

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Teh Kombucha

Teh Kombucha adalah teh fermentasi tradisional yang diberi tambahan gula dan kultur simbiotik kombucha dengan rasa sedikit asam bergantung pada jumlah gula yang digunakan, waktu fermentasi, dan suhu (Lee, 2014). Kombucha bersifat menguntungkan bagi kesehatan. Minuman bergizi ini banyak dikonsumsi oleh masyarakat di seluruh belahan dunia dan pada waktu lampau digunakan di Cina, Rusia dan Jerman. Teh Kombucha telah diketahui memiliki banyak manfaat bagi kesehatan, penjualan teh kombucha inipun secara komersial terdapat di Indonesia seperti Bali, Dieng, Jogja. Diluar negeri terdapat penjualan teh kombucha secara komersial seperti di Australia, Jordania, India, Rusia, Jerman, hingga Amerika Serikat (Naland, 2008).

Kombucha merupakan salah satu olahan teh fermentasi. Teh yang telah diseduh dengan air panas diberi tambahan gula sebagai pemanis dan sebagai nutrisi untuk menumbuhkan bakteri yang diinginkan. Pembuatan kombucha, teh difermentasikan dengan menggunakan starter kultur kombucha (*Acetobacter xylinum* dan beberapa jenis khamir). Teh yang telah ditambahkan kultur kombucha difermentasikan selama 4-12 hari untuk mendapatkan hasil yang optimal. (Aditiwati, 2003).

Minuman teh kombucha memiliki rasa asam dibandingkan dengan teh biasa sehingga dapat dijadikan sebagai minuman penyegar dan menyehatkan bagi kesehatan. Variabel keasaman pada kombucha dipengaruhi oleh lamanya waktu fermentasi, jumlah teh, gula yang digunakan serta starter yang ditambahkan ke dalam media teh yang akan difermentasi. (Silaban, 2005)

Kombucha sendiri memiliki kandungan vitamin B1, B6, B12, dan vitamin C. Hal ini berarti kombucha dapat mencerahkan kulit wajah, serta mendukung fungsi seluler dan perbaikan kerusakan oksidatif, dan juga membantu menjaga elastisitas kulit hingga proteksi kulit. Kombucha membantu mengecilkan pori-pori kulit, menekan agresi pigmentasi penyebab flek kecokelatan, mengatasi jerawat, antioksidan, mengembalikan kadar elastisitas kulit serta memperlambat proses penuaan pada jaringan kulit.

(Jayabalan dkk.,2008) mengemukakan bahwa kombucha mengandung senyawa antioksidan. Tingkat aktivitas antioksidan kombucha tergantung pada lama fermentasi, jenis teh dan mikroba yang dipakai. Kombucha yang terbuat dari ekstrak teh hijau memberikan aktivitas antioksidan yang lebih besar dibandingkan dengan teh hitam maupun teh sisa. Hal tersebut sebagian besar disumbangkan oleh kandungan polifenol yang terkandung didalam teh tersebut yang berperan sebagai antioksidan.

2.2 Proses Pembuatan Teh Kombucha

Proses pembuatan kombucha melalui beberapa tahap yang pertama setelah larutan gula dan teh tercampur, larutan teh didiamkan dalam suhu ruang, suhu ruangan yang dianjurkan tidak kurang dari 20°C dan tidak lebih dari 30°C (Naland, 2004). Selanjutnya adalah penambahan starter kombucha, yaitu SCOBY. Menurut Simanjuntak & Siahaan (2011) kultur kombucha yang bagus dan layak dipakai sebagai media proses fermentasi kombucha umumnya bewarna putih bersih, mengkilap serta tidak terdapat bercak atau totol bewarna. Jika terdapat bercak merah, kemungkinan kultur kombucha sudah tercemar dan sebaiknya tidak dipakai sebagai media fermentasi. Starter kombucha ditambahkan pada saat larutan teh sudah sama dengan suhu ruang. Setelah ditambahkan dengan stater toples kaca ditutup menggunakan tisu dan serbet agar oksigen masih dapat masuk tetapi terhindar kontaminan luar. Wadah yang paling baik dalam pembuatan kombucha adalah dengan menggunakan wadah dari kaca. Setelah itu difermentasikan selama 4-12 hari dalam ruangan yang kedaan gelap, tetapi 12 kondisi udaranya tidak lembab. Kultur kombucha akan rusak jika terkena sinar matahari langsung (Naland, 2004). Hal yang perlu diperhatikan dalam pembuatan kombucha selama fermentasi berlangsung menurut Suprapti (2003) adalah sebagai berikut :

- a. Dijaga agar tidak terguncang
- b. Wadah dan isinya jangan dipindah-pindahkan
- c. Tidak terkena sinar matahari langsung
- d. Diletakkan pada suhu ruang
- e. Tidak terdapat semut, kecoa, atau serangga lainnya.

2.3 Manfaat Kombucha Bagi Kesehatan

Sebagai minuman fermentasi, kombucha berkhasiat untuk membantu pencernaan, memberikan bantuan melawan radang sendi, bertindak sebagai pencahar, mencegah infeksi mikroba, memerangi stres dan kanker, memberikan bantuan melawan wasir, memberikan pengaruh positif pada kadar kolesterol, dan memfasilitasi ekskresi toksin serta pembersihan darah (Astuti dkk., 2004).

Minuman ini bertindak sebagai minuman probiotik dan membantu menyeimbangkan mikroba usus, dengan demikian memfasilitasi normalisasi aktivitas usus sampai batas tertentu (Watawana, 2015).

Kombucha teh mengandung senyawa-senyawa penting yaitu *tiamin* (vit B1), *riboflavin* (vit B2), *Niasin* (Vit B3), *piridoksin* (vit B6), *Sianokobalamin* (vitB12), vit C, dan *Polyfenol*. *Niasin* (vit B3) berperan dalam metabolisme lemak untuk menurunkan LDL dan *triglyserida*, serta meningkatkan kadar HDL, hingga bisa mengurangi penyakit pembuluh darah dan jantung koroner (Naland, 2004). Sedangkan pada kombucha teh juga terdapat Vit C, asam folat, asam glukuronat, asam glukonat asam asetat, asam hialuronat, asam laktat, asam amino, enzim dan zat antibiotik (Rahayu, 2006).

2.4 Jenis – Jenis Medium Kombucha

2.4.1 Kombucha Teh

Tanaman teh dengan nama latin *Camelia sinensis* pada umumnya tumbuh di daerah yang beriklim tropis dengan ketinggian 200-2000m di atas permukaan laut dengan suhu cuaca 14-25°C. Teh memiliki berbagai efek yang menguntungkan kesehatan, terutama karena sifat antibakteri dan antioksidannya (Hesseltine, 1991).

Daun teh mengandung senyawa-senyawa yang memiliki manfaat dan khasiat yang luas. Selain itu, daun teh juga dapat meningkatkan proses metabolisme, antikanker, antibakteri, antioksidan, menurunkan tekanan darah, dan menurunkan kandungan kolesterol dalam darah. (Hesseltine, 1991) Kombucha teh mengandung senyawa-senyawa penting yaitu *tiamin* (vit B1), *riboflavin* (vit B2), *Niasin* (Vit B3), *piridoksin* (vit B6), *Sianokobalamin* (vitB12), vit C, dan *Polyfenol*. *Niasin* (vit B3) berperan dalam metabolisme lemak untuk menurunkan LDL dan *triglyserida*, serta meningkatkan kadar

HDL, hingga bisa mengurangi penyakit pembuluh darah dan jantung koroner (Naland, 2004). Sedangkan pada kombucha teh juga terdapat Vit C, asam folat, asam glukoronat, asam glukonat asam asetat, asam hialoronat, asam laktat, asam amino, enzim dan zat antibiotik (Rahayu, 2006).

2.4.2 Kombucha Kopi

Pada kopi terdapat beberapa senyawa penting diantaranya kafein, karbondioksida, asam organik, serta trigonelin. Dua senyawa asam yang terdapat di dalam kopi yang telah disangrai adalah senyawa fenolik. Satu diantaranya adalah asam kafeat (*caffeic acid*), asam lainnya adalah asam klorogenat yang mengandung asam kafeat yang menentukan cita rasa kopi. Selain kedua asam tersebut, yang juga menentukan cita rasa kopi dan jumlahnya relatif kecil adalah : asam nitrat, asam malat, asam tartrat, dan asam oksalat (Winarno, 2002).

Kombucha kopi merupakan hasil fermentasi cairan kopi manis oleh mikroorganisme dari kelompok bakteri dan jamur. Senyawa gula yang terkandung didalam minuman kopi akan dirubah menjadi berbagai jenis asam, vitamin dan alkohol berkhasiat. Kombucha kopi berperan dalam mencegah berbagai macam penyakit seperti rematik, kanker, peradangan sendi, meningkatkan stamina dan sistem kekebalan tubuh, selain itu, kombucha juga dapat berfungsi sebagai penawar racun serta mengandung zat-zat antibiotik yang berperan penting dalam proses biokimia tubuh (Naland, 2004).

Senyawa-senyawa kimia yang terdapat pada kombucha kopi yaitu, vitamin B1 (*tiamin*), vitamin B2 (*riboflavin*), vitamin B3 (*niacin*), vitamin B12 (*sianokobalamin*), vitamin C, asam asetat, asam amino, asam glukoronat, asam laktat, alkohol, pH 3,33%, kafein dan tannin. Pada kombucha kopi juga terdapat senyawa-senyawa asam asetat 10,2 %, asam ascorbat 3,08 mg %, vitamin B1 (tiamin) 0,017 mg %, vitamin B2 (Riboflavin) 0,028 mg % (Rahayu, 2006).

2.5 Tanaman Pegagan (*Centella asiatica*)

Pegagan (*Centella asiatica*) merupakan tanaman liar yang banyak tumbuh di perkebunan, tepi jalan, di daerah persawahan, di sela-sela rumput, di tanah yang agak lembab ataupun agak ternaungi, dan dapat ditemukan di dataran rendah sampai dataran tinggi (2500 m dpl). Pegagan termasuk salah satu tumbuhan yang paling banyak dipakai sebagai bahan ramuan obat tradisional. Pegagan berasal dari daerah Asia tropik dan tumbuh besar di berbagai negara seperti Filipina, Cina, India, Sri Lanka, Madagaskar, Afrika, dan Indonesia (Depkes RI, 1977).

Di Indonesia, tumbuhan ini mempunyai banyak nama lokal antara lain daun kaki kuda, pegagan; gagan-gagan, ganggangan, kerok batok, pantegowang, panigowang, rendeng (Jawa); antanan gede, calingan rambut (Sunda); kostekosan (Madura); dau tungke-tungke (Bugis); kori-kori (Halmehera). Di Inggris disebut pennywort (Heyne, 1987).

Winarto dan Surbakti (2003) menyatakan bahwa pegagan (*Centella asiatica* L. Urban) tumbuh merayap menutupi tanah, tidak berbatang, tinggi tanaman antara 10-50 cm. Daun pegagan berwarna hijau, tunggal berkeriput, rapuh, memiliki daun satu helai tersusun dalam roset akar dan terdiri dari 2-10 helai daun, tangkai daunnya memiliki panjang 2-10 cm, dengan pangkal tangkai melebar serupa seludang, helai daun berbentuk ginjal dengan diameter 1-7 cm, berwarna hijau kelabu, umumnya dengan tujuh tulang daun yang menjari, pangkal helai daun berlekuk, ujung daun membulat, pinggir daun bergerigi, pinggir pangkal daun bergigi, permukaan daun umumnya licin, tulang daun pada permukaan bawah agak berambut, stolon dan tangkai daun berwarna kelabu, berambut halus (Depkes RI, 1977).

Secara ilmiah klasifikasi pegagan menurut Lasmadiwati (2004) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub-divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dikotyledonae
Ordo	: Umbellales

Family : Umbelliferae
 Genus : Centella
 Spesies : *Centella asiatica*.



Gambar 2.1 Daun pegagan (*Centella asiatica*)

Tabel 2.1. Kandungan gizi per 100 g daun pegagan segar

Kandungan Gizi	(% b/b)	(% b/k)	Literatur (% b/k)
Air	79,63		89,3 (%b/b)
Protein	4,58	22,5	14,95
Lemak	1,29	6,3	5,61
Abu	2,45	12,0	14,95
Karbohidrat	12,05	59,2	64,49
<i>Asam asiatik</i>	0,66	3,2	-
Vitamin C (mg)	79,14	388,5	-
β -karoten (ppm)	88,76	435,7	-
Fe (mg)	43,26	212,4	-
Ca (mg)	1994,28	9.790,3	-
Se (mcg)	4,55	22,3	-

Sumber: Pramono (1992); Arsyaf (2012)

(Lasmadiwati dkk.,2003) menyebutkan bahwa pegagan diperkirakan ada beberapa jenis. Jenis pegagan yang telah dibudidayakan dan diperdagangkan saat ini berdasarkan ukurannya adalah pegagan besar dan pegagan kecil. Menurut (Januwati dan Muhammad, 1992) tanaman pegagan yang telah berumur 3-4 bulan sudah dapat dipanen dengan cara memangkas daun tanaman tersebut dengan selang sekitar dua bulan sekali. Pemanenan dilakukan terhadap pegagan yang berdaun segar, berukuran cukup lebar dan tidak terserang hama atau penyakit. Waktu pemanenan yang terlalu cepat sebaiknya tidak dilakukan karena pembentukan zat-zat yang terkandung di dalam pegagan belum sempurna (Winarto dan Surbakti, 2003).

2.5.1 Manfaat Daun Pegagan

Pegagan memiliki rasa manis, bersifat mendinginkan, berfungsi membersihkan darah, melancarkan peredaran darah, peluruh kencing, penurun panas, menghentikan pendarahan, meningkatkan syaraf memori, antibakteri, tonik, antiplasma, antiinflamasi, hipotensif, insektisida, antialergi, dan simultan (Lasmadiwati, 2004). (Rao dkk.,2007) menyatakan bahwa penggunaan pegagan dapat meningkatkan fungsi kognitif. Tanaman ini banyak dimanfaatkan sebagai tanaman obat, sayuran segar, lalapan atau dibuat jus. Penelitian ilmiah menunjukkan tentang khasiat pegagan diantaranya efek anti-neoplastik, efek pelindung tukak lambung, menurunkan tekanan dinding pembuluh, mempercepat penyembuhan luka, penambah nafsu makan, demam, gigitan ular, menyegarkan badan, menurunkan panas, batuk kering, mimisan, peningkatan kecerdasan, dan anti trombosis (Badan POM, 2010), serta mengobati lepra, gangguan perut dan rematik (Wahjoedi dan Pudjiastuti, 2006).

2.5.2. Antioksidan Daun Pegagan

Masyarakat di era modern saat ini memiliki gaya hidup yang cenderung instan. Pola konsumsi makanan yang buruk dan aktivitas fisik yang kurang dapat menimbulkan masalah kesehatan yang serius seperti penyakit tidak menular. Radikal bebas dan oksigen tunggal berkontribusi terhadap berbagai penyakit tidak menular. Salah satu alternatif untuk mengatasi adanya radikal bebas di dalam tubuh dengan mengonsumsi pangan kaya antioksidan.

Menurut (Basille dkk.,2005) tanaman, buah-buahan, sayuran, dan biji-bijian adalah sumber antioksidan yang baik dan dapat menekan reaksi berantai radikal bebas dalam tubuh. Salah satu tanaman herbal yang mempunyai efek sebagai antioksidan yang kuat adalah pegagan.

Menurut (Zainol dkk.,2008) di dalam pegagan banyak ditemukan senyawa triterpenoid, dan senyawa utama yang mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat adalah senyawa asiaticosida. Senyawa total fenol juga merupakan salah satu kontributor utama dalam aktivitas antioksidan pada pegagan. Hasil penelitian (Sembiring dkk.,2010) menunjukkan bahwa tanaman pegagan memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dibandingkan dengan tanaman obat lainnya, seperti jahe merah dan temulawak. Penelitian (Rao dkk.,2005) juga menunjukkan bahwa

senyawa aktif dalam pegagan mampu menangkal radikal bebas sehingga dapat memperkuat fungsi otak, meningkatkan kecerdasan dan daya ingat, serta sebagai daya hambat yang kuat terhadap kematian sel saraf otak.

2.6 SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*)

Kombucha merupakan hasil fermentasi larutan teh manis dengan menggunakan starter mikroba kombucha dan beberapa jenis khamir yang dikenal dengan jamur kombucha (Katz, 1962). Jamur kombucha adalah organisme berbentuk lembaran gelatin berwarna putih sampai kuning dengan ketebalan antara 0,3–1,2 cm dan terbungkus selaput liat.



Gambar 2.2 Jamur kombucha atau SCOBY;

Menurut Crum dan Alex (2016), kombinasi antara bakteri dan khamir ini biasanya disebut dengan SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*). SCOBY ini terdiri dari beberapa bakteri dan khamir, antara lain yaitu :

1. *Acetobacter*

Ini adalah strain bakteri yang bersifat aerobik yang menghasilkan asam asetat dan asam glukonat. Bakteri *Acetobacter xylinum*, *Acetobacter xylinoides* dan *Acetobacter ketogenum* adalah strain yang ditemukan di kombucha.

2. *Saccharomyces*

Termasuk sejumlah strain yeast yang menghasilkan alkohol, dan jenis yeast yang paling umum ditemukan di kombucha. *Saccharomyces* bisa bersifat aerobik atau anaerobik. Strain yang ditemukan diantaranya yaitu *Saccharomyces*

ludwigii, *Saccharomyces apiculatus*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Zygosaccharomyces* dan *Saccharomyces cerevisiae*.

3. *Brettanomyces*

Brettanomyces bruxellensis dan *Brettanomyces intermedius* dapat bersifat aerobik atau anaerobik, ditemukan di kombucha dan termasuk yeast yang menghasilkan alkohol atau asam asetat.

4. *Lactobacillus*

Jenis bakteri yang kadang-kadang bersifat aerobik tetapi tidak selalu bersifat aerobik, dan telah ditemukan di kombucha. *Lactobacillus* menghasilkan asam laktat dan lendir.

5. *Pediococcus*

Bakteri ini bersifat anaerob, menghasilkan asam laktat dan lendir.

6. *Gluconacetobacter Kombuchae*

Merupakan strain bakteri bersifat anaerob yang unik untuk kombucha. Bakteri ini memakan nitrogen yang ditemukan dalam teh, dan menghasilkan asam asetat dan asam glukonat.

7. *Zygosaccharomyces Kombuchaensis*

Merupakan strain yeast yang dapat menghasilkan alkohol dan karbonasi serta berkontribusi terhadap terbentuknya SCOBY.

2.7 Fermentasi Kombucha

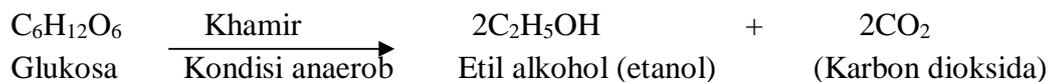
Menurut Fardiaz (1992) faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri adalah zat makanan, pH, air, oksigen dan senyawa penghambat pertumbuhan. Sedang menurut Buckle (1987) selain zat makanan, suhu, pH dan aktifitas air, pertumbuhan bakteri juga dipengaruhi oleh waktu.

Acetobacter xylinum dan *Saccharomyces cerevisiae* mengawali perombakan dengan memecah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa (Chen dan Liu, 2000). Kemudian, terjadi pemecahan glukosa dan fruktosa menjadi asam-asam organik dan alkohol secara terus-menerus sampai gula yang terdapat pada larutan kombucha habis. Sehingga asam yang dihasilkan akan terus meningkat pada waktu fermentasi yang semakin lama (Aditiwati dan Kusnadi, 2003).

Pada proses fermentasi terjadi pemecahan karbohidrat, asam amino dan lemak dengan bantuan enzim dari mikroba tertentu yang dapat menghasilkan asam organik, karbon dioksida dan zat-zat lainnya. Proses fermentasi dapat menyebabkan perubahan sifat fisika dan kimia bahan pangan yang meliputi kadar pati, kadar alkohol, total asam dan pH (Winarno, 2002). Fermentasi kombucha yang semakin lama akan menghasilkan asam yang semakin tinggi (Aditiwati dan Kusnadi, 2003).

Khamir yang ditumbuhkan dalam medium dengan konsentrasi gula yang tinggi akan mensintesis glukosa sebanyak 3-20%, sedangkan glukosa yang tersisa akan dimanfaatkan melalui jalur fermentasi (Moat dkk., 2002). Proses fermentasi melalui jalur glikolisis untuk menghasilkan asam piruvat. Asam piruvat dalam kondisi anaerob akan mengalami penguraian oleh piruvat dekarboksilase menjadi etanol dan karbon dioksida (Madigan dkk., 2002).

Menurut Wood (1998), proses fermentasi gula (pengubahan glukosa menjadi alkohol dan O_2) oleh khamir terjadi melalui reaksi berikut :



(Moat dkk.,2002) menambahkan bahwa kemampuan khamir memfermentasikan gula ditentukan oleh adanya sistem transport dan sistem enzim yang dapat menghidrolisis gula dengan akseptor elektron alternatif selain oksigen, yakni pada kondisi anaerob fakultatif.

Pada proses fermentasi khamir *Saccharomyces cerevisiae* memproduksi alkohol secara anaerob, kemudian alkohol menstimulasi pertumbuhan *Acetobacter xylinum* untuk memproduksi asam asetat secara aerob, sedangkan asam asetat akan menstimulasi pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*. Hal ini berlangsung secara terus menerus sampai gula yang terdapat pada larutan kombucha berubah menjadi asam-asam organik yang diperlukan oleh tubuh seperti asam asetat dan lain-lain (Chen dan Liu, 2000). *Saccharomyces cerevisiae* dapat menghasilkan 70% asam organik seperti asam asetat, asam malat, asam suksinat dan asam piruvat pada saat melakukan fermentasi (Akita, 1999)

Khamir dari genus *Issatchenkia*, *Kluyveromyces*, *Saccharomyces* dan *Zygosaccharomyces* juga memiliki kemampuan untuk memfermentasikan glukosa (Kurtzman dan Yarrow, 1998).

Bakteri *Acetobacter xylinum* mampu mengoksidasi glukosa menjadi asam glukonat dan asam organik lain pada waktu yang bersamaan. Selain itu, *Acetobacter xilynum* juga dapat mensintesis glukosa menjadi polisakarida atau selulosa yang berupa serat-serat putih. Selulosa membentuk lapisan nata secara bertahap hingga mencapai ketebalan sekitar 12 mm pada akhir fermentasi yang dapat digunakan sebagai inokulum pada proses fermentasi selanjutnya (Aditiwati dan Kusnadi, 2003).

Pada proses fermentasi kombucha terdapat aktivitas dari khamir untuk merombak gula yang terdapat pada medium sebagai energi bagi pertumbuhannya. Sebagai akibat dari aktifitas ini, maka akan terbentuk sebuah lapisan yang terapung pada bagian atas medium yang disebut sebagai nata. Persentase gula 10% pada kombucha akan memberikan hasil nata yang paling tebal. Konsentrasi gula yang berada dibawah atau diatas kebutuhan optimum akan menyebabkan pembentukan selulosa tidak optimal sehingga nata yang akan dihasilkan mempunyai ketebalan yang rendah (Lapus dkk.,1967).



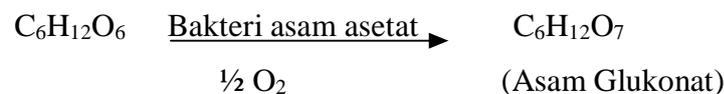
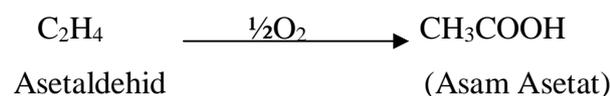
Gambar 2.3 Nata pada fermentasi kombucha

(Greenwalt dkk.,1998), menyatakan bakteri kombucha yang utama yakni *Acetobacter* pada awalnya mengoksidasi etanol menjadi asetaldehid dan kemudian menjadi asam asetat, aktivitas biokimia sekunder dari *Acetobacter* adalah oksidasi glukosa menjadi asam glukonat.

Mikroorganisme dalam kombucha menggunakan sumber karbon dan memproduksi selulosa yang tampak sebagai lapisan tipis dipermukaan.

Pemeriksaan mikroskopis menunjukkan bahwa kandungan pada nata kombucha yang utama adalah khamir, bakteri dan selulosa. Selama proses fermentasi, khamir dan bakteri melakukan metabolisme terhadap sukrosa dan menghasilkan sejumlah asam-asam organik seperti asam asetat dan asam glukonat, oleh karena itu terjadi peningkatan kadar asam-asam organik dan penurunan pH air seduhan teh menurun dari 5 menjadi 2,5 selama 6 hari fermentasi dan setelahnya menjadi stabil. Meskipun tidak ada sumber nitrogen lain yang ditambahkan pada teh sebelum fermentasi, kadar protein sedikit meningkat seiring dengan semakin lamanya waktu fermentasi. Protein-protein ini tampaknya adalah protein ekstraseluler yang disekresikan oleh khamir dan bakteri selama proses fermentasi. Glukosa yang dihasilkan dari sukrosa akan dimetabolisme oleh strain *Acetobacter* untuk sintesa selulosa dan asam glukonat (Sreeramuluet dkk.,2000).

Menurut Prescott dan Dunn (1959), reaksi oksidasi etanol menjadi asetaldehid dan kemudian asam asetat serta glukosa menjadi asam glukonat adalah sebagai berikut :



Fermentasi kombucha sebaiknya dilakukan dalam wadah yang steril yang terbuat dari kaca, karena wadah yang terbuat dari logam dapat bereaksi dengan asam yang terkandung dalam kombucha. Suhu fermentasi kombucha yang ideal adalah 27 °C. Hal ini disebabkan karena aktivitas pertumbuhan dan metabolisme mikroorganisme pada kombucha tumbuh optimal pada suhu tersebut.

Pada suhu inkubasi 25 °C dibutuhkan energi aktivasi yang lebih tinggi untuk kerja enzim, sehingga aktivitas mikroorganisme dalam membentuk asam asetat akan terhambat. Sedangkan pada suhu inkubasi yang cukup tinggi dapat

terjadi inaktivasi enzim, karena diduga sebagian protein-enzim terdenaturasi pada suhu yang tinggi, sehingga akan mengurangi produksi asam asetat oleh mikroorganisme (Aditiwati dan Kusnadi, 2003).

Proses pematangan kombucha terjadi antara 7-10 hari, karena pada saat ini rasa kombucha sudah terasa nikmat. Jika kurang dari 7 hari, kenikmatan kombucha belum terasa dan jika lebih dari 10 hari, kombucha sudah terasa cukup asam. Kombucha merupakan agen penghasil senyawa biokimia karena mikroorganisme yang ada dalam kultur kombucha mengubah kandungan gula didalamnya menjadi berbagai jenis asam dan vitamin yang berkhasiat (Naland, 2004).

Yuliani (2007), dalam penelitiannya menyatakan bahwa pertumbuhan mikroorganisme pada minuman kombucha juga dipengaruhi oleh zat aktif yang sudah ada pada medium. Mikroorganisme kombucha dapat tumbuh dengan optimal pada kadar medium 0,5%. Pada persentase ini, mikroorganisme kombucha dapat melakukan metabolisme dengan baik karena zat aktif yang terkandung didalam medium tidak mempunyai pengaruh antimikroba yang signifikan terhadap pertumbuhan dan metabolisme bakteri kombucha. Sedangkan pada persentase yang lebih tinggi, zat antimikroba yang terdapat pada medium dapat menghambat pertumbuhan dan metabolisme mikroorganisme kombucha.

2.8 Antioksidan

Antioksidan merupakan suatu zat yang mampu menetralkan atau meredakan dampak negatif dari adanya radikal bebas. Radikal bebas sendiri merupakan suatu molekul yang mempunyai kumpulan elektron yang tidak berpasangan pada suatu lingkaran luarnya. Manfaat dari antioksidan untuk menangkal radikal bebas ini yang menjadikan antioksidan sangat banyak diteliti oleh para peneliti. Berbagai hasil penelitian, antioksidan dilaporkan dapat memperlambat proses yang dapat diakibatkan oleh radikal bebas seperti adanya tokoferol, askorbat, flavonoid, dan adanya likopen (Andriani, 2007).

Terdapat banyak bahan pangan yang dapat dijadikan sumber antioksidan yang alami misalnya yaitu rempah-rempah, teh, coklat, dedaunan, biji-biji sereal, sayuran, sumber bahan pangan yang kaya akan enzim dan protein. Tumbuhan pada umumnya merupakan sumber senyawa antioksidan alami yang berupa

senyawa fenolik yang terletak pada hampir seluruh bagian tumbuhan yaitu pada kayu, biji, daun, buah, akar, bunga ataupun serbuk sari (Sarastani dkk., 2002).

Antioksidan mengandung senyawa fenolik atau polifenolik yang merupakan golongan flavonoid. Senyawa flavonoid sebagai antioksidan pada masa sekarang ini sangat banyak diteliti, karena senyawa flavonoid yang terdapat pada antioksidan memiliki kemampuan untuk merubah atau mereduksi resiko yang dapat ditimbulkan oleh radikal bebas dan juga dapat dimanfaatkan sebagai anti-radikal bebas (Munisa dkk., 2012).

2.9 Spektrofotometri Ultraviolet-Visibel (UV-Vis)

Spektrofotometri UV-Vis merupakan salah satu cabang analisis instrumental yang membahas tentang interaksi atom atau molekul radiasi elektromagnetik (REM). Komponen pokok dari spektrofotometri meliputi sumber tenaga radiasi yang stabil, sistem yang terdiri atas lensa-lensa, cermin, celah-celah, monokromator untuk mengubah radiasi menjadi komponen-komponen panjang gelombang tunggal, tempat cuplikan yang transparan dan detektor radiasi yang dihubungkan dengan sistem meter atau pencatat. (Mulja dan Suharman, 1995: 26).

Spektrofotometer terdiri atas spektrometer dan fotometer. Spektrofotometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditranmisikan atau yang diabsorpsi. Spektrofotometer tersusun atas sumber spektrum yang kontinyu, monokromator, sel pengabsorpsi untuk larutan sampel atau blangko dan suatu alat untuk mengukur perbedaan absorpsi antara sampel dan blangko ataupun pembandingan (Khopkar, 1990: 216).

Spektrofotometer UV-Vis dapat melakukan penentuan terhadap sampel yang berupa larutan, gas, atau uap. Untuk sampel yang berupa larutan perlu diperhatikan pelarut yang dipakai antara lain:

- Pelarut yang dipakai tidak mengandung sistem ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur molekulnya dan tidak berwarna.
- Tidak terjadi interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis.
- Kemurniannya harus tinggi atau derajat untuk analisis. (Mulja dan Suharman, 1995: 28).

2.10 Metode DPPH

Metode DPPH merupakan metode yang paling mudah digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan. DPPH atau 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl adalah radikal bebas yang stabil, berwarna ungu, dan menyerap kuat pada panjang gelombang 517 nm dan memiliki struktur $C_{18}H_{12}N_5O_6$. Warna ungu akan memudar menjadi kuning pucat seiring dengan penangkapan atom H oleh DPPH. Metode DPPH banyak digunakan karena prosesnya sederhana, cepat, tepat, dan tidak tergantung pada kepolaran bahan yang akan diuji. Metode DPPH juga sangat sensitif, sehingga tidak memerlukan banyak sampel (Winata, 2011). Prinsip pengukuran aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH yaitu dengan penangkapan atom H dari senyawa antioksidan bahan uji oleh radikal bebas DPPH.

2.11 Organoleptik

Pengujian organoleptik adalah pengujian yang didasarkan pada proses penginderaan. Penginderaan diartikan sebagai suatu proses fisio-psikologis, yaitu kesadaran atau pengenalan alat indra akan sifat-sifat benda karena adanya rangsangan yang diterima alat indra yang berasal dari benda tersebut (Wagiyono: 2003) Penilaian organoleptik teh kombucha dapat dilihat dari warna, aroma dan rasa.

2.12 pH

Kombucha membutuhkan rentang suhu yang optimal untuk berkembang. Pada suhu antara 23°C dan 29°C adalah kisaran suhu optimal untuk pembuatan kombucha. pH kombucha yang optimal harus berada pada kondisi asam antara 2,5 dan 4,5. pH asam menghindarkan kombucha dari kontaminasi dengan bakteri jahat. pH yang lebih rendah dari 2,5 dan terlalu asam untuk konsumsi manusia sehingga perlu diencerkan sebelum diminum. Sedangkan pH yang lebih tinggi dari 4,5 akan menciptakan lingkungan yang optimal bagi bakteri jahat untuk tumbuh dan mengkontaminasi kombucha. Karena keasaman kombucha, selain bakteri jahat tidak bisa tumbuh dalam kultur kombucha, karena lingkungannya tidak optimal untuk kelangsungan hidup (Afifah, 2010).

2.13 Vitamin C

Pada kebanyakan mamalia, vitamin C dapat dibentuk oleh tubuhnya sendiri akan tetapi tidak pada primata termasuk pada manusia dan sebagian kecil hewan lainnya. Oleh karena itu, untuk memenuhi kebutuhan vitamin C, manusia perlu mengonsumsi makanan, minuman maupun suplemen yang mengandung vitamin C (Pakaya, 2014).

Kebutuhan vitamin C yang dianjurkan adalah sebesar 30-60 mg perhari, sedangkan rata-rata kecukupan vitamin C untuk keluarga adalah sebesar $(53,7 \pm 2,2)$ mg. sumber vitamin C yang penting didalam makanan terutama berasal dari buah-buahan dan sayur-sayuran (Putri & Setiawati, 2015). Kebutuhan harian vitamin C biasa dikenal dengan RDA (*Recommended dietary allowance*), dimana kebutuhan vitamin C harian adalah 60 mg atau setara dengan sebuah jeruk. Cadangan sebesar 1500 mg merupakan jumlah maksimum yang dapat dimetabolisir didalam tubuh manusia. Dengan jumlah tersebut *turn over* vitamin C adalah 60 mg/hari. Kebutuhan vitamin C dapat meningkat 300% - 500% pada manusia yang terkena penyakit neoplasma, infeksi, hipertiroid, pasca bedah atau trauma, kehamilan, laktasi dan sebagai antioksidan (Pakaya, 2014).

Penggunaan vitamin C secara berlebihan dapat menyebabkan urtikaria dan eritema multiforme. Menurut Kembuan (2013) vitamin C dengan dosis lebih dari 1 g/hari dapat menyebabkan diare. Hal ini terjadi karena efek iritasi langsung pada mukosa usus yang mengakibatkan peningkatan peristaltik. Dosis besar juga dapat meningkatkan bahaya terbentuknya batu ginjal, karena sebagai vitamin C dimetabolisme dan dieksresikan sebagai oksalat. Penggunaan vitamin C dosis lama dan besar dapat menyebabkan ketergantungan, sehingga vitamin C dapat menimbulkan *rebound scurvy*. Hal ini dapat dihindari dengan mengurangi penggunaan vitamin C secara bertahap. Vitamin C berperan dalam menjaga kesehatan tubuh dan juga berperan dalam menjaga fungsi kekebalan tubuh.

Vitamin C larut dalam air, sehingga jika dikonsumsi berlebihan tidak membahayakan kesehatan. Pasalnya, kelebihan vitamin ini sebagian besar langsung diekskresi melalui air kemih. Sebagian dari vitamin C dikeluarkan melalui air kemih berupa oksalat. Umumnya orang mengonsumsi vitamin C berlebihan bertujuan untuk mencegah influenza atau kanker. Konsumsi vitamin C yang berlebihan bisa menimbulkan peluang terjadinya batu oksalat di dalam

ginjal. Namun, peluang ini sangat kecil. Konsumsi vitamin C sampai dengan 10.000 mg perhari dianggap masih aman. Bahan pangan yang mengandung vitamin C diantaranya adalah buah-buahan, sayuran berdaun hijau, dan tomat.

2.14 Masa Kadarluarsa atau Lama Simpan Teh Kombucha

Setelah Teh Kombucha di panen, jika di simpan dengan cara yang benar, teh kombucha tidak punya masa *expired* (kadarluarsa), ia tahan sampai 1 tahun bahkan lebih, tanpa harus di simpan di kulkas sekalipun.

Cara penyimpanan teh kombucha yang benar adalah, setelah teh kombucha di panen, langsung di pindahkan ke botol-botol kaca yang punya tutup kedap udara.

Selama botol ini tidak di buka, teh kombucha di dalamnya akan awet atau tidak rusak. Ini disebabkan karena teh kombucha punya zat alami yang dapat mencegah tumbuhnya bakteri penyebab busuknya makanan/ minuman (bakteri jahat). Karena bakteri jahat tidak bisa hidup di dalam botol, maka proses pembusukan tidak terjadi. Ini yang akhirnya menyebabkan teh kombucha bisa tahan sampai bertahun-tahun. (Putu Adi,2019)

Selain botol dengan tutup kedap udara, untuk menyimpan teh kombucha, disarankan menggunakan botol kaca yang ukurannya tidak terlalu besar, kapasitas botol yang ideal antara 300-500 mL. Tujuannya agar saat botol tersebut dibuka, teh kombucha di dalamnya langsung habis di konsumsi saat itu juga atau minimal habis di konsumsi pada hari yang sama terhitung saat botol di buka.