

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Pengambilan Sampel Bahan Tanaman

Bahan tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun gaharu (*Aquilaria malaccensis*) yang diperoleh dari daerah Daik Lingga, KEPRI (Kepulauan Riau). Determinasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Bandungense Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung. Hasil determinasi menunjukkan bahwa bahan tumbuhan adalah tanaman gaharu (*Aquilaria malaccensis*). Hasil determinasi dapat dilihat pada **Lampiran 1**.

5.2. Pembuatan Simplisia dan Serbuk Simplisia

Daun diambil, dicuci dan dibersihkan dari pengotor yang melekat. Proses pencucian dilakukan untuk menghindari adanya kontaminasi terhadap bahan-bahan yang dapat mengganggu proses penetapan parameter-parameter simplisia maupun ekstrak. Setelah daun bersih, selanjutnya daun dikeringkan dengan diangin-anginkan kemudian dibuat menjadi serbuk.

Proses pengeringan dilakukan dengan tujuan untuk mengurangi kadar air, menghentikan reaksi enzimatik, mencegah tumbuhnya jamur, agar tidak mudah rusak dan dapat disimpan lebih lama, sehingga kandungan kimianya tidak mengalami perubahan (Depkes RI, 1995:33).

5.3. Pemeriksaan Makroskopik

Hasil pemeriksaan makroskopik daun gaharu adalah daun tunggal tersebar, bentuk lonjong sampai lanset lonjong, tepi tidak rata, ujung meruncing, pangkal tumpul, panjang 5-10 cm, lebar 3-4 cm, urat daun menyirip dan berambut halus dibawah. Hasil pemeriksaan tersebut sesuai dengan pustaka (Chung dan Purwaningsih, 1999:65). Hasil selengkapnya dapat dilihat pada **Lampiran 2**.

5.4. Pemeriksaan Mikroskopik

Hasil pemeriksaan mikroskopik pada penampang melintang daun gaharu menunjukkan adanya epidermis atas, epidermis bawah, xylem, floem, berkas pembuluh, palisade, spon, rambut penutup, dan adanya stomata tipe anomositik (sel tetangga sama besar), sedangkan pada serbuk terdapat berkas pembuluh, rambut penutup, epidermis atas, dan epidermis bawah sesuai dengan pustaka (Metcalf and Chalk, 1950:1170). Hasil selengkapnya dapat dilihat pada **Lampiran 3**.

5.5. Penetapan Parameter Standar Simplisia dan Ekstrak (Spesifik)

Penetapan parameter standar simplisia dan ekstrak dilakukan untuk melihat karakteristik dari simplisia dan ekstrak daun gaharu yang digunakan pada penelitian ini. Parameter standar simplisia dan ekstrak (spesifik) yaitu organoleptik, penetapan kadar sari larut air, penetapan kadar sari larut etanol, sedangkan parameter (non spesifik) untuk simplisia meliputi penetapan susut pengeringan, penetapan kadar air, penetapan kadar abu, dan parameter untuk ekstrak yaitu penetapan bobot jenis. Hasil pengamatan setiap parameter dapat dilihat pada **Tabel V.1**.

5.5.1. Organoleptik

Hasil pengujian organoleptik pada simplisia segar dari tanaman gaharu dengan bantuan 5 orang responden disimpulkan yaitu warna daun hijau, aroma menyerupai aroma teh, dan rasa agak sepat.

Tabel V.1 Penetapan Parameter Standar Simplisia dan Ekstrak Daun Gaharu

| Parameter | Simplisia | Ekstrak | |
|----------------------------|-----------|---------|---------|
| | | Dekokta | Seduhan |
| Kadar Sari Larut Air | 13,68% | (-) | (-) |
| Kadar Sari Larut Etanol | 21,15% | (-) | (-) |
| Kadar Air | 9,50% | (-) | (-) |
| Kadar Abu Total | 6% | (-) | (-) |
| Kadar Abu Tidak Larut Asam | 2,5% | (-) | (-) |
| Susut Pengeringan | 10% | (-) | (-) |
| Bobot Jenis | (-) | 0,97% | 0,94% |

5.5.2. Senyawa terlarut dalam pelarut tertentu

a. Kadar Sari larut air

Hasil penetapan parameter kadar sari larut air dari serbuk simplisia daun gaharu sebesar 13,68%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada **Lampiran 4**. Penetapan kadar sari larut air bertujuan untuk memberikan gambaran awal mengenai jumlah senyawa kandungan dalam bahan serbuk simplisia yang dapat larut dalam air (Depkes RI, 2000:31).

b. Kadar Sari larut etanol

Hasil penetapan parameter kadar sari larut etanol dari serbuk simplisia daun gaharu sebesar 21,15%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada **Lampiran 4**. Penetapan kadar sari larut etanol bertujuan untuk memberikan gambaran awal mengenai jumlah senyawa kandungan dalam

bahan serbuk simplisia yang dapat larut dalam etanol. (Depkes RI, 2000:31).

5.6. Parameter Standar Simplisia (Non Spesifik)

5.6.1. Kadar Air

Penetapan kadar air bertujuan untuk menentukan jumlah air dan memberikan batasan maksimal atau rentang besarnya kandungan air didalam simplisia (Depkes RI, 2000:14). Hasil penetapan kadar air yang diperoleh dari simplisia daun sebesar 9,50%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada **Lampiran 5**. Kadar air yang terkandung pada serbuk simplisia berada dibawah 10% sehingga memenuhi persyaratan kadar air secara umum. Kadar air dalam simplisia harus dibatasi karena air merupakan sumber pertumbuhan mikroba dan terjadi reaksi enzimatis yang dapat merusak kualitas dari simplisia (Arifin *dkk.*, 2006:91).

5.6.2. Kadar Abu

a. Kadar abu total

Penetapan kadar abu bertujuan untuk memberikan gambaran tentang kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya serbuk simplisia. (Depkes RI, 2000:17). Hasil yang diperoleh dari penetapan kadar abu total pada simplisia daun yaitu sebesar 6%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada **Lampiran 6**.

b. Kadar abu tidak larut asam

Penetapan kadar abu tidak larut asam bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral maupun anorganik yang terdapat dari luar tumbuhan itu sendiri (eksternal), yang berasal dari proses awal pembuatan

simplisia hingga terbentuknya serbuk simplisia (Depkes RI, 2000:17). Hasil yang diperoleh dari penetapan kadar abu tidak larut asam pada simplisia daun sebesar 2,5%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada **Lampiran 7**.

5.6.3. Susut Pengeringan

Penetapan susut pengeringan bertujuan untuk memberikan batasan maksimal (rentang) besarnya kandungan senyawa yang hilang pada proses pengeringan (Depkes, 2000:13). Hasil penetapan susut pengeringan simplisia daun sebesar 10%. Nilai penetapan susut pengeringan yang diperoleh menunjukkan besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan (Emilan *et al.*, 2011:13). Hasil selengkapnya dapat dilihat pada **Lampiran 8**.

5.7. Parameter Standar Ekstrak (Non Spesifik)

5.7.1. Parameter Bobot jenis

Hasil penetapan parameter bobot jenis ekstrak yang diperoleh dari dua jenis metode ekstraksi yaitu untuk ekstraksi dengan metode dekokta diperoleh bobot jenis sebesar 0,97 g/mL, dan untuk ekstraksi dengan metode seduhan diperoleh bobot jenis sebesar 0,94 g/mL. Hasil pengukuran terhadap bobot jenis kedua ekstrak menunjukkan bahwa perbedaan metoda ekstraksi yang digunakan (dekokta maupun seduhan) menghasilkan ekstrak dengan bobot jenis yang sama pada masing-masing bagian simplisia gaharu. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada **Lampiran 9**. Nilai bobot jenis yang diperoleh memberikan batasan tentang besarnya massa per satuan volume yang merupakan parameter khusus ekstrak cair

sampai ekstrak pekat (kental) yang masih dapat dituang dan menunjukkan banyaknya kandungan senyawa yang terkandung. (Depkes RI, 2000:13).

5.8. Penapisan Fitokimia

Hasil penapisan fitokimia pada serbuk simplisia dan ekstrak dari tanaman gaharu yaitu bagian daun dapat dilihat pada **Tabel V.2**.

Tabel V.2 Hasil Penapisan Fitokimia Daun Gaharu

| Golongan senyawa | Simplisia | Daun | |
|-----------------------------|-----------|---------|---------|
| | | Dekokta | Seduhan |
| Alkaloid | (-) | (-) | (-) |
| Polifenolat | (+) | (+) | (+) |
| Flavonoid | (+) | (+) | (+) |
| Saponin | (-) | (-) | (-) |
| Tanin | (+) | (+) | (+) |
| Kuinon | (+) | (+) | (+) |
| Triterpenoid | (-) | (-) | (-) |
| Steroid | (+) | (-) | (-) |
| Monoterpen dan sesquiterpen | (+) | (-) | (-) |

Keterangan: (+) terdeteksi, (-) tidak terdeteksi

Penapisan fitokimia pada serbuk simplisia dan hasil ekstraksi merupakan tahapan awal dalam mengidentifikasi kandungan kimia yang terdapat dalam tumbuhan. Hasil penapisan fitokimia serbuk simplisia dari tumbuhan gaharu dan hasil ekstraksi hampir memiliki keseragaman senyawa fitokimia. Kandungan yang menandakan hasil positif terdeteksi pada serbuk simplisia yaitu adanya senyawa polifenolat, flavonoid, tanin, kuinon, steroid serta monoterpen dan sesquiterpen. Namun pada ekstrak (baik seduhan maupun dekokta) senyawa steroid serta monoterpen dan sesquiterpen tidak terdeteksi, hal ini terjadi karena pada saat proses ekstraksi pelarut yang digunakan adalah air yang bersifat polar sedangkan senyawa steroid, serta monoterpen dan sesquiterpen larut dalam pelarut non polar, sehingga senyawa tersebut mungkin tidak tertarik pada proses ekstraksi ini.

5.9. Ekstraksi

Rendemen masing-masing ekstrak didapatkan dari perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal (Depkes RI, 2000:10). Hasil rendemen ekstrak untuk dekokta sebesar 5,19% sedangkan untuk seduhan sebesar 4,44%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada **Lampiran 10**.

5.10. Aktivitas Antibakteri

Metode difusi sumur adalah uji antibakteri yang dilakukan sebagai uji pendahuluan untuk mendeteksi adanya aktivitas antibakteri dari daun gaharu terhadap bakteri uji, dalam hal ini diwakili oleh bakteri gram negatif yaitu *Escherichia coli* sebagai bakteri penyebab terjadinya diare. Aktivitas antibakteri diketahui dengan melihat ada tidaknya daerah hambatan (zona hambat) disekeliling sumur pada pertumbuhan bakteri di media padat. Semakin besar diameter zona hambat, maka akan semakin besar aktivitas antibakteri. Hasil pengamatan pengujian aktivitas antibakteri dapat dilihat pada **Tabel V.3**.

Tabel V.3. Hasil Pengujian efektivitas antibakteri

| Konsentrasi | Metode Sediaan Uji | | Kloramfenikol |
|-------------|-----------------------|-----------------------|---------------|
| | Daya Hambat (Dekokta) | Daya Hambat (Seduhan) | |
| 6% | 1,69 | 1,42 | 3,12 |
| 6% | 1,57 | 1,48 | 3,22 |
| 6% | 1,62 | 1,33 | 3,30 |
| 5% | 1,25 | 1,12 | 3,25 |
| 5% | 1,22 | 1,01 | 2,98 |
| 5% | 1,19 | 1,08 | 3,31 |
| 4% | 1,16 | 0,77 | 3,23 |
| 4% | 1,14 | 0,88 | 3,16 |
| 4% | 1,09 | 0,98 | 3,13 |
| 3% | 1,02 | 0 | 3,60 |
| 3% | 0,96 | 0 | 3,45 |
| 3% | 0,89 | 0 | 3,65 |

Pada table V.3 di atas terlihat bahwa ekstrak dekokta dan seduhan daun gaharu menunjukkan efek antibakteri terhadap *Escherichia coli*. Hal ini terbukti setelah dilakukan pengujian terhadap bakteri tersebut, dimana terlihat adanya hambatan pertumbuhan bakteri atau daerah jernih di sekeliling sumur, untuk dekokta pada konsentrasi 3 mg/ml hingga 6 mg/ml, sedangkan untuk seduhan pada konsentrasi 4 mg/ml hingga 6 mg/ml. Zona hambat yang terlihat menunjukkan bahwa metode ekstraksi dekokta memiliki daya hambat yang lebih besar dari pada metoda ekstraksi seduhan. Hasil uji statistika menunjukkan bahwa daya hambat dari kedua metode ekstraksi memiliki perbedaan yang signifikan (P-value < a) yang artinya terdapat perbedaan hambatan antara dekokta dan seduhan. Hasil statistik dapat dilihat pada **Tabel V.4**. Dilihat dari nilai rata-ratanya maka dapat dikatakan dekokta lebih mempunyai efek hambatan yang lebih besar dari pada metode ekstraksi seduhan sehingga dapat dikatakan dekokta mempunyai efek hambatan yang lebih baik dari seduhan.

Tabel V.4. Hasil Pengujian Statistik Aktivitas Antibakteri dengan uji T independent sampel

| Jenis Ekstrak | Means (Daya Hambat) | Standar Deviasi | P-Value |
|---------------|---------------------|-----------------|---------|
| Dekokta | 1,233 | 0,2605 | 0,035 |
| Seduhan | 0,839 | 0,5472 | |

Ekstrak dari daun gaharu dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* disebabkan karena adanya senyawa kimia yang terdapat di dalam ekstrak daun gaharu yang mempunyai efek antibakteri, dimana senyawa yang diduga sebagai antibakteri adalah golongan fenol, salah satu anggotanya adalah tanin. Semakin besar konsentrasi ekstrak yang diberikan maka akan semakin besar

diameter hambatan pertumbuhan bakteri. Ini menunjukkan semakin banyak kadar zat yang berkhasiat sebagai antibakteri yang terkandung dalam ekstrak tersebut.

Pada tabel V.3 terlihat bahwa pemberian kloramfenikol menunjukkan adanya daya hambatan yang besar dibandingkan dengan metode ekstraksi dekokta dan seduhan terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan diameter hambatan terbesar yaitu 3,65 mm. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri *Escherichia coli* yang digunakan peka terhadap kloramfenikol. Mekanisme kerja kloramfenikol adalah menghambat sintesis protein yang dibutuhkan untuk pembentukan sel-sel bakteri, sehingga kloramfenikol dapat menghambat fungsi RNA dari bakteri (Widjajanti, 1991:78). Hasil analisis statistik menunjukkan perbedaan yang signifikan atau bermakna ($P\text{-Value} < \alpha$) yang artinya terdapat perbedaan efek hambatan antara dekokta, seduhan dan kloramfenikol sebagai pembandingan, seperti terlihat pada **Tabel V.5**.

Tabel V.5. Hasil Pengujian Statistik Aktivitas Antibakteri dengan uji ANOVA

| Jenis Ekstrak | Means | Standar Deviasi | P-Value |
|---------------|-------|-----------------|---------|
| Dekokta | 1,233 | 0,2605 | 0,000 |
| Seduhan | 0,839 | 0,5472 | |
| Kloramfenikol | 3,283 | 0,1975 | |

Untuk melihat sediaan mana yang memberikan hasil yang berbeda dilanjutkan dengan uji tukey dengan hasil dapat dilihat pada **Tabel V.6**:

Tabel V.6. Hasil Pengujian Statistik Aktivitas Antibakteri dengan uji Tukey

| Sediaan | P-Value |
|-----------------------|---------|
| Dekokta-Seduhan | 0,034 |
| Dekokta-Kloramfenikol | 0,000 |
| Seduhan-Kloramfenikol | 0,000 |

Dari tabel pengujian statistik dengan uji Tukey di atas dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara dekokta-seduhan, dekokta-kloramfenikol serta seduhan-kloramfenikol.

Tanin dapat membentuk ikatan hidrogen dengan protein yang terdapat didalam sel bakteri, apabila terbentuk ikatan hidrogen antara tanin dengan protein kemungkinan protein akan mengalami denaturasi sehingga metabolisme bakteri menjadi terganggu. Diduga dengan reaksi ini tanin dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* (Makkar, 2003:41).

Senyawa tanin dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan bakteri dengan cara senyawa tanin bereaksi dengan membran sel. Senyawa tanin termasuk ke dalam senyawa polifenol yang dapat menghambat bakteri dengan cara merusak membran plasma bakteri yang umumnya berupa fosfolipid. Dalam membran sel tanin akan bereaksi dengan protein membentuk ikatan hidrogen sehingga protein akan mengalami denaturasi. Selain itu tanin juga dapat bereaksi dengan fosfolipid yang terdapat di membran sel sehingga senyawa tanin akan merusak membran sel. Kerusakan pada membran sel dapat membuat terhalangnya bahan-bahan makanan atau nutrisi untuk masuk. Bahan-bahan tersebut diperlukan oleh bakteri untuk menghasilkan energi, akibatnya bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan bahkan kematian. Penghambatan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dari ekstrak tanin dari daun gaharu diduga juga disebabkan oleh mekanisme ini (Volk and Wheller, 1993:158)

Pada penelitian ini, hambatan bakteri dari ekstrak daun gaharu terhadap *Escherichia coli* diunjukkan pada kloramfenikol sebagai kontrol positif, dekokta

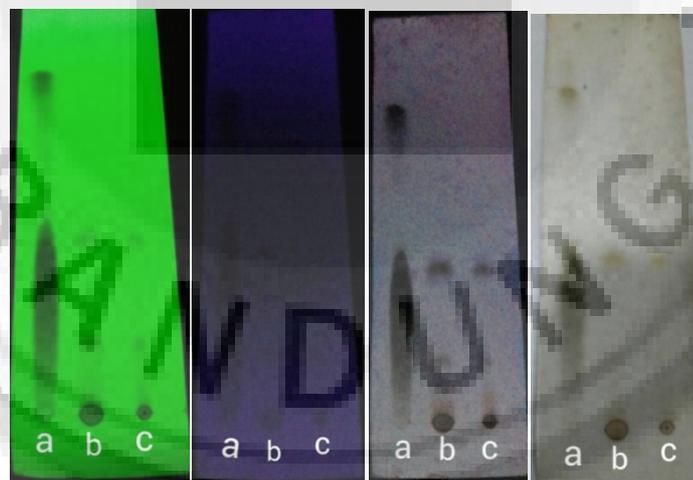
dan seduhan sebagai sediaan tetapi tidak terdapat hambatan pada DMSO sebagai kontrol negatif. DMSO digunakan karena kemampuan difusi DMSO yang baik pada media agar dan tidak memberikan daya hambat. Kontrol negatif digunakan untuk mengetahui apakah pelarut yang digunakan juga memiliki potensi menghambat bakteri atau tidak. Pada penelitian ini DMSO tidak memiliki sifat menghambat bakteri uji karena tidak terbentuk zona bening di sekitar sumur, sehingga zona hambat yang terbentuk dari masing-masing konsentrasi murni dari ekstrak tanin, tidak ada pengaruh dari pelarut yang digunakan.

Perbandingan hasil konsentrasi hambatan dari sediaan uji yaitu hasil dari ekstraksi secara dekoka dan seduhan dengan kloramfenikol terlihat perbedaan hambatan yang sangat besar. Hal ini kemungkinan disebabkan karena zat aktif yang ada dalam bentuk ekstrak masih dalam bentuk campuran atau belum murni sehingga banyak pengaruh dari senyawa kimia lain yang ada di dalam ekstrak tersebut terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri. Kemungkinan kedua disebabkan karena dosis kloramfenikol yang digunakan pada penelitian ini menggunakan dosis yang sering digunakan di masyarakat sehingga tidak sebanding dengan konsentrasi pada sediaan uji.

5.11. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pemantauan kandungan tanin dilakukan dengan cara kromatografi lapis tipis dengan asam tanat sebagai pembanding. Pada KLT ini fase gerak yang digunakan adalah etil asetat, asam format, dan air (9,8 : 0,09 : 0,09) dengan harga R_f yang diperoleh pada dekoka yaitu sebesar 0,41, seduhan sebesar 0,38 dan

asam tanat sebesar 0,4375. Pada **Gambar V.7 (1)** terlihat adanya pemisahan senyawa pada eluen yang digunakan. Untuk perlakuan dengan pemanasan dilakukan penampak bercak dengan H_2SO_4 dalam metanol yang merupakan pereaksi universal dengan hasil memberikan bercak warna yang berbeda pada pemisahannya (**Gambar V.7 (3)**). Namun deteksi dengan cara ini memiliki kekurangan yaitu senyawa dipisahkan secara paksa dengan cara pemanasan. Sedangkan penampak bercak dengan F_6Cl_3 (**Gambar V.7 (4)**) dapat mengidentifikasi secara spesifik pada senyawa fenol dengan memberikan bercak warna kecoklatan. Untuk asam tanat sebagai pembanding hasil yang didapatkan berupa ekor. Menurut Griter *et al.*, (1991) terjadinya ekor dikarenakan oleh cuplikan penotolan yang terlalu banyak, terjadinya pembebanan yang berlebih atau fase gerak yang digunakan tidak sesuai.



(1) (2) (3) (4)

Gambar V.7 Hasil Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis ekstrak daun gaharu dengan fase diam silica gel GF 245 dan Fase gerak etil asetat, asam format dan air.

Keterangan : 1. Hasil KLT dengan eluen pada bawah sinar UV 254 nm
 2. Hasil KLT dengan eluen pada bawah sinar UV 366 nm
 3. Hasil KLT dengan penampang bercak H_2SO_4 dalam metanol

4. Hasil KLT dengan penampang bercak F_6Cl_3
 : (a) pembanding asam tanat
 (b) Dekokta
 (c) Seduhan

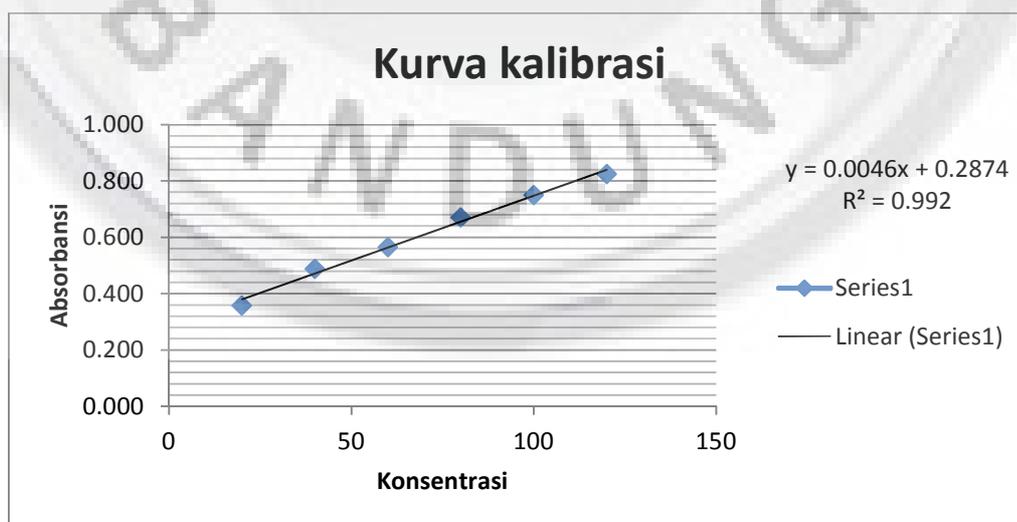
5.12. Penetapan Kadar Tanin

Penetapan kadar tanin dilakukan terhadap kedua metode ekstraksi yaitu dekokta dan seduhan pada daun gaharu menggunakan spektrofotometer UV-sinar tampak dengan asam tanat sebagai pembanding. Hasil pengukuran absorbansi senyawa pembanding asam tanat dapat dilihat pada **Tabel V.8**.

Tabel V.8. Hasil pengukuran absorbansi asam tanat

| Pembanding | Konsentrasi (ppm) | Absorbansi |
|------------|-------------------|------------|
| Asam tanat | 20 | 0.358 |
| Asam tanat | 40 | 0.488 |
| Asam tanat | 60 | 0.565 |
| Asam tanat | 80 | 0.671 |
| Asam tanat | 100 | 0.75 |
| Asam tanat | 120 | 0.825 |

Kurva kalibrasi asam tanat dapat dilihat pada **Gambar V.9** dimana dihasilkan persamaan regresi linier $y = 0.004x + 0.286$ dengan $r^2 = 0,992$



Gambar V.9 Kurva kalibrasi asam tanat

Kadar tanin pada tiap dekokta dan seduhan ditetapkan dengan metode dan perlakuan yang sama serta pembanding yang sama yaitu asam tanat. Hasil perhitungan kadar tanin total pada konsentrasi 5000 ppm dan perhitungannya dapat dilihat pada **Lampiran 13**.

Tabel 1. Lampiran 13 menunjukkan bahwa kadar tanin total tertinggi dari kedua metode dimiliki oleh metode ekstraksi dekokta sebesar 1.42%, sedangkan metode seduhan memiliki hasil yang lebih kecil yaitu sebesar 0.942%. Hasil uji statistika pada **Tabel V.10** menunjukkan bahwa kadar tanin total dari kedua metode ekstraksi memiliki perbedaan yang signifikan ($P\text{-value} < \alpha$) yang artinya terdapat perbedaan kadar tanin total antara kedua metode. Dari data yang diperoleh tampak bahwa lama dan cara pemanasan berpengaruh pada kadar tanin yang dapat diekstraksi dari simplisia.

Tabel V.10. Hasil pengujian Statistik kadar tanin dengan uji T independent sample

| Jenis Ekstrak | Means | Standar Deviasi | P-Value |
|---------------|--------|-----------------|---------|
| Dekokta | 0,5700 | 0,0104 | 0,000 |
| Seduhan | 0,4743 | 0,0072 | |

Pada penelitian ini, kadar tanin total dari hasil ekstraksi dekokta dan seduhan memiliki perbedaan karena kedua metode ekstraksi tersebut menggunakan waktu pemanasan dan cara ekstraksi yang berbeda dimana waktu pemanasan pada metode ekstraksi dekokta lebih lama dibandingkan dengan metode ekstraksi seduhan. Perbedaan hasil kadar dari dekokta dan seduhan bisa juga berdasarkan kestabilan suhu, dengan metode dekokta suhu yang digunakan relatif lebih stabil pada suhu 90°C, sedangkan pada metode seduhan suhu air

semakin lama semakin rendah, akibatnya senyawa tanin yang terekstraksi menjadi tidak optimal.

