



FERMENTASI DAUN MANGROVE *Rhizophora mucronata* SEBAGAI TEH HERBAL

Marianus Ada Lein*, Desniar, Safrina Dyah Hardiningtyas

Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Jalan Agatis, Bogor 16680 Jawa Barat
Telepon (0251) 8622909-8622906, Faks. (0251) 8622915

Dikirim: 30 Desember 2024/Diterima: 17 Februari 2025

*Korespondensi: desniar@apps.ipb.ac.id

Cara sitasi (APA Style 7th): Lein, M. A., Desniar, & Hardiningtyas, S. D. (2025). Fermentasi daun mangrove *Rhizophora mucronata* sebagai teh herbal. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 28(2), 170-186. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v28i2.61684>

Abstrak

Rhizophora mucronata merupakan jenis mangrove yang banyak ditemukan di Indonesia. Daun tanaman ini mengandung berbagai metabolit sekunder, yaitu tanin, karotenoid, fenol, klorofil, dan alkaloid, yang berpotensi digunakan sebagai bahan teh herbal fermentasi. Senyawa tanin aman dikonsumsi dan memiliki berbagai fungsi, yaitu antioksidan, antibakteri, antikanker serta antialergi. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan lama waktu fermentasi daun mangrove terbaik sebagai bahan baku teh herbal dengan starter BAL *Lactobacillus plantarum* SK (5). Rancangan acak lengkap (RAL) digunakan dengan perlakuan lama fermentasi (0, 1, 2, 3, dan 4 hari) dan tiga kali ulangan. Karakteristik bahan baku dilakukan dengan uji logam berat, kadar air, abu, dan fitokimia. Penelitian pembuatan teh herbal, yaitu pencampuran daun mangrove (20 g) dan akuades (60 mL) serta ditambah starter (10% (v/b)) kemudian difermentasi selama empat hari pada suhu 37°C. Analisis meliputi pengukuran pH, total asam titrat (TAT), total bakteri, dan total BAL. Kandungan logam berat, kadar air, dan abu daun mangrove memenuhi persyaratan SNI. Senyawa golongan flavonoid, fenol, saponin, tanin, dan steroid terdeteksi pada daun mangrove *R. mucronata* bahan baku dan produk fermentasi. Waktu fermentasi terbaik diperoleh pada hari ke-2 dengan nilai pH 4,9, TAT 2,4%, dan total BAL (1,7 log CFU/mL). Perlakuan lama fermentasi daun mangrove menunjukkan perubahan pada nilai pH, TAT, total bakteri dan total BAL selama proses fermentasi. Nilai pH, TAT, total bakteri dan total BAL selama proses fermentasi menunjukkan daun mangrove berpotensi sebagai teh herbal fermentasi. Kata kunci: *Lactobacillus plantarum*, pH, TAT, total BAL, waktu fermentasi

Fermentation of Mangrove Leaves (*Rhizophora mucronata*) as Herbal Tea

Abstract

Rhizophora mucronata is a type of mangrove commonly found in Indonesia. The leaves of this plant contain various secondary metabolites, such as tannins, carotenoids, phenols, chlorophyll, and alkaloids, which have the potential to be used as ingredients in fermented herbal tea. Tannin compounds are safe for consumption and have various functions, including antioxidant, antibacterial, anticancer, and anti-allergic properties. This study aims to determine the optimal fermentation time for mangrove leaves as a raw material for herbal tea using the BAL *Lactobacillus plantarum* SK (5) starter. A completely randomized design (CRD) was used with fermentation duration treatments (0, 1, 2, 3, and 4 days) and three replications. The characteristics of the raw materials were tested for heavy metals, moisture content, ash, and phytochemicals. The research on herbal tea production involved mixing mangrove leaves (20 g) and aquades (60 mL), adding a starter (10% (v/b)), and then fermenting for four days at a temperature of 37°C. Analysis includes the measurement of pH, total titratable acidity (TTA), total bacteria, and total lactic acid bacteria (LAB). The heavy metal content, moisture content, and ash of the mangrove leaves meet SNI requirements. Flavonoid,

phenol, saponin, tannin, and steroid compounds were detected in the raw material and fermentation product of *R. mucronata* mangrove leaves. The best fermentation time was obtained on the second day with a pH value of 4.9, TAT of 2.4%, and total BAL (1.7 log CFU/mL). The treatment duration of mangrove leaf fermentation showed changes in pH, TAT, total bacteria, and total BAL values during the fermentation process. The pH value, TAT, total bacteria, and total BAL during the fermentation process indicate that mangrove leaves have the potential to be used as fermented herbal tea.

Keywords: fermentation time, *Lactobacillus plantarum*, pH, TAT, total LAB

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki tingkat keanekaragaman mangrove tertinggi di dunia. Berdasarkan data Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan [KLHK] Tahun 2021, luas lahan mangrove di Indonesia mencapai 3,36 juta hektare (ha) (Direktorat Konservasi Tanah dan Air, 2021). Provinsi Nusa Tenggara Timur (NTT) mempunyai luas kawasan hutan mangrove seluas 40.614,11 ha (Balai Pengelolaan Hutan Mangrove [BPHM] wilayah 1 Bali, 2011). Keragaman jenis mangrove di NTT mencapai 39 jenis (31 jenis mangrove sejati dan 8 jenis mangrove asosiasi) (Hidayatullah, 2014). Mangrove yang paling sering dijumpai dari seluruh lokasi yaitu jenis *Rhizophora mucronata*. Mangrove secara empiris telah dimanfaatkan oleh masyarakat NTT, buah sebagai makanan pengganti nasi dan pembuatan kolak, daun dijadikan sebagai sayur, melunakkan daging dan obat patah tulang. Biji buah sebagai pengobatan diare, akar sebagai pengobatan gigitan buaya (Hidayatullah, 2014). Kulit batang, akar, daun, buah dan bunga *R. mucronata* secara tradisional telah umum digunakan sebagai obat untuk berbagai penyakit yaitu diabetes, diare, hepatitis, peradangan, dan sebagai antioksidan (Banerjee *et al.*, 2008; Adhikari *et al.*, 2016). Daun mangrove yang masih muda, jika dipanen secara berkelanjutan, dapat terus tumbuh kembali dan menyediakan sumber daya yang dapat diperbarui. Kandungan senyawa metabolit sekunder dan antioksidan paling tinggi di daun muda dibandingkan dengan daun yang sudah tua (Mandang *et al.*, 2021). Menurut Dharmadasa *et al.* (2015) umur daun memengaruhi metabolit sekunder yang dihasilkan. Yuan *et al.* (2015) menambahkan bahwa perbedaan tingkat kematangan daun menghasilkan senyawa antioksidan yang berbeda.

Daun mangrove *R. mucronata* mengandung senyawa metabolit sekunder seperti tanin, karotenoid, fenol, klorofil dan alkaloid (Ridlo *et al.*, 2017). Penelitian (Wahyuni *et al.*, 2015; Issusilaningtyas *et al.*, 2023) melaporkan daun mangrove *R. mucronata* memiliki senyawa bioaktif berupa terpenoid, flavonoid, saponin, alkaloid, dan tanin, dan memiliki kandungan senyawa *R. mucronata* aktif alkaloid, flavonoid, steroid, tanin, serta saponin (Sumartini *et al.*, 2022). Senyawa tanin yang terdapat dalam daun mangrove memiliki aktivitas antioksidan alami yang signifikan, yang dapat membantu melawan radikal bebas dalam tubuh (Sari *et al.*, 2019). Total flavonoid daun *R. mucronata* 8,02±0,351 mg dan total fenol 21,25±0,231 mg (Samanjit *et al.*, 2019).

Kandungan daun mangrove dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku untuk produk pangan fungsional yang bermanfaat bagi kesehatan yaitu teh herbal. Teh dikenal memiliki khasiat kesehatan karena mengandung zat bioaktif sebagai antioksidan, membantu menghambat aktivitas radikal bebas yang berpotensi merusak tubuh (Bravo, 2018). Penelitian teh herbal yang berasal dari daun mangrove telah dilakukan yaitu *tissane* mangrove *R. mucronata* yang kaya fenol dan antioksidan (Hardiningtyas *et al.*, 2024), teh herbal dari daun mangrove jeruju (*Acanthus ilicifolius* L) (Rahayu *et al.*, 2024), teh herbal daun mangrove *Sonneratia alba* (Mandang *et al.*, 2021), dan efek antioksidan teh hijau daun mangrove (*R. mucronata*) sebagai antikolestrol pada mencit (Analudin *et al.*, 2018). Pemanfaatan daun mangrove sebagai teh herbal masih terbatas karena rendahnya daya simpan jika digunakan dalam bentuk segar dan rasa yang pahit saat dikonsumsi. Oleh karena itu, diperlukan metode pengolahan yang dapat meningkatkan



senyawa bioaktif dari daun mangrove, salah satunya melalui fermentasi. Namun, teh herbal dari daun mangrove cenderung memiliki rasa yang lebih pahit atau tidak enak dan aroma khas dibandingkan dengan teh hijau biasa, sehingga tidak disukai dan tidak diterima oleh semua orang. Produk teh fermentasi telah ada misalnya teh *oolong* yang mengalami fermentasi sebagian. Proses oksidasi enzimatis yang tidak berlangsung sepenuhnya, menghasilkan teh dengan karakteristik rasa dan aroma yang unik dan mengandung antioksidan dalam jumlah yang tinggi (Lelita *et al.*, 2018). Teh hitam melalui proses pelayuan akan mengalami proses fermentasi yang lebih lama sehingga menghasilkan sejumlah besar antioksidan polifenol misalnya flavonoid (Zhang *et al.*, 2019). Fermentasi teh herbal dari daun mangrove *R. mucronata* belum dilakukan. Fermentasi daun mangrove *R. mucronata* berpotensi meningkatkan kualitas teh yang dihasilkan, proses fermentasi dapat menguraikan senyawa kompleks dalam daun menjadi senyawa yang lebih sederhana. Fermentasi dengan bakteri asam laktat dapat membantu meningkatkan daya simpan dengan mengurangi kadar air dan menstabilkan senyawa bioaktif. Transformasi ini dapat meningkatkan ketersediaan senyawa bioaktif, memperkaya profil rasa dan aroma, serta meningkatkan aktivitas antioksidan, sehingga menghasilkan teh dengan nilai fungsional yang lebih tinggi.

Fermentasi merupakan suatu proses yang memanfaatkan mikroorganisme dalam pengolahan makanan untuk pemenuhan nutrisi dan juga menghasilkan produk yang tahan lama. Keunggulan produk fermentasi di antaranya lebih mudah dicerna, cita rasa produk yang lebih enak, serta nutrisi makanan yang lebih tinggi (Pawiroharsono, 2007). Fermentasi dengan *starter* bakteri asam laktat (BAL) telah digunakan salah satunya *Lactobacillus plantarum* SK (5) yang merupakan salah satu bakteri asam laktat yang diisolasi dari bekasam ikan seluang (*Rasbora* sp.) yang berasal dari Kayu Agung, Kabupaten Ogan Komering Ilir, Sumatera Selatan. Karakteristik *L. plantarum* yaitu merupakan bakteri Gram positif, sel

berbentuk basil (batang), tidak memiliki spora, tidak mengandung enzim katalase, tidak memproduksi gas dari pemecahan glukosa (bersifat homofermentatif), dan non motil (Desniar *et al.*, 2012). *Lactobacillus plantarum* SK (5) berpotensi sebagai penghasil senyawa antimikrob (Desniar *et al.*, 2013), penghasil enzim protease (Kurniati *et al.*, 2015), enzim lipase (Herlistyani, 2015), dan kandidat probiotik (Safiqoh, 2016).

Produk fermentasi memiliki kelebihan dari segi nutrisi, nutrasetikal, mudah dicerna, meningkatkan cita rasa produk, meningkatkan nilai nutrisi produk, peningkatan senyawa aktif, dan penurunan senyawa antinutrisi (Febricia *et al.*, 2020). Lama waktu fermentasi merupakan faktor utama yang berpengaruh terhadap komponen kimia teh kombucha dan beberapa metabolit lain yang dihasilkan oleh mikroorganisme (Loncar *et al.*, 2006; Soto *et al.*, 2018). Lama waktu proses fermentasi selama 21 hari menurunkan nilai pH, meningkatkan kadar asam asetat, meningkatkan kadar asam glukonat, menurunkan kadar etanol, dan meningkatkan aktivitas antioksidan teh kombucha (teh hitam) paling optimum (Chakravorty *et al.*, 2016). Peningkatan maksimum asam asetat dan asam glukoronat teh kombucha (teh hitam) secara berturut-turut terjadi pada fermentasi hari ke-15 dan ke-12 (Jayabalan *et al.*, 2007). Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa teh hitam yang difermentasi selama 14 hari mengandung polifenol, flavonoid, dan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan teh hitam tanpa fermentasi (Bhattacharya *et al.*, 2013). Penelitian ini bertujuan untuk menentukan lama waktu fermentasi daun mangrove terbaik sebagai bahan baku teh herbal dengan *starter* BAL *Lactobacillus plantarum* SK (5).

BAHAN DAN METODE

Preparasi Bahan Baku

Bahan baku daun *R. mucronata* muda dan segar diperoleh dari perairan Flores Timur, Nusa Tenggara Timur. Sampel daun dicuci menggunakan air mengalir, dicacah dan dikeringkan menggunakan matahari (23-32°C) selama 1 minggu (Hardiningtyas *et al.*, 2024).

Sampel daun yang sudah kering dilakukan analisis logam berat, kadar air, dan abu.

Penyiapan Starter

Starter *L. plantarum* SK (5) yang digunakan dalam penelitian ini diisolasi dari bekasam ikan seluang koleksi Desniar (2012). Verifikasi *L. plantarum* SK (5) dilakukan sebelum penyiapan starter. Verifikasi awal dilakukan untuk memastikan bahwa bakteri yang digunakan benar-benar *L. plantarum* dan memiliki karakteristik yang sesuai untuk proses fermentasi. Verifikasi meliputi pewarnaan Gram, uji motilitas dan uji katalase. Penyiapan starter merujuk pada penelitian Desniar (2012) diawali dengan menginokulasi stock *L. plantarum* SK (5) dalam gliserol ke media *deMan Rogosa and Sharpe*-Agar (MRS-A) (Oxoid) miring dan diinkubasi menggunakan inkubator (Thermocline type 4200 incubator) pada suhu 37°C selama 48 jam. Bakteri dari MRS-A diinokulasikan ke media *deMan Rogosa and Sharpe*-Broth (MRS-B) (oxoid) (20 mL) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Inokulum 10% diinokulasikan ke media MRS-B (200 mL) dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Jumlah sel bakteri dihitung menggunakan metode cawan tuang (*Total Plate Count*).

Fermentasi Daun Mangrove *Rhizophora mucronata*

Fermentasi daun mangrove menggunakan starter *L. plantarum* SK (5). Persiapan daun mangrove yang difermentasi mengacu pada (Subramanian *et al.*, 1999) dengan modifikasi. Daun (20 g) dimasukkan ke dalam botol schott 100 mL dan disemprot dengan 60 mL akuades steril, setelah kondisi bahan sudah lembap ditambahkan starter 2 mL inokulum *L. plantarum* SK (5), dengan menuangkan larutan kultur bakteri secara perlahan ke dalam media fermentasi, dan diaduk secara perlahan dengan cara dikocok perlahan agar larutan meresap dan bakteri tersebar merata. Fermentasi dilakukan secara aerob, sampel diinkubasi di dalam inkubator pada suhu 37°C selama 4 hari (96 jam). Pengamatan dilakukan pada 0, 1, 2, 3, dan 4 hari dengan parameter yang diamati yaitu nilai pH, total asam tertitrasi (TAT), total

bakteri dan total BAL (Desniar *et al.*, 2023; Putra & Wikandari, 2020). Hasil fermentasi berupa daun mangrove kondisi lembap, dilakukan penyeduhan teh merujuk pada penelitian (Musa *et al.*, 2015) dimodifikasi. Daun mangrove *R. mucronata* (2 g) yang difermentasi dengan starter *L. plantarum* SK (5) diseduh dalam 5 mL air mendidih (90°C) dan diaduk selama 5 menit selanjutnya dilakukan pemisahan daun, dibiarkan dingin dan dianalisis pH. Daun mangrove hasil fermentasi dianalisis total asam tertitrasi (TAT), total bakteri, total BAL dan analisis fitokimia.

Analisis Logam Berat (Badan Standardisasi Nasional [BSN], 2011)

Analisis Logam Berat pada sampel dilakukan menggunakan metode *atomic absorption spectrophotometry* (AAS) (Shimatzu AA-700). Sampel 0,5 g didestruksi dengan pengabuan basah (*wet ashing*) menggunakan larutan asam kuat antara lain HNO₃ 65% (merck), H₂SO₄ 96% (merck) dan HCl 37% (merck). Kontrol positif 0,1 mg/kg dari larutan standar Pb dan Cd dibuat dengan menambahkan 0,2 mL ke dalam contoh kemudian di vortex. Kontrol positif Hg 0,5 mg/kg dibuat dengan menambahkan 0,5 mL larutan standar Hg ke dalam contoh kemudian di vortex. Kemudian ditambahkan 5-10 mL HNO₃ 65% (Merck) dan 2 mL H₂O₂ (merck) lalu didestruksi. Hasil destruksi kemudian diukur konsentrasi logam beratnya Pb (283,3 nm), Hg (235,7 nm), dan Cd (228,8 nm). Perhitungan konsentrasi logam berat dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Konsentrasi logam (x)} = ((D-E) \times Fp \times V)/W$$

Keterangan:

D = konsentrasi contoh hasil pembacaan AAS (µg.L)

E = konsentrasi blangko contoh dari hasil pembacaan AAS (µg.L)

Fp = faktor pengenceran

V = volume akhir larutan contoh yang disiapkan (L)

W = berat sampel (g)



Analisis Kadar Air (BSN 1992)

Analisis kadar air pada penelitian ini mengacu pada SNI 01-2891-1992 butir 5.1. Tahap pertama yang dilakukan pada analisis kadar air adalah pengeringan cawan porselen dalam oven pada suhu 102-105°C selama 15 menit hingga diperoleh berat konstan. Cawan tersebut diletakkan ke dalam desikator (kurang lebih 30 menit) dan dibiarkan sampai dingin kemudian ditimbang. Sampel seberat 5 g ditimbang. Cawan yang berisi sampel dimasukkan ke dalam oven bersuhu 102 105 °C selama 6 jam. Cawan kemudian dimasukkan ke dalam desikator dan dibiarkan sampai dingin (26-27°C) kemudian ditimbang. Perhitungan kadar air adalah sebagai berikut :

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

Keterangan:

A = berat cawan kosong (g)

B = berat cawan dengan sampel (g)

C = berat cawan dengan sampel setelah dikeringkan (g)

Analisis Kadar Abu (BSN 1992)

Analisis kadar abu dilakukan untuk mengetahui jumlah bahan anorganik yang terdapat pada suatu bahan terkait dengan mineral dari bahan yang dianalisis. Cawan porselen dibersihkan dan dikeringkan di dalam oven bersuhu 105°C selama 30 menit, lalu didinginkan dalam desikator, kemudian ditimbang. Sampel ditimbang sebanyak 5 g dan dimasukkan ke dalam cawan porselen. Selanjutnya dibakar di atas kompor listrik sampai tidak berasap, kemudian cawan tersebut dimasukkan ke dalam tanur pada suhu 600°C selama 6 jam. Proses pengabuan dilakukan sampai abu berwarna putih, setelah itu cawan abu porselen didinginkan dalam desikator selama 30 menit, kemudian ditimbang. Rumus perhitungan kadar abu adalah sebagai berikut:

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

Keterangan:

A = berat cawan kosong (g)

B = berat cawan dengan sampel (g)

C = berat cawan dengan sampel setelah dikeringkan (g)

Uji Fitokimia (Harborne 1987)

Analisis fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak daun *R. mucronata* bahan baku dan produk daun mangrove fermentasi. Analisis fitokimia yang dilakukan meliputi pengujian senyawa golongan alkaloid, flavonoid, fenol hidrokuinon, steroid/triterpenoid, tanin dan saponin dilakukan secara metode kualitatif.

Uji alkaloid

Ekstrak 0,05 g dilarutkan menggunakan H₂SO₄ 2M. Larutan yang didapat kemudian diteteskan pada lempeng tetes dan ditambahkan pereaksi Mayer, Wagner, dan Dragendorf. Hasil positif uji alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih pada pereaksi Meyer, endapan cokelat pada pereaksi Wagner, dan endapan merah hingga jingga pada pereaksi Dragendorf.

Steroid/triterpenoid

Ekstrak 0,05 g ditambah dengan 2 mL kloroform. Sampel tersebut selanjutnya ditetesi dengan anhidrida asam asetat sebanyak 5 tetes, lalu ditetesi dengan H₂SO₄ pekat sebanyak 3 tetes. Hasil uji steroid positif bila warna larutan berubah menjadi biru atau hijau, sedangkan hasil uji triterpenoid positif bila terbentuk warna merah kecokelatan pada lapisan permukaan sampel.

Uji flavonoid

Ekstrak 0,05 g 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. Campuran kemudian dikocok beberapa saat, lalu diamati perubahan warnanya. Hasil positif uji flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning dan jingga pada lapisan amil alkohol.

Uji fenol hidrokuinon

Ekstrak 0,1 g dilarutkan dengan etanol 70% sebanyak 2 mL. Larutan kemudian disaring sehingga diperoleh residu dan filtrat. Filtrat ditetesi menggunakan FeCl₃ 5% sebanyak 2 tetes. Hasil positif uji fenol hidrokuinon

ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau atau hijau biru.

Uji saponin

Ekstrak 0,05 g ditambahkan akuades 2 mL lalu dimasukkan ke dalam gelas piala yang berisi 50 mL air panas dan dididihkan selama 5 menit. Filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi tertutup kemudian dikocok selama 10 detik, dibiarkan selama 10 menit ditambahkan HCl 2N 0,1 mL. Hasil uji saponin ditunjukkan dengan terbentuknya buih atau busa yang stabil.

Uji tanin

Ekstrak 0,05 g dilarutkan dalam 5 mL akuades dan dihomogenisasi. Campuran dalam tabung dipanaskan 100°C selama 5 menit, kemudian disaring dan filtrat ditambahkan 5 tetes FeCl₃ 1%. Hasil positif uji tanin ditunjukkan terbentuknya warna biru tua, hijau, hingga hitam.

Uji pH (BSN, 2004)

Pengujian pH (derajat keasaman) menggunakan pH meter mengacu pada metode pengukuran pH SNI 06-6989-11-2004. Alat pH meter dikalibrasi dengan larutan bufer standar pH 4 dan pH 7 selama 15-30 menit. Setelah itu elektroda dibilas dengan akuades dan dikeringkan. Sampel 5 mL dipersiapkan, kemudian elektroda dicelupkan dalam larutan sampel dan pengukuran pH dimulai. Elektroda dibiarkan tercelup hingga diperoleh data yang stabil, kemudian dicatat hasil pembacaan dari tampilan pH meter.

Analisis Total Asam Titrasi

Pengukuran total asam titrasi mengacu pada AOAC (1995). Sampel daun mangrove fermentasi 5 g dihancurkan menggunakan mortar. Sampel yang telah homogen dilarutkan dengan akuades dalam gelas piala sampai tanda tera 100 mL, didiamkan selama 30 menit dan diaduk. Larutan yang berisi sampel tersebut disaring dan di pipet 10 mL untuk dimasukkan ke dalam beaker glass. Larutan berisi sampel ditambahkan 2-3 tetes atau 0,15 mL fenoftalein kemudian dititrasi dengan NaOH 0,1 N (merck) sampai warna berubah menjadi

merah muda. Persentase total asam yang terbentuk dihitung berdasarkan rumus:

$$\Sigma \text{ asam tertitrasi (\%)} = \frac{V \text{ NaOH} \times N \text{ NaOH} \times 90 \times \text{FP}}{\text{Bobot sampel}} \times 100$$

Keterangan:

V NaOH = volume NaOH yang terpakai

N NaOH = normalitas NaOH yang terukur

FP = faktor pengencer

90 = berat molekul asam laktat

Total Mikrob dan Total BAL

BAL merupakan bakteri yang biasa digunakan sebagai probiotik karena bersifat nonpatogenik dan nontoksigenik. BAL biasanya memproduksi bakteriosin yang merupakan peptida dengan sifat sebagai antibakteri (Marnila 2016). Mikrob terdiri dari bakteri, jamur, dan virus yang terdapat dalam suatu sampel, baik itu makanan, minuman, tanah, air, atau lingkungan lainnya (Waluyo, 2004). Pengujian total mikrob dan total BAL mengacu pada (BSN, 2006) modifikasi. Sampel ditimbang sebanyak 10 g, selanjutnya dimortar dan dilarutkan ke dalam 90 mL *Buffered Peptone Water* (BPW) steril sehingga diperoleh sampel dengan pengenceran 10⁻¹. Larutan dipipet sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 mL larutan BPW steril untuk mendapatkan pengenceran 10⁻², demikian seterusnya sampai pengenceran 10⁻⁸. Sampel 1 mL masing-masing pengenceran dipipet dan dimasukkan ke dalam cawan petri steril, kemudian dituang ±15 mL media PCA untuk pengujian total mikrob dan MRSA yang ditambah CaCO₃ 0,5% (Merck) steril untuk pengujian total BAL. Cawan yang berisi media digoyang secara merata dan didiamkan, setelah itu cawan diinkubasi dengan posisi terbalik pada suhu 37°C selama 48 jam, khusus untuk media BAL diinkubasi dalam kondisi mikroaerofilik. Jumlah total bakteri dihitung (25–250 koloni) dan dinyatakan dalam CFU/mL. Rumus perhitungan yang digunakan adalah sebagai berikut:

$$N = \frac{\Sigma C}{[(1 \times n_1) + (0,1 + n_2) \times (d)]}$$

Keterangan:

N = koloni produk (mL) atau koloni (g)

ΣC = koloni pada semua cawan yang dihitung



n1 = jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung
 n2 = jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung
 d = pengenceran pertama yang dihitung

Analisis Data

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Perlakuan penelitian fermentasi daun mangrove dengan starter BAL *L. plantarum* SK (5) dengan waktu fermentasi, 0, 1, 2, 3, 4 hari. Data kuantitatif pada analisis total mikrob, total BAL, TAT, dan pH, dianalisis menggunakan analisis ragam *Analyses of Variance* (ANOVA) dengan aplikasi *Statistical Package for Service Solutions* (SPSS). Data verifikasi BAL, logam berat, kadar air, kadar abu dan fitokimia dianalisis secara deskriptif, disajikan dalam bentuk grafik, diagram dan tabel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Bahan Baku Logam berat daun mangrove *Rhizophora mucronata*

Mangrove merupakan tanaman yang memiliki toleransi tinggi terhadap logam berat (Febriyanto *et al.*, 2022). Logam berat bersifat beracun dan sulit terurai sehingga sangat berbahaya bagi manusia dan lingkungan (Opasola *et al.*, 2019). Akumulasi logam berat pada manusia menyebabkan gangguan fungsi otak, hati, ginjal, paru-paru, otot dan sistem saraf serta mutasi gen (Putri *et al.*, 2022). Kandungan logam berat pada daun mangrove dapat dilihat pada *Table 1*.

Hasil analisis logam berat daun mangrove menunjukkan bahwa logam berat Hg, Pb, Cd, dan As masih berada di bawah ambang batas berdasarkan SNI 3836:2013

tentang teh kering dalam kemasan. Logam berat pada mangrove mengindikasikan adanya pencemaran pada kawasan tersebut. Hasil penelitian menunjukkan adanya kadar logam berat yang rendah diduga karena sampel *R. mucronata* yang digunakan berasal dari area yang jauh dari lokasi industri dan pemukiman padat penduduk sehingga mangrove ini aman untuk dikonsumsi. Mangrove memiliki kemampuan menyerap bahan-bahan organik dan non organik dari lingkungannya ke dalam tubuh melalui membran sel. Walaupun banyak masukan sumber bahan pencemar, mangrove memiliki toleransi yang tinggi terhadap logam berat (Kamaruzzaman *et al.*, 2008)

Kadar Air dan Kadar Abu Bahan Baku

Hasil analisis kadar air pada bahan baku daun mangrove *R. mucronata* sebesar 5,89% menunjukkan jumlah air yang terkandung dalam daun mangrove *R. mucronata*. Kadar air daun mangrove memenuhi standar SNI 3836:2013 yaitu maksimum 8%. Nilai ini cukup rendah, yang mengindikasikan bahwa daun mangrove ini relatif kering pada saat pengujian. Kadar air berpengaruh terhadap stabilitas daun dan kecenderungan daun untuk mengalami pembusukan. Kadar air yang rendah umumnya meningkatkan daya tahan daun terhadap pembusukan mikroorganisme dan memperlambat proses degradasi organik. Mitra *et al.* (2021) mengatakan bahwa kadar air yang rendah meningkatkan kestabilan dan mempermudah pengolahan biomassa.

Kadar abu sebesar 11,67% menunjukkan jumlah residu mineral yang tertinggal setelah pembakaran total daun mangrove. Kadar abu daun mangrove memenuhi standar SNI 3836:2013 yaitu maksimum 45%. Kadar abu mengindikasikan

Table 1 Heavy metal content in mangrove leaves of *R. mucronata*
 Tabel 1 Kandungan logam berat pada daun mangrove *R. mucronata*

Parameter	Results (mg/kg)	SNI 3836:2013
Mercury (Hg)	0.05	≤2.0
Lead (Pb)	0.14	≤0.2
Cadmium (Cd)	<1.00	≤0.03
Arsenic (As)	<0.02	≤1.0

kandungan mineral anorganik dalam daun, yang bisa mencakup unsur-unsur misalnya silika, kalsium, magnesium, dan logam berat dalam jumlah tertentu. Kadar abu yang relatif tinggi (11,67%) mengindikasikan bahwa daun mangrove *R. mucronata* memiliki kandungan mineral yang signifikan. Hal ini bisa berhubungan dengan kemampuan tanaman mangrove dalam menyerap dan menyimpan mineral dari lingkungan air laut dan sedimen yang kaya mineral. Kandungan abu ini juga dapat memberikan gambaran tentang komposisi tanah dan air di habitat mangrove, yang seringkali mengandung mineral dari endapan atau bahan anorganik yang terbawa oleh aliran sungai atau pasang surut laut. Daun mangrove yang tinggi kandungan abu ini juga bisa menjadi indikator bioakumulasi dari beberapa unsur logam atau mineral dari lingkungan sekitarnya. Kadar abu merupakan campuran dari komponen anorganik atau mineral yang terdapat dalam suatu bahan pangan (Purwaningsih *et al.*, 2013).

Kandungan Fitokimia Daun Mangrove *Rhizophora mucronata*

Senyawa fitokimia yang terdapat pada tumbuhan umumnya merupakan senyawa

aktif. Kandungan senyawa aktif yang umum ditemukan pada tumbuhan adalah kelompok senyawa alkaloid, fenol, flavonoid, tanin, saponin, steroid dan triterpenoid. Analisis fitokimia merupakan *screening* untuk menentukan kandungan bioaktif pada tumbuhan. Analisis fitokimia yang dilakukan bersifat kualitatif. Parameter acuan yang digunakan adalah pengubahan warna setelah penambahan reaksi. Hasil analisis fitokimia bahan baku daun *R. mucronata* dan daun mangrove fermentasi disajikan pada *Table 2*.

Table 2 menunjukkan senyawa bioaktif pada daun *R. mucronata* dan daun mangrove *R. mucronata* hasil fermentasi. Senyawa golongan flavonoid, fenol, saponin, tanin, dan steroid terdeteksi pada daun mangrove *R. mucronata* bahan baku dan produk fermentasi. Senyawa golongan alkaloid, dan triterpenoid tidak terdeteksi pada bahan baku daun mangrove *R. mucronata* dan produk hasil fermentasi. Kandungan senyawa alkaloid tidak terdeteksi pada ekstrak daun yang ditunjukkan dengan tidak adanya endapan putih pada penambahan reagen Mayer. Berdasarkan penelitian Hardiningthyas *et al.* (2024) sampel daun, bunga, dan buah *R. mucronata* negatif mengandung senyawa alkaloid. Tidak

Table 2 Phytochemistry of raw materials of *R. mucronata* leaves and fermented mangrove leaves

Tabel 2 Fitokimia bahan baku daun *R. mucronata* dan daun mangrove fermentasi

Phytochemical parameters	Raw materials mangrove leaves	Fermented mangrove leaves	<i>Avicennia marina</i> ^a	<i>Rhizophora mucronata</i> and <i>Rhizophora apiculata</i>	<i>Rhizophora mucronata</i>
Alkaloids					
a. Mayer	-	-	-	-	+
b. Wegner	-	-	-	-	+
c. Dragendorff	-	-	-	-	+
Phenol	+	+	+	+	-
Flavonoids	+	+	+	+	-
Tanins	+	+	+	+	-
Saponins	+	+	-	+	-
Steroids	+	+	+	-	-
Triterpenoids	-	-	-	-	-

^aHardiningthyas *et al.*, (2014), ^bAkasia *et al.* (2021), ^cUsman *et al.* (2022)



terdeteksinya senyawa alkaloid pada sampel diduga karena senyawa alkaloid sensitif pada suhu tinggi (ekstraksi menggunakan air yang bersuhu 100°C). Senyawa alkaloid misalnya *hydrastine* dan *berberine* bersifat *thermally labile* yaitu dapat terdekomposisi pada suhu tinggi (Mokgadi *et al.*, 2013).

Fenol merupakan kelompok senyawa yang termasuk ke dalam senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan. Menurut Perez *et al.* (2016) fenol memiliki ciri khas yaitu terdapat setidaknya satu cincin aromatik yang terhubung dengan gugus hidroksil (-OH) pada struktur senyawanya. Senyawa fenol memiliki kemampuan sebagai antioksidan yang baik. Hal tersebut menurut Mahardika & Roanisca (2018) karena kemampuan senyawa fenol untuk mendonorkan hidrogen radikal. Senyawa fenol terdeteksi pada ekstrak daun mangrove. Penelitian Hardiningthyas *et al.* (2024) yang menunjukkan bahwa sampel daun, bunga dan buah *Rhizophora mucronata* positif mengandung senyawa fenol. Hasil positif untuk pengujian fenol ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi biru. Menurut Haryati *et al.* (2015) hal ini disebabkan oleh reaksi antara FeCl_3 dengan gugus -OH pada fenol.

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang tergolong ke dalam sub-group senyawa fenolik. Menurut Terahara (2015) flavonoid dicirikan dengan adanya rangka difenil propanoid yang yang mengombinasikan dua cincin benzena dengan tiga atom karbon. Gorniak *et al.* (2019) menjelaskan bahwa flavonoid berfungsi sebagai antioksidan, antimikrob, dan dan antifungi. Senyawa flavonoid terdeteksi pada ekstrak daun pada penelitian ini yang ditunjukkan dengan adanya warna merah atau jingga pada lapisan amil alkohol. Hardiningthyas *et al.* (2024) mengatakan bahwa sampel daun, bunga dan buah *R. mucronata* positif mengandung senyawa flavonoid.

Tanin merupakan senyawa metabolit sekunder yang tergolong dalam kelompok senyawa polifenol. Tanin menurut Sharma *et al.* (2019) memiliki berbagai fungsi seperti antioksidan, antibakteri, antikanker serta antialergi. Senyawa tanin terdeteksi pada ekstrak daun pada penelitian ini yang

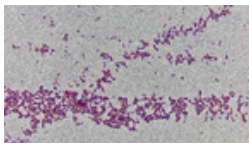


ditunjukkan dengan perubahan warna hijau pada tabung reaksi. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian Hardiningthyas *et al.* (2024) yang menunjukkan bahwa sampel daun, bunga dan buah *R. mucronata* positif mengandung senyawa tanin.

Saponin merupakan glikosida aktif-permukaan alami dengan karakteristik busa yang unik. Menurut Nurzaman *et al.* (2013) saponin dapat menimbulkan buih setelah dikocok dikarenakan memiliki kemampuannya untuk menurunkan tegangan air. Saponin menghambat mediator inflamasi seperti pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) dan berperan sebagai antioksidan. Saponin menurut Harborne (1987) juga berperan sebagai antibakteri dengan cara melisiskan dinding sel.

Steroid merupakan senyawa yang umum ditemukan pada banyak tumbuhan. Menurut Zhabinskii *et al.* (2015) steroid berperan penting dalam pertumbuhan dan perkembangan organisme. Steroid juga memiliki peran sebagai antioksidan, antikanker, antikolesterol dan antiviral. Hasil pengujian menunjukkan adanya kandungan steroid pada ekstrak daun dengan indikator berupa warna hijau pada larutan. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Hardiningthyas *et al.* (2024) yang menunjukkan bahwa steroid terdapat pada ekstrak daun namun tidak terdapat pada ekstrak bunga dan buah.

Triterpenoid merupakan senyawa yang dapat dideteksi dengan adanya perubahan warna menjadi merah kecokelatan pada larutan reaksi. Menurut Kulshreshtha *et al.* (1972) triterpenoid merujuk pada senyawa sekunder turunan terpenoid yang terdiri dari tiga puluh atom karbon dan tersusun dari enam unit isoprena. Beberapa penelitian menunjukkan triterpenoid memiliki aktivitas antioksidan (Cai *et al.*, 2019) dan antibakteri (Nzogong *et al.*, 2018). Triterpenoid tidak terdeteksi pada ekstrak daun. Hal ini sesuai dengan penelitian Hardiningthyas *et al.* (2024) yang menunjukkan bahwa sampel daun *Rhizophora mucronata* negative mengandung senyawa triterpenoid dan pada buah dan bunga positif mengandung senyawa triterpenoid.

Table 3 Verification test results of isolate *L. plantarum* SK (5)Tabel 3 Hasil uji verifikasi isolate *L. plantarum* SK (5)

Type of Test	Results	Image
Gram staining	Gram-positive: bacterial cells are purple, cell shape: rod	
Motility test	Negative: non-motile, isolate grows along the inoculation needle stab line.	
Catalase test	Negative: no bubbles observed in H ₂ O ₂ 3%	

Karakteristik Kultur *Starter* Bakteri Asam Laktat

Starter L. plantarum SK (5) yang digunakan memiliki karakteristik yang telah dilaporkan oleh Desniar *et al.* (2012), yaitu merupakan bakteri Gram positif, tidak menghasilkan endospora, katalase negatif dan bersifat homofermentatif. Isolat ini diisolasi dari produk fermentasi ikan bekas asal Sumatra Selatan. Kultur *starter* dapat didefinisikan sebagai sejumlah sel mikroorganisme yang sengaja ditambahkan ke bahan baku produk fermentasi untuk mempercepat dan mengendalikan proses fermentasi.

Uji pewarnaan Gram menunjukkan bahwa isolat SK (5) merupakan bakteri Gram positif, hal ini ditandai dengan terbentuknya warna ungu saat pengamatan. Warna ungu pada hasil pewarnaan Gram menunjukkan bahwa bakteri tersebut termasuk ke dalam kelompok bakteri Gram positif (Desniar, 2012). Hasil uji motilitas menunjukkan bahwa isolat SK (5) bersifat non motil. Hal tersebut terlihat melalui pertumbuhan isolat SK (5) yang terjadi di sepanjang tempat tusukan jarum inokulasi. Bakteri bersifat non motil apabila pertumbuhan bakteri terjadi di sepanjang tusukan jarum inokulasi,

sedangkan bakteri bersifat motil apabila dapat tumbuh hingga mencapai permukaan media di dalam tabung (Desniar, 2012). Hasil uji katalase menunjukkan bahwa isolat SK (5) tidak menunjukkan tanda-tanda munculnya gelembung gas saat dilakukan penambahan H₂O₂ 3% (v/v). Hal ini menunjukkan bahwa isolat SK (5) merupakan katalase negatif. Katalase merupakan enzim yang dapat mengkatalisis penguraian hidrogen peroksida (H₂O₂) menjadi air dan oksigen. Gelembung-gelembung gas yang muncul saat penambahan H₂O₂ menunjukkan adanya aktivitas katalase dalam sampel. Bakteri dapat dikatakan berkatalase positif apabila bakteri memiliki aktivitas katalase, sedangkan bakteri dikatakan berkatalase negatif apabila bakteri tidak menunjukkan adanya aktivitas katalase saat dilakukan penambahan H₂O₂ 3% (v/v) (Desniar, 2012).

Nilai pH dan Total Asam Tertitrasi Fermentasi Daun Mangrove

Total asam tertitrasi (TAT) dan nilai pH merupakan parameter kimiawi yang menjadi indikator utama untuk melihat keberhasilan proses fermentasi. Total asam tertitrasi adalah jumlah asam yang terkandung dalam suatu bahan. Analisis total asam tertitrasi (TAT)

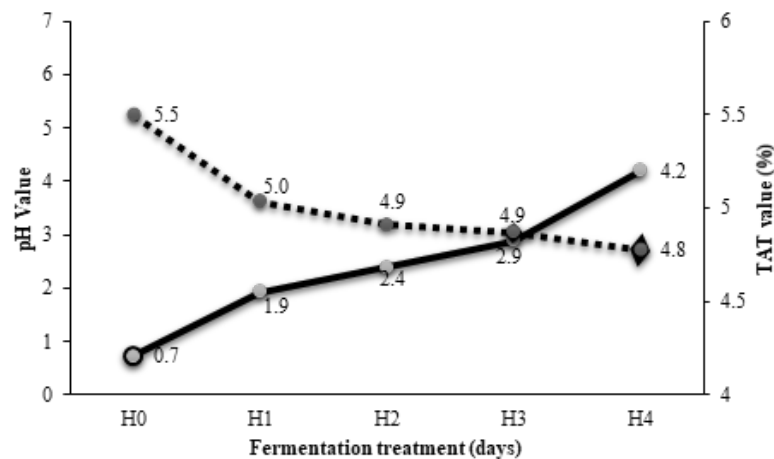


Figure 1 pH Values (---◆) and TAT (●—) during the fermentation process

Gambar 1 Nilai pH (---◆) dan TAT (●—) selama proses fermentasi

dilakukan untuk menentukan konsentrasi asam yang terkandung dalam suatu bahan menggunakan metode titrasi dengan basa standar. Nilai pH merupakan konsentrasi ion hidrogen yang menunjukkan derajat keasaman suatu larutan (Anwar *et al.*, 2014). Perubahan nilai pH dan TAT pada lama fermentasi berbeda dapat dilihat pada *Figure 1*.

Analisis ragam nilai total asam tertitrisasi menunjukkan perlakuan waktu fermentasi berpengaruh nyata terhadap nilai TAT ($p < 0,05$). Berdasarkan uji duncan pada hari fermentasi ke 0 memberikan nilai terendah yaitu 0,72 tidak berbeda nyata dengan nilai total asam tertitrisasi (TAT) pada hari fermentasi ke-1 tetapi nilai TAT pada hari fermentasi ke 1 tidak berbeda nyata dengan nilai TAT pada hari fermentasi ke-2 dan hari fermentasi ke-3. Nilai TAT pada hari fermentasi ke 4 memberikan nilai tertinggi yaitu 5,9 yang berbeda nyata dengan semua nilai TAT pada hari fermentasi lainnya. Peningkatan kadar TAT disebabkan oleh aktivitas bakteri dalam memanfaatkan karbohidrat mangrove *Rhizophora mucronata* sebagai sumber energi untuk menghasilkan asam laktat. Susilowati *et al.* (2014) menjelaskan bahwa bakteri akan mengubah glukosa menjadi asam organik dalam jumlah yang besar, sehingga peningkatan jumlah BAL menyebabkan produksi asam laktat makin tinggi. Proses pembentukan asam laktat oleh bakteri diawali dengan mengubah glukosa menjadi dua

molekul asam piruvat, 2 NADH, dan 2 ATP melalui proses glikolisis. Dua molekul asam piruvat kemudian diubah menjadi asam laktat oleh enzim laktat dehidrogenase. Penurunan nilai pH disebabkan oleh akumulasi produk asam laktat yang dihasilkan selama proses fermentasi daun mangrove *Rhizophora mucronata*. Desniar (2012) menjelaskan bahwa selama proses fermentasi bakteri *L. plantarum* SK (5) dapat menghasilkan asam laktat dan asam asetat sebagai asam organik dominan yang dapat merubah pH lingkungan menjadi asam.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan lama fermentasi berpengaruh signifikan terhadap nilai pH ($p < 0,05$). Berdasarkan uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa nilai pH yang dihasilkan dari teh fermentasi mangrove pada hari ke-0 sebelum fermentasi berbeda nyata dengan semua perlakuan yang lain. Perlakuan lama fermentasi hari ke-1 menghasilkan nilai pH yang berbeda signifikan dengan lama fermentasi 3 dan 4 hari tapi tidak berbeda nyata dengan lama fermentasi 2 hari. Fermentasi 2, 3 dan 4 hari tidak berbeda. Kisaran pH teh fermentasi dari hari fermentasi ke-0 hingga hari fermentasi ke-4 tergolong kondisi asam. Perbedaan nilai pH pada waktu fermentasi berbeda berkorelasi positif dengan perbedaan nilai TAT. Peningkatan kadar TAT menyebabkan menurun nilai pH dari hari fermentasi ke 0 hingga hari fermentasi ke 4 Selama fermentasi BAL mengkonsumsi

gula dan menghasilkan asam organik. Hal ini menyebabkan terjadinya penurunan nilai pH selama fermentasi. Hal tersebut diduga karena adanya akumulasi asam laktat secara dominan yang berasal dari starter bakteri *L. plantarum* SK (5). Menurut Desniar (2012) bakteri *L. plantarum* SK (5) merupakan bakteri homofermentatif yang mampu memproduksi asam laktat secara dominan. Ross *et al.* (2002) menambahkan bahwa bakteri homofermentatif mampu mengubah lebih dari 90% substrat gula menjadi asam laktat. Ray (2004) menyatakan bahwa asam laktat merupakan asam organik yang memiliki konstanta disosiasi (pKa) paling rendah diantara asam organik lain yang dihasilkan oleh BAL yaitu sebesar 3.8. Makin kecil nilai pKa asam organik maka akan mengakibatkan makin kuat kadar keasamannya.

Total Bakteri Asam Laktat *L. plantarum* SK (5)

Bakteri *L. plantarum* SK (5) merupakan bakteri asam laktat (BAL) yang tergolong ke dalam homofermentatif karena mampu menghasilkan asam organik yang dapat menurunkan pH lingkungan. Asam organik dominan yang dihasilkan oleh bakteri tersebut adalah asam laktat dan asam asetat (Desniar, 2012). Bakteri *L. plantarum* sering dijadikan sebagai starter dalam produk fermentasi karena bersifat nonpatogenik, mudah beradaptasi pada berbagai kondisi lingkungan,

serta mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Setiarto, 2020). Perubahan total bakteri asam laktat (BAL) dan total bakteri selama empat hari fermentasi daun mangrove *R. mucronata* pada penelitian dapat dilihat pada *Figure 2*.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan lama fermentasi tidak berpengaruh terhadap total BAL dan total bakteri ($p > 0,05$). Fermentasi daun mangrove selama 4 hari mengalami perubahan. Hari pertama total bakteri dan total BAL mengalami penurunan, pada hari ke dua fermentasi mengalami peningkatan, kemudian pada hari ke tiga mengalami peningkatan yang cenderung stabil, dan pada hari ke empat total bakteri dan total BAL mengalami penurunan (*Figure 2*). Jumlah total bakteri selama fermentasi 4 hari menunjukkan bahwa terdapat mikroorganisme yang tumbuh pada substrat daun mangrove setelah proses sterilisasi. Bakteri yang tumbuh diduga sebagai bakteri penghasil spora atau bakteri termofilik. Bakteri termofilik merupakan bakteri tahan panas yang dapat bertahan hidup pada suhu berkisar 45–80°C (Zuraidah *et al.*, 2020). Bakteri penghasil spora merupakan bakteri yang menghasilkan spora untuk melindungi diri pada kondisi yang ekstrim. Spora bakteri lebih tahan terhadap panas serta dapat berkembang menjadi individu baru ketika bertemu dengan kondisi lingkungan dan jumlah nutrisi yang sesuai (Mailia *et al.*, 2015).

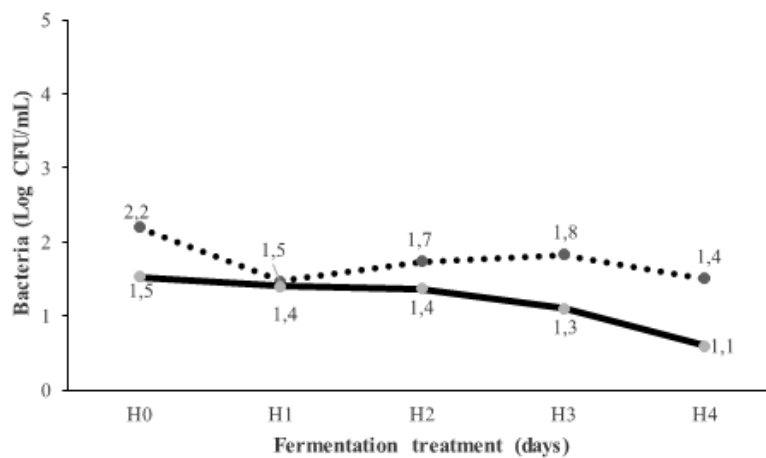


Figure 2 Total LAB (---●---) and total bacteria (—●—) during the fermentation process

Gambar 2 Total BAL (---●---) dan total bakteri (—●—) selama proses fermentasi



Jumlah total BAL fermentasi daun mangrove *R. mucronata* pada hari ke 0 sebesar 2,2 log cfu/mL dan mengalami penurunan pada hari 1 sebesar 1,5 log cfu/mL. Menurunnya total BAL pada hari 1 fermentasi dibandingkan hari ke 0 diduga karena BAL berada dalam fase adaptasi dengan lingkungan yang baru dan diduga kurangnya nutrisi berupa senyawa sederhana pada daun mangrove sebagai media tumbuh bakteri serta kondisi daun mangrove yang kurang lembap pada proses fermentasi juga diduga memengaruhi total bakteri asam laktat (BAL). Subagiyo *et al.* (2015) menyatakan bahwa, pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh jenis dan konsentrasi sumber nitrogen yang tersedia. Augustine *et al.* (2018) juga menyatakan bahwa makin tinggi nutrisi yang diberikan pada bakteri asam laktat maka makin tinggi pula pertumbuhan dan perkembangan bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat (BAL) dapat tumbuh meskipun jumlahnya berkurang dari starter awal. Van der Meulen *et al.* (2014), mengatakan bahwa meskipun jumlah awal bakteri asam laktat (BAL) sedikit, mereka bisa berkembang dengan baik dalam kondisi lingkungan yang mendukung. Fermentasi produk nabati, penurunan total bakteri asam laktat (BAL) pada hari pertama sering kali terjadi akibat perubahan cepat dalam kondisi lingkungan yang belum mendukung keberlangsungan populasi bakteri asam laktat (BAL) pada fase awal (Parmar & Pandya, 2018). Total bakteri asam laktat (BAL) pada fermentasi meningkat pada hari kedua dan hari ketiga sebesar 1,7 dan 1,8 log cfu/mL. Peningkatan total bakteri asam laktat (BAL) selama fermentasi daun mangrove *R. mucronata* disebabkan oleh bakteri yang berada dalam fase logaritmik atau fase pertumbuhan. Fase logaritmik bakteri dipengaruhi oleh kondisi lingkungan dan ketersediaan nutrisi dalam bentuk senyawa sederhana dengan jumlah yang cukup. Augustine *et al.* (2018) menjelaskan bahwa makin tinggi kandungan nutrisi dalam substrat fermentasi maka jumlah bakteri asam laktat yang tumbuh makin banyak. Penurunan total BAL terjadi di hari keempat 1,4 log cfu/mL. Penurunan jumlah bakteri asam laktat (BAL) disebabkan karena bakteri telah melewati fase

stasioner dan memasuki fase kematian. Fase kematian bakteri terjadi akibat ketersediaan nutrisi untuk pertumbuhan bakteri telah berkurang, selain itu akumulasi asam laktat yang terbentuk selama proses fermentasi menyebabkan pH lingkungan menjadi terlalu asam. Kondisi lingkungan yang terlalu asam dapat menghambat pertumbuhan bakteri asam laktat (Silitonga *et al.*, 2022). Penelitian Desniar (2012) melaporkan bahwa bakteri *L. plantarum* SK (5) dapat tumbuh optimal pada kondisi lingkungan dengan suhu 37°C dan pH berkisar 4–4,5.

KESIMPULAN

Waktu fermentasi daun mangrove terbaik diperoleh pada hari ke-2 dengan nilai pH 4,9; TAT 2,4%; total BAL 1,7 log CFU/mL dan total mikrob 1,4 log CFU/mL. Fermentasi daun mangrove *R. mucronata* berpotensi sebagai teh herbal fermentasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi melalui pendanaan Program Riset Keilmuan Skema Hibah Riset thesis pascasarjana dengan nomor kontrak: 027/E5/PG.02.00.PL/2024, atas nama Dr. Desniar, S.Pi., M.Si.

DAFTAR PUSTAKA

- Adhikari, A., Ray, M., Das, A., Sur, T. (2016). Antidiabetic and antioxidant activity of *Rhizophora mucronata* leaves (Indian sundarban mangrove): An in vitro and in vivo study. *AYU (An International Quarterly Journal of Research in Ayurveda)*.37(1). https://doi.org/doi:10.4103/ayu.ayu_182_15
- Agustine, L., Okfrianti, Y., & Jum, J. (2018). Identifikasi total bakteri asam laktat (BAL) pada yoghurt dengan variasi sukrosa dan susu skim. *Jurnal Dunia Gizi*, 1(2), 79-83.
- Akasia, A.I., Putra I.D.N., & Putra, I.N.G. (2021). Skrining fitokimia ekstrak daun mangrove *Rhizophora mucronata* dan *Rhizophora apiculata* yang dikoleksi dari kawasan mangrove Desa Tuban, Bali. *Journal of Marine Research and*

- Technology, 4(1), 16-22. <https://doi.org/10.24843/jmrt.2021.v04.i01.p03>
- Anwar, L.O., & Hardjito L. (2014). Fermentasi tambelo dan karakteristik produknya. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 17 (3): 254-262. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v17i3.8914>
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemists. (2005). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. AOAC.
- Bhattacharya, S., Gachhui, R., & Sil, P. C. (2013). Hepatoprotective properties of kombucha tea against TBHP-induced oxidative stress via suppression of mitochondria dependent apoptosis. *Pathophysiology*, 20(1), 59-70.
- Banerjee, D., Chakrabarti, S., Hazra, A. K., Banerjee, S., Ray, J., & Mukherjee, B. (2008). Antioxidant activity and total phenolics of some mangroves in Sundarbans. *African Journal of Biotechnology*, 7(6), 805-810.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. (2006). SNI 01-2332.3-2006. Cara Uji Mikrobiologi-Bagian 3: Penentuan Angka Lempeng Total (ALT) Pada Produk Perikanan. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. (2004). Cara uji derajat keasaman (pH) dengan menggunakan alat pH meter. SNI-06-6989.11-2004. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional.
- Cai, C., Ma, J., Han, C., Jin, Y., Zhao, G., & He., X. (2019). Extraction and antioxidant activity of total triterpenoids in the mycelium of a medicinal fungus, *Sanghuangporus sanghuang*. *Scientific reports*, 9(1), 7418.
- Chakravorty, S., Bhattacharya, S., Chatzinotas, A., Chakraborty, W., Bhattacharya, D., & Gachhui, R. (2016). Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. *International Journal of Food Microbiology*, 220, 63-72.
- Desniar. (2012). Karakterisasi bakteri asam laktat dari produk fermentasi ikan (bekasam). [Disertasi]. Institut Pertanian Bogor.
- Desniar, Setyaningsih, I., & Fransiska, I. M. (2023). Perubahan kimiawi dan mikrobiologis selama fermentasi bekasam ikan nila menggunakan starter tunggal dan campuran. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 26(3), 414-424. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v26i3.50664>
- Dewi, P. K., Hastuti, E. D., & Budihastuti, R. (2018). kemampuan akumulasi logam berat tembaga (Cu) pada akar mangrove jenis *Avicennia marina* (Forsk.) dan *Rhizophora mucronata* (Lamk.) di lahan tambak. *Jurnal Akademika Biologi*, 7(4), 14-19.
- Direktorat Konservasi Tanah dan Air. (2021). Peta mangrove nasional. Jakarta: Direktorat Konservasi Tanah dan Air, Ditjen PDASRH
- Fardiaz, S. (1992). Mikrobiologi Pengolahan Pangan Lanjutan. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 283 hlm.
- Febriyanto, Y., Perwira, I. Y., & Sari, A. H. W. (2022). Perbandingan kandungan logam berat pada sedimen di kawasan hutan mangrove Perancak dan Tahura Ngurah Rai. *Current Trends in Aquatic Science*, 5(1), 34-39.
- Gazali, M., Nurjanah, N., & Zamani, N. P. (2018). Eksplorasi senyawa bioaktif alga cokelat *Sargassum* sp. Agardh sebagai antioksidan dari Pesisir Barat Aceh. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 21(1), 167-178.
- Gorniak, I., Bartoszewski, R., & Króliczewski, J. (2019). Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids. *Phytochemistry reviews*, 18, 241-272.
- Hardiningtyas, S. D., Purwaningsih, S., & Handharyani, E. (2014). Aktivitas antioksidan dan efek hepatoprotektif ekstrak etil asetat daun bakau api-api (*Avicennia marina*) pada tikus yang diinduksi karbon tetraklorida. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 17(1), 81-88. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v17i1.8140>.
- Haryati, E. S., Diba, F., Wahdina. (2015). Etnobotani tumbuhan berguna oleh



- masyarakat sekitar kawasan KPH model Kapuas Hulu. *Jurnal Hutan Lestari*, 3(3), 434-445. <https://doi.org/10.26418/jhl.v3i3.11370>.
- Harborne, J. B. (1987). Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah. Bandung (ID): *Institut Teknologi Bandung*.
- Hidayatullah, M., & Pujiono, E. (2014). Struktur Dan Komposisi Jenis Hutan Mangrove Di Golo Sepang–Kecamatan Boleng Kabupaten Manggarai Barat. *Jurnal Penelitian Kehutanan Wallacea*, 3(2), 151-162.
- Jacob, A., Suptijah, P., & Murni, D. (2011). Aktivitas antioksidan dari daun mangrove api-api (*Avicennia marina*) yang diekstraksi dengan pelarut metanol. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 14(3), 199-204. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v14i3.8057>
- Jayabalan, R., Marimuthu, S., & Swaminathan, K. (2007). Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation. *Food Chemistry*, 102(1), 392–398.
- Kulshreshta, M. J., Kulshreshta, D. K., Rastogi, R. P. (1972). The triterpenoids. *Phytochemistry*, 11(8), 2369-2381. [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(00\)88503-9](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(00)88503-9).
- Lelita, D. I., Rohadi, R., & Putri, A. S. (2018). Sifat antioksidatif ekstrak teh (*Camellia sinensis* Linn.) jenis teh hijau, teh hitam, teh oolong dan teh putih dengan pengeringan beku (*freeze drying*). *Jurnal Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian*, 13(1), 15-30.
- Li, L., Wang, L., Fan, W., Jiang, Y., Zhang, C., Li, J., & Wu, C. (2020). The application of fermentation technology in traditional Chinese medicine: A review. *The American journal of Chinese medicine*, 48(04), 899-921. <https://doi.org/10.1142/S0192415X20500433>
- Loncar, E., Djuric, M., Malbasa, R., Kolarov, L. J., & Klasnja, M. (2006). Influence of working conditions upon Kombucha conducted fermentation of black tea. *Food and Bioproducts Processing*, 84(3), 186–192.
- Mailia, R., Yudhistira, B., Pranoto, Y., Rochdyanto, S., Rahayu, ES. (2015). Ketahanan panas cemaran *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* dan bakteri pembentuk spora yang diisolasi dari proses pembuatan tahu di Sudagaran Yogyakarta. *Jurnal Agritech*. 35(3), 300– 308. <https://doi.org/10.22146/agritech.9341>.
- Mahardika, R. G., & Roanisca, O. (2018). Aktivitas antioksidan dan fitokimia dari ekstrak etil asetat pucuk idat (*Cratoxylum glaucum*). *Indonesian Journal of Chemical*, 5(2), 69-74 <https://doi.org/10.30598/ijcr.2018.5-rob>.
- Mandang, M. S. S., Sahambangun, D. E., Masinambou, C. D., & Dotulong, V. (2021). Daun mangrove *Sonneratia alba* sebagai teh fungsional. *Media Teknologi Hasil Perikanan*, 9(3), 93-99.
- Mokgadi, J., Turner, C., Torto, N. (2013). Pressurized hot water extraction of alkaloids in goldenseal. *American Journal of Analytical Chemistry*, 4, 394-403. <https://doi.org/10.4236/ajac.2013.48050>.
- Musa, L. B., Mamat, H., Aziz, Z. A., & Abu Bakar, M. F. (2015). Effect of different drying methods on phytochemicals and antioxidant properties of unfermented and fermented teas from Sabah Snake Grass (*Clinacanthus nutans* Lind.) leaves. *International Food Research Journal*, 22(2), 661–670.
- Nurzaman, F., Djajadisastra, J., Elya, B. (2018). Identifikasi kandungan saponin dalam ekstrak kamboja merah (*Plumeria rubra* L.) dan daya surfaktan dalam sediaan kosmetik. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 8(2), 85-93. <https://doi.org/10.22435/jki.v8i2.325>
- Nzogong, R. T., Ndjateu, F. S. T., Ekom, S. E., Fosso, J. A. M., Awouafack, M. D., Tene, M., Yane, P., Morita, H., Choudhary, M. I., Tamokou, J. D. (2018). Antimicrobial and antioxidant activities of triterpenoid and phenolic derivatives from two Cameroonian Melastomataceae plants: *Dissotis senegambiensis* and *Aphiblemma monticola*. *BMC Complementary and*

- Alternative Medicine*, 18(159), 1-11. <https://doi.org/10.1186/s12906-018-2229-2>
- Opasola, O. A., Adeolu, A.T., Iyanda, A.Y., Adewoye, S.O., & Olawale, S.A. (2019). Bioaccumulation of heavy metals by *Clarias gariepinus* (African Catfish) in Asa River, Ilorin, Kwara State. *Journal of Health and Pollution*, 9(21), 190303. <https://doi.org/10.5696/2156-9614-9.21.190303>
- Perez, A. D. L., Leyva-López, N., Gutierrez-Grijalva, E. P., Heredia, J. B. (2016). Phenolic compounds: Natural alternative in inflammation treatment. A Review. *Cogent Food & Agriculture*, 2, 1-14. <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1131412>.
- Pracheta Febricia, G., Ayu Nocianitri, K., Kartika Pratiwi, IDP. (2020). Pengaruh lama fermentasi terhadap karakteristik minuman probiotik sari buah terong belanda (*Solanum betaceum Cav*) dengan *Lactobacillus* sp F213. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 9(2), 170-180. <https://doi.org/10.24843/itepa.2020.v09.i02.p07>
- Putri, H. D., Elfidasari, D., Haninah, & Sugoro, I. (2022). Bahaya kandungan logam berat (Cd, Hg, Pb) pada produk olahan *Pterygoplichthys pardalis* asal Sungai Ciliwung Jakarta bagi kesehatan manusia. *Jurnal Pengolahan Pangan*, 7(1), 7-13.
- Purwaningsih, S., Santoso, J., & Garwan, R. (2013). Perubahan fisiko-kimiawi, mikrobiologi dan histamin bakasang ikan cakalang selama fermentasi dan penyimpanan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 24(2), 168-168.
- Ridlo, A., Pramesti, R., Koesoemadji, K., Supriyantini, E., & Soenardjo, N. (2017). Aktivitas antioksidan ekstrak daun mangrove *Rhizophora mucronata*. *Buletin Oseanografi Marina*, 6(2), 110-116.
- Silitonga, P.R.A., Setyati, W. A., Susanto, A. B., & Sibero, M., T. (2022). Pengaruh fermentasi *Gracilaria verrucosa* dengan penambahan starter *Lactobacillus plantarum* pada profil metabolit dan aktivitas biologisnya. *Journal of Marine Research*, 11(2), 309-319.
- Subramanian, N., Venkatesh, P., Ganguli, S., Sinkar, V.P. (1999). Role of polyphenol oxidase and peroxidase in the generation of black tea theaflavins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47(7), 2571-2578. <https://doi.org/10.1021/jf981042y>
- Subagiyo, S., Margino, S., Triyanto, & Widada, S. (2015). Pengaruh pH, suhu, dan salinitas terhadap pertumbuhan dan produksi asam organik bakteri asam laktat. *Ilmu Kelautan: Indonesian Journal of Marine Sciences*, 20(4), 187-194. <https://doi.org/10.14710/ik.ijms.20.4.187-194>
- Sumartini, Harahap, K.S., & Luthfiyana, N. (2022). Efektivitas penambahan serbuk daun mangrove (*Sonneratia caseolaris*) terhadap kualitas dan umur simpan roti tawar. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan*, 25(2), 281-293. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v25i2.40708>
- Sumartini., & Purnamasari, R. (2021). Ekstrak daun mangrove (*Sonneratia caseolaris*) sebagai pengawet alami ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) selama penyimpanan. *Jurnal Airaha*, 10(1), 109-122.
- Setiarto, R. H. B. (2020). *Teknologi Fermentasi Pangan Tradisional dan Produk Olahannya*. Guepedia.
- Sharma, K., Kumar, V., Kaur, J., Tanwar, B., Goyal, A., Sharma, R., Gat, Y., Kumar, A. (2019). Health effects, sources, utilization and safety of tannins: a critical review. *Toxin Reviews*, 1(1), 1-13. <https://doi.org/10.1080/15569543.2019.1662813>.
- Susilowati, R., Koesoemawardani, D., & Rizal, S. (2014). Profil proses fermentasi rusip dengan penambahan gula aren cair. *Jurnal Teknologi & Industri Hasil Pertanian*, 19(2), 137-148.
- Terahara, N. (2015). Flavonoids in foods: a review. *Natural Product Communications*, 10(3), 521-528. <https://doi.org/10.1177/1934578X1501000334>.
- Usman, U., Fildzania, D., & Fauzi, I. (2022). Uji Aktivitas antioksidan dan antidiabetes ekstrak daun mangrove *Rhizophora mucronata*. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 4(1), 28-35. <https://doi.org/10.25026/jsk>



- v4i1.724
- Van der Meulen, R., Scheirlinck, I., Van Schoor, A., Huys, G., Vancanneyt, M., Vandamme, P., & De Vuyst, L. (2007). Population dynamics and metabolite target analysis of lactic acid bacteria during laboratory fermentations of wheat and spelt sourdoughs. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(15), 4741–4750. <https://doi.org/10.1128/AEM.00315-07>.
- Villarreal-Soto, S. A., Beaufort, S., Bouajila, J., Souchard, J. P., & Taillandier, P. (2018). Understanding kombucha tea fermentation: A review. *Journal of Food Science*, 83(3), 580–588.
- Wahyuni, S., Sulardiono, B., & Hendrarto, B. (2015). Strategi pengembangan ekowisata mangrove wonorejo, kecamatan rungkut surabaya. *Management of Aquatic Resources Journal (MAQUARES)*, 4(4), 66-70.
- Yuan, J., Hao, L. J., Wu, G., Wang, S., Duan, J. ao, Xie, G. Y., & Qin, M. J. (2015). Effects of drying methods on the phytochemicals contents and antioxidant properties of chrysanthemum flower heads harvested at two developmental stages. *Journal of Functional Foods*, 19, 786–795. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.10.00>
- Zuraidah, S. S. (2020). Karakterisasi jamur pliek u dan uji antagonis terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Laporan Penelitian*, Universitas Islam Negeri Ar-Raniry Banda Aceh.
- Zhabinskii, V. N., Khripach, N. B., Khripach, V. A. (2015). Steroid plant hormones: Effects outside plant kingdom, *Steroids*, 97(1), 87–97. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2014.08.025>
- Zhang, H., Qi, R., & Mine, Y. (2019). The impact of oolong and black tea polyphenols on human health. *Food Bioscience*, 29, 55-61. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.03.00>