

Produksi Teh Kombucha Serta Mengetahui Jumlah Dan Karakterisasi Bakteri

Irdawati, Rada Armiliandi, Tiara Febriana, Titi Summaiati, Anisha Chahya, Risma Zenita, Tri Mutia Andini

*Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang
Jl. Prof. Dr. Hamka, Air Tawar Barat, Kec. Padang Utara, Sumatera Barat 25171
Email: rismazenita0810@gmail.com*

ABSTRAK

Teh kombucha dikenal karena aktivitas antioksidan yang tinggi serta mengalami proses fermentasi selama 14 hari dengan melibatkan kultur kombucha, yakni simbiosis antara bakteri asam asetat dan ragi. Bakteri yang berperan dalam pembuatan kombucha ini adalah bakteri asam laktat (BAL) dan bakteri asam asetat (BAA). Beberapa contoh bakteri asam laktat yang berperan dalam pembuatan kombucha adalah *Lactobacillus* dan *Lactococcus*. Jenis bakteri asam asetat yang berperan adalah *Komagataeibacter*, *Glucanobacter*, dan *Acetobacter*. Total mikrobial kombucha dipengaruhi pula dengan jenis pengolahan teh. Total mikrobial tertinggi didapatkan pada kombucha dengan bahan dasar teh hitam yaitu 57.8×10^3 CFU/ mL. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah serta karakterisasi bakteri pada teh kombucha. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang. Hasil penelitian menyatakan bahwa didapatkan jumlah bakteri sebanyak 900.000 koloni bakteri. Sementara karakterisasi bakteri setelah dilakukan duplo didapatkan bakteri berwarna bening dan putih dengan bentuk pertumbuhan reguler dan irreguler, serta tepi pertumbuhan bakteri yang convex dan pulvinate. Setelah dilakukan pewarnaan gram, diperoleh hasil bahwa bakteri berbentuk basil dengan positif berwarna biru hingga ungu.

Kata kunci: fermentasi, teh kombucha, bakteri asam laktat, bakteri asam asetat, karakteristik bakteri

PENDAHULUAN

Teh Kombucha merupakan salah satu minuman yang telah dikenal memiliki aktivitas antioksidan, meningkatnya aktivitas antioksidan pada teh kombucha disebabkan adanya fenolik bebas yang dihasilkan selama proses fermentasi, sehingga semakin tinggi kadar fenolik yang dihasilkan, maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Keunggulan teh kombucha dibandingkan dengan minuman teh biasa yaitu lebih banyak kandungan asam organik vitamin dan asam amino (Bishop *et al.*, 2022). Kombucha adalah produk olahan fermentasi tradisional dimana dalam pembuatannya menggunakan bahan utama yaitu teh kombucha serta gula, kemudian difermentasi selama 7 sampai 10 hari dengan bantuan mikroorganisme. Dengan adanya tambahan gula akan merangsang pertumbuhan mikroorganisme dan menjadi biokontrol alami saat fermentasi berlangsung. Terdapat beberapa mikroorganisme yang berperan

seperti *Acetobacter xylinum*, *Saccharomyces cerevisiae* dan *Saccharomyces ludwigii* serta golongan bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus* (Blanc, 2000).

Bahan utama pembuatan teh kombucha yang sering digunakan adalah teh hitam, teh hijau atau teh *oolong*, namun dapat juga dibuat melalui infused water menggunakan buah-buahan, daun mint, bunga melati, dan sebagainya menurut (Leal *et al.*, 2018) dalam (Firdaus *et al.*, 2020). Kultur simbiotik tersebut jamur kombu dan di biasa disebut dengan jamur dipo atau jamur banteng (Khaerah & Akbar, 2019). Dalam jamur tersebut terdapat bakteri dan yeast yang merupakan komponen penting untuk melakukan fermentasi. Bakteri dan yeast dibungkus oleh selaput tipis membran permiabel. Bakteri yang berperan dalam pembuatan kombucha ini adalah bakteri asam laktat (BAL) dan bakteri asam asetat (BAA). Beberapa contoh bakteri asam laktat yang berperan dalam pembuatan kombucha adalah *Lactobacillus* dan *Lactococcus*. Jenis bakteri asam asetat yang berperan adalah *Komagataeibacter*, *Glucanobacter*, dan *Acetobacter* (Soto *et al.*, 2018). Kultur kombucha berbentuk seperti pancake yang berwarna putih (pucat) dan bertekstur kenyal seperti karet dan menyerupai gel. Kultur yang disebut pelikel ini terbuat dari selulosa hasil metabolisme bakteri asam asetat. Kultur kombucha dapat terletak mengapung di permukaan cairan atau kadang dijumpai tenggelam di dalam cairan teh kombucha. Kultur kombucha mencerna gula menjadi asam-asam organik, vitamin B dan C, serta asam amino dan enzim. Kultur ini juga berperan sebagai mikroorganisme probiotik yang baik bagi kesehatan (Firdaus *et al.*, 2020).

Proses pembuatan kombucha terlebih dahulu melakukan persiapan peralatan seperti sterilisasi tempat penyimpanan kombucha, pembuatan stater dan terakhir pembuatan kombucha. Tahapan dalam pembuatan kombucha, yaitu tahap pertama menyeduh teh dalam 500 mL air dan melarutkan gula 350 gr dan dibiarkan sampai dingin. Setelah teh dingin kemudian menuangkan teh dalam toples kaca dan memasukkan stater kombucha beserta airnya. Selanjutnya menutup mulut toples kaca dengan tissue dan diberi kain.dengan diikat dengankaret gelang. Proses pemanenan fermentasi dengan cara mengambil kultur komucha/scoby kemudian memindahkan komucha/scoby yang sudah jadi ke botol steril dan disimpan dikulkas. Selanjutnya kultur komucha/scoby dapat digunakan kembali dan dipindahkan ke medium yang baru (Irma, 2023).

Khasiat kombucha sebagai antioksidan dikarenakan adanya kandungan vitamin C dengan cara melawan radikal bebas yang menyebabkan rusaknya lipid, lipoprotein, protein, pati, DNA, maupun RNA sebagai komponen-komponen daripada sel maupun molekul yang berpotensi tinggi dalam adanya serangan oleh radikal bebas. Adanya sumber fenol dan kandungan vitamin C pada kombucha berkhasiat sebagai sumber antioksidan banyak membuka peluang besar untuk dikembangkan pada sisi minuman fungsional, terapeutik, dan kosmetik (Rezaldi *et al.*, 2022). Kombucha yang berbahan dasar teh hitam mengandung senyawa fenol dan berpotensi sebagai sumber antioksidan.

(Pure & Pure, 2016). Minuman komucha/scoby memiliki kemampuan dalam mengatur proliferasi sel, meningkatkan detoksifikasi, dan melindungi hati. Selain itu komucha/scoby dapat memberikan efek antikarsinogenik, terutama untuk tumor yang bergantung pada hormon. Probiotik merupakan bakteri yang menguntungkan yang dapat mengubah keseimbangan mikroflora usus, menghambat pertumbuhan bakteri berbahaya, mempromosikan yang baik pencernaan, meningkatkan fungsi kekebalan tubuh dan meningkatkan daya tahan terhadap infeksi. Bakteri asam laktat banyak ditemukan dalam minuman probiotik. Bacteri tersebut merupakan komponen utama starter yang dipakai dalam fermentasi dan beberapa diantaranya juga merupakan komponen alami flora mikro saluran cerna (Irma, 2023).

METODE PENELITIAN

Waktu Lokasi Penelitian

Penelitian Dilaksanakan Di Laboratorium Mikrobiologi Departemen Biologi, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang, Pada tanggal 13-30 November 2023.

Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah deskriptif berupa gambar. Subjek dari penelitian ini yaitu teh kombucha, dimana akan dilihat jumlah serta karakterisari bakteri dari mikroba tersebut.

Alat dan Bahan

a. Alat

Alat yang digunakan yaitu beaker glass, cawan petri, tabung reaksi, jarum ose, hot plate, kaca objek, kaca penutup, aluminium foil, wrapping, vortex, bunsen, timbangan digital, pipet tetes, spatula, mikroskop, mikropipet, tip, botol kaca, kertas steril, karet gelang.

b. Bahan

Bahan yang digunakan yaitu nutrient agar (NA), aquades, alkohol, larutan air garam, teh hitam, starter kombucha (scoby), gula, air mineral, pewarnaan (safranin, lugol, metilen blue).

Prosedur penelitian

Penelitian ini dilakukan selama 17 hari, dimana pembuatan dan fermentasi teh kombucha selama 14 hari dan kemudian dilanjutkan dengan melihat jumlah serta karakterisasi bakteri secara makroskopis dan mikroskopis. Tahapan pembuatan teh kombucha berbahan dasar teh hitam yaitu perebusan air hingga 800⁰ celcius lalu ditambahkan gula setelah itu tunggu air hingga mendidih. Lalu, teh hitam yang telah disiapkan diseduh menggunakan air tersebut setelah itu disaring agar terpisah ampas teh tersebut. Tahapan selanjutnya adalah memindahkan larutan teh ke dalam wadah dan menambahkan kultur simbotik kombu di atas larutan teh. Fermentasi ini dilakukan dilakukan dalam wadah kaca agar mendapatkan hasil yang optimal. Setelah itu, mulut

wadah fermentasi ditutup menggunakan kain dan di diamkan selama 14 hari.

Untuk melihat karakterisasi bakteri teh kombucha berbahan dasar teh hitam dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Langkah awal yang dilakukan adalah pengenceran dan pembuatan biakan kombucha. Pengenceran ini menggunakan 15 tabung reaksi yang berisi aquades+NaCl+kombucha dilakukan hingga pengenceran 10^{-5} . Kemudian biakan bakteri menggunakan Na (Nutrien Agar) 10 gr dilarutkan dalam aquades 500 ml, kemudian dipanaskan menggunakan hotplate. Setelah itu larutan NA dituangkan kedalam petridish dan setelah padat, suspensi pengenceran 1-5 di ose ke atas medium NA. Petridish di tutup rapat menggunakan wrapping dan di inkubasi selama 24. Setelah bakteri tumbuh lalu dibuat biakan murni dengan mengambil koloni mikroba yang berbeda bentuk.

Pembuatan biakan murni kombucha dengan mengambil koloni berbeda bentuk yang dibiakan kembali di atas medium NA baru. Kemudian di strike dengan membagi menjadi 4 bagian kemudian di inkubasi selama 24 jam dan diamati dengan menggunakan mikroskop. Setelah itu dilakukan pewarnaan biakan murni kombucha dengan pewarnaan gram. Pewarnaan gram ini menggunakan kristal violet, lugol, alkohol 95%, dan safranin. Kemudian diamati jenis gram dan bentuk bakteri gram tersebut.

Pengamatan bakteri

Dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Untuk melihat jumlah, pertumbuhan bakteri dan karakteristik mikroba setelah dilakukan pewarnaan.

Pengolahan data

Data yang diperoleh dianalisis secara kualitatif dan kuantitatif yang dapat disajikan secara deskriptif dalam bentuk gambar.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Proses fermentasi teh kombucha berbahan dasar teh hitam menggunakan starter dan scuby. Fermentasi ini dilakukan selama 14 hari. Dengan adanya tambahan gula akan merangsang pertumbuhan mikroorganisme dan menjadi biokontrol alami saat fermentasi berlangsung. Setelah itu didapatkan hasil berupa teh kombucha dengan rasa asam dan kecut yang dipengaruhi oleh asam asetat yang berasal bakteri pada teh kombucha tersebut. Setelah 14 hari fermentasi tumbuh scoby baru di atas permukaan teh kombucha tersebut.



Gambar 1. Fermentasi teh kombucha

Hasil penelitian dilakukan pada teh kombucha yang telah difermentasi selama 14 hari. Berikut adalah jumlah dan karakterisasi bakteri pada fermentasi teh kombucha.



10^{-2}

Gambar 2. Regenerasi isolat bakteri teh kombucha hasil pengenceran

Berdasarkan **Gambar 2**, Setelah dilakukan fermentasi pada teh kombucha selama 14 hari lalu dilakukan penghitungan jumlah dan karakterisasi bakteri pada teh kombucha dengan cara pengenceran bertingkat. Pengenceran merupakan proses yang dilakukan untuk melarutkan atau melepaskan mikroba dari substratnya ke dalam air sehingga menjadi lebih mudah untuk ditangani. Tujuan dari pengenceran bertingkat ini adalah untuk memperkecil atau mengurangi jumlah mikroba yang tersuspensi dalam cairan. Pengenceran isolat bakteri ini menggunakan larutan garam fisiologis berupa NaCl yang merupakan media terbaik untuk menjaga ketahanan hidup isolat bakteri karena NaCl berfungsi untuk menjaga keseimbangan ion sel mikroba (Lestari, 2014).

Pengenceran isolat bakteri dilakukan hingga pengenceran 10^{-5} . Setelah pengenceran 10^{-5} , didapatkan 6 isolat biakan murni. Setelah dilakukan penghitungan jumlah bakteri diperoleh hasil bahwa jumlah koloni bakteri sebanyak 90×10^{-4} pada pengenceran 10^{-5} . Isolat ini diperoleh dari hasil biakan duplo. Pada 6 jenis isolat dan karakteristik secara makroskopis didapatkan hasil pada pengenceran 10^{-2} diperoleh karakteristik mikroba berwarna bening, irreguler dan pulvinate. Setelah dilakukan duplo

didapatkan mikroba berwarna putih, reguler dan covex. Pada pengenceran 10^{-3} (1) diperoleh karakteristik mikroba berwarna putih, irreguler dan pulvinate. Pada duplo didapatkan mikroba berwarna putih, reguler dan covex. Pada pengenceran 10^{-3} (2) diperoleh karakteristik mikroba berwarna putih, irreguler dan pulvinate. Pada duplo didapatkan mikroba berwarna putih, irreguler dan pulvinate. Pada pengenceran 10^{-4} diperoleh karakteristik mikroba berwarna bening, reguler dan covex. Pada duplo didapatkan mikroba berwarna putih, reguler dan covex. Pada pengenceran 10^{-5} (1) diperoleh karakteristik mikroba bening, reguler dan covex. Pada duplo didapatkan mikroba putih, reguler dan covex. Pada pengenceran 10^{-5} (2) diperoleh karakteristik mikroba berwarna putih, irreguler dan pulvinate. Pada duplo didapatkan mikroba berwarna putih, irreguler dan pulvinate.



Gambar 3. Bentuk bakteri setelah pewarnaan gram

Sedangkan pada pengamatan mikroskopis bakteri pada kombucha dilakukan dengan pewarnaan gram. Pewarnaan gram ini dilakukan untuk 6 isolat bakteri hasil dari biakan duplo yang di lingkari putih pada **Gambar 2**. Setelah dilakukan pewarnaan diperoleh hasil bahwa karakteristik bakteri setelah pewarnaan gram berbentuk basil dan merupakan jenis bakteri gram positif ditandai dengan warna biru hingga ungu.

Mikroorganisme yang terlibat dalam proses fermentasi teh kombucha adalah bakteri yaitu *Acetobacter xylinum*, sedangkan ragi adalah *Brettanomyces*, *Zygosaccharomyces* dan *Saccharomyces* (Suhardini *et al.*, 2016). Selama fermentasi, dengan bantuan mikroorganisme penghasil asam organik, senyawa kimia kompleks seperti karbohidrat, protein dan lemak serta gula tambahan pada daun kombucha mengalami perubahan. Bakteri dan ragi bersaing untuk pemanfaatan gula dan degradasi menjadi asam organik dan alkohol (Chakravorty *et al.*, 2016)

PENUTUP

Dapat disimpulkan bahwa jumlah isolat bakteri hasil fermentasi kombucha menggunakan teh hitam selama 14 hari didapatkan jumlah bakteri sebanyak 90×10^{-4} Koloni bakteri. Sementara karakterisasi bakteri setelah dilakukan duplo di dapatkan bakteri berwarna bening dan putih dengan bentuk pertumbuhan reguler dan irreguler,

serta tepi pertumbuhan bakteri yang convex dan pulvinate. Setelah dilakukan pewarnaan gram, diperoleh hasil bahwa bakteri berbentuk basil dengan gram positif berwarna biru hingga ungu.

REFERENSI

- Bishop, P., Pitts, E. R., Budner, D., & Thompson-Witrick, K. A. (2022). *Chemical Composition of Kombucha Beverages*, 8(3), 1–17.
- Chakravorty, S.Ph.D (2016). "Fermentasi Teh Kombucha: Mikroba dan Biokimia." *Jurnal Internasional Mikrobiologi Pangan*: Vol. 220: 63-72.
- Firdaus, S., Anissa, I., Livia, I., & Siti, A. (2020). "Review" Teh Kombucha Sebagai Minuman Fungsional dengan Berbagai Bahan Dasar Teh. *Prosiding Seminar Nasional Unimus*, Vol: 3, 715–730.
- Irma, A. (2023). Penyuluhan Manfaat Teh Kombucha sebagai Minuman Probiotik di Desa Moncongloe Bulu, Kecamatan Moncongloe, Kabupaten Maros. *Jurnal Pengabdian Masyarakat Bhinneka (JPMB)*, 1(3).
- Jessica Martínez Leal, Lucía Valenzuela Suárez, Rasu Jayabalan, Joselina Huerta Oros & Anayansi Escalante-Aburto. 2018 A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites, *CyTA - Journal of Food*, Vol.16, (390-399).
- Khaerah, A., Akbar, F. 2019. Aktivitas Antioksidan Teh Kombucha dari Beberapa Varian Teh yang Berbeda. *Prosiding Seminar Nasional LP2M UNM* (472-476). Malang: UNM.
- Negara, M. I. P., & Meilani, M. (2023). Peran Bakteri Asam Laktat (Bal) Pada Teh Kombucha Sebagai Sumber Probiotik. *Jurnal Fakultas Teknik Kuningan*, 4(1), 34-38.
- Pure, A. E., & Pure, M. E. (2016). Antioxidant and antibacterial activity of kombucha beverages prepared using banana peel, common nettles and black tea infusions. *Applied Food Biotechnology*, 3(2), 125–130.
- Rezaldi, F., Abdilah, N. A., Mu'jijah, M., Pertiwi, F. D., Fadillah, M. F., Setiawan, U., Wandu Somantri, U. (2022). Pelatihan Pembuatan Sabun Mandi Kombucha Bunga Telang Kepada Mahasiswa Farmasi Pada Mata Kuliah Bioteknologi. *Jurnal Pengabdian Pada Masyarakat Indonesia*, 1(1), 7–19.
- 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.