

Produksi Teh Kombucha Serta Mengetahui Jumlah dan Karakterisasi Bakterinya

Production of Kombucha Tea and Knowing the Number and Characterization of Bacteria

Adinda Rizky Maulina¹⁾, Divia Yuda Meisya²⁾, Miftahul Jannah³⁾, Irdawati⁴⁾, Rada Armiliandi⁵⁾, Tiara Febriana⁶⁾, Titi Summaati⁷⁾

^{1,2,3,4,5,6,7)} Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang
Jl. Prof. Dr. Hamka Air Tawar Barat, Kecamatan Padang Utara, Kota Padang
Email: adindarizkymaulina2003@gmail.com

ABSTRAK

Kombucha diketahui sebagai minuman probiotik yang mengandung bakteri hidup pada komposisinya. Kombucha adalah minuman berbahan dasar teh (hitam, hijau, oolong), gula, dan kultur SCOBY difermentasi selama 4-14 hari. Waktu fermentasi berpengaruh terhadap sifat fisikokimia teh kombucha. Produk fermentasi kombucha terbentuk pelikel berwarna putih pucat bertekstur kenyal seperti karet dan menyerupai gel, terapung dipermukaan yang disintesis dari AAB (Acetic acid bacteria), pelikel yang dibentuk oleh bakteri selulosa berada diantara larutan dan udara dikarenakan tingginya kebutuhan oksigen oleh AAB. Tujuan dari penelitian ini adalah Untuk mengetahui jumlah isolat, jumlah koloni, dan karakterisasi bakteri pada teh kombucha. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang. Penelitian ini dilakukan dari tanggal 6 November - 30 November 2023. Tahapan dari penelitian ini terdiri dari: pembuatan dan fermentasi teh kombucha selama 14 hari, menentukan jumlah koloni dan isolat bakteri dari teh kombucha dengan melihat karakteristik bakterinya secara makroskopis dan mikroskopis. Didapatkan hasil 9 jenis isolat biakan murni, dengan jumlah koloni sebanyak 100.000 pada 9 isolat tersebut. isolat ini didapatkan dari hasil pengenceran sebanyak 5 kali dengan membiakan biakan triplo. Didapatkan jumlah isolat murni 9 isolat dengan jumlah koloni 100.000 dan bakteri memiliki bentuk basil dengan gram positif, sedangkan yeast berbentuk cocus.

Keywords: Kombucha, fermentasi, bakteri, yeast

PENDAHULUAN

Kombucha diketahui minuman probiotik yang mengandung bakteri hidup pada komposisinya (Tapias et al., 2023). Kombucha adalah minuman berbahan dasar teh (hitam, hijau, oolong) gula dan kultur SCOBY difermentasi selama 4-14 hari (Sannapaneni et al., 2023; Tapias et al., 2023).

Kultur *SCOBY* atau *Symbiotic culture of bacteria and yeast* atau yang dikenal dengan jamur kombu, jamur dipo atau jamur banteng (Firdaus et al., 2020), kultur kombucha adalah bentuk kerjasama simbiotik yeast dan bakteri jenis *Acetobacter xylinum* dan yeast yaitu jenis ; *Saccharomyce scereviseae*, *Saccharomyces ludiwii*,

Saccharomyces bisporus, *Zygosaccharomyces* sp dan beberapa jenis khamir *Torulopsis* sp (Susilowati, 2013).

Kombucha merupakan minuman hasil fermentasi cairan teh dan gula. Fermentasi kombucha berlangsung dengan bantuan aktivitas bakteri dan khamir. Kombucha memiliki khasiat yang sangat berguna bagi tubuh manusia. Beberapa manfaat dari kombucha antara lain sebagai antioksidan, antibakteri, memperbaiki mikroflora usus, meningkatkan ketahanan tubuh dan menurunkan tekanan darah (Suhardini, dkk., 2016). Khasiat tersebut dikarenakan adanya kandungan senyawa fenolik yang memiliki aktivitas antioksidan. Semakin tinggi senyawa fenolik yang terkandung, maka semakin tinggi pula aktivitas antioksidannya. Proses fermentasi oleh bakteri dan khamir akan meningkatkan jumlah fenol di dalam teh sehingga meningkatkan aktivitas antioksidannya.

Kombucha selama proses fermentasi dikendalikan oleh konsorsium bakteri dan ragi atau yang dikenal sebagai *Scoby* (*Symbiotic Colony/Culture Bacteria & Yeast*) yaitu gabungan atau kombinasi antara bakteri dan ragi yang memanfaatkan gula sebagai substrat (nutrisi) untuk dirombak menjadi asam organik, vitamin, mineral, enzim, dan polifenol oleh sekelompok bakteri, serta etanol dan CO₂ oleh Yeast¹⁰. Bahan baku dalam pembuatan kombucha selain teh dapat digunakan dari produk komoditas hortikultura salah satunya adalah buah nanas madu Subang (*Ananas comosus*). Penelitian sebelumnya pada kombucha buah nanas madu Subang memiliki potensi sebagai antibakteri baik bakteri gram positif maupun negatif¹¹ (Rezaldi, 2022)

Waktu fermentasi kombucha berkisar antara 8-12 hari pada suhu 18-20°C, sedangkan pada suhu yang lebih tinggi fermentasi berlangsung lebih singkat. Pada umumnya, daerah beriklim tinggi (22-26°C) melakukan fermentasi kombucha selama 4-6 hari. Lama fermentasi kombucha mempengaruhi kualitas fisik, kimia, dan organoleptik kombucha (wistiana, 2017). Selama proses fermentasi akan terjadi perubahan sifat fisik dan kimia meliputi kadar gula, kadar alkohol, pH, dan kadar antioksidan (Nguyen et al., 2015). *Saccharomyces* memecah glukosa membentuk etanol, sedangkan bakteri *A. xylinum* mampu mengoksidasi etanol menjadi asam asetat (Ayuratri dan Kusnadi, 2017)

Terdapat dua tahapan yang terjadi selama proses fermentasi berlangsung yaitu, pembentukan alkohol dan asam laktat. Hal tersebut terjadi karena, yeast yang terdapat didalam kultur simbiotik kombucha akan merombak gula menjadi alkohol, sedangkan alkohol yang sudah terbetuk akan dioksidasi oleh bakteri asam laktat maupun asetat menjadi asam setat. Adanya peran bakteri-bakteri tersebut akan menyebabkan munculnya rasa asam pada produk. Lee (2014) juga menyatakan bahwa, rasa sedikit asam sampai sangat asam pada teh bergantung pada jumlah gula yang digunakan, waktu fermentasi, dan suhu.

Penyimpanan kombucha dalam suhu rendah (4°C) akan menyebabkan penurunan total bakteri asam asetat dari 9.3×10^6 CFU/mL menjadi 3.4×10^6 CFU/mL selama 14 hari masa penyimpanan, sedangkan total bakteri asam laktat mengalami penurunan yang sangat signifikan selama 8 hari masa penyimpanan dari 23.5×10^6 CFU/mL menjadi 2.7×10^3 CFU/ mL yang berarti bahwa suhu rendah dapat menghambat pertumbuhan bakteri asam laktat yang berlebihan pada teh kombucha (Fu et al, 2014)

Total mikrobia kombucha dipengaruhi pula dengan jenis pengolahan teh. Total mikrobia tertinggi didapatkan pada kombucha dengan bahan dasar teh hitam yaitu 57.8×10^3 CFU/ mL. senyawa theaflavin dan thearugibin pada teh hitam yang diproses melalui oksidasi penuh mampu mendukung pertumbuhan mikrobia (Sari dan Irdawati, 2019)

Nurhidayah (2018) mengemukakan bahwa, lama fermentasi kombucha sari buah nanas mempengaruhi total mikroba *Acetobacter cyllinum*. Fermentasi pada hari ke-4 sampai hari ke-10 memiliki jumlah koloni yang cukup tinggi, namun mengalami penurunan pada hari ke-11 hingga hari ke-14. Hal ini sejalan dengan penelitian Nainggolan (2009), yang menyatakan bahwa total mikroba kombucha dengan bahan dasar rosella mengalami penurunan dari hari ke-12 hingga hari ke-14. Hal ini disebabkan oleh menurunnya jumlah substrat bagi mikrobia. Mikrobia akan tumbuh dengan baik apabila jumlah substrat dan lingkungan memenuhi syarat (Novirisandi, 2012).

Penggunaan jenis daun teh juga dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba karena perbedaan zat-zat terlarut. Padatan terlarut tersebut dapat dimanfaatkan oleh mikroba sebagai nutrisi. Semakin lama waktu fermentasi, maka pertumbuhan

mikrobia akan terhambat dan mengalami penurunan (Wistiana & Zubaidah, 2015). Hal ini diakibatkan kandungan fenol yang merupakan senyawa anti-mikrobia (Sreeramulu & Knol, 2000).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di laboratorium biologi, FMIPA, Universitas Negeri Padang, menggunakan metode eksperimen dengan RAL, dimana memiliki 1 perlakuan dan 2 ulangan. Penelitian ini dilakukan tanggal 6 november-30 november 2023. Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu teh kombucha, gula, starter kombucha, scooby, medium NA, botol kaca, kain, karet, tabung reaksi, cawat petri, ose, zat warna bakteri dan mikroskop.

Prosedur Penelitian

a. Pembuatan Teh Kombucha

Teh celup merk Sari Wangi diletakkan dalam beaker glass lalu diseduh dengan aquadest 500 ml selama 15 menit. Gula sebanyak 50 gr ditambahkan dalam larutan teh, kemudian diaduk hingga larut dengan pengaduk kaca. Larutan teh-gula kemudian didinginkan di suhu ruang (28°C). Teh manis yang telah dirasa dingin dimasukkan ke dalam toples kaca bening steril. Kultur kombucha atau starter kombucha 125 ml dan SCOBY difermentasi dalam masing-masing toples kaca. Larutan teh kombucha, selanjutnya ditutup rapat dengan tutup toples, ditutup dengan kain gelap dan diikat dengan karet dan selanjutnya fermentasi selama 14 hari pada suhu ruang.

b. Proses Pengenceran dan membuat biakan Kombucha

Pembuatan pengenceran dengan menyiapkan 15 tabung reaksi Dimana setiap tabung diisi dengan aquades+NaCl(larutan fisiologis)+kombucha dilakukan pengenceran 10^{-5} . Kemudian membuat biakan bakteri dengan menggunakan Nutrient Agar (NA) dilakukan dengan menimbang NA sebanyak 10 gr dan dilarutkan dalam aquades 500 ml, dipanaskan menggunakan hot plate sampai semua terlarut sempurna kemudian didinginkan, diambil suspensi dri pengenceran 1 sampai 5 lalu diose kan pada medium NA yang sebelumnya sudah dituang di cawan petri kemudian tutup rapat menggunakan wrapping dan diinkubasi dengan cara membalikkan cawan petri selama 24 jam. Apabila bakteri sudah tumbuh, lalu

dilakukan pembuatan biakan murni dengan mengambil koloni mikroba yang mempunyai bentuk yang berbeda, Dimana pada tahapan ini didapatkan 9 isolasi biakan murni, 8 bakteri dan 1 yeast.

c. Pembuatan Biakan Murni Kombucha

Pembuatan biakan murni dilakukan dengan cara mengambil koloni dengan bentuk berbeda dan diletakkan kepada medium NA yang baru kemudian di strike dengan membentuk 4 bagian dan diinkubasi selama 24 jam lalu diamati dengan mikroskop.

d. Pewarnaan Biakan Murni Kombucha

Pengamatan di mikroskop dilakukan dengan pewarnaan gram dan pewarnaan sederhana Dimana pewarnaan gram untuk bakteri dengan menggunakan crystal violet, lugol, alcohol 95% dan safranin kemudian pewarnaan sederhana untuk yeast dengan menggunakan crystal violet lalu perhatikan bentuk, diperhatikan gram negatif atau positifnya dan diperhatikan susunannya seperti cocus, basil dll. Sebelum diwarnai dilihat juga bentuk koloninya mulai dari elevasi, pinggirannya dan juga bentuk dari koloni itu sendiri.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Fermentasi dilakukan selama 14 hari, dimana tahap awal dilakukan pembuatan the dengan menambahkan starter kombucha dan Scooby nya. Hasil dari fermentasi ini memiliki rasa manis asam dan tumbuh baby Scooby diatas permukaan the nya, berikut gambar hasil fermentasi teh kombucha:



Gambar 1. *Fermentasi Kombucha*

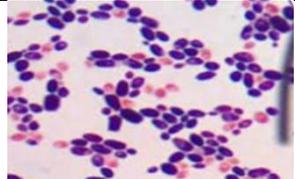
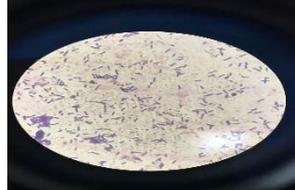
Setelah dilakukan pembuatan the kombucha, lalu dilihat karakterisasi mikrobanya secara mikroskopis dan mikroskopis. Hal ini dilakukan dengan

membuat biakan murni untuk melihat karakteristik makroskopisnya, sedangkan untuk melihat karakteristik mikroskopisnya dilakukan pewarnaan gram untuk bakteri dan pewarnaan sederhana untuk yeast.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan 9 jenis isolat biakan murni, dengan jumlah koloni total 100.000. isolate biakan murni ini didapatkan dengan pengenceran 5 kali dengan cara triplo.

Secara makroskopisnya isolate biakan murni dapat terlihat yaitu, pada pengenceran 10^{-4} (3a) dan duplonya karakteristik mikroanya berwarna bening, irregular, dan pulvinate. Pada pengenceran 10^{-5} (2a) dan duplonya didapatkan mikroba berwarna putih, irregular, dan raised. Pada pengenceran 10^{-2} (1a) didapatkan karakteristik mikroanya berwarna putih, irregular, dan raised begitupun duplonya. Pada pengenceran 10^{-4} (1) didapatkan mikroba berwarna putih , irreguler, dan convex. Pada pengenceran 10^{-2} (3) didapatkan mikroba berwarna putih, irregular, dan convex. Pada pengenceran 10^{-3} (2) terdapat yeast, dimana karakteristiknya memiliki hifa. Sedangkan pada pengamatan mikroskopis bakteri pada kombucha, dilakukan dengan pewarnaan gram untuk 8 jenis nisolat bakteri dan pewarnaan sederhana untuk 1 jenis isolate yeast. Karakteristik mikroskopisnya didapatkan bahwa bakteri berbentuk basil dengan gram positif, sedangkan yeast berbentuk cocus. Pengamatan makroskopis dan mikroskopis dapat terlihat pada table dibawah ini:

Tabel 1. *Pengamatan mikroskopis biakan murni kombucha*

Isolasi biakan murni yeast	bentuk cocus (bulat)		
Isolasi niakan murni bakteri	Bentuk basil (batanng) dan gram positif		

PENUTUP

Kombucha merupakan minuman hasil fermentasi cairan teh dan gula. Proses fermentasi pada teh kombucha memerlukan waktu yang cukup lama untuk

mendapatkan hasil yang baik. Terdapat dua tahapan yang terjadi selama proses fermentasi berlangsung yaitu, pembentukan alkohol dan asam laktat. Kesimpulan dari penelitian ini adalah didapatkan jumlah isolat murni 9 isolat dengan jumlah koloni 100.000 dan bakteri memiliki bentuk basil dengan gram positif, sedangkan yeast berbentuk cocus.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kami ucapkan kepada dosen pengampu mata kuliah mikrobiologi industri, serta kakak asisten dosen, dan teman-teman yang telah membantu dalam penelitian dan penulisan artikel ini. Besar harapan kami artikel ini bermanfaat bagi khalayak ramai.

REFERENSI

- Ayuratri MK, Kusnadi J. 2017. Aktivitas antibakteri kombucha jahe (*Zingiber officinale*) (Kajian varietas jahe dan konsentrasi madu). *J Pangan Agroind* 5: 95-107.
- Fu, C., Yan, F., Cao, Z., Xie, F., & Lin, J. (2014). Antioxidant Activities Of Kombucha Prepared From Three Different Substrates And Changes In Content Of Probiotics During Storage. *Food Sciences Technology-Brazil*. Vol. 34 (Hal. 123–126). Brazil.
- Lee, S. 2014. *Kombucha Revolution*. United States: Ten Speed Press.
- Nguyen NK, Nguyen PB, Nguyen HT, Le PH. 2015. Screening the optimal ratio of symbiosis bet-Suh ween isolated yeast and acetic acid bacteria strain from traditional kombucha for high-level production of glucuronic acid. *LWT-Food Sci Technol* 64: 1149-1155
- Novirisandi. 2012. Fermentasi Kombucha dan Potensinya Sebagai Minuman Kesehatan. *Media Farmasi Indonesia*. Vol. 3 No. 2
- Nurhidayah, Nazaruddin, Handayani B.R. 2018. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Mutu Kombucha Sari Buah Nanas. *Fakultas Teknologi Pangan Dan Pertanian*. Mataram : Universitas Mataram
- Rezaldi, Firman dkk. 2022. Potensi Buah Nanas Madu Subang (*Ananas comasus*) sebagai Antibakteri Gram Positif Negatif Melalui Metode Bioteknologi

- Fermentasi Kombucha Berdasarkan Konsentrasi Gula Aren Berbeda. *Biofarmasetikal Tropis*, 5 (2):119-126
- Sannapaneni, S., Philip, S., Desai, A., Mitchell, J., & Feldman, M. (2023). Kombucha-induced massive hepatic necrosis: a case report and a review of literature. *Gastro Hep Advances*, 2(2), 196-198.
- Sari, P.A., Irdawati. 2019. Kombucha Tea Production Using Different Tea Raw Materials. *Bioscience*. 3(2):135-143)
- Sreeramulu, G.Y and Knol, W. 2000. Kombucha Fermentation and It's Antimikrobal Activity. *Journal Agriculture Food Chemistry*. 886:65-73
- Suhardini, Prasis N., dan Elok Zubaidah. 2016. Studi Aktivitas Antioksidan Kombucha Dari Berbagai Jenis Daun Selama Fermentasi. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol. 4, No. 1 : 221-229.
- Susilowati, A. (2013). Perbedaan waktu fermentasi dalam pembuatan teh kombucha dari ekstrak teh hijau lokal arraca kiara, arraca yabukita, pekoe dan dewata sebagai minuman fungsional untuk antioksidan. In *Prosiding SNST ke-4 tahun 2013*.
- Tapias, Y. A. R., Di Monte, M. V., Peltzer, M. A., & Salvay, A. G. (2023). Kombucha fermentation in yerba mate: Cellulose production, film formulation and its characterisation. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 5, 100310.
- Wistiana, D., Zubaidah, E., 2015. Karakteristik kimiawi dan mikrobiologis kombucha dari berbagai daun tinggi fenol selama fermentasi. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3(4):1446-1457
- Wistiana, dkk. 2015. Karakteristik Kimiawi dan Mikrobiologis Kombucha. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3(4):1446-1457