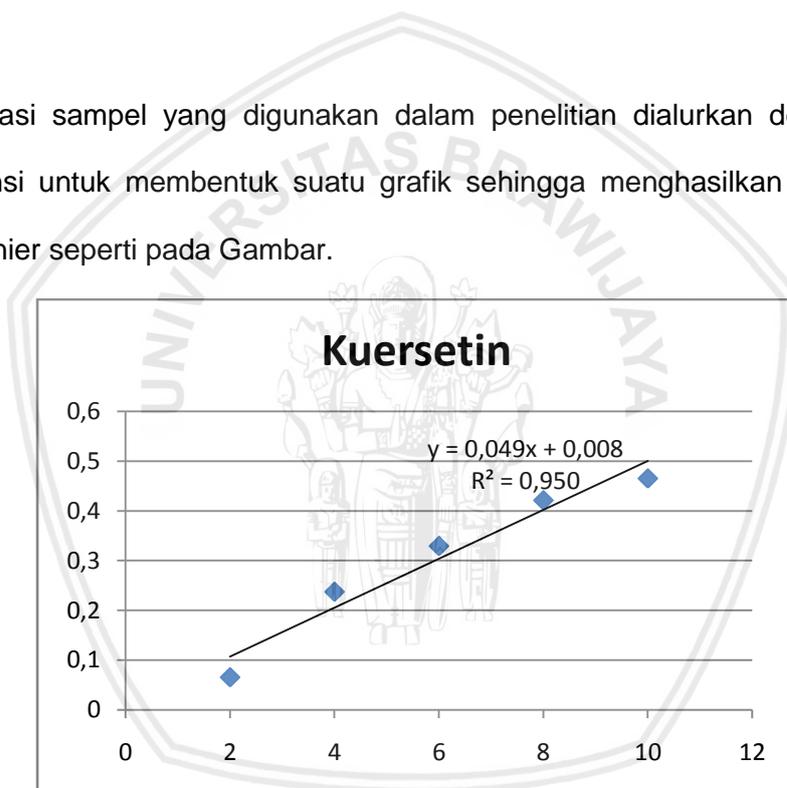
$$V1 \times 100 = 300$$

$$V1 = 3 \text{ ml}$$

- **Pembuatan Kurva Standar Kuersetin**

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
2	0,065
4	0,237
6	0,329
8	0,421
10	0,465

Konsentrasi sampel yang digunakan dalam penelitian dialurkan dengan hasil absorbansi untuk membentuk suatu grafik sehingga menghasilkan persamaan regresi linier seperti pada Gambar.



- **Perhitungan Konsentrasi Kadar Flavonoid Teh Hijau Daun *R. mucronata***
- Hasil Pengukuran Konsentrasi Kadar Flavonoid

Ulangan	Absorbansi Pengeringan			Konsentrasi Flavonoid (ppm)		
	130 menit	150 menit	170 menit	130 menit	150 menit	170 menit
1	0,844	0,651	0,121	17,06	13,1	2,3
2	0,796	0,636	0,151	16,08	12,8	2,9

3	0,887	0,641	0,176	17,9	12,9	3,4
4	0,846	0,576	0,156	17,1	11,6	3,02
5	0,895	0,64	0,226	18,1	12,89	4,4
6	0,892	0,68	0,15	18,04	13,7	2,89

Contoh pengolahan data nilai kadar flavonoid teh hijau daun *R. mucronata* untuk perlakuan pengeringan 130 menit ulangan 1 dengan mencari konsentrasi yaitu berdasarkan persamaan grafik diatas yaitu $y = 0,0492x + 0,0082$. Perhitungan konsentrasi flavonoid sampel adalah sebagai berikut:

$$y = a + bx, y = \text{absorbansi}$$

$$y = 0,0492x + 0,0082.$$

$$0,844 = 0,0492x + 0,0082$$

$$x = 17,06 \text{ ppm}$$

- **Hasil Analisa Keragaman dan Uji Tukey Konsentrasi Kadar Flavonoid Teh Hijau Daun *R. mucronata***

Descriptives

Kadar Flavonoid (ppm)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error
Pengeringan 130 menit	6	17.3800	.78679	.32121
Pengeringan 150 menit	6	12.8317	.68587	.28000
Pengeringan 170 menit	6	3.1517	.70633	.28836
Total	18	11.1211	6.14344	1.44802

ANOVA

Kadar Flavonoid (ppm)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	633.670	2	316.835	598.422	.000
Within Groups	7.942	15	.529		
Total	641.612	17			

Kadar Flavonoid (ppm)

Tukey HSD

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Pengeringan 170 menit	6	3.1517		
Pengeringan 150 menit	6		12.8317	
Pengeringan 130 menit	6			17.3800
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.



Lampiran 19. Perhitungan DPPH

- Perhitungan Pembuatan Larutan DPPH 0,1 mM dalam 100 mL Methanol

Diketahui :

Konsentrasi = 0,4 mM

Volume = 100 mL = 0,1 L

Mr DPPH ($C_{15}H_{12}N_5O_6$) = 394,3 g/mol

Ditanya : gram DPPH yang dibutuhkan

$$M = \frac{\text{mol}}{\text{volume (L)}} \quad \text{mol} \quad = \frac{\text{gram}}{Mr}$$

$$0,4 \times 10^{-3} = \frac{\text{mol}}{0,1 L} \quad 0,00004 = \frac{\text{gram}}{394,3}$$

$$0,00004 = \text{mol} \quad 0,015 = \text{gram}$$

$$15 = \text{mg}$$

- Perhitungan Pembuatan Larutan Induk Vitamin C dan Konsentrasi Vitamin C

$$1 \text{ ppm} = \frac{1 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}} \quad \frac{1000 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}} = \frac{x}{100 \text{ mL}}$$

$$1000 \text{ ppm} = \frac{1000 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}} \quad x = \frac{1000 \times 100}{1000} = 100 \text{ mg}$$

Jadi untuk membuat 100 ppm larutan induk asam askorbat dalam 100 mL metanol, dibutuhkan 10 mg bubuk asam askorbat.

➤ Konsentrasi 10 ppm

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

$$V_1 \times 100 = 5 \times 10$$

$$V_1 \times 100 = 50$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

➤ Konsentrasi 20 ppm

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

$$V_1 \times 100 = 5 \times 20$$

$$V_1 \times 100 = 100$$

$$V_1 = 1 \text{ ml}$$

- Konsentrasi 30 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 100 = 5 \times 30$$

$$V1 \times 100 = 150$$

$$V1 = 1,5 \text{ ml}$$

- Konsentrasi 40 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 100 = 5 \times 40$$

$$V1 \times 100 = 200$$

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

- Perhitungan Pembuatan Larutan Induk Teh Hijau Daun *R. mucronata*

$$1 \text{ ppm} = \frac{1 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}} \quad \frac{1000 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}} = \frac{x}{10 \text{ mL}}$$

$$1000 \text{ ppm} = \frac{1000 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}} \quad x = \frac{1000 \times 10}{1000} = 10 \text{ mg atau } 0,1 \text{ ml}$$

Jadi untuk membuat 1000 ppm larutan teh hijau daun *R. mucronata* dalam 10 mL metanol membutuhkan 0,1 ml teh hijau daun *R. mucronata*

- Perhitungan Pengenceran Larutan Induk Teh Hijau Daun *R. mucronata*

- Konsentrasi 200 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 1000 = 5 \times 200$$

$$V1 \times 1000 = 1000$$

$$V1 = 1 \text{ ml}$$

- Konsentrasi 800 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 1000 = 5 \times 800$$

$$V1 \times 1000 = 4000$$

$$V1 = 4 \text{ ml}$$

- Konsentrasi 400 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 1000 = 5 \times 400$$

$$V1 \times 1000 = 2000$$

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

- Konsentrasi 1000 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 1000 = 5 \times 1000$$

$$V1 \times 1000 = 5000$$

$$V1 = 5 \text{ ml}$$

- Hasil Pengukuran Absorbansi Blanko

Nama	Absorbansi (515 nm)	Rata-Rata
Blanko	0,887	0,875
	0,884	
	0,856	

- Hasil Perhitungan Uji Antioksidan Absorbansi Vitamin C terhadap DPPH

No	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rata-Rata Absorbansi
		1	2	3	
1	10	0,59	0,581	0,632	0,601
2	20	0,462	0,461	0,44	0,454
3	30	0,33	0,341	0,352	0,341
4	40	0,302	0,261	0,29	0,284

Contoh pengolahan data dengan analisis aktivitas antioksidan untuk asam askorbat dimulai dengan mencari % inhibisi yaitu dengan menggunakan rumus :

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

A_0 = absorbansi kontrol (metanol + DPPH) tanpa asam askorbat

A_1 = absorbansi sampel uji (asam askorbat + DPPH)

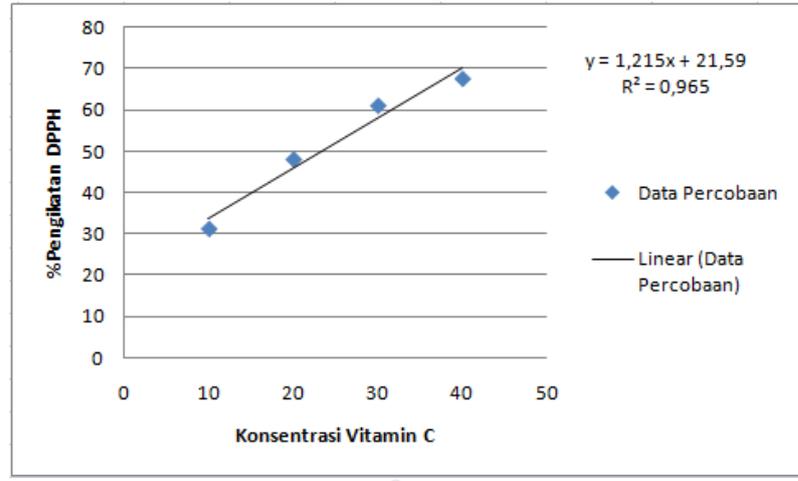
a) Untuk Vit C 10 ppm= $\left[\frac{0,875 - 0,601}{0,875} \right] \times 100\% = 31,31\%$

b) Untuk Vit C 20 ppm= $\left[\frac{0,875 - 0,454}{0,875} \right] \times 100\% = 48,07\%$

c) Untuk Vit C 30 ppm= $\left[\frac{0,875 - 0,341}{0,875} \right] \times 100\% = 61,02\%$

d) Untuk Vit C 40 ppm= $\left[\frac{0,875 - 0,284}{0,875} \right] \times 100\% = 67,5\%$

Konsentrasi sampel yang digunakan dalam penelitian dialurkan dengan hasil % inhibisi untuk membentuk suatu grafik sehingga menghasilkan persamaan regresi linier seperti pada Gambar.



- Data Hasil Perhitungan Uji Aktivitas Antioksidan Teh Hijau Daun *R. mucronata*

Perlakuan	Ulangan	Absorbansi blanko	Absorbansi				IC ₅₀ (ppm)	Rata- rata	Standar deviasi
			200	400	800	1000			
130 menit	1		0,4	0,389	0,316	0,254	64,26	65,6	0,92
	2		0,401	0,388	0,308	0,255	64,93		
	3		0,402	0,386	0,323	0,253	65,49		
	4		0,401	0,392	0,332	0,26	66,51		
	5		0,4	0,393	0,324	0,26	65,78		
	6		0,4	0,394	0,326	0,261	66,66		
150 menit	1		0,383	0,355	0,232	0,139	75,47	75,32	0,93
	2	0,875	0,374	0,364	0,19	0,133	74,82		
	3		0,375	0,365	0,199	0,138	74,15		
	4		0,373	0,369	0,231	0,137	75,32		
	5		0,376	0,366	0,234	0,14	75,18		
	6		0,377	0,365	0,235	0,139	76,96		
170 menit	1		0,393	0,355	0,232	0,139	99,89	98,50	0,87
	2		0,384	0,367	0,233	0,138	98,32		
	3		0,385	0,365	0,23	0,138	97,74		

4	0,387	0,363	0,234	0,14	97,58
5	0,387	0,364	0,235	0,141	98,33
6	0,386	0,365	0,233	0,139	99,13



- Data hasil perhitungan IC₅₀ teh hijau daun *R. mucronata*

Perlakuan	Ulangan	Absorbansi			
		200	400	800	1000
130 menit	1	0,4	0,389	0,316	0,254
	2	0,401	0,388	0,308	0,255
	3	0,402	0,386	0,323	0,253
	4	0,401	0,392	0,332	0,26
	5	0,4	0,393	0,324	0,26
	6	0,4	0,394	0,326	0,261

Ulangan 1

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% inhibisi	Persamaan regresi	R ²	IC ₅₀
130 menit	200	0,4	54,29	$y = 0,0209x + 48,657$	0,9535	64,26
	400	0,389	55,54			
	800	0,316	63,89			
	1000	0,254	70,97			

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

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

Keterangan :

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

A₁ = Absorbansi sampel uji (ekstrak teh+DPPH)

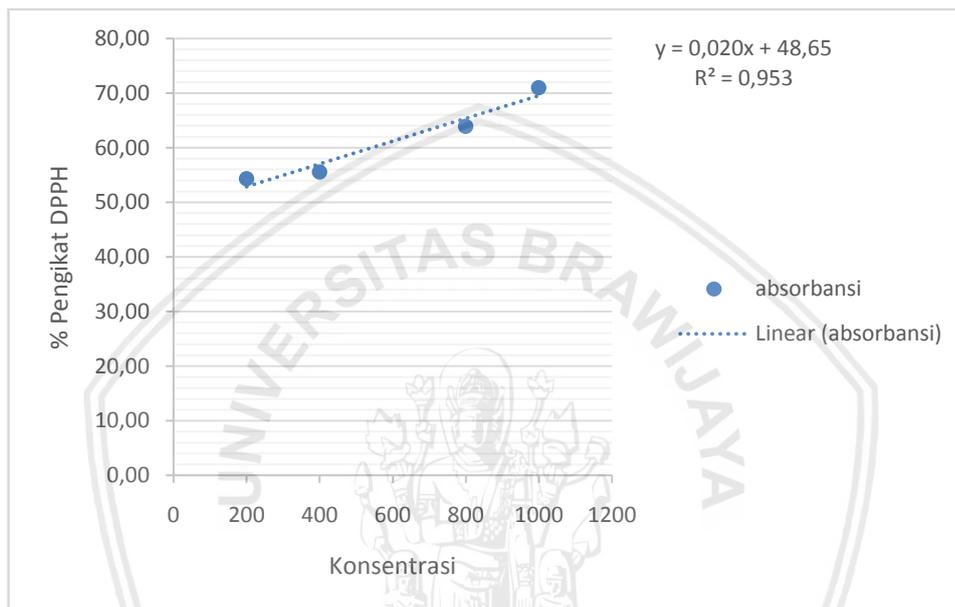
a) Untuk 200 ppm = $\left[\frac{0,875 - 0,4}{0,875} \right] \times 100\% = 54,29\%$

b) Untuk 400 ppm = $\left[\frac{0,875 - 0,389}{0,875} \right] \times 100\% = 55,54\%$

$$\text{c) Untuk 800 ppm} = \left[\frac{0,875 - 0,316}{0,875} \right] \times 100\% = 63,89\%$$

$$\text{d) Untuk 1000 ppm} = \left[\frac{0,875 - 0,254}{0,875} \right] \times 100\% = 70,97\%$$

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



Gambar. Grafik Regresi Aktivitas Antioksidan Sampel Teh Hijau Daun *R. mucronata* Lama Pengeringan 130 menit Ulangan 1

Berdasarkan persamaan grafik diatas yaitu $y = 0,0209x + 48,657$ dapat dihitung nilai IC_{50} sampel sebagai berikut:

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

$$y = 0,0209x + 48,657$$

$$x = 64,26 \text{ ppm}$$

- Hasil Analisa Keragaman dan Uji Tukey Konsentrasi Aktivitas Antioksidan DPPH Teh Hijau Daun *R. mucronata*

Descriptives

Antioksidan

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error
Lama Pengeringan 130 menit	6	65.3050	1.53509	.62670
Lama Pengeringan 150 menit	6	75.3167	.93280	.38081
Lama Pengeringan 170 menit	6	98.4983	.87342	.35657
Total	18	79.7067	14.34612	3.38141

ANOVA

Antioksidan	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3478.841	2	1739.421	1.308E3	.000
Within Groups	19.947	15	1.330		
Total	3498.788	17			

Antioksidan

Tukey HSD

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Lama Pengeringan 130 menit	6	65.3050		
Lama Pengeringan 150 menit	6		75.3167	
Lama Pengeringan 170 menit	6			98.4983
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 20. Penentuan Perlakuan Terbaik dengan Menggunakan Metode de Garmo dari Penelitian Pendahuluan

PARAMETER	PERLAKUAN			NILAI TERBAIK	NILAI TERJELEK	SELISIH
	A	B	C			
Kadar Tanin	91,42	138,87	173,00	91,42	173,00	-81,58
Kadar Flavonoid	17,38	12,83	3,15	17,38	3,15	14,23
Kadar Alkaloid	6,83	6,40	5,55	6,83	5,55	1,28
Antioksidan DPPH IC ₅₀	65,6	75,32	98,5	65,6	98,5	-32,90
Rendemen	23,96	22,88	21,7	23,96	21,7	2,26
Kadar Air	8,4	7,5	6,7	6,7	8,40	-1,70
Kadar Abu	5	5,7	6,2	5	6,20	-1,20

PARAMETER	BV	BN	A		B		C	
			NE	NH	NE	NH	NE	NH
Kadar Tanin	1,00	0,161	1,000	0,161	0,418	0,067	0,000	0,000
Kadar Flavonoid	1,00	0,161	1,000	0,161	0,680	0,110	0,000	0,000
Kadar Alkaloid	1,00	0,161	1,000	0,161	0,661	0,107	0,000	0,000
Antioksidan DPPH IC ₅₀	0,90	0,145	1,000	0,145	0,705	0,102	0,000	0,000
Rendemen	0,70	0,113	1,000	0,113	0,522	0,059	0,000	0,000
Kadar Air	0,80	0,129	0,000	0,000	0,529	0,068	1,000	0,129
Kadar Abu	0,80	0,129	1,000	0,129	0,417	0,054	0,000	0,000
TOTAL	6,20	1,00	6,00	0,87	3,93	0,57	1,00	0,13

Lampiran 21. Perhitungan dan Pembuatan Konsentrasi Antioksidan FRAP

- **Pembuatan Kurva Standar**

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

Konsentrasi 90 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 1000 = 25 \times 90$$

$$V1 \times 1000 = 2250$$

$$V1 = 2,25 \text{ ml}$$

Konsentrasi 120 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 1000 = 25 \times 120$$

$$V1 \times 1000 = 3000$$

$$V1 = 3 \text{ ml}$$

Konsentrasi 100 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 1000 = 25 \times 100$$

$$V1 \times 1000 = 2500$$

$$V1 = 2,5 \text{ ml}$$

Konsentrasi 130 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 1000 = 25 \times 130$$

$$V1 \times 1000 = 3250$$

$$V1 = 3,25 \text{ ml}$$

Konsentrasi 110 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

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

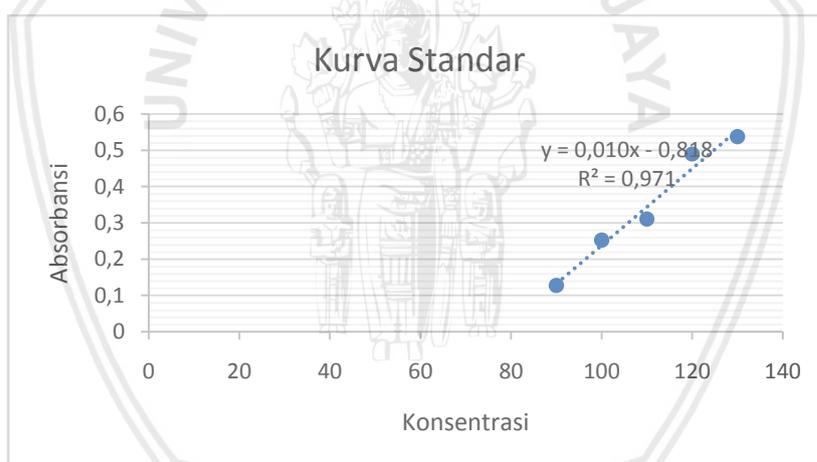
$$V1 \times 1000 = 2750$$

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

- **Pembuatan Kurva Standar**

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
90	0,128
100	0,253
110	0,311
120	0,49
130	0,538

Konsentrasi sampel yang digunakan dalam penelitian dialurkan dengan hasil absorbansi untuk membentuk suatu grafik sehingga menghasilkan persamaan regresi linier seperti pada Gambar.



- **Perhitungan Aktivitas Antioksidan FRAP Teh Hijau Daun *R. mucronata***

➤ Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan FRAP

Ekstrak Teh Hijau Daun <i>R. mucronata</i>	Absorbansi (720 nm)	Aktivitas Antioksidan (mg AAE/g ekstrak)	Rerata Aktivitas Antioksidan (mg AAE/g ekstrak)
Replikasi 1	0,589	0,132801887	0,133061321
Replikasi 2	0,591	0,132990566	
Replikasi 3	0,593	0,133179245	
Replikasi 4	0,594	0,133273585	

Contoh pengolahan data nilai aktivitas antioksidan FRAP teh hijau daun *R. mucronata* untuk perlakuan lama pengeringan 130 menit replikasi 1 dengan mencari konsentrasi yaitu berdasarkan persamaan grafik diatas yaitu $y = 0,0106x - 0,8187$. Perhitungan aktivitas antioksidan sampel adalah sebagai berikut:

$$y = a + bx, y = \text{absorbansi}$$

$$y = 0,010x - 0,8187$$

$$0,589 = 0,0106x - 0,8187$$

$$x = 0,13280\text{mg AAE/g ekstrak atau } 132,8 \text{ ppm}$$



Lampiran 22. Kuisiener Form Organoleptik

**LEMBAR UJI SKORING DAN HEDONIK PRODUK MINUMAN FUNGSIONAL
TEH DAUN *Rhizopora mucronata* SEBAGAI ANTIBAKTERI**

Nama : Umur :
Fakultas : Jenis Kelamin :
No. HP : Daerah Asal :

Tentukan Penilaian anda terhadap sampel uji pada table berikut :
Gunakan skala yang tersedia untuk menunjukkan penilaian anda terhadap masing-masing sampel dengan angka.

Atribut	Kriteria	Skor	Kode				
			317	224	135	467	581
Warna	Hijau cerah	5					
	Hijau kekuningan	4					
	Kuning	3					
	Agak coklat	2					
	Coklat	1					
Aroma	Sangat khas teh	5					
	Khas teh	4					
	Agak khas teh	3					
	Tidak khas teh	2					
	Sangat tidak khas teh	1					
Rasa	Manis	5					
	Agak manis	4					
	Sepat	3					
	Pahit	2					
	Sangat Pahit	1					

Atribut	Kode				
	317	224	135	467	581
Kenampakan					
Aroma					
Rasa					
Penerimaan Secara Keseluruhan					

Keterangan: 1 = sangat tidak suka; 2 = tidak suka; 3 = biasa; 4 = suka; 5 = sangat suka

Komentar/saran:

.....
.....

Lampiran 23. Hasil Organoleptik

• Hasil Uji Skoring

No	Nama	Warna					Aroma					Rasa				
		617	524	435	167	281	617	524	435	167	281	617	524	435	167	281
1	Brefian	2	2	2	2	1	3	2	2	3	3	2	2	4	2	2
2	Khrisna B	2	2	2	2	3	3	2	2	3	5	4	4	5	2	2
3	Inna	2	1	1	1	3	3	2	2	3	5	3	3	3	2	2
4	Dinda	3	4	2	3	5	3	4	3	3	5	4	4	5	2	5
5	Kartika D	2	2	1	2	3	3	1	2	3	5	1	3	4	1	3
6	Fitri Septa P	2	1	1	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3
7	Nia Kromatul A	2	2	2	2	3	3	4	4	3	5	5	5	5	2	2
8	Queen	2	2	2	2	2	3	2	2	3	4	2	2	3	2	3
9	Dewi Rizki	3	3	3	2	3	3	3	3	4	3	5	5	5	1	4
10	Yessy A S	2	1	1	1	3	3	2	2	3	2	3	3	4	2	3
11	Linda Mardiyana	2	2	2	2	3	2	4	4	4	3	4	4	5	2	2
12	Diah Ayu	2	2	2	2	4	3	2	3	3	4	4	2	4	2	1
13	Nudya	2	1	1	3	3	2	4	3	4	4	4	4	4	2	2
14	Novrealita M	2	2	2	2	3	3	3	3	3	4	3	4	3	2	4
15	Marisha ekaputri	2	2	2	2	3	3	2	2	3	4	3	4	4	2	3
16	Rica Dyah	2	1	1	1	3	2	3	3	4	3	3	2	4	2	3
17	Fernando	1	2	2	2	3	3	3	2	3	4	4	3	3	2	2
18	Arif Yusuf	1	1	1	1	3	3	4	4	3	4	3	3	4	1	3
19	Rendhy	1	2	1	1	4	3	3	2	3	3	3	3	4	2	4
20	Deska	2	2	2	2	3	3	3	2	3	2	3	3	4	2	2
21	Kartika D	2	1	1	2	3	3	2	2	3	3	3	3	4	2	2

22	Intan Resza	2	2	1	2	3	3	2	2	3	2	4	4	4	2	3
23	Rahma P	2	2	1	2	3	3	1	2	3	5	2	3	4	2	3
24	Aulia Halidar	2	2	2	2	3	3	3	2	3	3	3	4	4	2	2
25	Arwin Adiwinata	1	1	1	3	2	3	3	2	2	3	4	4	4	2	4
26	Radik Ega	2	1	1	3	3	3	3	3	3	4	3	3	4	1	2
27	Ifky	3	3	3	3	3	3	3	2	4	3	5	5	5	2	4
28	Lia	2	2	2	2	3	3	2	3	3	4	4	4	4	2	3
29	Dzikri	2	1	1	3	2	3	3	3	3	3	3	3	4	2	2
30	Fajar Bayu	1	1	1	1	2	3	3	4	3	3	4	3	3	2	3
	Rata-Rata	1,9	1,8	1,6	2,0	2,9	2,9	2,7	2,6	3,1	3,6	3,4	3,4	4,0	1,8	2,8



- Hasil Uji Hedonik

No	Nama	Warna					Aroma					Rasa				
		617	524	435	167	281	617	524	435	167	281	617	524	435	167	281
1	Brefian	4	4	4	4	3	3	4	3	3	3	3	3	3	3	3
2	Khrisna B	3	4	4	3	2	2	2	4	3	2	2	2	2	3	5
3	Inna	4	4	4	3	2	2	2	2	5	5	4	4	4	3	2
4	Dinda	4	5	4	3	3	4	4	4	5	4	4	4	4	2	5
5	Kartika D	3	3	4	3	4	1	2	2	4	3	2	3	3	2	2
6	Fitri Septa P	4	5	5	2	2	4	3	3	2	2	4	3	4	2	3
7	Nia Kromatul A	5	3	5	3	1	4	4	3	5	4	5	5	5	3	3
8	Queen	4	4	4	3	2	3	3	3	4	4	2	2	2	3	4
9	Dewi Rizki	3	4	4	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4	3	3
10	Yessy A S	4	4	4	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
11	Linda Mardiyana	4	4	4	4	2	5	5	4	3	4	3	3	4	3	1
12	Diah Ayu	3	4	4	2	2	4	3	3	2	2	4	3	4	2	3
13	Nudya	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	2	4
14	Novrealita M	4	4	4	4	4	3	4	3	4	4	3	3	5	3	4
15	Marisha ekaputri	4	4	4	4	3	3	3	3	4	4	2	3	4	3	3
16	Rica Dyah	4	3	4	3	3	3	3	3	3	4	3	3	4	3	3
17	Fernando	4	4	4	3	4	3	3	3	3	5	3	3	3	3	4
18	Arif Yusuf	5	5	5	2	3	5	5	4	4	5	4	4	5	3	3
19	Rendhy	4	4	3	3	2	2	3	4	2	4	3	3	4	3	3
20	Deska	4	4	4	2	3	3	3	3	3	3	3	2	3	2	2
21	Kartika D	2	2	2	3	4	3	3	3	3	4	3	3	3	3	4
22	Intan Resza	4	4	4	4	4	4	4	4	3	4	4	4	4	3	3
23	Rahma P	5	5	5	3	2	2	3	4	3	3	1	2	3	2	3

24	Aulia Halidar	3	4	3	3	2	4	3	4	4	5	3	3	3	2	4
25	Arwin Adiwinata	4	3	4	2	2	4	4	3	2	4	3	3	4	2	3
26	Radik Ega	5	3	4	3	2	4	4	3	4	4	2	2	4	2	5
27	Ifky	3	4	4	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4	2	3
28	Lia	5	4	5	3	4	5	4	4	5	5	4	4	4	2	3
29	Dzikri	5	5	4	3	2	5	4	3	4	4	2	2	1	2	5
30	Fajar Bayu	4	4	4	3	5	3	3	4	5	3	3	3	2	2	4
Rata-Rata		3,9	3,9	4,0	3,0	2,8	3,4	3,4	3,3	3,5	3,7	3,1	3,1	3,5	2,5	3,3



Lampiran 24. Hasil Analisa Keragaman dan Kruskal Wallis Skoring

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
SkoringWarna	150	2.0400	.79326	1.00	5.00
SkoringAroma	150	2.9867	.76839	1.00	5.00
SkoringRasa	150	3.0733	1.05612	1.00	5.00
Perlakuan	150	3.0000	1.41895	1.00	5.00

Ranks

Perlakuan		N	Mean Rank
SkoringWarna	Lama Pengeringan 120 menit	30	71.15
	Lama Pengeringan 130 menit	30	60.68
	Lama Pengeringan 140 menit	30	50.85
	Antibakteri	30	74.70
	Teh Hijau	30	120.12
	Total	150	
SkoringAroma	Lama Pengeringan 120 menit	30	72.55
	Lama Pengeringan 130 menit	30	62.62
	Lama Pengeringan 140 menit	30	54.03
	Antibakteri	30	85.60
	Teh Hijau	30	102.70
	Total	150	
SkoringRasa	Lama Pengeringan 120 menit	30	87.78
	Lama Pengeringan 130 menit	30	88.63
	Lama Pengeringan 140 menit	30	113.00
	Antibakteri	30	25.25
	Teh Hijau	30	62.83
	Total	150	

Test Statistics^{a,b}

	SkoringWarna	SkoringAroma	SkoringRasa
Chi-Square	52.696	29.452	75.706
df	4	4	4
Asymp. Sig.	.000	.000	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Perlakuan



Lampiran 25. Hasil Analisa Keragaman dan Kruskal Wallis Hedonik

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Hedonik Warna	150	3.5467	.89433	1.00	5.00
Hedonik Aroma	150	3.4467	.84771	1.00	5.00
Hedonik Rasa	150	3.1333	.88740	1.00	5.00
Perlakuan	150	3.0000	1.41895	1.00	5.00

Ranks

Perlakuan	N	Mean Rank
Hedonik Warna	Lama Pengeringan 120 menit	92.83
	Lama Pengeringan 130 menit	93.22
	Lama Pengeringan 140 menit	98.77
	Antibakteri	48.52
	Teh Hijau	44.17
	Total	150
Hedonik Aroma	Lama Pengeringan 120 menit	72.50
	Lama Pengeringan 130 menit	71.20
	Lama Pengeringan 140 menit	68.28
	Antibakteri	77.22
	Teh Hijau	88.30
	Total	150
Hedonik Rasa	Lama Pengeringan 120 menit	76.73
	Lama Pengeringan 130 menit	75.42
	Lama Pengeringan 140 menit	95.63
	Antibakteri	45.63
	Teh Hijau	84.08
	Total	150

Test Statistics^{a,b}

	Hedonik Warna	Hedonik Aroma	Hedonik Rasa
Chi-Square	52.301	4.471	24.624
df	4	4	4
Asymp. Sig.	.000	.346	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Perlakuan



Lampiran 26. Perhitungan Pembuatan Media

- Media NA

$$\text{gram NA} = \frac{28}{1000} \times 4 \times 20$$

$$\text{gram NA} = 2,24 \text{ gram}$$

2,24 gram NA dilarutkan dalam 80 ml aquades

- Media NB

$$\text{gram NB} = \frac{13}{1000} \times 2 \times 5$$

$$\text{gram NB} = 0,08 \text{ gram}$$

0,08 gram NB dilarutkan dalam 10 ml aquades

- Media MHA

$$\text{gram MHA} = \frac{38}{1000} \times 1 \times 100$$

$$\text{gram MHA} = 3,8 \text{ gram}$$

3,8 gram MHA dilarutkan dalam 100 ml aquades

- Media MHB

$$\text{gram MHB} = \frac{21}{1000} \times 5$$

$$\text{gram MHB} = 0,11 \text{ gram}$$

0,11 gram MHA dilarutkan dalam 5 ml aquades

Lampiran 27. Hasil Uji Antibakteri

- Hasil Zona Hambat

Ulangan	Daya Hambat Bakteri <i>E. Coli</i> (mm)				
	Lama Pengeringan			Kontrol Positif	Kontrol Negatif
	120 menit	130 menit	140 menit		
1	3,3	3,15	3,4	4,7	3
2	3,15	3,15	4,85	4,63	2,4
3	2,45	1,85	3,55	4,5	3
4	2,4	2,4	3,8	5,8	2,4
Rata-Rata	2,83	2,64	3,90	4,91	2,70
STDEV	0,47	0,63	0,65	0,60	0,35

Ulangan	Zona Hambat Bakteri <i>S. aureus</i> (mm)				
	Lama Pengeringan			Kontrol Positif	Kontrol Negatif
	120 menit	130 menit	140 menit		
1	4,05	4,13	4,8	5,63	3,5
2	3,51	4,83	5,56	5,57	2,4
3	4,15	5	4,4	4,45	3,5
4	5	4,25	5	5,7	2,4
Rata-Rata	4,18	4,55	4,94	5,34	2,95
STDEV	0,62	0,43	0,48	0,59	0,64

Perlakuan	Rerata Zona Hambat (mm) Terhadap <i>E. coli</i>	Kekuatan Antibakteri	Rerata Zona Hambat (mm) Terhadap <i>S. aureus</i>	Kekuatan Antibakteri
A	2,83	Lemah	4,18	Lemah
B	2,64	Lemah	4,55	Lemah
C	3,90	Lemah	4,94	Lemah
D	4,91	Lemah	5,34	Sedang
E	2,70	Lemah	2,95	Lemah

- Hasil Analisa Keragaman dan Uji Tukey Zona Hambat Teh Daun *R. mucronata*

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	
<i>E. coli</i>	Lama Pengeringan 120 menit	4	2.8250	.46637	.23318
	Lama Pengeringan 130 menit	4	2.6375	.63295	.31647
	Lama Pengeringan 140 menit	4	3.9000	.65447	.32724
	Teh antibakteri	4	4.9075	.60074	.30037
	Teh Hijau	4	2.7000	.34641	.17321
	Total	20	3.3940	1.03313	.23101
<i>S. aureus</i>	Lama Pengeringan 120 menit	4	4.1775	.61619	.30810
	Lama Pengeringan 130 menit	4	4.5525	.42711	.21356
	Lama Pengeringan 140 menit	4	4.9400	.48277	.24138
	Teh antibakteri	4	5.3375	.59405	.29702
	Teh Hijau	4	2.9500	.63509	.31754
	Total	20	4.3915	.97430	.21786

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	
<i>E. coli</i>	Between Groups	15.698	4	3.924	12.847	.000
	Within Groups	4.582	15	.305		
	Total	20.280	19			
<i>S. aureus</i>	Between Groups	13.382	4	3.345	10.782	.000
	Within Groups	4.654	15	.310		
	Total	18.036	19			

E. coli

Tukey HSD

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Lama Pengeringan 130 menit	4	2.6375		
Teh Hijau	4	2.7000	2.7000	
Lama Pengeringan 120 menit	4	2.8250	2.8250	
Lama Pengeringan 140 menit	4		3.9000	3.9000
Teh antibakteri	4			4.9075
Sig.		.988	.052	.125

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

S. aureus

Tukey HSD

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Teh Hijau	4	2.9500	
Lama Pengeringan 120 menit	4		4.1775
Lama Pengeringan 130 menit	4		4.5525
Lama Pengeringan 140 menit	4		4.9400
Teh antibakteri	4		5.3375
Sig.		1.000	.065

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

- Hasil Perhitungan Nilai OD

- Perhitungan Nilai OD Terhadap *E. coli*

Perlakuan	Ulangan	Nilai OD Sebelum Inkubasi	Nilai OD Sesudah Inkubasi	OD	Rata-Rata
A	1	0,782	0,765	-0,017	-0,017
	2	0,765	0,747	-0,018	
	3	0,754	0,738	-0,016	
	4	0,802	0,785	-0,017	
B	1	0,835	0,795	-0,04	-0,025
	2	0,812	0,785	-0,027	
	3	0,805	0,795	-0,01	
	4	0,798	0,775	-0,023	
C	1	0,901	0,886	-0,015	-0,033
	2	0,885	0,85	-0,035	
	3	0,898	0,857	-0,041	
	4	0,876	0,836	-0,04	
D	1	0,33	0,283	-0,047	-0,042
	2	0,38	0,34	-0,04	
	3	0,359	0,294	-0,065	
	4	0,346	0,33	-0,016	
E	1	0,306	0,3	-0,006	-0,012
	2	0,312	0,295	-0,017	
	3	0,303	0,301	-0,002	
	4	0,322	0,3	-0,022	

- Perhitungan Nilai OD Terhadap *S. aureus*

Perlakuan Terhadap <i>E. coli</i>	Ulangan	Nilai OD Sebelum Inkubasi	Nilai OD Sesudah Inkubasi	OD	Rata-Rata
A	1	0,758	0,733	-0,025	-0,022
	2	0,748	0,713	-0,035	
	3	0,734	0,723	-0,011	
	4	0,725	0,71	-0,015	
B	1	0,796	0,784	-0,012	-0,030
	2	0,804	0,758	-0,046	
	3	0,787	0,753	-0,034	
	4	0,785	0,756	-0,029	
C	1	0,858	0,835	-0,023	-0,041
	2	0,848	0,805	-0,043	

	3	0,823	0,773	-0,05	
	4	0,837	0,79	-0,047	
D	1	0,315	0,273	-0,042	
	2	0,325	0,258	-0,067	-0,052
	3	0,3	0,287	-0,013	
	4	0,35	0,265	-0,085	
E	1	0,29	0,282	-0,008	
	2	0,3	0,284	-0,016	-0,015
	3	0,27	0,266	-0,004	
	4	0,32	0,29	-0,03	



Lampiran 28. Penentuan Perlakuan Terbaik dengan Menggunakan Metode de Garmo dari Penelitian Utama

PARAMETER	PERLAKUAN					NILAI TERBAIK	NILAI TERJELEK	SELISIH
	A	B	C	D	E			
Hedonik Warna	3,9	3,9	4	3	2,8	4,00	2,80	1,20
Hedonik Rasa	3,1	3,1	3,5	2,5	3,3	3,50	2,50	1,00
Hedonik Aroma	3,4	3,4	3,3	3,5	3,7	3,70	3,30	0,40
Skoring Warna	1,9	1,8	1,6	2	2,9	2,90	1,60	1,30
Skoring Rasa	3,4	3,4	4	1,8	2,8	4,00	1,80	2,20
Skoring Aroma	2,9	2,7	2,6	3,1	3,6	3,60	2,60	1,00
Daya Hambat <i>E. coli</i>	2,83	2,64	3,9	4,91	2,7	4,91	2,64	2,27
Daya Hambat <i>S. aureus</i>	4,18	4,55	4,94	5,34	2,95	5,34	2,95	2,39
Nilai OD <i>E. coli</i>	-0,017	-0,025	-0,033	-0,042	-0,012	-0,0420	-0,0118	-0,03
Nilai OD <i>S. aureus</i>	-0,022	-0,030	-0,041	-0,052	-0,015	-0,0518	-0,0145	-0,04

PARAMETER	BV	BN	A		B		C		D		E	
			NE	NH								
Hedonik Warna	0,90	0,096	0,917	0,088	0,917	0,088	1,000	0,096	0,167	0,016	0,000	0,000
Hedonik Rasa	0,90	0,096	0,600	0,057	0,600	0,057	1,000	0,096	0,000	0,000	0,800	0,077
Hedonik Aroma	0,90	0,096	0,250	0,024	0,250	0,024	0,000	0,000	0,500	0,048	1,000	0,096
Skoring Warna	0,90	0,096	0,231	0,022	0,154	0,015	0,000	0,000	0,308	0,029	1,000	0,096
Skoring Rasa	0,90	0,096	0,727	0,070	0,727	0,070	1,000	0,096	0,000	0,000	0,455	0,044
Skoring Aroma	0,90	0,096	0,300	0,029	0,100	0,010	0,000	0,000	0,500	0,048	1,000	0,096

Daya Hambat <i>E. coli</i>	1,00	0,106	0,084	0,009	0,000	0,000	0,555	0,059	1,000	0,106	0,026	0,003
Daya Hambat <i>S. aureus</i>	1,00	0,106	0,515	0,055	0,669	0,071	0,833	0,089	1,000	0,106	0,000	0,000
Nilai OD <i>E. coli</i>	1,00	0,106	0,174	0,018	0,438	0,047	0,694	0,074	1,000	0,106	0,000	0,000
Nilai OD <i>S. aureus</i>	1,00	0,106	0,201	0,021	0,416	0,044	0,711	0,076	1,000	0,106	0,000	0,000
TOTAL	9,40	1,00	4,00	0,39	4,27	0,43	5,79	0,58	5,47	0,57	4,28	0,41



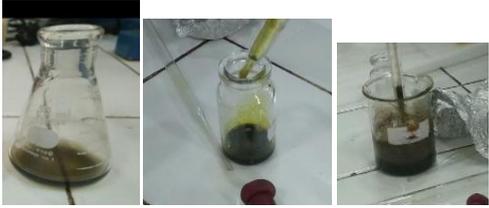
Lampiran 29. Dokumentasi Pengurangan Tanin Daun *R. mucronata*

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

Lampiran 30. Dokumentasi Ekstraksi Maserasi Daun *R. mucronata*

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

Lampiran 31. Dokumentasi Uji Tanin pada Daun *R. mucronata*

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

Lampiran 32. Dokumentasi Pembuatan Teh Hijau Daun *R. mucronata*

	
<p>Daun <i>Rhizopora mucronata</i> dicuci bersih dan disortasi</p>	<p>Dilakukan proses perebusan dengan cara pengurangan tanin pada daun <i>Rhizopora mucronata</i></p>
	
<p>Daun diangin-anginkan 1-2 hari kemudian digulung</p>	<p>Dilakukan pengeringan 150 menit dengan suhu 50°C</p>
	
<p>Diblender hingga halus</p>	<p>Dikemas dalam kantong teh</p>
	
<p>Dilakukan penyeduhan teh hijau</p>	<p>Hasil</p>

Lampiran 33. Dokumentasi Kadar Air

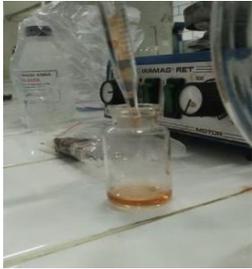
	
<p>Cawan kosong dikeringkan dalam oven selama 15 menit</p>	<p>Didinginkan selama 30 menit dalam desikator, kemudian beratnya ditimbang</p>
	
<p>Sampel ditimbang sebanyak ± 5 g lalu dimasukkan dalam cawan</p>	<p>Cawan dikeringkan dalam oven selama 6 jam pada suhu 105°C</p>
	
<p>Cawan didinginkan dalam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

Lampiran 34. Dokumentasi Uji Kadar Abu

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

Lampiran 35. Dokumentasi Uji Fitokimia Teh Hijau Daun *R. mucronata*

- Uji Tanin

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

- Uji Flavonoid



1 ml sampel ditambah 0,1 mg serbuk magnesium



Tambahkan 0,4 mL amil alkohol



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



Dibuat kurva standar kuersetin kemudian dilakukan pembuatan larutan sampel



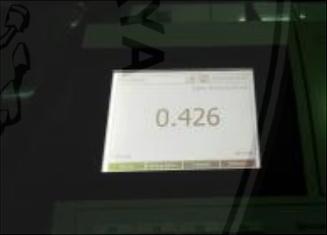
Uji kuantitatif dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 440 nm. Dihitung dengan kurva baku

- Uji Alkaloid

	
<p>1 ml teh dimasukkan ke dalam botol vial kemudian ditambahkan 1 tetes HCl dan dihomogenkan</p>	<p>Ditambahkan 3 tetes pereaksi meyer</p>
	
<p>Apabila terdapat endapan warna putih kekuningan maka hasil positif lalu dilanjutkan uji kuantitatif</p>	<p>Dibuat kurva standar kafein kemudian dilakukan pembuatan larutan sampel</p>
	
<p>Uji kuantitatif dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 480 nm. Dihitung dengan kurva standar kafein</p>	

Lampiran 36. Dokumentasi Uji Antioksidan

- Penentuan IC_{50} Ekstrak Teh

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

- Antioksidan Metode FRAP

	
<p>Sebanyak 0,01 ml ekstrak teh dilarutkan dalam 5 ml etanol 96% Pa</p>	<p>Dipipet 1 ml kemudian ditambahkan reagensia FRAP 1ml, inkubasi 20 menit</p>
	
<p>Tambah 1 ml TCA 10% lalu di Sentrifugase 3000 ppm selama 10 menit</p>	<p>Dipipet 1 mL lapisan bagian atas kedalam tabung reaksi, tambahkan 1 mL aquades dan 0,5 mL FeCl₃ 0,1%.</p>
	
<p>Larutan didiamkan selama 10 menit dan diukur absorbansinya pada 720 nm</p>	<p>Kurva kalibrasi dibuat menggunakan larutan asam askorbat kemudian didapat hasil</p>

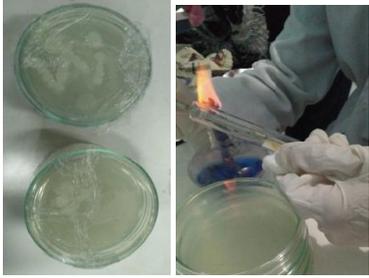
Lampiran 37. Dokumentasi Uji Antibakteri

- Peremajaan Bakteri

	
<p>Dibuat media NA lalu sterilkan dalam autoclave selama 15 menit dengan suhu 121°C</p>	<p>Tuang media NA pada cawan petri</p>
	
<p>Kultur bakteri <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> diambil menggunakan jarum ose bundar dan digoreskan pada media NA secara zig-zag</p>	<p>Biakan kemudian diinkubasi pada suhu kamar (37°C) selama 24 jam</p>

- Pembuatan Suspensi Bakteri

	
<p>Timbang media NB sebanyak 0,04 g</p>	<p>Setelah homogen, disterilkan dengan</p>

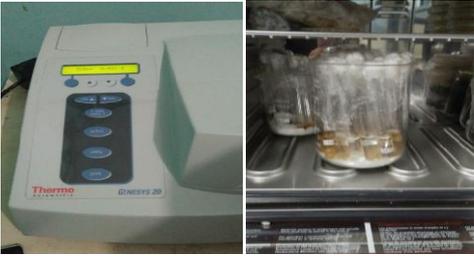
<p>dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 5 ml aquades</p>	<p>cara diautoclave selama 15 menit dengan suhu 121°C</p>
	
<p>Selanjutnya dilakukan penanaman bakteri. Diambil satu koloni bakteri yang telah ditumbuhkan pada media NA menggunakan jarum ose steril</p>	<p>Koloni bakteri dimasukkan kedalam media cair. Bakteri pada media cair diinkubasi selama 16 jam hingga didapatkan kekeruhan setara dengan Mc Farland 0,5</p>

- Uji Daya Hambat dengan Cakram

	
<p>Dilakukan pembuatan media MHA lalu diautoclave selama 15 menit dengan suhu 121°C</p>	<p>Kemudian media dituang kedalam cawan petri steril sebanyak 20 ml</p>
	

<p>Swap bakteri yang telah ditumbuhkan pada media NB dengan cotton swap pada media MHA</p>	<p>Rendam <i>blank disc</i> pada ekstrak teh selama 15 menit. Kemudian ditempelkan pada media MHA sebanyak 3 bagian</p>
	
<p>Lalu diinkubasi selama 16 jam</p>	<p>Zona bening yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong</p>

- Penentuan *MIC* dan *MBC*

	<p>Masing-masing tabung diberi bakteri sebanyak 0,1 ml</p>
<p>Tabung diisi media MHB (Mueller Hinton Broth) sebanyak 5 ml, kemudian masing-masing tabung diberi sampel ekstrak teh 1 ml</p>	<p>Masing-masing tabung diberi bakteri sebanyak 0,1 ml</p>
	
<p>Diukur absorbansi pada spektrofotometri UV-Vis 570 nm.</p>	<p>Kemudian diukur absorbansinya lalu</p>

<p>Kemudian diinkubasi pada suhu 30° C selama 16 jam</p>	<p>dihitung nilai OD</p>
	
<p>1 ml dari larutan uji MIC dimasukkan ke dalam cawan petri, Lalu dituang media NA, dihomogenkan</p>	<p>Diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam</p>
	
<p>Hasil dari inkubasi dilihat dengan ada tidaknya pertumbuhan koloni bakteri pada media NA</p>	