

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA TEH KOMBUCHA
(SCOOPY) BERDASARKAN LAMA FERMENTASI DENGAN
METODE DPPH (1,1-DIPHENYL-2-PICRYLHYDRAZYL)**

Oleh:

DEA AYU KARTIKA

231148201325

SKRIPSI

**Untuk memenuhi salah satu syarat ujian guna memperoleh Gelar
Sarjana Farmasi**



PROGRAM STUDI S-1 FARMASI

SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN DIRGAHAYU SAMARINDA

2025

LEMBAR PENGESAHAN

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA TEH KOMBUCHA (SCOOPY)
BERDASARKAN LAMA FERMENTASI DENGAN MENGGUNAKAN
METODE DPPH (1,1-DIPHENYL-2-PICRYLHYDRAZYL)**

Dipersiapkan dan disusun oleh:

DEA AYU KARTIKA

231148201325

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji pada tanggal 11 Februari 2025

Pembimbing 1,



Nurillah Febria Leswana, S. Si., M. Sc
NIK: 0322.A4.28



Mengetahui,
Ketua Program Studi S-1 Farmasi

apt. Liniati Geografi, M. Sc.,
NIK: 0419.A4.25

Pembimbing 2,



apt. Muh. Taufiqurrahman, M.Farm
NIK: 0923.A4.30

Tim Penguji:

Ketua : Maria Elvina Tresia, S. Farm., M. Farm.,



Anggota :

1. apt. Adhe Septa Ryant Agus, M.Farm., AAAK



2. apt. Muh. Taufiqurrahman, M.Farm.,



PEDOMAN PENGGUNAAN DAN MEMPERBANYAK SKRIPSI

Skripsi sarjana yang terdaftar dan tersedia di Perpustakaan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda, dan terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada pengarang dengan mengikuti aturan HaKI yang berlaku di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda Referensi kepustakaan diperkenankan dicatat, tetapi pengutipan atau peringkasan hanya dapat dilakukan seizin pengarang dan harus disertai dengan kebiasaan ilmiah untuk menyebutkan sumbernya.

Memperbanyak atau menerbitkan sebagian atau seluruh isi skripsi haruslah seizin ketua Prodi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda.

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa:

1. Karya tulis saya, skripsi ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar sarjana, baik di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda maupun perguruan tinggi lain.
2. Karya tulis ini adalah murni gagasan, rumusan, dan penelitian saya sendiri tanpa bantuan dari pihak lain kecuali arahan Tim Pembimbing dan Masukan Tim Penelaah/Tim Penguji.
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama pegang dan dicantumkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila dikemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh karena karya ini, serta sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi ini.

Samarinda, Februari 2025

Yang membuat pernyataan,

Dea Ayu Kartika

HALAMAN KUTIPAN

Jangan pernah merasa tertinggal, setiap orang punya proses dan rezekinya masing-masing - (Q.S Maryam:4).

LEMBAR PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk kedua orang tua tersayang, yang selalu mendukung dan memotivasi saya, serta teman-teman tercinta yang telah memberikan pengalaman dan cerita selama saya duduk dibangku perkuliahan.

ABSTRAK

Teh kombucha merupakan hasil fermentasi gula dan teh yang dilakukan oleh kultur simbiotik. Bahan yang dapat digunakan dalam pembuatan teh kombucha adalah daun teh hijau. Proses fermentasi dilakukan selama 7-12 hari dengan bantuan bakteri *Acetobacter xylinum* dan beberapa jenis khamir atau ragi lainnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan aktivitas antioksidan, mengetahui kadar total asam, dan organoleptis pada teh kombucha. Metode yang digunakan yaitu metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) meliputi dua faktorial. Faktor pertama yaitu waktu lama fermentasi (1, 2, 3 dan 5 hari) dan faktor kedua yaitu vitamin C. Analisis data menggunakan ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95%. Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa nilai aktivitas antioksidan pada teh kombucha (*SCOOPY*) pada fermentasi hari ke-2 memiliki daya hambat aktivitas antioksidan yang paling baik yaitu 7,00 ppm. Pada total asam didapatkan pada hari ke 5, yaitu sebesar 0,67% dikarenakan selama proses fermentasi khamir dan bakteri melakukan proses metabolisme terhadap sukrosa dan menghasilkan sejumlah asam-asam organik seperti asam asetat.

Kata-kata kunci: kombucha; aktivitas antioksidan; lama fermentasi

ABSTRACT

Kombucha tea is the result of fermentation of sugar and tea carried out by symbiotic cultures. The ingredients that can be used in making kombucha tea are green tea leaves. The fermentation process is carried out for 7-12 days with the help of Acetobacter xylinum bacteria and several types of yeast or other yeast. This study aims to determine whether there are differences in antioxidant activity, determine the total acid content, and organoleptic in kombucha tea. The method used is the Completely Randomized Design (CRD) method including two factors. The first factor is the length of fermentation (1, 2, 3 and 5 days) and the second factor is vitamin C. Data analysis using ANOVA with a confidence level of 95%. Based on the results of this study, it can be concluded that the antioxidant activity value in kombucha tea (SCOOPY) on the 2nd day of fermentation has the best antioxidant activity inhibition capacity, namely 7.00 ppm. The total acid obtained on the 5th day was 0.67% because during the fermentation process, yeast and bacteria carried out the metabolism process on sucrose and produced a number of organic acids such as acetic acid.

Key words: kombucha; antioxidant activity; long fermentation

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan pada Allah SWT, karena berkat rahmat dan karunia-Nyalah penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan yang berjudul **“AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA TEH KOMBUCHA (*SCOOPY*) BERDASARKAN LAMA FERMENTASI DENGAN METODE DPPH (*1,1-DIPHENYL-2 PICRYLHYDRAZYL*)”**.

Penelitian dan penulisan skripsi ini dilakukan untuk memenuhi salah satu syarat untuk mendapatkan gelar sarjana pada jurusan farmasi di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda.

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Dosen Pembimbing Ibu Nurillahi Febria Leswana, S. Si., M. Sc., dan Bapak apt. Muh. Taufiqurrahman, M.Farm atas bimbingan, nasihat, dukungan, serta pengorbanan yang diberikan. Pada kesempatan ini, tidak lupa penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Kepada Yang Terhormat Ibu Ns. Andrea Theofrida Bone, S.Kep., MAN., selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda.
2. Kepada Yang Terhormat Ibu apt. Liniati Geografi, M.Sc selaku Ketua Program Studi S-1 Farmasi dan Pembimbing akademik saya.
3. Kepada Yang Terhormat Ibu Nurillahi Febria Leswana, S. Si., M. Sc dan Bapak apt. Muh. Taufiqurrahman, M.Farm., selaku dosen pembimbing yang telah membimbing dalam penyusunan skripsi saya.
4. Kepada Yang Terhormat Ibu Maria Elvina Tresia Butar-Butar, M.Farm, Bapak apt. Adhe Septa Ryant Agus, M.Farm., AAAK, M.Sc, dan Bapak apt. Muh. Taufiqurrahman, M.Farm Selaku penguji yang telah memberikan saran dan masukan dalam penyusunan skripsi saya.
5. Seluruh staff dosen, staff administrasi serta karyawan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda
6. Kepada kedua orang tua saya, kakak, dan dwi indra yunistya yang telah memberikan banyak kasih sayang kepada saya hingga saya dapat menyelesaikan kuliah saya.

7. Kepada Yang Terhormat Ibu Ummul Karimah S. Si., M. Si dan Ibu Apt. Juliyanti M. Farm yang telah memberikan dukungan dalam perkuliahan saya.

Dalam penyusunan skripsi ini masih banyak kesalahan dan kekurangan karena pengetahuan yang masih sangat terbatas. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati diharapkan masukan berupa kritik dan saran yang bersifat membangun untuk perbaikan di masa yang akan datang. Penulis berharap semoga skripsi ini memberikan manfaat bagi penulis sendiri dan juga bagi pihak lain yang berkepentingan.

Samarinda, Februari 2025

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
PEDOMAN PENGGUNAAN DAN MEMPERBANYAK SKRIPSI	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
HALAMAN KUTIPAN	iv
LEMBAR PERSEMBAHAN	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Identifikasi Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
1.5 Hipotesis	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Teh (<i>Camellia sinensis</i>).....	4
2.1.1 Teh Hijau.....	5
2.1.2 Kandungan Tanaman Teh.....	6
2.2 Teh Kombucha	7
2.3 SCOBY (<i>Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast</i>).....	8
2.4 Proses Fermentasi Kombucha	10
2.5 Faktor – Faktor yang Memengaruhi Fermentasi Kombucha.....	12
2.5.1 pH.....	13
2.5.2 Suhu.....	13
2.5.3 Jumlah Oksigen	13
2.5.4 Waktu Fermentasi.....	14

2.6	Antioksidan Teh Kombucha.....	14
2.7	DPPH (2,2 <i>Diphenyl-1-Picryl-Hydrazl</i>).....	16
2.8	Spektrofotometri UV-Vis	17
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....		19
3.1	Waktu dan Tempat Penelitian	19
3.2	Alat dan Bahan	19
3.3	Metode Penelitian	19
3.3.1	Populasi Dan Sampel/ Sumber Data.....	19
3.3.2	Data Primer.....	19
3.3.3	Data Sekunder	20
3.3.4	Jenis Penelitian	20
3.4	Teknik Pengumpulan Data	21
3.4.1	Prosedur Kerja.....	21
3.4.2	Tahap Pelaksanaan	21
3.4.3	Tahap Perlakuan Uji Aktivitas Antioksidan	23
3.5	Teknik Analisis Data	25
3.5.1	Uji Normalitas	25
3.5.2	Uji Homogenitas.....	25
3.5.3	Uji <i>One-Way</i> Anova.....	26
3.6	Definisi Operasional.....	26
3.7	Diagram Alir Prosedur Penelitian	27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....		29
4.1	Determinasi Tanaman.....	29
4.2	Preparasi Simplisia	29
4.3	Organoleptis	29
4.4	Pengukuran Asam Total	30
4.4.1	Derajat Keasaman (pH).....	31
4.5	Uji Aktivitas Antioksidan.....	32
4.5.1	Aktivitas Antioksidan Teh Kombucha	34
4.5.2	Aktivitas Antioksidan Vitamin C.....	39
4.5.3	Perbandingan Aktivitas Antioksidan.....	40
4.6	Analysis <i>One-Way</i> Anova	41

BAB V KESIMPULAN	44
5.1 Kesimpulan.....	44
5.2 Saran.....	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN	53

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1 Struktur Fungsi Klorofil A Dan Klorofil B	5
Gambar 2.2 Lapisan Selulosa Dan Larutan Kombucha	9
Gambar 2.3 Metabolisme Kombucha Dan Interaksi Mikroba	12
Gambar 2.4 Aktivitas Antioksidan Pada Teh Kombucha.....	15
Gambar 2.5 Pembentukan Senyawa Tehaflavin dan Teharubigin.....	16
Gambar 2.6 Mekanisme Reaksi Metode DPPH	17
Gambar 2.7 Skema Spektrofotometri UV-Vis	18
Gambar 3.1 Diagram Alir Pembuatan Teh Kombucha	27
Gambar 3.2 Diagram Alir Penelitian.....	28
Gambar 4.1 Diagram Hasil Pengukuran Derajat pH.....	31
Gambar 4.2 Grafik %inhibisi Teh Kombucha Fermentasi 1 Hari.....	34
Gambar 4.3 Grafik %inhibisi Teh Kombucha Fermentasi 2 Hari.....	35
Gambar 4.4 Grafik %inhibisi Teh Kombucha Fermentasi 3 Hari.....	36
Gambar 4.5 Grafik %inhibisi Teh Kombucha Fermentasi 5 Hari.....	37
Gambar 4.6 Grafik %inhibisi Vitamin C.....	39
Gambar 4.7 Diagram Perbandingan Aktivitas Antioksidan	40

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 2.1 Mikroorganisme Yang Terdapat Pada <i>SCOBY</i>	6
Tabel 2.2 Hasil Pengukuran % Total Asam	9
Tabel 2.3 Persentase Peredaman Radikal Bebas DPPH.....	17
Tabel 3.1 Definisi Operasional.....	26
Tabel 4.1 Hasil Pengujian Organoleptis Teh Kombucha Fermentasi.....	30
Tabel 4.2 Hasil Pengukuran % Total Asam	30
Tabel 4.3 Hasil Data Hasil Pengukuran Absorbansi	33
Tabel 4.4 Hasil Pengukuran IC_{50} Teh Kombucha Fermentasi 1 Hari.....	34
Tabel 4.5 Hasil Pengukuran IC_{50} Teh Kombucha Fermentasi 2 Hari.....	35
Tabel 4.6 Hasil Pengukuran IC_{50} Teh Kombucha Fermentasi 3 Hari.....	36
Tabel 4.7 Hasil Pengukuran IC_{50} Teh Kombucha Fermentasi 5 Hari.....	37
Tabel 4.8 Hasil Pengukuran IC_{50} Vitamin C	39
Tabel 4.9 Hasil Uji Normalitas.....	41
Tabel 4.10 Hasil Uji Homogenitas	41
Tabel 4.11 Hasil Uji <i>One-Way</i> ANOVA.....	42
Tabel 4.12 Hasil Pengujian LSD (<i>Least Significant Difference</i>).....	43

LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1 Timeline Penelitian	53
Lampiran 2 Teh Kombucha Fermentasi	54
Lampiran 3 Perhitungan Total Asam	54
Lampiran 4 Output SPSS Uji Normalitas	55
Lampiran 5 Output SPSS Uji Homogenitas (<i>Lavene Test</i>)	55
Lampiran 6 Output SPSS Uji <i>One-Way ANOVA</i>	55
Lampiran 7 Output SPSS Uji LSD (<i>Least Significant Difference</i>).....	55
Lampiran 8 Perhitungan %Inhibisi.....	56
Lampiran 9 Perhitungan Nilai IC_{50} Teh Kombucha & Vitamin C.....	59
Lampiran 10 Pembuatan Variasi Konsentrasi	60
Lampiran 11 SK Determinasi & Proses Pengolahan Teh Hijau.....	62

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Teh hijau adalah famili dari *theaceae* merupakan tanaman pohon kecil berukuran paling tinggi 30 kaki. Daun teh mengandung senyawa polifenol termasuk katekin, *teaflavin*. Polifenol salah satunya berkhasiat sebagai antioksidan. Antioksidan merupakan molekul yang mampu memperlambat atau mencegah proses oksidasi molekul lain sehingga mampu menangkal radikal bebas (Yuslianti, 2018).

Teh kombucha merupakan salah satu minuman tradisional yang sangat menarik karena, teh ini merupakan hasil fermentasi gula dan teh yang dilakukan oleh kultur simbiotik (Filippis *et al.*, 2018). Kombucha yang disebut SCOBY (*Symbiotic Cultures of Bacteria and Yeasts*) memiliki rasa asam dan kecut yang mirip dengan sari apel. Teh kombucha difermentasi oleh mikroorganisme dari kelompok khamir dan bakteri. Kultur simbiosis bakteri asam asetat (*Acetobacter xylinum*, *Acetobacter aceti*), bakteri asam laktat (*Lactobacillus*, *Lactococcus*), *Saccharomyces ludwigii*, *Saccharomyces bisporus*, *Zygosaccharomyces sp* dan beberapa jenis khamir (*Torulopsis sp*). Bakteri dan khamir tersebut dapat menghambat kontaminasi mikroorganisme. *Zygosaccharomyces* sebagai khamir dominan dengan persentase kelimpahan relatif 84,1% dan spesies *Dekkera* dan *Pichia* dengan masing-masing 6% dan 5% (Soto *et al.*, 2018). Bakteri asam asetat bekerja lambat jika tidak menggunakan sukrosa secara langsung, sedangkan khamir memecah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa, setelah itu difermentasi lebih lanjut untuk menghasilkan etanol (Michałowska *et al.*, 2016)

Proses fermentasi dilakukan selama 7-14 setelah sampai 10-14 hari fermentasi, ketebalan SCOBY baru mencapai 8-12 mm terpisah dari induk yang diinokulasi (Soto *et al.*, 2019). Perubahan kultur Kombucha selama fermentasi menyebabkan peningkatan kandungan fenolik karena perbedaan waktu fermentasi, namun perbedaan nilainya tidak terlalu besar. Sebagian besar polifenol seperti flavonoid dan fenolik memiliki sifat antioksidan karena memiliki gugus hidroksil pada cincin aromatik yang mampu meredam radikal bebas (Naviri, 2015). Sehingga kadar

flavonoid dan fenolik berbanding lurus dengan aktivitas antioksidan. Semakin besar kadarnya maka semakin besar aktivitas antioksidan yang dihasilkan (Hardiana dan Rudiyanasyah., 2012). Selain itu proses pembuatan teh kombucha dengan perbedaan waktu fermentasi dan jenis teh seperti teh hijau dapat menyebabkan perbedaan rasa, aroma, komposisi dan jumlah kandungan kimianya. Karena kombucha adalah minuman fermentasi, kombucha akan bertahan lama dalam botol kedap udara. Bahkan pada suhu kamar. Selama botolnya tidak dibuka, teh kombucha di dalamnya tetap terjaga dan tidak rusak. Hal ini disebabkan karena kombucha mempunyai zat alami yang dapat mencegah tumbuhnya bakteri penyebab busuknya minuman. (Falahuddin dkk., 2017).

Antioksidan merupakan senyawa yang sangat penting untuk melindungi tubuh dari radikal bebas serta mencegah terjadinya stres oksidatif (Rahayu *et al.*, 2015; Werdhasari, 2014). Aktivitas antioksidan dapat dilihat dari nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} merupakan angka yang menunjukkan kemampuan menghambat proses oksidasi sebesar 50%. Semakin rendah nilai IC_{50} , semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Waktu fermentasi mempengaruhi nilai IC_{50} . Semakin lama waktu fermentasi, maka semakin tinggi nilai IC_{50} yang berarti bahwa kemampuan aktivitas antioksidan yang semakin menurun (Pratama *et al.*, 2015).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Jeinica (2022), pada hasil pengujian penetapan aktivitas antioksidan pada sediaan teh kombucha daun kersen dengan nilai %inhibisi pada konsentrasi 1 ppm didapatkan 28,28%, 2 ppm didapatkan 30,26%, 3 ppm didapatkan 33,80%, 4 ppm didapatkan 37,19%, 5 ppm didapatkan 41,86% dan nilai IC_{50} 7,66 ppm dengan kategori sangat kuat. Berdasarkan hal tersebut, maka peneliti ini akan melakukan aktivitas antioksidan pada teh kombucha (*scooby*) berdasarkan lama fermentasi yaitu pada 1 hari, 2 hari, 3 hari, dan 5 hari dengan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*).

1.1 Identifikasi Masalah

1. Apakah teh kombucha memiliki aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH?
2. Bagaimana pengaruh lama waktu fermentasi terbaik teh kombucha yang dibutuhkan dengan menggunakan metode DPPH?

3. Apakah teh kombucha memiliki kandungan total asam?

1.2 Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk menentukan fermentasi terbaik teh kombucha untuk memiliki aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH.

2. Tujuan Khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Mengetahui apakah terdapat perbedaan aktivitas antioksidan
2. Mengetahui kadar total asam dan organoleptis pada teh kombucha

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dapat diperoleh dari penelitian ini adalah:

1. Bagi masyarakat memberikan bahan informasi kepada masyarakat bahwa teh kombucha merupakan minuman fermentasi yang bermanfaat bagi tubuh sebagai minuman antioksidan.
2. Bagi peneliti lain memberikan referensi untuk peneliti-peneliti selanjutnya khususnya dalam pembuatan teh kombucha berdasarkan lama fermentasi.
3. Sebagai landasan acuan bagi peneliti berikutnya.

1.5 Hipotesis

H₀: Tidak terdapat aktivitas antioksidan pada teh kombucha

H₁: Terdapat potensi sebagai aktivitas antioksidan pada teh kombucha

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Teh (*Camellia sinensis*)

Teh merupakan salah satu minuman yang sering dikonsumsi. Teh biasanya tumbuh didataran tinggi dengan ketinggian 1300-1900 m. Daun teh segar mengalami pelayuan dan proses pemanasan, untuk mengurangi kadar air didalamnya, sehingga memiliki rasa teh yang khas (Carraturo *et al.*, 2018). Prosedur ini dilakukan mencoba untuk menghindari pembusukan mikroorganisme karena lingkungan yang suhunya lembab. Konsentrasi senyawa yang mempengaruhi kualitas teh merupakan variasi yang sangat besar karena dipengaruhi genetik dari tanaman, lingkungan (iklim, tanah, dan ketinggian), musim panen, pemrosesan, dan penyimpanan. Proses pembuatan salah satu faktor terpenting yang memengaruhi kualitas teh, dan secara substansial menentukan jenis dan unsur kimia yang terdapat dalam teh. Minuman teh memiliki banyak manfaat fisiologis dan nutrisi penting bagi manusia, diantaranya untuk meningkatkan sistem kekebalan, melawan infeksi virus dan melawan penyakit (Jiang *et al.*, 2019). Sistematika tumbuhan teh (*Camellia sinensis*) menurut Khurshid, Zafar, Zohaib, Najeeb, & Naseem (2016) yaitu sebagai berikut:

Superdivisi : Spermatophyta

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Dicotyledoneae

Sub Kelas : Dilleniidae

Ordo (bangsa : Theales

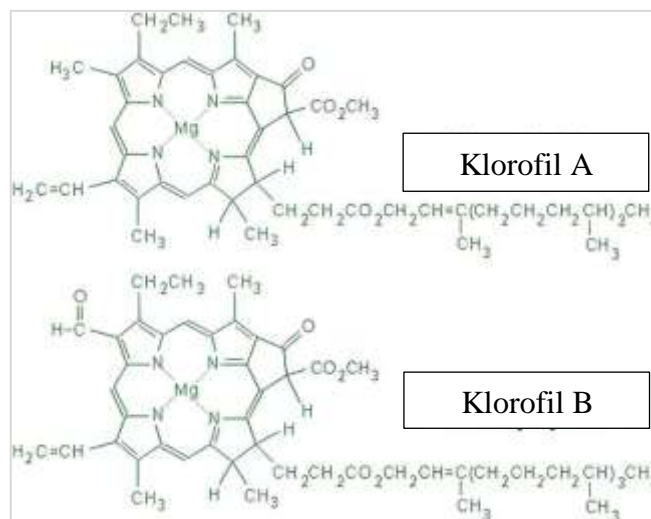
Familia (suku) : Theaceae

Genus (marga): *Camellia*

Spesies (jenis) : *Camellia sinensis*

2.1.1 Teh Hijau

Teh hijau merupakan teh yang banyak dikonsumsi di seluruh dunia setelah teh hitam, terutama di negara-negara Asia seperti China, Jepang, Vietnam, dan Korea Selatan. Lebih dari 1,5 juta ton teh hijau dikonsumsi di China. Teh ini termasuk dalam teh non-fermentasi yang mengandung lebih banyak katekin daripada teh hitam yang difermentasi (Guan *et al.*, 2017). Dalam proses pembuatan teh hijau, daun teh segar dimasukkan pada suhu tinggi, yang menonaktifkan berbagai enzim dan warna hijau pada teh. Dengan demikian, warna teh hijau didominasi oleh warna hijau disebabkan oleh komposisi klorofilnya, antara lain klorofil a dan klorofil b. Klorofil sangat sensitif dan tidak stabil ketika terkena cahaya, panas, dan oksigen, yang menyebabkan penguraian klorofil untuk membentuk pheophytin selama proses pembuatan atau penyimpanan teh (Li *et al.*, 2018).



Gambar 2.1 Struktur Fungsi Klorofil A Dan Klorofil B (Li *et al.*, 2018)

Teh hijau dipercaya sebagai sumber antioksidan bagi tubuh. Selain itu, kandungan mineral dan vitamin C di dalamnya meningkatkan potensi antioksidan dari jenis teh ini (Vishnoi *et al.*, 2018). Vitamin C dalam teh akan berkurang yang disebabkan karena proses pengolahan. Vitamin C sangat rentan terhadap suhu tinggi, kandungan vitamin C lebih tinggi terdapat pada teh hijau. Setiap 2 gram teh hijau mengandung rata-rata 2 mg vitamin C (Rossi, 2010). Selain mengandung vitamin C, teh hijau memiliki sifat antioksidan yang diperoleh dari katekin. Sifat katekin dapat berfungsi sebagai pelindung bagi membran butir darah dalam

oksidasi. Sifat antioksidan teh hijau dapat mendukung kemampuannya sebagai senyawa pelindung radiasi (Syah, 2006).

Komponen daun teh terdiri dari polifenol, alkaloid, polisakarida, asam amino dan protein. Komponen bioaktif yang sering ditemukan yaitu polifenol dan alkaloid. Selain itu, terdapat asam galat, katekin, galokatekin, katekin gallate, epigallocatechin, epicatechin gallate, epicatechin, epigallocatechin gallate, kafein, dan gallocatechin gallate. Theanin adalah asam amino paling melimpah dalam teh dan biasanya terdiri antara 0,2 dan 2% dari berat kering dan menyumbang sekitar 60-70% dari total kandungan asam amino bebas dalam daun teh. Polifenol teh, seperti katekin, flavonol, flavon dan sejenisnya glikosida adalah salah satu kontributor utama untuk sifat astringen teh (Zhang *et al.*, 2019).

2.1.2 Kandungan Tanaman Teh

Kandungan daun teh dapat dikelompokkan menjadi empat kelompok besar yaitu enzim, golongan bukan fenol, fenol dan aromatis. Pengolahan (seduhan) teh dengan tepat dapat didukung dengan keempat kelompok senyawa kimia diatas. Komponen terbesar di daun teh adalah: senyawa katekin (Anjasari, I.R.D, 2016). Telah diketahui bahwa terdapat enam jenis struktur kimia katekin, yaitu: *catechin* (C), *epicatechin* (EC), *gallocatechin* (GC), *epicatechin galate* (ECg), *epigallocatechin* (EGC), dan *epigallocatechin galatncfe* (EGCg) (Sriyadi, 2012). Kandungan pucuk daun teh (% Berat Kering) dapat dilihat pada tabel 2.1.

Tabel 2.1 Kandungan Pucuk Daun Teh (%Berat Kering)

Bagian dari sel	Senyawa	Total	Yang larut dalam air
Dinding sel (cell wall)	Selulosa	26,0	0,0
	Hemiselulosa	-	-
	Lignin	6,5	2,3
	Pektin	-	-
Protoplasma (<i>outer cell membrane</i>)	Protein	17,0	0,0
	Lemak	8,0	-
	Tepung	0,5	0,0

Vakuola (<i>inner cell membrane</i>)	Polifenol katekin	22,0	22,0
	Asam amino	7,00	7,00
	Abu/mineral	5,0	4,0
	Kafein	4,0	4,0
	Asam organik	3,0	3,0
	Asam gula	3,0	3,0
Jumlah		100,0	45,3

Sumber: Anjasari, I.R.D (2016)

Teh mengandung vitamin A (betakaroten), karbohidrat, lemak, dan protein dalam jumlah yang sangat rendah mendekati nol persen. Teh mengandung teobromin, yaitu sejenis senyawa alkaloid (Haryono & Dina, 2013). Selain itu menurut Azizah, Misfadhila, & Oktoviani (2019) teh (*Camellia sp*) memiliki kandungan senyawa-senyawa bermanfaat seperti kafein, alkaloid purin (*metil xantin*), *teofilin*, *teobromin*, *aglikon baringtogenol C*, *saponin triterpen*, *RI-baringenol*, *katekin*, *epigafokatekin galat*, *epikatekin*, *teaflavin*, *kuersetin*, *tearubigen*, *kaemfeol*, *flavonoid*, *mirisetin*, asam klorogenat, derivat asam kavelat, minyak *atsiri teogalin*, dan linalool.

2.2 Teh Kombucha

Teh kombucha merupakan minuman teh dan gula yang telah melalui proses fermentasi dari simbiosis bakteri dan ragi (Winarsih, 2020). Proses fermentasi dilakukan selama 7-12 hari dengan bantuan bakteri *Acetobacter xylinum* dan beberapa jenis khamir atau ragi lainnya (Karyantina dan Sumari, 2019). Selama proses fermentasi bakteri *Acetobacter xylinum* akan melakukan fermentasi dan membentuk asam di dalam teh kombucha (Wistiana dan Zubaidah, 2015). Selama proses fermentasi, bakteri dan ragi juga membentuk alkohol sebanyak $\pm 0,5- 1\%$ dan pH asam yang akan dihasilkan pada teh kombucha berkisar $\pm 3-5,5$ (Karyantina dan Sumari, 2019).

Teh kombucha pertama kali dikonsumsi oleh masyarakat China dan lebih dikenal dengan sebutan jamur teh Manchuria (*manchurian tea mushroom*). Sedangkan masyarakat Indonesia mulai mengenal teh kombucha sejak tahun 1930 yang populer dengan julukan teh Kombu. Teh kombucha dimanfaatkan sebagai

minuman kesehatan karena mengandung berbagai mineral, vitamin, asam-asam organik, dan beberapa senyawa yang berfungsi sebagai antibiotik (Naland, 2008).

Simbiosis antara *Acetobacter xylinum* dan *Saccharomyces cerevisiae* akan menghasilkan asam organik dan alkohol yang menghalangi pertumbuhan mikroorganisme asing. Asam organik terbentuk karena mikroorganisme terus beraktivitas sampai zat gula di dalam larutan habis. Proses pembentukan asam organik inilah yang menyebabkan kombucha memiliki cita rasa asam. Kadar alkohol yang terdapat di dalam kombucha berkisar antara 0,5–1% yang memenuhi persyaratan sebagai minuman hasil fermentasi yang dapat dikonsumsi oleh masyarakat (Herwin dkk., 2013).

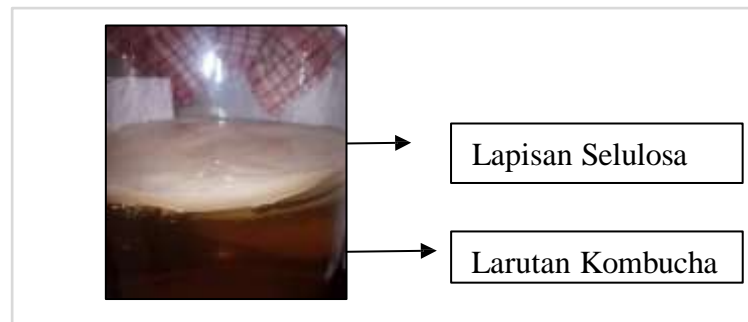
Menurut Suhardini dan Zubaidah (2016), teh kombucha dapat menghasilkan asam organik yang terdiri dari asam glukuronat, asam asetat, asam laktat, asam folat, asam amino (*methionine, leusin, isoleusin, lisin* dan *valin*), vitamin B kompleks, riboflavin, alkohol, serta enzim dan produk lainnya. Proses ini disebut dengan inversi disakarida dimana komponen gula mengawali proses pembentukan asam. Hal ini berarti komponen gula akan mengalami pemecahan menjadi monosakarida (gula sederhana seperti glukosa, fuktosa galaktosa) yang disebabkan oleh enzim dan asam.

Teh kombucha memiliki kandungan senyawa-senyawa kimia diantaranya sudah teridentifikasi termasuk asam organik (terutama asetat, glukonat, asam glukuronat, sitrat, L-laktat, malik, tartarik, malonik, oksalat, suksinat dan piruvat), gula (sukrosa, glukosa, dan fruktosa), vitamin yang larut dalam air, asam amino, amina biogenik, purin, pigmen, lipid, protein, enzim hidrolitik, etanol, karbon dioksida, polifenol, mineral (mangan, besi, nikel, tembaga, seng), anion (fluorida, klorida, bromida, iodida, nitrat, fosfat, dan sulfat) (Ivanisova *et al.*, 2020). Selain itu, terdapat juga kandungan senyawa kimia lainnya seperti vitamin B (B1/ tiamin, B2/riboflavin, B3/niasin, B6/piridoksin, B12/ sianokobalanin, dan vitamin C (Isdadiyanto and Tana, 2019).

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

Pembuatan teh kombucha melalui proses fermentasi yang melibatkan agen pelaku fermentasi yang terdiri dari berbagai mikroorganisme. Gula yang larut dalam teh menjadi sumber karbon bagi mikroorganisme selama fermentasi. Soto *et*

al (2018) mengatakan bahwa teh kombucha terdiri dari dua bagian yaitu lapisan selulosa yang mengapung di bagian permukaan dan larutan kombucha.



Gambar 2.2 Lapisan Selulosa Dan Larutan Kombucha

Lapisan selulosa (nata) yang berada di permukaan larutan kombucha tersebut disebut SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*). Secara fisik, lapisan SCOBY menyerupai lembaran gelatin (gel) berwarna putih dengan ketebalan 0,3–1,2 cm dan terbungkus selaput liat. Sifatnya yang seperti gel menyebabkan bentuk dari SCOBY akan mengikuti bentuk wadah tempat pembiakannya. SCOBY terbentuk dari simbiosis antara bakteri dan khamir (Ardheniati dkk., 2009). Mikroorganisme yang terdapat pada SCOBY dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 2.2 Mikroorganisme Yang Terdapat Pada SCOBY

<i>Khamir</i>	<i>Bakteri</i>
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Acetobacter xylinum</i>
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	<i>Acetobacter xylinoids</i>
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	<i>Acetobacter aceti</i>
<i>Saccharomyces ludwigii</i>	<i>Acetobacter pasterianus</i>
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	<i>Allobaculum sp.</i>
<i>Torulaspota delbrueckii</i>	<i>Bifidobacterium sp.</i>
<i>Torulaspota sp.</i>	<i>Bacterium gluconicum</i>
<i>Brettanomyces bruxellensis</i>	<i>Enterococcus sp.</i>
<i>Bretanomyces lambicus</i>	<i>Gluconobacter oxydans</i>
<i>Bretanomyces custersii</i>	<i>Lactobacillus sp.</i>
<i>Candida sp.</i>	<i>Lactococcus sp.</i>
<i>Pichia membranaefaciens</i>	<i>Leuconostoc sp.</i>
<i>Kloeckera apiculata</i>	<i>Propionibacterium sp.</i>

Sumber: Battikh dkk. (2011)

Asam glukoronat merupakan senyawa yang terbentuk akibat terjadinya proses fermentasi antara teh, gula dengan kultur bakteri dan ragi dalam pembuatan teh kombucha. Asam jenis ini merupakan jenis asam yang paling utama terkandung di dalam teh kombucha yang memiliki fungsi sebagai pencegahan berbagai penyakit pada manusia dengan aktivitas detoksifikasi yang dimilikinya (Martinez-Leal *et al.*, 2020). Asam glukoronat memiliki efek samping yakni memicu pembentukan sistem kekebalan tubuh di dalam hati manusia (liver) berlebihan sehingga melebihi kadar yang dibutuhkan oleh tubuh. Hal ini disebabkan pada hati dapat memproduksi asam glukoronat sendiri dan saat seseorang mengonsumsi teh kombucha berlebihan maka, menimbulkan kelebihan asam glukoronat di dalam tubuh yang cukup banyak (Naland, 2004). Dan terdapat kandungan etanol juga di dalam teh kombucha dengan kadar sekitar 0,5 – 1 % dengan kadar pH \pm 3- 5,5 (Karyantina dan Sumarmi, 2019).

2.4 Proses Fermentasi Kombucha

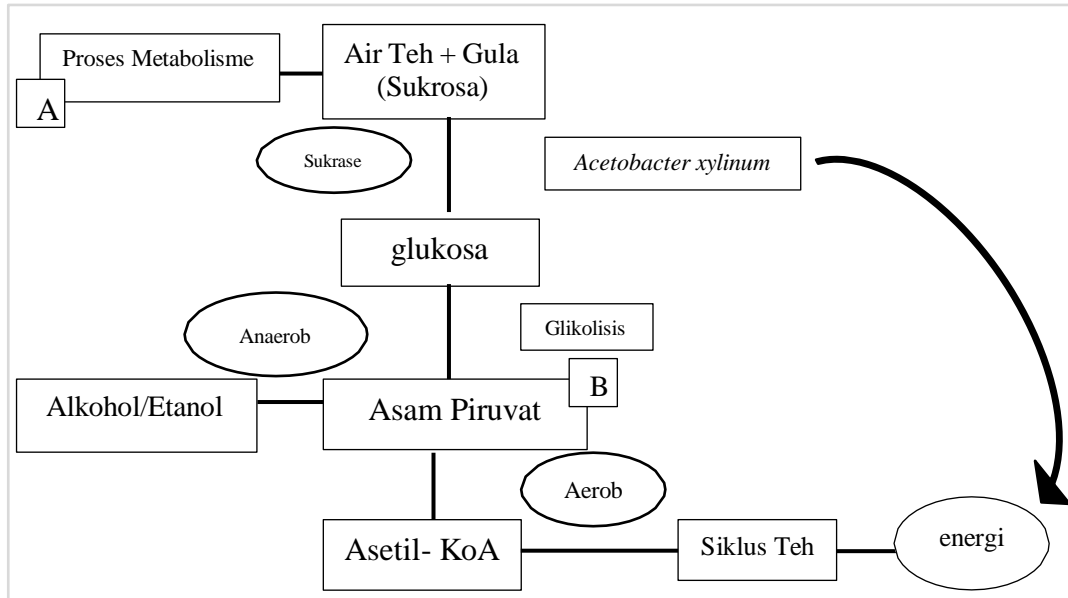
Fermentasi kombucha terdiri dari alkohol, laktat dan asetat, karena terdapat beberapa bakteri dan khamir hidup berdampingan di medium. Proses dibantu mikroorganisme osmotoleran yang didominasi oleh asam sejenis (Soto *et al.*, 2018). Ada banyak genus dan spesies khamir dalam kultur kombucha yang terdiri dari spesies *Zygosaccharomyces*, *Candida*, *Kloeckera/Hanseniaspora*, *Torulasporea*, *Pichia*, *Brettanomyces/Dekkera*, *Scaccharomyces*, *Lachancea*, *Saccharomycoides*, *Schizosaccharomyces* dan *Kluaky*. Sedangkan jenis bakteri yang terdapat dalam kultur kombucha di antaranya *Acetobacter xylinoides*, *Bacterium gluconicum*, *Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasteurianus*, dan *Gluconobacter oxydans*. Prokariota yang paling melimpah dalam kultur simbiosis adalah dari genus bakteri *Acetobacter* dan *Gluconobacter*. Genus ini termasuk ke dalam famili *Acetobacteraceae*, bakterinya adalah basil aerob Gram negatif (Leal *et al.*, 2018). Dalam proses fermentasi kombucha menggunakan berbagai spesies khamir dan bakteri bertindak secara paralel menghasilkan dua produk akhir yang berbeda meliputi teh yang difermentasi dan biofilm. Pada awal fermentasi, khamir menghidrolisis sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa, sebelumnya etanol diproduksi dan akhirnya AAB (*acetic acid bacteria*) mengubah etanol menjadi asam asetat, sehingga produksi asam glukonat dan glukuronat meningkat. Produksi

etanol dan asam asetat menghambat pertumbuhan bakteri patogen di kombucha (Chakravorty et al., 2016).

Proses awal fermentasi dilakukan oleh mikroorganisme osmotolerant yang terdiri dari *Zygosaccharomyces spp.*, *Torulaspota delbrueckii*, *Schizosaccharomyces pombe*, dan lainnya. Setelah itu, dilanjutkan oleh spesies yang tahan asam yaitu *Brettanomyces spp.*, *Candida stellata*, dan lainnya. Di antara komunitas bakteri, bakteri asam asetat sangat umum dan jumlahnya banyak. Spesies utama meliputi *Acetobacter xylinum*, *Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasteurianus*, *Komagataeibacter xylinus* dan *Gluconobacter oxydans* (Coton et al., 2017). Kemampuan *Acetobacter xylinum* dalam mensintesis gula dapat memproduksi asam glukonat serta oksidasi alkohol menjadi asam asetat, sedangkan *Saccharomyces* merupakan salah satu jenis khamir yang mempunyai keunggulan dalam memproduksi alkohol. Perlu diketahui bahwa bakteri *Acetobacter xylinum* merupakan aerobik sejati maka ketika bereaksi memerlukan oksigen yang cukup (Tran et al., 2020). Fermentasi dapat digunakan selama 60 hari, lebih dari itu rasa yang dikeluarkan sangat asam (Markov et al., 2012). Selama botol ini tidak di buka, teh 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. (Adi, 2019). Asam organik merupakan metabolit utama yang diproduksi oleh kombucha fermentasi yang bertindak sebagai bahan aktif untuk memberikan efek kesehatan yang bermanfaat seperti antioksidan. Pada sisi lain kultur starter disekresikan selama fermentasi akan meningkatkan aktivitas antioksidan kombucha yang difermentasi sebagai perbandingan ke substrat yang belum difermentasi (Muhialdin et al., 2019).

Terlepas dari komposisi awal substrat, kultur starter itu sendiri menyediakan inokulum mikroba utama ke dalam larutan. Namun, mikroba di udara atau lingkungan lainnya dapat berinteraksi menjadi bagian dari cara yang berpotensi untuk berkontribusi pada komunitas mikroba. Sementara mikroba memfermentasi substrat, enzim yang dihasilkan oleh khamir membelah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa, sehingga mengubah monomer ini menjadi etanol dan karbon dioksida.

Selanjutnya, enzim bakteri mengoksidasi etanol, menghasilkan asam asetat yang menghasilkan lingkungan pH rendah. Bakteri tersebut juga menghasilkan selulosa yang mengarah pada pembentukan biofilm (Jayabalan *et al.*, 2017). Berikut merupakan metabolisme kombucha dan interaksi mikroba pada gambar 2.3 menurut (May *et al.*, 2019):



Gambar 2.3 Metabolisme Kombucha Dan Interaksi Mikroba (May *et al.*, 2019)

Kombucha diseduh dengan menambahkan teh dan gula ke dalam sedikit starter kombucha yang mengandung khamir dan bakteri ditunjukkan pada proses A. Mikroba ini mulai memecah gula, menyebabkan aliran metabolisme yang menghasilkan minuman bergelembung, asam, dan sedikit beralkohol. Selama proses fermentasi, terjadi interaksi kooperatif dan kompetitif antar mikroba ditunjukkan pada proses B. Produksi fermentasi melalui khamir, pembuangan produk limbah melalui metabolisme alkohol dan pembentukan pelikel selulosa oleh bakteri berpotensi menjadi fungsi kooperatif. Metabolit antimikroba, pH rendah, dan pembentukan penghalang fisik menghambat pertumbuhan antar mikroba.

2.5 Faktor – Faktor yang Memengaruhi Fermentasi Kombucha

Faktor yang mempengaruhi fermentasi, yaitu pH, suhu, dan jumlah oksigen (Soto *et al.*, 2018). Berikut adalah penjelasannya:

2.5.1 pH

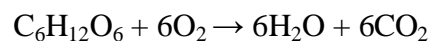
Nilai pH yang terlalu tinggi justru dapat mengganggu aktivitas biologis fermentasi mikroba karena asidogen umumnya berfungsi dari pH 4 hingga 8,5 (Maspolim *et al.*, 2015). Beberapa mikroorganisme seperti ragi dan bakteri asam laktat tumbuh dengan baik pada kisaran nilai pH 3,0–6,0 (Dinata, 2012).

2.5.2 Suhu

Suhu menjadi faktor yang mempengaruhi fermentasi karena dengan menjaga suhu optimal selama fermentasi menghasilkan pertumbuhan mikroba dan aktivitas enzim yang lebih baik. Oleh karena itu, manfaat fermentasi dapat meningkat. Secara umum, nilai suhu fermentasi kombucha berkisar antara 22°C hingga 30°C. Suhu naik diatas suhu optimum atau suhu dibawah rata-rata akan mengakibatkan pertumbuhan mikroorganisme akan berhenti dan sel-sel akan mati (Vitas *et al.*, 2013),

2.5.3 Jumlah Oksigen

Jumlah oksigen dapat mempengaruhi fermentasi, karena fermentasi bersifat aerobik dan membutuhkan sejumlah oksigen. Stoikiometri respirasi merupakan jumlah, maka oksidasi glukosa dapat ditulis dengan rumus sebagai berikut:



Jumlah 192 g oksigen diperlukan untuk oksidasi lengkap 180 g glukosa. Namun, kedua komponen tersebut harus berada dalam larutan sebelum tersedia dalam mikroorganisme. Jumlah oksigen larut kira-kira 6000 kali lebih sedikit didalam air dibandingkan glukosa, sehingga menyediakan kultur mikroba tidak dapat disesuaikan dengan jumlah oksigen untuk menyelesaikan oksidasi glukosa atau sumber karbon lainnya sebagai tambahan (Soto *et al.*, 2018).

2.5.4 Waktu Fermentasi

Fermentasi teh Kombucha biasanya berkisar antara 7 hingga 10 hari dan aktivitas biologis dapat meningkat selama proses tersebut. Meskipun sebagian besar aktivitas antioksidan yang diperoleh telah meningkat seiring dengan waktu inkubasi. Pemilihan durasi periode fermentasi juga bergantung pada karakteristik berupa rasa dan warna. Fermentasi kombucha yang baik dikonsumsi tidak lebih dari 10 hari. Fermentasi yang berkepanjangan tidak disarankan karena penumpukan asam organik, yang dapat mencapai tingkat kerusakan sehingga kurang baik untuk konsumsi. (Soto *et al.*, 2018).

2.6 Antioksidan Teh Kombucha

Antioksidan merupakan bahan yang dapat mencegah atau menghambat kerusakan akibat terjadinya oksidasi (Youngson, 2005). Berbagai bahan alam banyak mengandung antioksidan salah satunya teh kombucha. Antioksidan dibutuhkan untuk mencegah stres oksidatif. Stres oksidatif merupakan kondisi ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas yang ada dengan jumlah antioksidan di dalam tubuh, termasuk reaktif oksigen spesies (ROS) (Werdhasari, 2014). Produksi ROS yang berlebihan menyebabkan kerusakan oksidatif pada DNA, protein, dan lipid yang mengarah ke sel rusak, apoptosis, dan kematian sel. Enzim antioksidan seluler merupakan salah satu pertahanan antioksidan utama yang mencegah ROS intraseluler produksi dan stres oksidatif. Enzim antioksidan ini termasuk glutathione peroksidase (GPx), glutathione reduktase (GRe), katalase, superoxide dismutase (SOD), dan heme oxygenase (Tanticharakunsir *et al.*, 2020).

Kandungan antioksidan banyak terdapat di dalam teh kombucha yang berfungsi sebagai antitumor, antikarsinogenik dan penghambat mutagenik (Shahbaz *et al.*, 2018). Kombucha disusun oleh zat yang bersifat bioaktif, dengan penekanan pada senyawa fenolik. Proses fermentasi berpengaruh terhadap peningkatan sifat antioksidan yang mengacu pada teh, dengan lama fermentasi dan jenis tehnya. Berdasarkan penelitian Nurikasari dkk., (2017) lama fermentasi teh kombucha paling optimum menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan meningkat dihari ke-7 hingga hari ke-9. Setelah hari ke-11 terjadi penurunan. Peningkatan aktivitas antioksidan pada hari ke-1 (88,88%) dan hari ke-3 (90,51%) sebesar

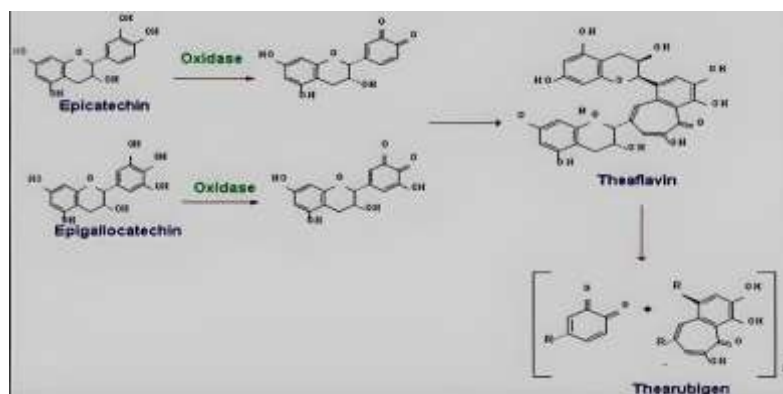
1,63%, kemudian di hari ke-5 (91,88%) mengalami peningkatan sebesar (1,37%), dan aktivitas antioksidan optimum di fermentasi hari ke-7 (93,79%). Kenaikan aktivitas antioksidan di hari ke-7 merupakan kondisi optimum berdasarkan lama fermentasi, hal ini bisa di lihat dengan terjadinya penurunan aktivitas antioksidan di hari ke-9 (93,56%) dan semakin turun di hari ke-11 (93,21%).



Gambar 2.4 Aktivitas Antioksidan Pada Teh Kombucha (Nurikasari dkk., 2017)

Penelitian Purnami (2018), menyatakan bahwa pengolahan teh menjadi teh kombucha sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor, faktor tersebut diantaranya jenis teh yang digunakan dan lama proses fermentasi yang dilakukan dalam pembuatan kombucha. Penelitian Hassmy (2017), menyatakan bahwa pada kadar teh hijau 8 gram mengalami aktivitas antioksidan yang optimal dihari ke 1 sampai hari ke 5 proses fermentasi dengan nilai rata-rata penangkapan radikal DPPH sebesar 90,835-91,853.

Fermentasi berpengaruh pada penurunan sifat reduktif dengan mengacu pada teh. Polifenol yang ada dalam teh bertanggung jawab atas aktivitas antioksidan kombucha. Selama fermentasi terjadi peningkatan polifenol dan flavonoid, sedangkan thearubigin diubah menjadi theaflavin, yang mengakibatkan perubahan warna kombucha dari gelap ke terang seiring dengan waktu fermentasi. Thearubigin merupakan hasil oksidasi lanjutan dari theaflavin, sedangkan theaflavin sebagai pemberi warna dan bersifat sedikit asam (Jakubczyk *et al.*, 2020). Struktur pembentukan Senyawa theaflavin dan thearubigin dapat dilihat pada gambar 2.5.



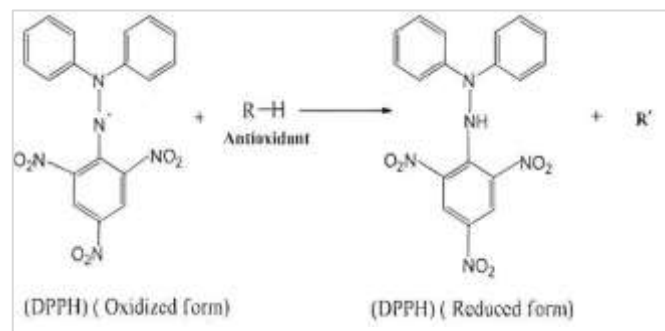
Gambar 2.5 Pembentukan Senyawa Theaflavin dan Thearubigin (Jakubczyk et al, 2020).

Aktivitas antioksidan pada teh kombucha bisa meningkat disebabkan karena terdapat fenolik bebas yang dihasilkan selama proses fermentasi, semakin lama fermentasi maka semakin tinggi pula aktivitas antioksidannya (Hassmy, 2017). Aktivitas yang terdapat dalam teh kombucha memiliki lebih banyak manfaat dibandingkan teh yang tidak difermentasi, karena proses fermentasi menggunakan mikroba membuat perubahan kandungan di dalamnya (Chakravorty *et al.*, 2016).

2.7 DPPH (2,2 Diphenyl-1-Picryl-Hydrazil)

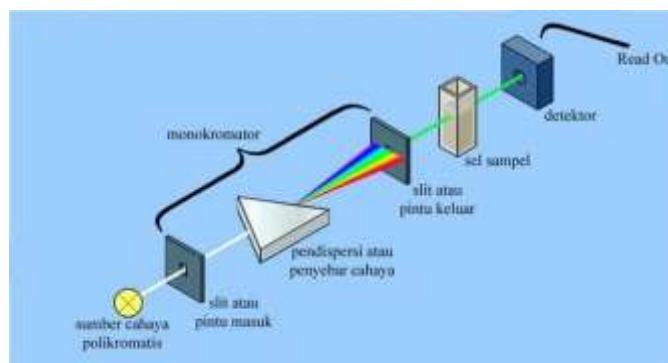
DPPH merupakan radikal bebas yang mampu menerima donor elektron (radikal hidrogen) dari senyawa lain yang akan membentuk senyawa yang lebih stabil dan stabil dalam larutan berair (Musdalifah, 2016). Metode DPPH didasarkan pada kemampuan antioksidan untuk menghambat radikal bebas dengan mendonorkan atom hidrogen. Prinsip kerja metode DPPH adalah berdasarkan kemampuan DPPH untuk menerima atom hidrogen yang didonorkan oleh antioksidan. Setelah mendapatkan atom hidrogen kemampuan absorpsi DPPH menjadi berkurang dan membuat warna DPPH berubah menjadi kuning pucat yang kemudian akan dibaca dengan spektrofotometer UV-Vis (Aji, 2014). Metode DPPH merupakan suatu uji kuantitatif untuk mengetahui seberapa besar aktivitas dari teh kombucha daun coklat sebagai antioksidan serta prosedur pengukuran antioksidan yang mudah dan dapat dilakukan dalam waktu yang singkat. Uji peredaman warna radikal bebas DPPH merupakan uji untuk menentukan aktivitas antioksidan dalam sampel yang akan diujikan dengan melihat kemampuan dalam menangkal radikal

bebas DPPH. Perubahan warna yang diamati adalah perubahan warna dari larutan berwarna ungu menjadi warna kuning (Hidayana dan Kusuma, 2017).



monokromatis dalam panjang gelombang 200-800 nm. Spektrofotometer UV-Vis merupakan korelasi antara spektrofotometer visibel dan spektrofotometer sinar tampak yang dimanfaatkan untuk mengukur energi secara relatif, jika energi tersebut direfleksikan (ditransmisikan) sebagai fungsi dari panjang gelombang. (Musdalifah, 2016). Spektrofotometer adalah alat penghitung absorbansi blanko dan sampel yang disusun dari spektum tampak dan monokromator sel pengabsorpsi. Apabila cahaya UV-Vis dipaparkan pada senyawa maka sebagian dari cahaya tersebut akan diserap oleh molekul dan sebagian akan dipantulkan (Musdalifah, 2016). Terdapat tiga tahap spektrofotometer yaitu absorpsi, transmisi, dan dibiaskan atau dipantulkan. Absorpsi membutuhkan energi, dimana energi tersebut setara dengan yang diperlukan. Penyetaraan energi dapat mengakibatkan perubahan atom atau molekul zat tersebut, sehingga dari energi tersebut dapat diambil hanya satu panjang gelombang yang diabsorpsi (Musdalifah, 2016).

Spektrofotometri UV-Vis merupakan suatu metode instrumen yang umumnya diaplikasikan dalam menganalisis senyawa kimia yang bertujuan mendeteksi senyawa berdasarkan adanya absorbansi foton pada daerah UV-Vis dengan panjang gelombang antara 200-700 nm (Irawan dkk., 2019). Prinsip kerja dari Spektrofotometri UV-visibel adalah radiasi pada rentang panjang gelombang 200-700 nm dilewatkan melalui suatu larutan senyawa. Elektron-elektron pada ikatan di dalam molekul menjadi tereksitasi sehingga menempati keadaan kuantum yang lebih tinggi dan dalam proses menyerap sejumlah energi yang melewati larutan tersebut. Semakin lemah elektron tersebut ditahan di dalam ikatan molekul, semakin panjang panjang gelombang (energi lebih rendah) radiasi yang diserap (Watson, 2007).



Gambar 2.7 Skema Spektrofotometri UV-Vis (Wocono, 2013)

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari – Maret 2024. Tempat penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia Farmasi untuk pengujian kadar asam total dan uji antioksidan. Determinasi dan sterilisasi daun teh hijau dilakukan di PT. RISET PERKEBUNAN NUSANTARA bidang Pusat Penelitian Teh dan Kina.

3.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kompor, autoklaf, gelas beaker, labu ukur 50 mL, toples kaca, saringan, pengaduk, timbangan digital, gelas ukur, cawan petri, pipet tetes, erlenmeyer, dan spektrofotometer UV-Vis.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu Kultur kombucha yang (didapatkan dari www.wikikombucha.com), air, gula pasir, teh hijau, aquades, larutan *2,2-diphenil-1-picrylhydrazyl* (DPPH) merek ALDRICH, metanol (p.a), NaOH, aluminium foil, kain bersih, gelang karet, kertas label.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Populasi Dan Sampel/ Sumber Data

Populasi pada penelitian ini adalah daun teh hijau yang didapatkan di PT. RISET PERKEBUNAN NUSANTARA bidang Pusat Penelitian Teh dan Kina. Sampel yang diambil yaitu 10 gram daun teh hijau.

3.3.2 Data Primer

Pengumpulan data yang diperoleh dengan menumbuhkan bakteri SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*) yang akan di uji di laboratorium Kimia Farmasi. Dengan metode spektrofotometri UV-Vis untuk melihat aktivitas antioksidan yang terkandung.

3.3.3 Data Sekunder

Data sekunder diperoleh dari berbagai jurnal ilmiah, buku maupun literatur lain yang mendukung serta berkaitan dengan penelitian ini, sebagai acuan dalam rancangan penelitian. Data yang akan disajikan dalam bentuk tabel, grafik, dan pembahasan. Hasil penelitian uji kuantitatif yaitu berupa nilai absorbansi dari sampel. Kadar sampel akan diketahui melalui perhitungan kurva baku yang diperoleh dari nilai $y = bx \pm a$, dimana y merupakan nilai absorbansi dan x adalah kadar yang terukur kemudian dilakukan perhitungan potensi antioksidan dengan rumus, absorbansi dan x adalah kadar yang terukur kemudian dilakukan perhitungan potensi antioksidan dengan rumus yang dapat dilihat pada persamaan (3.1).

$$\% \text{ Penghambatan DPPH} = \frac{\text{Abs. Kontrol} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. Kontrol}} \times 100\% \quad (3.1)$$

3.3.4 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium secara kuantitatif dengan menguji aktivitas antioksidan pada teh kombucha (*scooby*) berdasarkan lama fermentasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

3.3.5 Definisi Operasional

1. Variable bebas yang digunakan pada penelitian ini adalah lama fermentasi teh kombucha dengan lama waktu bertahap mulai dari 1 hari, 2 hari, 3 hari, dan 5 hari.
2. Variable terkontrol yang digunakan pada penelitian ini adalah menguji kadar asam, karakteristik fisik (uji organoleptis yaitu terdiri dari PH, warna, rasa dan aroma) pada teh kombucha.
3. Variable terikat yang digunakan pada penelitian ini yaitu, konsentrasi gula 150 gram, teh hijau 10 gram, volume air 500 mL, starter SCOBY 150 mL, suhu ruangan 27⁰C dan wadah fermentasi berupa gelas kaca maksimal 500mL.

3.4 Teknik Pengumpulan Data

3.4.1 Prosedur Kerja

1. Persiapan Alat Dan Bahan

Pertama pada penelitian ini yaitu persiapan alat dan bahan yang digunakan terlebih dahulu. Alat yang akan digunakan harus disterilkan untuk menghilangkan kontaminasi akibat bakteri, jamur, dan kontaminasi lainnya. Untuk alat yang tidak tahan panas dan alat yang mempunyai nomor ukur menggunakan sterilisasi metode basah menggunakan autoklaf. Untuk alat yang tahan panas dan tidak mempunyai nomor ukur menggunakan metode panas memakai oven. Pertama yang dilakukan yaitu membungkus alat dengan aluminium foil. Pada autoklaf diatur temperatur 121⁰C selama 1 jam, pada oven diatur suhu 160-170⁰C Selama 1-2 jam. (Rahayu, 2009).

2. Determinasi

Teh hijau dilakukan determinasi di PT. RISET PERKEBUNAN NUSANTARA bidang Pusat Penelitian Teh dan Kina. Hasil dari determinasi akan menyatakan bahwa spesies familia *theaceae*.

3.4.2 Tahap Pelaksanaan

1. Pembuatan Kombucha

Daun teh hijau kering ditimbang 10 gram dan dilarutkan dalam air mendidih sejumlah 500 mL air dan gula (150 gram) (Zubaidah *et al.*, 2019). Setelah larutan mencapai suhu ruang, kemudian dilakukan penyaringan untuk memisahkan ampas daun teh hijau. Masukkan larutan dalam toples yang terbuat dari kaca. Sterilisasi pada suhu 121⁰C selama 15 menit dalam autoklaf (Zubaidah *et al.*, 2019). Ketika larutan dalam toples mencapai suhu 27⁰C, ditambahkan 150 mL kultur kombucha dan lapisan SCOBY secara aseptis (Zubaidah *et al.*, 2019). Toples ditutup dengan kain, lalu dikencangkan dengan karet rapat (Zubaidah *et*

al., 2019). Lakukan fermentasi dalam waktu 1, 2, 3, dan 5 hari (Zubaidah *et al.*, 2019).

2. Organoleptis

Uji organoleptis dengan cara mengamati bentuk, bau, rasa serta warna pada teh kombucha dengan panca indra. Simplisia yang di periksa berupa teh kombucha (Mayasari & Laoli, 2018).

3. pH

Pengukuran pH menggunakan pH meter yang sudah di kalibrasi menggunakan larutan buffer pH 4 dan pH 7 sebelum digunakan untuk mengukur pH sampel. (Rohman *et al.*, 2019)

4. Pengujian Kadar Total Asam

Analisis total asam menggunakan metode titrasi (SNI 01-3546-2004). Analisis total asam menggunakan metode titrasi terdapat beberapa tahap yaitu standarisasi NaOH dan pengukuran kandungan total asam teh kombucha. Larutan standar disiapkan dengan dimasukkan 0,1 g asam oksalat ke dalam labu ukur 250 ml dan dilarutkan dengan 25 ml aquades. Larutan ditetesi indikator phenolptalein (pp) 1% 2-3 tetes. Larutan dititrasi dengan larutan NaOH hingga terbentuk warna merah muda yang bertahan 15 detik. Normalitas NaOH dapat dihitung dengan rumus (Rohman *et al.*, 2019) dapat dilihat pada persamaan (3.2).

$$\text{Normalitas NaOH} = \frac{V (\text{COOH})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} \times 2}{\text{Mr} ((\text{COOH})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}) \times V \text{ NaOH}} \quad (3.2)$$

Keterangan:

$V (\text{COOH})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: jumlah asam oksalat (gr)

$\text{Mr} (\text{COOH})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: massa molekul relatif asam oksalat
(126)

$V \text{ NaOH}$: volume NaOH (L)

Kandungan total asam pada kombucha diukur dengan 10 ml kombucha teh hijau dilarutkan menjadi 250 ml. Diambil sebanyak 50 ml dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, kemudian ditambahkan 2-3 tetes indikator phenolptalein (pp). Dititrasi

sampel kombucha dengan larutan NaOH 0,1 N hingga warna merah muda terbentuk. Pembacaan skala saat warna merah muda terbentuk pertama kali dan bertahan 15 detik. Rumus kadar total asam (%) diukur (Rohman *et al.*, 2019) dapat dilihat pada persamaan (3.3) sebagai berikut:

$$\text{Total Asam (\%)} = \frac{V \text{ titran} \times N \text{ titran} \times FP \times \text{BM CH}_3\text{COOH}}{V \text{ sampel} \times 1000} \times 100\% \quad (3.3)$$

Keterangan:

- V titran : jumlah larutan NaOH untuk titrasi (ml)
- N titran : normalitas NaOH
- FP : faktor pengenceran
- BM : berat molekul asam asetat (60)
- V sampel : volume sampel kombucha (ml)

3.4.3 Tahap Perlakuan Uji Aktivitas Antioksidan

3.4.3.1 Uji Aktivitas antioksidan

1) Penyiapan Larutan DPPH 0,5 mM

Penyiapan pereaksi adalah larutan DPPH 0,5 mM dalam pelarut etanol p.a 96%. Larutan ini dibuat dengan cara menimbang 10 mg DPPH dan dilarutkan dalam 50 mL methanol p.a. Kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 50 mL, kemudian diaduk hingga homogen untuk melarutkan serbuk DPPH dan selanjutnya ditambahkan metanol sampai tanda batas labu ukur. Selanjutnya larutan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C (Zubaidah *et al.*, 2019).

2) Penyiapan Larutan Uji

Penyiapan larutan uji dilakukan dengan menimbang teh kombucha sebanyak 100 mg, dimasukan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambah metanol sebagian lalu dikocok hingga homogen, kemudian ditambahkan metanol hingga tanda batas. Larutan uji dibuat dengan

konsentrasi 1000 ppm sebagai larutan induk. Setelah itu, dibuatkan menjadi larutan uji 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm (Yuliani dkk., 2016).

3) Penyiapan Kontrol Positif

Ditimbang 5 mg vitamin C dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 50 mL kemudian ditambahkan dengan metanol sampai tanda batas. Kemudian dibuatkan pengenceran menjadi 4 seri konsentrasi yaitu 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm (Yuliani dkk., 2016).

4) Penentuan Operating Time

Larutan uji dari teh kombucha dibuat beberapa konsentrasi. Konsentrasi yang dibuat adalah 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm. Teh kombucha diambil konsentrasi terendah yaitu 20 ppm, dilakukan operating time dengan cara 1,2 mL teh kombucha di tambah methanol 0,9 mL dan 0,9mL larutan DPPH. Larutan uji diukur pada menit ke 0, 10, 20, 30, 40, 50, dan 60 pada panjang gelombang maksimum 517nm (Yuliani dkk., 2016).

5) Pengukuran Absorbansi Peredaman

Radikal DPPH Blanko, larutan uji, dan kontrol positif yang telah dibuat dalam beberapa konsentrasi yaitu 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm, masing-masing diambil sebanyak 1,2 mL, ditambahkan 0,9 mL methanol Pa dan larutan pereaksi DPPH 0,9 mL, dimasukkan dalam tabung lalu di kocok. Larutan didiamkan 30 menit kemudian dibaca serapannya pada panjang gelombang maksimum 517 nm. Blanko yang digunakan adalah metanol dan kontrol positif yang digunakan adalah vitamin C (Yuliani dkk., 2016)

6) Perhitungan Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

Absorbansi larutan dibaca setelah inkubasi menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 517 nm. Perhitungan persentase penghambatan DPPH oleh antioksidan dihitung dengan persamaan (3.4) (Dwiputri and Feroniasanti., 2019):

$$\% \text{ Penghambatan DPPH} = \frac{\text{Abs. Kontrol} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. Kontrol}} \times 100\% \quad (3.4)$$

Nilai % inhibisi kemudian diolah menggunakan Microsoft Excel untuk didapatkan nilai regresi linier yaitu $y = ax + b$.

Keterangan:

y = Persen (%) inhibisi

x = log konsentrasi

3.5 Teknik Analisis Data

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan pola faktorial meliputi dua faktorial. Faktor pertama yaitu waktu lama fermentasi dalam pembuatan teh kombucha yang terdiri dari 4 level (1, 2, 3 dan 5 hari). Faktor kedua jenis teh yang digunakan, yaitu vitamin C. Setiap perlakuan diulang 3 kali sehingga jumlah unit keseluruhan adalah 15 unit. Semua data digunakan metode kuantitatif untuk mengetahui pengaruh waktu fermentasi terhadap aktivitas antioksidan dilakukan analisis data secara statistik menggunakan metode *One-Way ANOVA* pada taraf kepercayaan 95% atau dengan *excel*.

3.5.1 Uji Normalitas

Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui data yang dianalisis memiliki distribusi yang normal atau tidak. Data terdistribusi normal apabila nilai signifikan $> \alpha$ (0,05) sedangkan data dianggap tidak terdistribusi normal apabila nilai signifikan $< \alpha$ (0,05) (Sulisetijono, 2016).

3.5.2 Uji Homogenitas

Uji homogenitas bertujuan untuk mengetahui sama atau tidak varian pada beberapa populasi. Data dianggap tidak homogen apabila nilai

signifikan $< \alpha$ (0,05) sedangkan data dianggap homogen apabila nilai signifikan $> \alpha$ (0,05) (Sulisetijono, 2016).

3.5.3 Uji *One-Way ANOVA*

Data yang berdistribusi normal dan homogen dilanjutkan dengan uji *one-way Analysis of Varians* (ANOVA) pada program *Statistical Package for Social Science* (SPSS) versi 23. Hasil analisis data dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significant Difference*) atau BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk mengetahui perbedaan bermakna pada setiap perlakuan (Sulisetijono, 2016).

3.6 Definisi Operasional

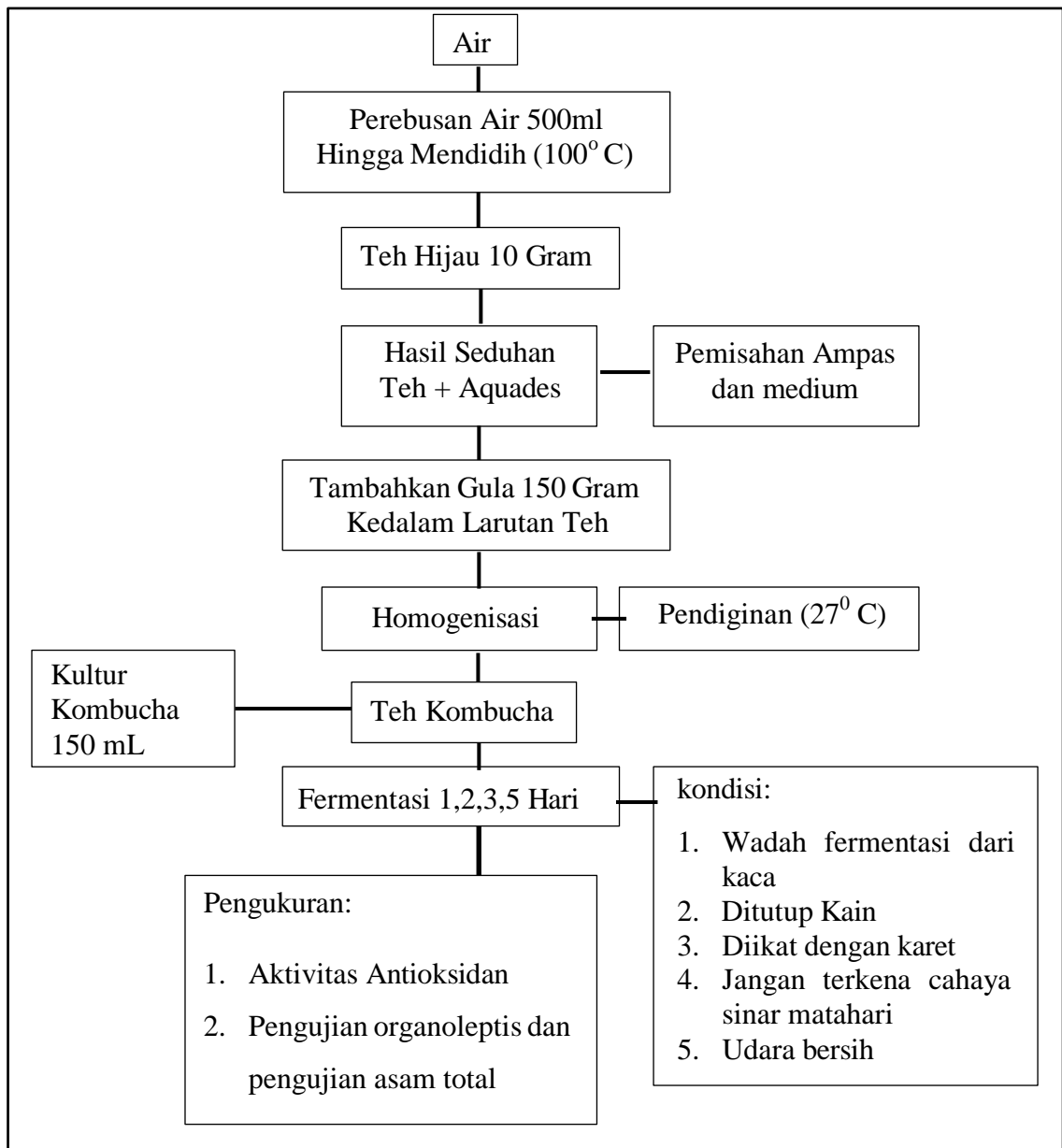
Definisi operasional adalah definisi variable yang akan diteliti secara operasional dilapangan dibuat untuk memudahkan dalam pelaksanaan pengumpulan, pengolahan serta analisis data. Dapat dilihat pada Tabel 3.1 sebagai berikut.

Tabel 3.1 Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Hasil Ukur	Skala Data
Variabel Bebas				
1	Larutan teh kombucha	Lama fermentasi teh kombucha dengan lama waktu bertahap mulai dari 1 hari, 2 hari, 3 hari, dan 5 hari	Lama fermentasi: P1 = 1 hari P2 = 2 hari P3 = 3 hari P5 = 5 hari	Ordinal (kategorik)
Variable Terkendali				
2		Untuk menguji kadar asam, karakteristik fisik (uji organoleptis: PH, warna, rasa dan bau), dan kadar kafein pada teh kombucha	Mg dan mL	Rasio (nominal)
Variable Terikat				
3	Zona Hambat	Konsentrasi gula, teh hijau, volume air, starter SCOBY, suhu ruangan dan wadah fermentasi	mm	Numerik

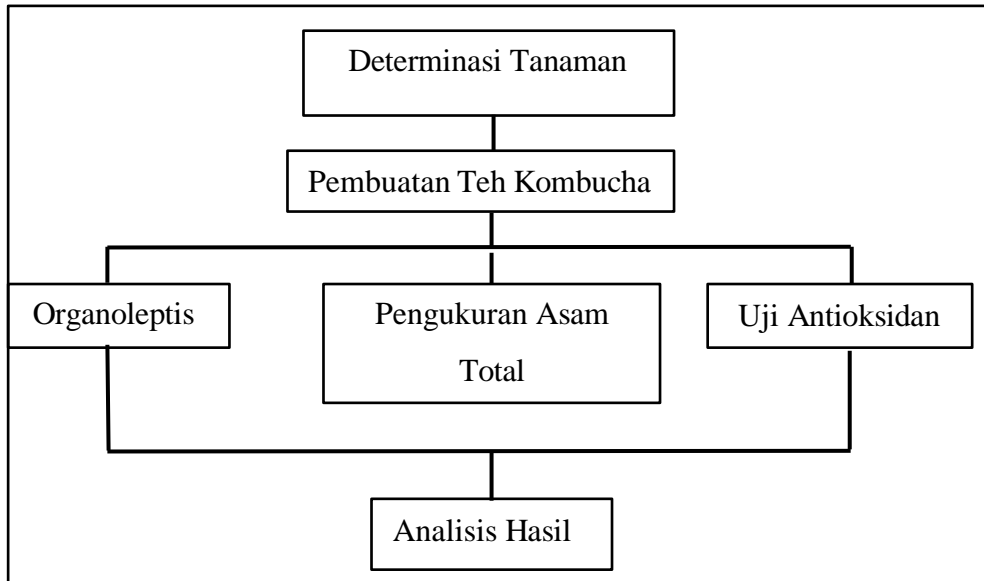
3.7 Diagram Alir Prosedur Penelitian

Diagram alir dalam pembuatan teh kombucha ini sebagai berikut:



Gambar 3.1 Diagram Alir Pembuatan Teh Kombucha

Diagram alir dalam penelitian ini sebagai berikut:



Gambar 3.2 Diagram Alir Penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Determinasi Tanaman

Dalam penelitian ini digunakan tanaman teh (*Camellia sinensis L.*). Sebagai sampel yang diperoleh dari PT. RISET PERKEBUNAN NUSANTARA bidang Pusat Penelitian Teh dan Kina. Determinasi bertujuan untuk mengetahui kebenaran serta identitas tanaman agar menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan baku penelitian. Berdasarkan surat keterangan nomor: 030401/RPN-PPTK/III/2024 hasil determinasi menunjukkan tanaman tergolong dalam family *Theaceae* dengan spesies *Camellia sinensis (L.) O. Kuntze.* atau tanaman teh.

4.2 Preparasi Simplisia

Sampel daun teh hijau yang telah disiapkan, terlebih dahulu dilakukan proses pengeringan untuk menjadi bentuk simplisia (Narmada *et al.*, 2020). Simplisia daun teh hijau tersebut kemudian dilakukan proses fermentasi. Daun teh hijau kering ditimbang 10 gram dan dilarutkan dalam air mendidih sejumlah 500 mL air dan gula (150 gram). Setelah larutan mencapai suhu ruang, kemudian dilakukan penyaringan untuk memisahkan ampas daun teh hijau. Masukkan larutan dalam toples yang terbuat dari kaca. Sterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit dalam autoklaf. Ketika larutan dalam toples mencapai suhu 27°C, ditambahkan 150 mL kultur kombucha dan lapisan SCOBY secara aseptis. Toples ditutup dengan kain, lalu dikencangkan dengan karet rapat. Lakukan fermentasi dalam waktu 1, 2, 3, dan 5 hari (Zubaidah *et al.*, 2019). Setelah fermentasi berlangsung dihasilkan teh kombucha.

4.3 Organoleptis

Uji organoleptis dengan cara mengamati bentuk, bau, rasa serta warna pada teh kombucha dengan panca indra (Mayasari & Laoli, 2018). Berikut adalah hasil uji organoleptis dari sampel teh kombucha yang disajikan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil Pengujian Organoleptis Teh Kombucha Fermentasi

Perlakuan	Penilaian		
	Warna	Aroma	Rasa
Kombucha Fermentasi 1 hari	Coklat Gelap	Beraroma Asam	Asam dan sedikit manis
Kombucha Fermentasi 2 hari	Coklat Keemasan	Beraroma Asam	Asam dan sedikit manis
Kombucha Fermentasi 3 hari	Coklat Keemasan	Beraroma Asam	Asam dan sedikit manis
Kombucha Fermentasi 5 hari	Coklat Gelap	Beraroma Asam	Asam dan sedikit manis

Berdasarkan Tabel 4.1 dapat dilihat bahwa warna yang dihasilkan bervariasi yaitu coklat keemasan dan coklat gelap. Larutan uji sampel yang menghasilkan warna coklat gelap, yaitu larutan uji kombucha fermentasi 1 hari dan 5 hari. Sedangkan, untuk larutan uji yang menghasilkan warna coklat keemasan, yaitu kombucha fermentasi 2 hari dan 3 hari. Hal ini sesuai dengan penelitian Irda & Nurul (2022), yaitu Semakin lama waktu fermentasi dan semakin lama SCOBY terendam di dalam larutan kombucha teh hijau dan teh hitam maka akan berdampak pada warna SCOBY. Pada Tabel 4.1 juga menunjukkan aroma yang dihasilkan dari keempat sampel memiliki aroma yang sama dan memiliki rasa yang sama juga, yaitu beraroma asam dan memiliki rasa asam yang sedikit manis.

4.4 Pengukuran Asam Total

Analisis total asam menggunakan metode titrasi terdapat beberapa tahap yaitu standarisasi NaOH dan pengukuran kandungan total asam teh kombucha (Rohman *et al.*, 2019). Berikut adalah hasil pengukuran asam total pada larutan uji teh kombucha yang telah di fermentasi.

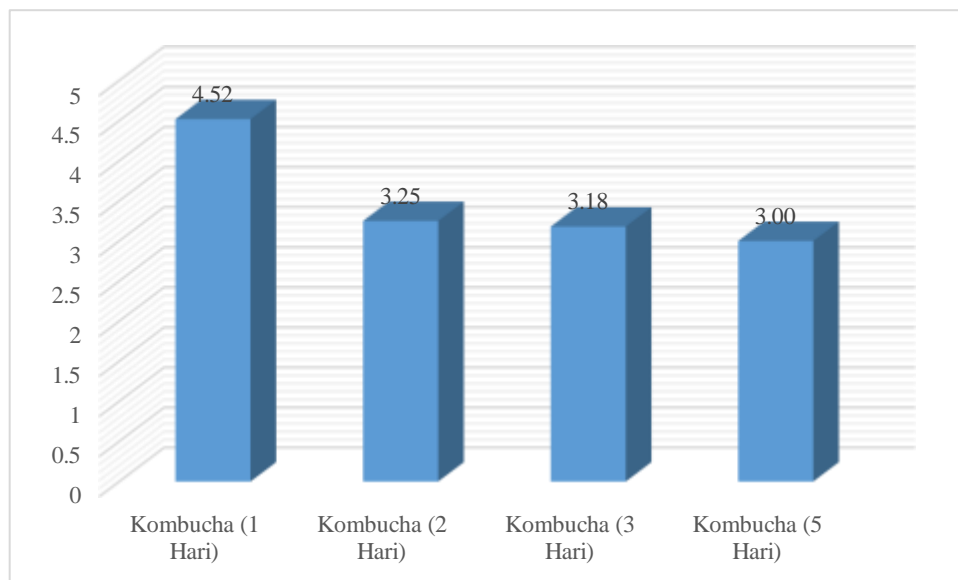
Tabel 4.2 Hasil Pengukuran %Total Asam

Perlakuan	Fermentasi Teh Kombucha			
	1 Hari	2 Hari	3 Hari	5 Hari
%Total Asam	0,09%	0,28%	0,43%	0,67%

Berdasarkan Tabel 4.2 dapat dilihat bahwa semakin lama fermentasi maka %total asam semakin meningkat. Hal ini sesuai dengan penelitian menurut Simanjuntak et al., (2016) mengenai karakteristik kimia dan aktivitas antioksidan kombucha dari tumbuhan apu-apu (*pistia stratiotes*) selama fermentasi total asam yang dihasilkan semakin meningkat dikarenakan selama proses fermentasi khamir dan bakteri melakukan proses metabolisme terhadap sukrosa dan menghasilkan sejumlah asam-asam organik seperti asam asetat dan asam glukonat oleh karena itu terjadi peningkatan kadar asam-asam organik yang menyebabkan semakin tinggi total asamnya.

4.4.1 Derajat Keasaman (pH)

Derajat keasaman atau pH merupakan suatu alat ukur yang digunakan untuk mengetahui tingkat asam basa dari suatu larutan yang akan diujikan. Derajat keasaman diukur dengan skala 0-14, dimana pH netral berada pada nilai 7, sedangkan nilai pH yang kurang dari 7 dinyatakan sebagai larutan asam dan larutan yang memiliki nilai lebih dari 7 dinyatakan sebagai larutan basa (Indrawan dkk., 2022).



Gambar 4.1 Diagram Hasil Pengukuran Derajat pH

Berdasarkan Gambar 4.1 diketahui bahwa nilai pH tertinggi terdapat pada perlakuan K1F1 (Kombucha fermentasi 1 hari), dan nilai terendah terdapat pada perlakuan K3F5 (Kombucha fermentasi 5 hari). Selain itu, pada Gambar 4.1 juga menunjukkan bahwa nilai pH dari keempat larutan uji teh kombucha mengalami

penurunan selama proses fermentasi. Nilai pH menurun seiring dengan semakin lama waktu fermentasi, hal ini sesuai dengan penelitian Indrawan dkk., (2022) yaitu semakin lama fermentasi menyebabkan terjadinya penurunan pH kombucha. Perubahan nilai pH kombucha disebabkan karena terjadinya peningkatan konsentrasi zat-zat asam dan peningkatan jumlah proton H^+ selama proses fermentasi (Indrawan dkk., 2022).

4.5 Uji Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan dari suatu senyawa ditentukan menggunakan parameter IC_{50} . IC_{50} adalah *Inhibition Concentration* atau konsentrasi yang mampu meredam 50% radikal DPPH (Manurung, 2021). Nilai IC_{50} diperoleh dari grafik persamaan regresi linier antara konsentrasi larutan uji dengan persen peredaman DPPH. Nilai %peredaman DPPH atau juga disebut %inhibisi didapatkan dari hasil pengukuran absorbansi larutan uji. Uji aktivitas antioksidan menggunakan vitamin C sebagai kontrol positif dan DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picryhydrazil*) yang berperan sebagai radikal bebas (Aryanti dkk., 2021). Pengukuran aktivitas antioksidan pada sampel ekstrak teh kombucha dilakukan berdasarkan lama fermentasi. Proses fermentasi berpengaruh terhadap peningkatan sifat antioksidan yang mengacu pada teh, dengan lama fermentasi dan jenis tehnya.

Oleh karena itu, uji aktivitas antioksidan dilakukan pada sampel teh kombucha dengan 5 variasi konsentrasi, yaitu 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm. Adapun aktivitas antioksidan dari vitamin C dengan 5 konsentrasi, yaitu 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm. Berikut adalah hasil pengukuran absorbansi dari vitamin C dan teh kombucha. Data hasil pengukuran absorbansi vitamin C dan teh kombucha dapat dilihat pada Tabel 4.3 sebagai berikut.

Tabel 4.3 Data Hasil Pengukuran Absorbansi Vitamin C dan Teh Kombucha

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rerata Absorbansi
		1	2	3	
Vitamin C	2 ppm	0.8368	0.8365	0.8365	0.8366
	4 ppm	0.8179	0.8177	0.8178	0.8178
	6 ppm	0.8009	0.8007	0.8007	0.8008
	8 ppm	0.7744	0.7746	0.7745	0.7745
	10 ppm	0.7135	0.7135	0.7134	0.7135
Kombucha (Fermentasi 1 Hari)	20 ppm	0.7835	0.7837	0.7833	0.7835
	40 ppm	0.7415	0.7416	0.742	0.7417
	60 ppm	0.7012	0.7013	0.7014	0.7013
	80 ppm	0.6835	0.6837	0.6833	0.6835
	100 ppm	0.6678	0.668	0.6679	0.6679
Kombucha (Fermentasi 2 Hari)	20 ppm	0.7321	0.7319	0.7319	0.7320
	40 ppm	0.7122	0.7125	0.7118	0.7122
	60 ppm	0.6611	0.6608	0.6609	0.6609
	80 ppm	0.6181	0.6179	0.6138	0.6166
	100 ppm	0.5615	0.5615	0.5614	0.5615
Kombucha (Fermentasi 3 Hari)	20 ppm	0.6348	0.6352	0.6341	0.6347
	40 ppm	0.6279	0.6277	0.6278	0.6278
	60 ppm	0.6011	0.6012	0.6011	0.6011
	80 ppm	0.5754	0.5759	0.5755	0.5756
	100 ppm	0.523	0.5231	0.5231	0.5231
Kombucha (Fermentasi 5 Hari)	20 ppm	0.8348	0.8352	0.8341	0.8347
	40 ppm	0.8279	0.8279	0.8279	0.8279
	60 ppm	0.7991	0.7991	0.7991	0.7991
	80 ppm	0.7279	0.7277	0.7278	0.7278
	100 ppm	0.6279	0.6279	0.6279	0.6279

Uji aktivitas antioksidan pada penelitian ini yaitu pengaruh lama fermentasi terhadap aktivitas antioksidan dari 4 teh kombucha yang berbeda dibagi menjadi 4 yaitu teh kombucha fermentasi 1 hari, teh kombucha fermentasi 2 hari, teh kombucha fermentasi 3 hari dan teh kombucha fermentasi 5 hari serta Vitamin C sebagai kontrol positif. Sampel dilakukan 3 kali replikasi pada setiap konsentrasi agar mendapatkan absorbansi dan mengoptimalkan terjadi kesalahan dalam analisa sampel (Saputri dkk., 2020). Semakin tinggi konsentrasi sampel yang ditambahkan berdampak pada persen penghambatan yang semakin meningkat. Dalam hal ini absorbansi yang diperoleh semakin rendah yang menunjukkan semakin banyak radikal bebas yang dihambat. (Moniung dkk., 2022). Berdasarkan

Tabel 4.3 menunjukkan bahwa pada larutan uji semakin tinggi konsentrasi yang digunakan, nilai absorbansi yang diperoleh semakin rendah.

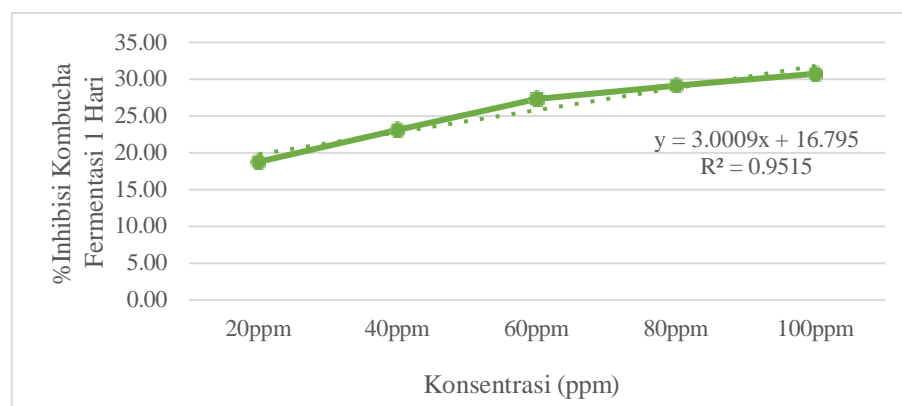
Dari hasil pengukuran, diperoleh absorbansi yang kemudian digunakan untuk perhitungan aktivitas antioksidan yang dinyatakan dengan persentase penghambatan dan nilai IC_{50} . Berdasarkan hasil perhitungan persen penghambatan, dapat diketahui bahwa konsentrasi sampel yang ditambahkan mempengaruhi kemampuan sampel dalam meredam radikal bebas, dapat dikatakan bahwa aktivitas antioksidan tersebut semakin besar yang ditandai dengan persen penghambatan yang semakin tinggi (Anggarani & Amalia., 2022).

4.5.1 Aktivitas Antioksidan Teh Kombucha

Berikut ini adalah hasil pengukuran absorbansi pada larutan uji teh kombucha dengan konsentrasi yang digunakan, yaitu 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm. Teh kombucha yang sudah diukur absorbansinya kemudian dihitung %inhibisi dan nilai IC_{50} nya. Berikut adalah hasil perhitungan %inhibisi larutan uji teh kombucha.

Tabel 4.4 Hasil Perhitungan IC_{50} Teh Kombucha Fermentasi 1 Hari

Konsentrasi	Rerata Absorbansi	%Inhibisi	IC_{50}	Kesimpulan
20 ppm	0,7835	18,75		
40 ppm	0,7417	23,09		
60 ppm	0,7013	27,28	11,07	Sangat Kuat
80 ppm	0,6835	29,12		
100 ppm	0,6679	30,74		
Absorbansi DPPH= 0,9644				

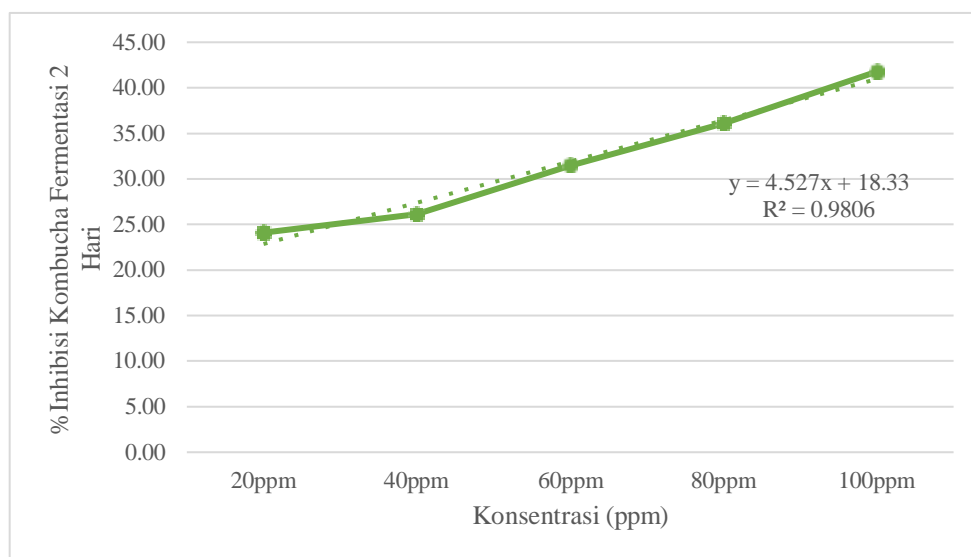


Gambar 4.2 Grafik %Inhibisi Teh Kombucha Fermentasi 1 Hari

Berdasarkan Tabel 4.4 dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi yang di berikan nilai absorbansi yang diperoleh semakin rendah dan nilai %inhibisi semakin tinggi. Hasil ini didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Hanani dkk, (2015) yang menyatakan persentase penghambatan terhadap aktivitas radikal bebas akan meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi sampel. Pada Gambar 4.2 diperoleh persamaan regresi linier yaitu $y = 3,0009X + 16,795$ dan $R^2 = 0,9515$. Persamaan regresi linier yang telah diperoleh, digunakan untuk menghitung nilai IC_{50} teh kombucha fermentasi 1 hari. Perhitungan nilai IC_{50} teh kombucha fermentasi 1 hari yang diperoleh, yaitu sebesar 11,07 ppm. Hasil ini menunjukkan bahwa teh kombucha fermentasi 1 hari memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dikarenakan semakin kecil nilai IC_{50} dari suatu senyawa maka semakin kuat daya peredaman radikal bebasnya. Artinya teh kombucha fermentasi 1 hari mampu menangkal 50% dari radikal bebas pada konsentrasi 11,07 ppm.

Tabel 4.5 Hasil Perhitungan IC_{50} Teh Kombucha Fermentasi 2 Hari

Konsentrasi	Rerata Absorbansi	%Inhibisi	IC_{50}	Kesimpulan
20 ppm	0,7320	24,10		
40 ppm	0,7122	26,15		
60 ppm	0,6609	31,46	7,00	Sangat Kuat
80 ppm	0,6166	36,06		
100 ppm	0,5615	41,78		
Absorbansi DPPH= 0,9644				

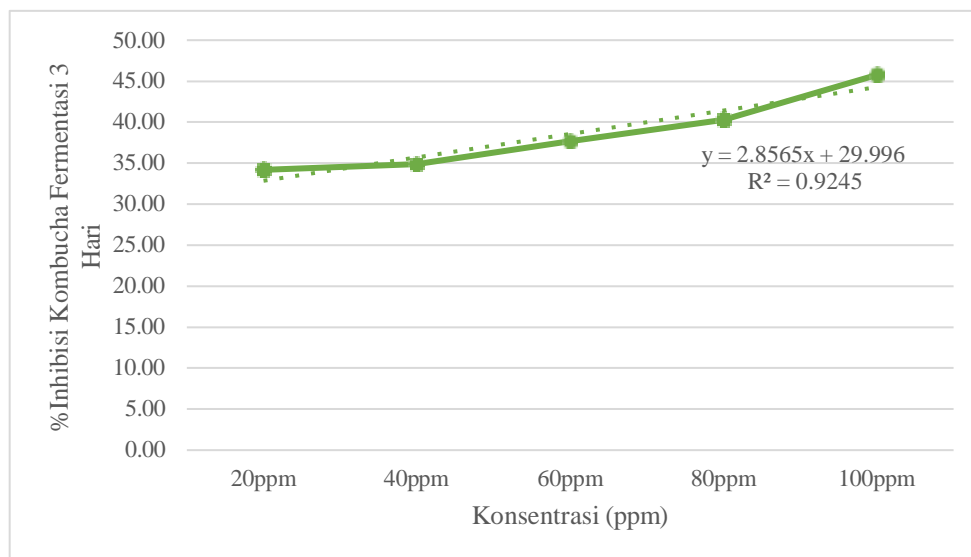


Gambar 4.3 Grafik %Inhibisi Teh Kombucha Fermentasi 2 Hari

Berdasarkan Tabel 4.5 dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi yang di berikan nilai absorbansi yang diperoleh semakin rendah dan nilai %inhibisi semakin tinggi. Hasil ini didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Hanani dkk., (2015) yang menyatakan persentase penghambatan terhadap aktivitas radikal bebas akan meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi sampel. Pada Gambar 4.3 diperoleh persamaan regresi linier yaitu $y = 4,527X + 18,33$ dan $R^2 = 0,9806$. Persamaan regresi linier yang telah diperoleh, digunakan untuk menghitung nilai IC_{50} teh kombucha fermentasi 2 hari. Perhitungan nilai IC_{50} teh kombucha fermentasi 2 hari yang diperoleh, yaitu sebesar 7,00 ppm. Hasil ini menunjukkan bahwa teh kombucha fermentasi 2 hari memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dikarenakan semakin kecil nilai IC_{50} dari suatu senyawa maka semakin kuat daya peredaman radikal bebasnya. Artinya teh kombucha fermentasi 2 hari mampu menangkal 50% dari radikal bebas pada konsentrasi 7,00 ppm.

Tabel 4.6 Hasil Perhitungan IC_{50} Teh Kombucha Fermentasi 3 Hari

Konsentrasi	Rerata Absorbansi	%Inhibisi	IC_{50}	Kesimpulan
20 ppm	0,6347	34,18		
40 ppm	0,6278	34,90	7,01	Sangat Kuat
60 ppm	0,6011	37,67		
80 ppm	0,5756	40,31		
100 ppm	0,5231	45,76		
Absorbansi DPPH= 0,9644				

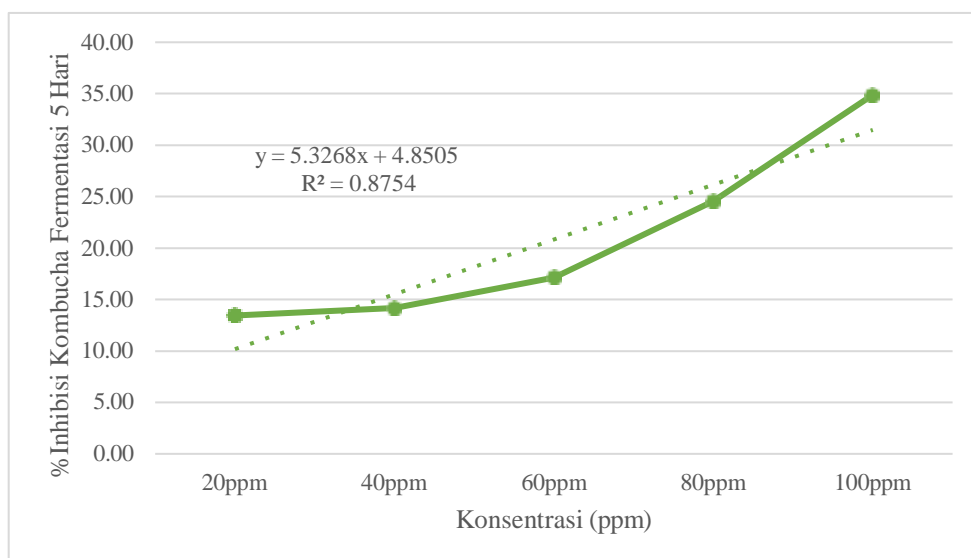


Gambar 4.4 Grafik %Inhibisi Teh Kombucha Fermentasi 3 Hari

Berdasarkan Tabel 4.6 dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi yang di berikan nilai absorbansi yang diperoleh semakin rendah dan nilai %inhibisi semakin tinggi. Hasil ini didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Hanani dkk., (2015) yang menyatakan persentase penghambatan terhadap aktivitas radikal bebas akan meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi sampel. Pada Gambar 4.4 diperoleh persamaan regresi linier yaitu $y = 2,8565X + 29,996$ dan $R^2 = 0,9245$. Persamaan regresi linier yang telah diperoleh, digunakan untuk menghitung nilai IC_{50} teh kombucha fermentasi 3 hari. Perhitungan nilai IC_{50} teh kombucha fermentasi 3 hari yang diperoleh, yaitu sebesar 7,01 ppm. Hasil ini menunjukkan bahwa teh kombucha fermentasi 3 hari memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dikarenakan semakin kecil nilai IC_{50} dari suatu senyawa maka semakin kuat daya peredaman radikal bebasnya. Artinya teh kombucha fermentasi 3 hari mampu menangkal 50% dari radikal bebas pada konsentrasi 7,01 ppm.

Tabel 4.7 Hasil Perhitungan IC_{50} Teh Kombucha Fermentasi 5 Hari

Konsentrasi	Rerata Absorbansi	%Inhibisi	IC_{50}	Kesimpulan
20 ppm	0,8347	13,45		
40 ppm	0,8279	14,15		
60 ppm	0,7991	17,14	8,48	Sangat Kuat
80 ppm	0,7278	24,53		
100 ppm	0,6279	34,89		
Absorbansi DPPH= 0,9644				



Gambar 4.5 Grafik %Inhibisi Teh Kombucha Fermentasi 5 Hari

Berdasarkan Tabel 4.7 dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi yang di berikan nilai absorbansi yang diperoleh semakin rendah dan nilai % inhibisi semakin tinggi. Hasil ini didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Hanani dkk., (2015) yang menyatakan persentase penghambatan terhadap aktivitas radikal bebas akan meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi sampel. Pada Gambar 4.5 diperoleh persamaan regresi linier yaitu $y = 5,3268X + 4,8505$ dan $R^2 = 0,8754$. Persamaan regresi linier yang telah diperoleh, digunakan untuk menghitung nilai IC_{50} teh kombucha fermentasi 5 hari. Perhitungan nilai IC_{50} teh kombucha fermentasi 5 hari yang diperoleh, yaitu sebesar 8,48 ppm. Hasil ini menunjukkan bahwa teh kombucha fermentasi 5 hari memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dikarenakan semakin kecil nilai IC_{50} dari suatu senyawa maka semakin kuat daya peredaman radikal bebasnya. Artinya teh kombucha fermentasi 5 hari mampu menangkal 50% dari radikal bebas pada konsentrasi 8,48 ppm.

Aktivitas antioksidan dapat dilihat dari nilai IC_{50} . Semakin rendah nilai IC_{50} , semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Waktu fermentasi mempengaruhi nilai IC_{50} . Semakin lama waktu fermentasi, maka semakin tinggi nilai IC_{50} yang berarti bahwa kemampuan aktivitas antioksidan yang semakin menurun (Pratama *et al.*, 2015). Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antioksidan yang dilakukan pada teh kombucha yang telah difermentasi selama 1 hari, 2 hari, 3 hari dan 5 hari dapat dilihat bahwa pada fermentasi hari ke-2 teh kombucha memiliki kenaikan aktivitas antioksidan. Setelah terjadi kenaikan pada hari ke-2, lalu mengalami penurunan aktivitas antioksidan pada hari ke-3 dan ke-5. Hasil ini didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Salsabilah & Handayani (2024), Fermentasi hari ke-3 mengalami kenaikan aktivitas antioksidan. Setelah terjadi kenaikan aktivitas antioksidan pada hari ke-3, terjadi penurunan aktivitas antioksidan pada hari ke-5 dan ke-7. Meningkatnya aktivitas antioksidan pada teh kombucha dikarenakan biotransformasi yang dilakukan oleh mikroorganisme yang ada pada sistem fermentasi yang melakukan biotransformasi senyawa dengan memanfaatkan enzim yang ada di sel tanaman seperti yang ada pada teh hijau. Penurunan aktivitas antioksidan dikarenakan terdapat suasana asam yang dapat menyebabkan senyawa fenolik menjadi semakin stabil sehingga sulit melepaskan proton yang dapat berikatan dengan DPPH. Selain itu, meningkatnya jumlah asam-asam organik

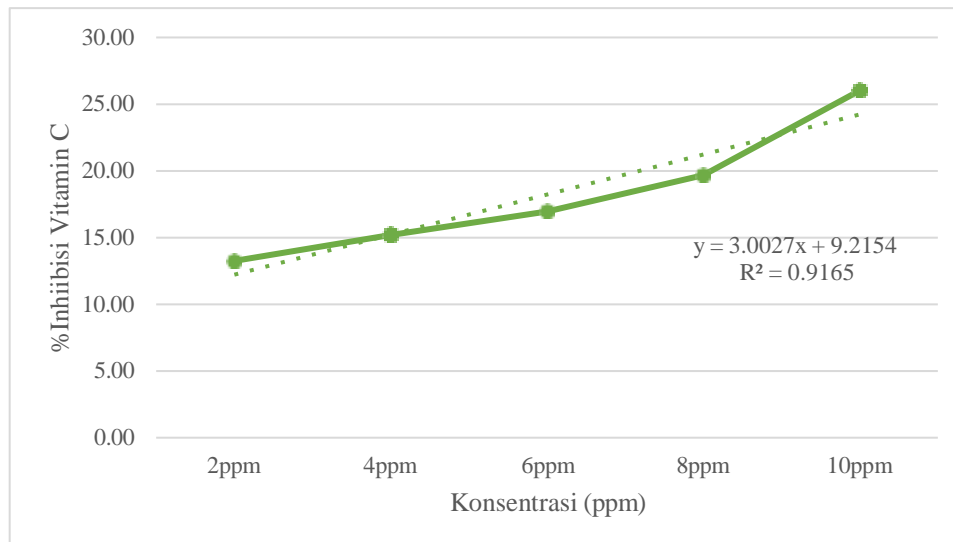
karena adanya aktivitas khamir dan bakteri yang terdapat di dalam kombucha (Salsabilah & Handayani, 2024).

4.5.2 Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Sebagai pembanding nilai IC_{50} dari senyawa antioksidan yang baik, dilakukan pengujian pada vitamin C. Pengukuran absorbansi pada larutan uji vitamin C dengan konsentrasi yang digunakan, yaitu 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm. Vitamin C yang sudah diukur absorbansinya kemudian dihitung %inhibisi dan nilai IC_{50} nya. Berikut adalah hasil perhitungan %inhibisi larutan uji vitamin C.

Tabel 4.8 Hasil Perhitungan IC_{50} Vitamin C

Konsentrasi	Rerata Absorbansi	%Inhibisi	IC_{50}	Kesimpulan
2 ppm	0,8366	13,25		
4 ppm	0,8178	15,20		
6 ppm	0,8008	16,96	13,58	Sangat Kuat
8 ppm	0,7745	19,69		
10 ppm	0,7135	26,02		
Absorbansi DPPH= 0,9644				



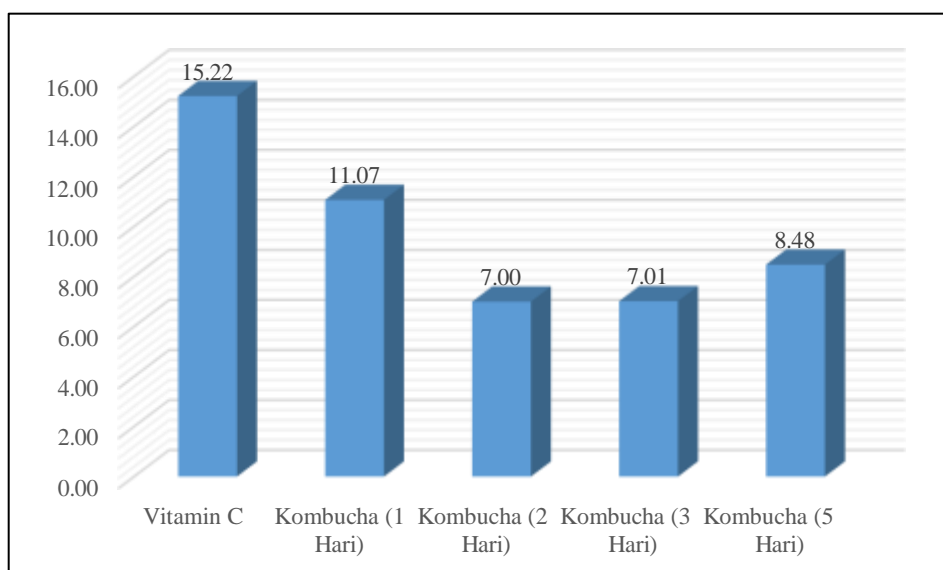
Gambar 4.6 Grafik %Inhibisi Vitamin C

Berdasarkan Tabel 4.8 dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi yang di berikan nilai absorbansi yang diperoleh semakin rendah dan nilai %inhibisi

semakin tinggi. Hasil ini didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Hanani dkk., (2015) yang menyatakan persentase penghambatan terhadap aktivitas radikal bebas akan meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi sampel. Pada Gambar 4.6 diperoleh persamaan regresi linier yaitu $y = 3,0027X + 9,2154$ dan $R^2 = 0,9165$. Persamaan regresi linier yang telah diperoleh, digunakan untuk menghitung nilai IC_{50} vitamin C. Perhitungan Nilai IC_{50} vitamin C yang diperoleh, yaitu sebesar 13,58 ppm. Hasil ini menunjukkan bahwa vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dikarenakan semakin kecil nilai IC_{50} dari suatu senyawa maka semakin kuat daya peredaman radikal bebasnya. Artinya vitamin C mampu menanngkal 50% dari radikal bebas pada konsentrasi 13,58 ppm.

4.5.3 Perbandingan Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan menggunakan vitamin C sebagai pembanding. Vitamin C berfungsi sebagai senyawa yang dapat meredam radikal bebas. Vitamin C merupakan antioksidan sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat tinggi (Aryanti dkk., 2021). Teh kombucha merupakan minuman teh dan gula yang telah melalui fermentasi dari symbiosis bakteri dan ragi (Winarsih, 2020). Kandungan antioksidan banyak terdapat di dalam teh kombucha yang berfungsi sebagai antitumor, antikarsinogenik, dan penghambat mutagenik (Shahbaz *et al.*, 2018). Proses fermentasi berpengaruh terhadap peningkatan sifat antioksidan yang mengacu pada teh, dengan lama fermentasi. Berikut adalah hasil perbandingan aktivitas antioksidan antara vitamin C dan teh kombucha.



Gambar 4.7 Diagram Perbandingan Aktivitas Antioksidan

Berdasarkan Gambar 4.7 menunjukkan bahwa hasil teh kombucha memiliki peredaman yang lebih baik dibandingkan dengan vitamin C. Hal ini dapat dilihat dari keempat larutan uji teh kombucha memiliki nilai IC_{50} lebih rendah dibandingkan dengan nilai IC_{50} pada vitamin C. Gambar 4.6 juga menunjukkan bahwa nilai IC_{50} terendah terdapat pada larutan uji teh kombucha yang telah di fermentasi selama 2 hari, dengan nilai IC_{50} sebesar 7,00 ppm. Sehingga, dapat dikatakan bahwa larutan uji teh kombucha fermentasi 2 hari memiliki peredaman yang sedikit lebih baik dibandingkan dengan vitamin C dan ketiga larutan uji teh kombucha fermentasi lainnya.

4.6 Analisis *One-Way* ANOVA

Pengujian ini menggunakan metode metode *One-Way ANOVA* untuk mengetahui pengaruh waktu fermentasi terhadap aktivitas antioksidan pada teh kombucha. Sebelum melakukan pengujian *One-Way ANOVA* perlu dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas. Berikut adalah hasil pengujian normalitas dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$).

Tabel 4.9 Hasil Uji Normalitas

<i>Shapiro-Wilk</i>	
<i>Sig.</i>	0,870

Berdasarkan Tabel 4.9 menunjukkan nilai signifikan yang diperoleh lebih besar dari 0,05 yang artinya dapat disimpulkan bahwa data tersebut berdistribusi normal. Hasil ini didukung dengan tinjauan pustaka dari (Sulisetijono, 2016) yang menyatakan bahwa, data terdistribusi normal apabila nilai signifikan $> \alpha$ (0,05) sedangkan data dianggap tidak terdistribusi normal apabila nilai signifikan $< \alpha$ (0,05).

Hasil pengujian normalitas yang telah terpenuhi, sehingga dapat dilanjutkan ke pengujian homogenitas. Berikut adalah hasil pengujian homogenitas dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$).

Tabel 4.10 Hasil Uji Homogenitas

<i>Levene Test</i>	
<i>Sig.</i>	0,314

Berdasarkan Tabel 4.10 menunjukkan nilai signifikan yang diperoleh lebih besar dari 0,05 yang artinya dapat disimpulkan bahwa data tersebut homogen. Hasil ini di dukung dengan tinjauan pustaka dari (Sulisetijono, 2016) yang menyatakan bahwa, data dianggap tidak homogen apabila nilai signifikan $< \alpha$ (0,05) sedangkan data dianggap homogen apabila nilai signifikan $> \alpha$ (0,05).

Data yang berdistribusi normal dan homogen dilanjutkan dengan uji *one-way Analysis of Varians* (ANOVA) pada program *Statistical Package for Social Science* (SPSS) versi 23 (Sulisetijono, 2016). Uji ANOVA adalah metode analisis statistik yang digunakan untuk menguji perbedaan antara kelompok atau perlakuan yang berbeda. Tes ANOVA terdiri dari dua bentuk yaitu ANOVA satu arah dan ANOVA dua arah. Uji *One-Way ANOVA* cocok digunakan dalam pengujian ini karena hanya ada satu variabel bebas dan satu variabel terikat. Jika pengujian ANOVA nanti memiliki nilai signifikan $> 0,05$ maka tidak terdapat perbedaan antara lama fermentasi dengan aktivitas antioksidan dan jika nilai signifikan $< 0,05$ maka terdapat perbedaan antara lama fermentasi dengan aktivitas antioksidan. Perlakuan Uji ANOVA juga dilakukan dengan menggunakan software SPSS (Arif dkk., 2023). Berikut adalah hasil dari pengujian *One-Way ANOVA* dengan menggunakan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$).

Tabel 4.11 Hasil Uji *One-Way ANOVA*

<i>One-Way ANOVA</i>	
<i>Sig.</i>	0,004

Berdasarkan Tabel 4.11 menunjukkan bahwa nilai signifikan yang diperoleh lebih kecil dari 0,05 yang artinya dapat disimpulkan bahwa lama fermentasi teh kombucha berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan. Hal ini di dukung oleh jika nilai signifikan $< 0,05$ maka terdapat perbedaan antara lama fermentasi dengan aktivitas antioksidan (Arif dkk., 2023).

Hasil analisis data dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significant Difference*) atau BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk mengetahui perbedaan bermakna pada setiap perlakuan (Sulisetijono, 2016). Berikut adalah hasil pengujian LSD (*Least Significant Difference*) atau BNT (Beda Nyata Terkecil) pada aktivitas antioksidan teh kombucha dengan traf kepercayaan 95% (0,05).

Tabel 4.12 Hasil Pengujian LSD (*Least Significant Difference*)

Perlakuan	Perlakuan (<i>Sig.</i>)			
	Fermentasi 1 Hari	Fermentasi 2 Hari	Fermentasi 3 Hari	Fermentasi 5 Hari
Fermentasi 1 Hari		0,168	0,008*	0,258
Fermentasi 2 Hari	0,168		0,135	0,019*
Fermentasi 3 Hari	0,008*	0,135		0,001*
Fermentasi 5 Hari	0,258	0,019*	0,001*	

Berdasarkan Tabel 4.12 dapat dilihat bahwa pada perlakuan teh kombucha fermentasi 1 yang dibandingkan dengan ketiga sampel uji lainnya, teh kombucha fermentasi 1 hari memiliki perbedaan rata-rata dengan sampel uji teh kombucha fermentasi 3 hari yang ditandai dengan nilai uji LSD $0,008 < 0,05$. Sedangkan dua sampel uji lainnya yaitu teh kombucha fermentasi 2 hari dan 5 hari memiliki nilai $> 0,05$ yang berarti teh kombucha fermentasi 1 hari tidak terdapat perbedaan rata-rata dengan teh kombucha fermentasi 2 hari dan 5 hari. Pada perlakuan teh kombucha fermentasi 2 hari yang dibandingkan dengan ketiga sampel uji lainnya, diperoleh bahwa teh kombucha fermentasi 2 hari memiliki perbedaan rata-rata dengan sampel uji teh kombucha fermentasi 5 hari karena memiliki nilai LSD $< 0,05$, yaitu sebesar 0,019. Dan kedua sampel lainnya yaitu teh kombucha fermentasi 1 hari dan 3 hari memiliki nilai $> 0,05$ yang berarti tidak terdapat perbedaan rata-rata antara teh kombucha fermentasi 2 hari dengan teh kombucha fermentasi 1 hari dan 3 hari. Perlakuan teh kombucha fermentasi 3 hari diketahui memiliki perbedaan rata-rata dengan teh kombucha fermentasi 1 hari, tetapi teh kombucha fermentasi 3 hari juga memiliki perbedaan rata-rata dengan teh kombucha fermentasi 5 hari dengan nilai LSD yang didapatkan $< 0,05$, yaitu sebesar 0,001.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang dilakukan mengenai aktivitas antioksidan teh kombucha (*SCOOPY*) berdasarkan lama fermentasi selama 1 hari, 2 hari, 3 hari dan 5 hari dengan metode DPPH, dapat dilihat bahwa lama fermentasi pada fermentasi hari ke-2 memiliki nilai IC_{50} terendah yaitu, sebesar 7,00 ppm sehingga kombucha dengan fermentasi 2 hari memiliki daya hambat aktivitas antioksidan yang paling baik. Pada total asam didapatkan pada hari ke 5, yaitu sebesar 0,67% dikarenakan selama proses fermentasi khamir dan bakteri melakukan proses metabolisme terhadap sukrosa dan menghasilkan sejumlah asam-asam organik seperti asam asetat.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan lama waktu fermentasi yang lebih lama, menggunakan jenis teh lainnya dan perlunya melakukan pengujian antimikroba.

DAFTAR PUSTAKA

- Aditiawati, P dan Kusnadi. (2003). Kultur campuran dan faktor Lingkungan Mikroorganisme yang berperan dalam fermentasi *Tea Cider*. *PROC. ITB. Sains dan Teknologi*. 5 (2) : 147-162.
- Aji, Rahman Mukti. (2014). *Uji Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Daging Daun Lidah Buaya (Aloe vera) Menggunakan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)*. Jakarta: Skripsi. Fakultas Kedokteran. UIN
- Anjasari, I.R.D. 2016. Katekin Teh Indonesia : Prospek dan Manfaatnya. *Jurnal Kultivasi* 5(12): 99-106.
- Ardheniati, M., Andriani, M.A.M., dan Amanto, B.S . (2009). Kinetika Fermentasi pada Teh Kombucha dengan Variasi Jenis Teh Berdasarkan Pengolahannya. *Biofarmasi*, 7 (1), 48-55.
- Ariani. (2015). *Pengetahuan Bahan Makanan dan Minuman Seri: Babi dan Khamr*. Malang: Penerbit Gunung Samudera.
- Aryadnyani. N. P. (2012). Peningkatan Waktu Fermentasi Kombucha Tea Meningkatkan Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* Penghasil Extended Spectrum Beta Lactamases (Esbl) Secara In Vitro. Tesis. *Program Pasca sarjana Universitas Udayana*. Denpasar.
- Azizah, Z., Misfadhila, S., & Oktoviani, T. S. (2019). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bubuk Kopi Olahan Tradisional Sungai Penuh-Kerinci Dan Teh Kayu Aro Menggunakan Metode DPPH (1 , 1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). *Jurnal Farmasi Higea*, 11(2), 105–112.
- Battikh, H., Chaieb, K., Bakhrouf, A., and Ammar, E. (2011). Antibacterial and Antifungal Activities of Black and Green Kombucha Teas. *Journal of Food Biochemistry*, 37, 231-236.
- Campbell, N.A., Reece, J.B., dan Mitchell, L.G. (2010). In *Biologi Edisi Delapan Jilid 1* (pp. pp. 192-193). Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Carraturo, F., De Castro, O., Troisi, J., De Luca, A., Masucci, A., Cennamo, P. and Guida, M. (2018). *Comparative assessment of the quality of commercial black and green tea using microbiology analyses*. *BMC Microbiology*. 18(1).

- Cardoso, Rodrigo Rezende, Rafaela Oliveira Neto, Carolina Thomaz dos Santos D'Almeida, Talita Pimenta do Nascimento, Carolina Giroto Pressete, Luciana Azevedo, Hercia Stampini Duarte Martino, Luiz Claudio Cameron, Mariana Simões Larráz Ferreira, Frederic. (2020). *Kombuchas From Green and Black Teas Have Different Phenolic Profile, Which Impacts Their Antioxidant Capacities, Antibacterial and Antiproliferative Activities. Food Research International.*
- Chakravorty, Somnath, Semantee Bhattacharya, Antonis Chatzinotas, Writachit Chakravorty, Debanjana Bhattacharya and Ratan Gachhui. (2016). *Kombucha Tea Fermentation: Microbial and Biochemical Dynamics. International Journal of Food Microbiology.*
- Chen, C., and Liu, B.Y. (2000). Changes in Major Components of Tea Fungus Metabolites during Prolonged Fermentation. *Journal of Applied Microbiology*, 89, 834-839.
- Coton, M., Pawtowski, A., Taminiau, B., Burgaud, G., Deniel, F., CoulloumeLabarteh, L., Coton, E. (2017). Unraveling microbial ecology of industrial-scale Kombucha fermentations by metabarcoding and culture-based methods. *FEMS Microbiology Ecology*. 93(5)
- Dewi, E.R.S. (2012). Kadar Lipase dan Protease pada Fermentasi Kombucha dengan Variasi Jenis Teh (*Camelia sinensis*). *Bioma*, 2 (1), 64-73.
- Dinata, D.I. (2012). *Pemanfaatan Mikroorganisme & Teknologi Bioproses. In Bioteknologi (pp. 202-214)*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Guan, X., Yang, J. F., Xie, X. Y., & Lin, C. (2017). Over-supply of tea in China—A marketing analysis. *Acta Tea Sinica (in Chinese)*. 58(2), 75–79.
- Filippis, Francesca De, Antonio Dario Troise, Paola Vitaglione and Danilo Ercolini. (2018). *Different Temperatures Select Distinctive Acetic Acid Bacteria Species and Promotes Organic Acids Production During Kombucha Tea Fermentation. Journal of Food Microbiology*. 73.
- Hardiana, R., Rudiyanayah dan Zaharah, A.T. (2012). *Aktivitas Antioksidan. Senyawa Golongan Fenol Dari Beberapa Jenis Tumbuhan Famili. Malvaceae. JKK* 1(1):8-13.

- Hassmy, Nursyah Putri, Jemmy Abidjulu, dan Adithya Yudistira. (2017). Analisis Aktivitas Antioksidan Pada Teh Hijau Kombucha Berdasarkan Waktu Fermentasi yang Optimal. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, Vol. 6 No. 4 Diakses 20 Januari 2023.
- Haryono, B., & Dina, K. (2013). *Seri Tanaman dan Bahan Baku Industri Teh*. Jakarta: PT. Trisula Adisakti.
- Herwin, Kosman, R., dan Fitriani. (2013). Analisis Kadar Alkohol Produk Kombucha Daun Permot (*Passiflora foetida* L.) Asal Makassar Sulawesi Selatan Secara Kromatografi Gas. *As-Syifaa*, . 5 (2), 112-118.
- Hidayana, V., dan Kusuma, A. E. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Teh Kombucha Daun Coklat (*Theobroma cacao*. L) Berdasarkan Lama Fermentasi. *Jurnal Farmasi Higea*. 9(2): 103-108.
- Hidayah, Seventina Nurul, Nilatul Izah dan Istiqomah Dwi Andari. (2020). Peningkatan Imunitas dengan Konsumsi Vitamin C dan Gizi Seimbang Bagi Ibu Hamil Untuk Cegah Corona di Kota Tegal. *Jurnal Pengabdian Nusantara*, Vol. 4, No. 1.
- Indrawan, Haeril & Nairfana, Ihlana. (2022). VARIASI LAMA WAKTU FERMENTASI TERHADAP pH, ORGANOLEPTIK DAN KANDUNGAN ANTIOKSIDAN TEH KOMBUCHA DAUN KERSEN DENGAN EKSTRAK MANGGA. *Food And Agro-Industry Journal*, Vol. 3, No.1.
- Isdadiyanto, S and S Tana. 2019. Effect of Time Fermentation Kombucha Tea on Lipid Profile of Rats (*Rattus norvegicus* L.). *Journal of Physics: Conference Series*. 1217/012158.
- Ivanisova, Eva, Kristína Menhartova, Margarita Terentjeva, L'ubos Harangozo, Attila Kantor and Miroslava Kacaniova. (2020). The Evaluation of Chemical, Antioxidant, Antimicrobial and Sensory Properties of Kombucha Tea Beverage. *Journal Food Science and Technology*. Vol. 57(5):1840–1846.
- Jakubczyk, Karolina, Justyna Kałduńska, Joanna Kochman and Katarzyna Janda. (2020). *Article: Chemical Profile and Antioxidant Activity of the Kombucha*

- Beverage Derived from White, Green, Black and Red Tea. Antioxidants. 9: 447.*
- Jaya, I.G.N.I.P., Leliqia, N.P.E., dan Widjaja, I.N.K., 2012, Uji Aktivitas Penangkapan Radikal DPPH Ekstrak Produk Teh Hitam (*Camellia sinensis* (L.) O.K.) dan Gambir (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb) Serta Profil Klt-Densitometernya, *Jurnal Farmasi Udayana*, 1 (1). 86-101
- Jayabalan, R., Marimuthu, S., and Swaminathan, K. (2007). Changes In Content Of Organic Acids and Tea Polyphenols During Kombucha Tea Fermentation. *Food Chemistry*, 102, 392-398.
- Jeinica Nintiasari., Melati Aprilliana Ramadhani (2022). Uji Kuantitatif Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Teh Kombucha Daun Kersen (*Muntingia calabura*). *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*.
- Jiang, H., Yu, F., Qin, L., Zhang, N., Cao, Q., Schwab, W. Song, C. (2019). Dynamic Change in Amino Acids, Catechins, Alkaloids, and Gallic Acid in Six Types of Tea Processed from the Same Batch of Fresh Tea (*Camellia sinensis* L.) leaves. *Journal of Food Composition and Analysis*. 77, 28-38.
- Karyantina, M. dan Sumarmi. (2019). *kombucha rosela sebagai minuman probiotik*. Research Fair UNISRI. 3(1).
- Khurshid, Z., Zafar, M. S., Zohaib, S., Najeeb, S., & Naseem, M. (2016). Green Tea (*Camellia Sinensis*): Chemistry and Oral Health. *The Open Dentistry Journal*, 10, 166–173.
- Loncar, E.S., and Ljiljana, A.K. (2007). Kombucha Fermentation on Raw Extracts of Different Cultivars of Jerusalem Artichoke. *APTEFF*. (38) 37-44.
- Leal, Jessica Martínez Lucía Valenzuela Suárez, Rasu Jayabalan, Joselina Huerta Oros & Anayansi Escalante-Aburto. (2018). A Review on Health Benefits of Kombucha Nutritional Compounds and Metabolites. *Journal of Food*. VOL. 16, NO. 1. 390–399.
- Li, Xiaoli, Ruiqing Zhou, Kaiwen Xu, Jie Xu, Juanjuan Jin, Hui Fang and Yong He. (2018). *Article: Rapid Determination of Chlorophyll and Pheophytin in Green Tea Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy. Molecules*. 23, 1010.

- Manurung, H. (2021). *Tabat Barito (Ficus deltoidea Jack): Kajian Budidaya Kandungan Metabolit Sekunder Bio-Aktivitas Prospek Fitofarmakologis*. Deepublish.
- Martínez-Leal, J., Ponce-García, N., and Escalante-Aburto, A. (2020). *Recent evidence of the beneficial effects associated with glucuronic acid contained in kombucha beverages*. *Current nutrition reports*. 9. 163-170.
- Markov, S.L, D. D. Cvetković and Aleksandra S. Velićanski. (2012.) The Availability of a Lactose Medium for Tea Fungus Culture and Kombucha Fermentation. *Arch. Biol. Sci., Belgrade*. 64 (4).
- Maspolim, Y., Zhou, Y., Guo, C., Xiao, K., Ng, W.J., (2015.) The Effect of pH on Solubilization of Organic Matter and Microbial Community Structures in Sludge Fermentation. *Bioresource Technology*.
- Mehta, B.M., Afaf, K.E., and Robert, Z.I. (2012). *Fermentation Effect on Food Properties*. United States: CRC Press Taylor and Francis Group.
- Michałowska, Anna Gramza, Bartosz Kulczyński, Yuan Xindi and Małgorzata Gumienna. (2016). Research on The Effect of Culture Time on The Kombucha Tea Beverage's Antiradical Capacity and Sensory Value. *Acta Scientiarum Polonorum Technology Aliment*. 15(4). eISSN 1889- 9594
- Muhalidin, B. J., Osman, F. A., Muhamad, R., Che Wan Sapawi, C. W. N. S., Anzian, A., Voon, W. W. Y. and Meor Hussin, A. S.(2019). Effects of Sugar Sources and Fermentation Time on The Properties of Tea Fungus (Kombucha) Beverage. *International Food Research Journal*
- Musdalifah. (2016). *Penentuan Suhu dan Waktu Optimum Penyeduhan Daun Teh Hijau (Camellia sinensis L.) P+3 Terhadap Kandungan Antioksidan Kafein, Tanin dan Katekin*. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Nainggolan, J. (2009). *Kajian Pertumbuhan Bakteri Acetobacter sp Dalam Kombucha Rosella Merah (Hibiscus sabdariffa) Pada Kadar Gula dan Lama Fermentasi yang Berbeda*. Tesis. Pasca Sarjana Universitas Sumatra Utara. Medan.
- Naland, H. (2004). *Kombucha teh ajaib Pencegah dan Penyembuh Aneka Penyakit*. Jakarta. Agromedia Pustaka.

- Naland, H., (2008). Komarianibucha Teh dengan Seribu Khasiat, PT. Agromedia Pustaka, Jakarta, pp. 2-10. (n.d.).
- Naviri, T. (2015). *1001 Makanan Sehat*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo.
- Novar, J.M. (1996). Laboratorium Test a Kombucha Tea. *Tea Kombucha Journal*. <http://www.kombuchapower.de>, diakses tanggal 20 Januari 2023.
- Nugroho, E. D. (2013.). *Pengaruh Kombucha Air Kelapa Terhadap Pertumbuhan Bakteri Salmonella Typi*. Skripsi. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan. Universitas Jember.
- Nurikasari, Maulina Yenny Puspitasari, Retno Palupi Yoni Siwi. (2017). *Characterization and analysis kombucha tea antioxidant activity based on long fermentation as a beverage functional*. Journal of Global Researching Public Health, Vol. 2 No. 2.
- Pratama, N. Pato, U., Yusmarini. (2015). Kajian Pembuatan Teh Kombucha Dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*) Jom Faperta. Vol. 2 No.2
- Purnami, Ita K.; Jambe, Anom; & Wisaniyasa, Ni Wayan. (2018). Pengaruh Jenis Teh Terhadap Karakteristik Teh Kombucha. *Jurnal ITEPA*, Vol. 7. No. 2. Hal: 1-10.
- Rohman, A., Dwiloka, B., & Rizqiati, H. (2019). Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Total Asam, Total Bakteri Asam Laktat, Total Khamir dan Mutu Hedonik Kefir Air Kelapa Hijau (*Cocos nucifera*). *Jurnal Teknologi Pangan*, 3(1): 127-133.
- Rinihapsari, E dan Catur. (2008). Fermentasi Kombucha dan Potensinya Sebagai Minuman Kesehatan. *Media Farmasi Indonesia*. 3 (2) : 241-246 .
- Rofiq, M. N. (2002). Pengaruh Inhibisi Teh Fermentasi Kombucha terhadap Bakteri *Salmonella pullorum* secara In Vitro. *Jurnal Sains dan Teknologi*.
- Roy, Souvik, Lopamudra Roy and Nilanjan Das. (2019). Peeping into The Kettle: A Review on the Microbiology of ‘Made Tea’. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*. 9 (1). ISSN: 2230-7605.
- Rossi, A. (2010). 1001 Teh - Dari Asal Usul, Tradisi, Khasiat Hingga Racikan Teh. Yogyakarta: CV. Andi Offset.
- Salsabilah, Chiara Elvira & Handayani, Septy. (2024). PENGARUH LAMA FERMENTASI TEH KOMBUCHA DARI TEH HIJAU DAN KULIT

BUAH NAGA MERAH TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ORGANOLEPTIK. *ARGIPA (Arsip Gizi dan Pangan)*. 2024. Vol. 9, No. 1: 30-42.

- Shahbaz, Hossein, Hadi Hashemi Gahrue, Mohammad-Taghi Golmakani, Mohammad H. Eskandari, Matin Movahed. (2018). Effect of Medicinal Plant Type and Concentration on Physicochemical, Antioxidant, Antimicrobial, and Sensorial Properties of Kombucha. *Journal Food Science Nutrition*.
- Simanjuntak. R. J. D. dan Kurniawaty E. 2019. Efek Ntibakteri Kopi Robusta yang Difermentasi dengan Kombucha Terhadap Salmonella typhi. *J Agromedicine*, 6(1), 83–88.
- Soto, Silvia Alejandra Villarreal, Sandra Beaufort, Jalloul Bouajila, Jean-Pierre Souchard, and Patricia Taillandier. 2018. Understanding Kombucha Tea Fermentation: A Review. *Journal of Food Science*. Vol. 83, No. 3.
- Suhardini, P.N., dan Zubaidah, E. (2016). Studi Aktivitas Antioksidan Kombucha dari Berbagai Jenis Daun Selama Fermentasi. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 4 (1), 221-229.
- Suhirman, S. (2012). Teh kombucha Sebagai Minuman Fungsional untuk Meningkatkan Daya Tahan Tubuh. *Warta penelitian dan pengembangan Tanaman Industri*. 18 (02) : 26-30.
- Sriyadi, B. (2012). Seleksi Klon Teh Assamica Unggul Berpotensi Hasil dan Kadar Katekin Tinggi. *Jurnal Penelitian Teh Dan Kina*, 15(1), 1–10.
- Syah, Andi Nur Alam. (2006). *Taklukkan Penyakit dengan Teh Hijau*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Tanticharakunsir, Wanlapa, Supachoke Mangmool, Karn Wongsariya and Duangjai Ochaikul. (2020). Characteristics and Upregulation of Antioxidant Enzymes of Kitchen Mint and Oolong Tea Kombucha Beverages. *Journal of Food Biochemistry*.
- Tran, Thierry, Cosette Grandvalet, François Verdier, Antoine Martin, Hervé Alexandre, Raphaëlle Tourdot-Maréchal. (2020). Microbiological and Technological Parameters Impacting the Chemical composition and

- Sensory Quality of Kombucha. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 19:2050–2070.
- Vitas, J., Malbasa, R., Grahovac, J., & Loncar, E. (2013). The antioxidant activity of Kombucha fermented milk products with stinging nettle and winter savory. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*. 19(1).
- Vishnoi, Himani, Ramesh B. Bodla and Ravi Kant. (2018). Green Tea (*Camellia Sinensis*) and its Antioxidant Property: a Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. Vol. 9(5).
- Watson, D.G. (2007). *Analisis Farmasi Edisi 2*. Jakarta: EGC. Hal. 105-107.
- Werdhasari, Asri. (2014). Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*, Vol.3, No.2.
- Winarti, S. (2006). *Minuman Kesehatan*. Surabaya : Trubus Agrisarana.
- Winarsih, Sri. (2020). *Ensiklopedia dunia fungi*. Semarang. Alpirin.
- Wistiana, D., dan Zubaidah, E. (2015). Karakteristik Kimiawi dan Mikrobiologis Kombucha dari Berbagai Daun Tinggi Fenol Selama Fermentasi. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3 (4), 1446-1457.
- Youngson, Robert. (2005). *Antioksidan Vitamin C dan E Bagi Kesehatan*. Jakarta: Arcan.
- Yuliani, N. N., Sambara, J., Dan Mau, M. (2016): Uji aktivitas antioksidan fraksi etil asetat ekstrak etanol rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) dengan metode DPPH. *Jurnal Info Kesehatan*, 14(1).
- Yuslianti, Euis R. (2018). *Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan*. Yogyakarta: Deepublish.
- Yuwono, Sudarminto Setyo. (2017). *Teknologi Pangan Hasil Perkebunan*. Malang: UB Press.
- Zhang, L., Ho, C.-T., Zhou, J., Santos, J. S., Armstrong, L., & Granato, D. (2019). *Chemistry and Biological Activities of Processed Camellia sinensis Teas : A Comprehensive Review*. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18, 1474–1495.

LAMPIRAN

Lampiran 1 Teh Kombucha Fermentasi



Lampiran 2 Perhitungan Total Asam

$$\begin{aligned} \text{H1 Total asam\%} &= \frac{5 \times 0,1 \times 90,08 \times \left(\frac{50}{250}\right)}{0,1 \times 1000} \times 100\% \\ &= \frac{9,008}{100} \times 100\% \\ &= 0,09\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{H2 Total asam\%} &= \frac{15,5 \times 0,1 \times 90,08 \times \left(\frac{50}{250}\right)}{0,1 \times 1000} \times 100\% \\ &= \frac{27,9248}{100} \times 100\% \\ &= 0,28\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{H3 Total asam\%} &= \frac{23,9 \times 0,1 \times 90,08 \times \left(\frac{50}{250}\right)}{0,1 \times 1000} \times 100\% \\ &= \frac{43,058}{100} \times 100\% \\ &= 0,43\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{H5 Total asam\%} &= \frac{37 \times 0,1 \times 90,08 \times \left(\frac{50}{250}\right)}{0,1 \times 1000} \times 100\% \\ &= \frac{66,6592}{100} \times 100\% \\ &= 0,67\% \end{aligned}$$

Lampiran 3 Output SPSS Uji Normalitas

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Data_Kombucha	.104	20	.200*	.976	20	.870

*. This is a lower bound of the true significance.
a. Lilliefors Significance Correction

Lampiran 4 Output SPSS Uji Homogenitas (*Lavene Test*)

Test of Homogeneity of Variances			
Data_Kombucha			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.284	3	16	.314

Lampiran 5 Output SPSS Uji *One-Way* ANOVA

ANOVA					
Data_Kombucha					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	883.082	3	294.361	6.578	.004
Within Groups	716.030	16	44.752		
Total	1599.112	19			

Lampiran 6 Output SPSS Uji LSD (*Least Significant Difference*)

Multiple Comparisons						
Dependent Variable: Data_Kombucha						
LSD						
(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kombucha 1 Hari	Kombucha 2 Hari	-6.11400	4.23093	.168	-15.0832	2.8552
	Kombucha 3 Hari	-12.76800*	4.23093	.008	-21.7372	-3.7988
	Kombucha 5 Hari	4.96400	4.23093	.258	-4.0052	13.9332
Kombucha 2 Hari	Kombucha 1 Hari	6.11400	4.23093	.168	-2.8552	15.0832
	Kombucha 3 Hari	-6.65400	4.23093	.135	-15.6232	2.3152
	Kombucha 5 Hari	11.07800*	4.23093	.019	2.1088	20.0472
Kombucha 3 Hari	Kombucha 1 Hari	12.76800*	4.23093	.008	3.7988	21.7372
	Kombucha 2 Hari	6.65400	4.23093	.135	-2.3152	15.6232
	Kombucha 5 Hari	17.73200*	4.23093	.001	8.7628	26.7012
Kombucha 5 Hari	Kombucha 1 Hari	-4.96400	4.23093	.258	-13.9332	4.0052
	Kombucha 2 Hari	-11.07800*	4.23093	.019	-20.0472	-2.1088
	Kombucha 3 Hari	-17.73200*	4.23093	.001	-26.7012	-8.7628

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 7 Perhitungan %Inhibisi

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs. Kontrol} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. Kontrol}} \times 100\%$$

1. Perhitungan %Inhibisi Teh Kombucha 1 Hari

$$\begin{aligned} 20 \text{ ppm } \% \text{ Inhibisi} &= \frac{\text{Abs. Kontrol} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. Kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,9644 - 0,7835}{0,9644} \times 100\% \\ &= 18,75\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 40 \text{ ppm } \% \text{ Inhibisi} &= \frac{\text{Abs. Kontrol} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. Kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,9644 - 0,7417}{0,9644} \times 100\% \\ &= 23,09\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 60 \text{ ppm } \% \text{ Inhibisi} &= \frac{\text{Abs. Kontrol} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. Kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,9644 - 0,7013}{0,9644} \times 100\% \\ &= 27,28\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 80 \text{ ppm } \% \text{ Inhibisi} &= \frac{\text{Abs. Kontrol} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. Kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,9644 - 0,6835}{0,9644} \times 100\% \\ &= 29,2\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 100 \text{ ppm } \% \text{ Inhibisi} &= \frac{\text{Abs. Kontrol} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. Kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,9644 - 0,6679}{0,9644} \times 100\% \\ &= 30,74\% \end{aligned}$$

2. Perhitungan %Inhibisi Teh Kombucha 2 Hari

$$\begin{aligned} 20 \text{ ppm } \% \text{ Inhibisi} &= \frac{\text{Abs. Kontrol} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. Kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,9644 - 0,7320}{0,9644} \times 100\% \\ &= 24,10\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 40 \text{ ppm } \% \text{ Inhibisi} &= \frac{\text{Abs. Kontrol} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. Kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,9644 - 0,7122}{0,9644} \times 100\% \\ &= 26,15\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
60 \text{ ppm \% Inhibisi} &= \frac{\text{Abs. Kontrol} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. Kontrol}} \times 100\% \\
&= \frac{0,9644 - 0,6609}{0,9644} \times 100\% \\
&= 31,46\%
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
80 \text{ ppm \% Inhibisi} &= \frac{\text{Abs. Kontrol} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. Kontrol}} \times 100\% \\
&= \frac{0,9644 - 0,6166}{0,9644} \times 100\% \\
&= 36,06\%
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
100 \text{ ppm \% Inhibisi} &= \frac{\text{Abs. Kontrol} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. Kontrol}} \times 100\% \\
&= \frac{0,9644 - 0,5615}{0,9644} \times 100\% \\
&= 41,78\%
\end{aligned}$$

3. Perhitungan % Inhibisi Teh Kombucha 3 Hari

$$\begin{aligned}
20 \text{ ppm \% Inhibisi} &= \frac{\text{Abs. Kontrol} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. Kontrol}} \times 100\% \\
&= \frac{0,9644 - 0,6347}{0,9644} \times 100\% \\
&= 34,18\%
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
40 \text{ ppm \% Inhibisi} &= \frac{\text{Abs. Kontrol} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. Kontrol}} \times 100\% \\
&= \frac{0,9644 - 0,6278}{0,9644} \times 100\% \\
&= 34,90\%
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
60 \text{ ppm \% Inhibisi} &= \frac{\text{Abs. Kontrol} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. Kontrol}} \times 100\% \\
&= \frac{0,9644 - 0,6011}{0,9644} \times 100\% \\
&= 37,67\%
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
80 \text{ ppm \% Inhibisi} &= \frac{\text{Abs. Kontrol} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. Kontrol}} \times 100\% \\
&= \frac{0,9644 - 0,5756}{0,9644} \times 100\% \\
&= 40,31\%
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
100 \text{ ppm \% Inhibisi} &= \frac{\text{Abs. Kontrol} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. Kontrol}} \times 100\% \\
&= \frac{0,9644 - 0,5231}{0,9644} \times 100\% \\
&= 45,76\%
\end{aligned}$$

4. Perhitungan %Inhibisi Teh Kombucha 5 Hari

$$\begin{aligned} 20 \text{ ppm \% Inhibisi} &= \frac{\text{Abs. Kontrol} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. Kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,9644 - 0,8347}{0,9644} \times 100\% \\ &= 13,45\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 40 \text{ ppm \% Inhibisi} &= \frac{\text{Abs. Kontrol} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. Kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,9644 - 0,8279}{0,9644} \times 100\% \\ &= 14,15\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 60 \text{ ppm \% Inhibisi} &= \frac{\text{Abs. Kontrol} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. Kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,9644 - 0,7991}{0,9644} \times 100\% \\ &= 17,14\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 80 \text{ ppm \% Inhibisi} &= \frac{\text{Abs. Kontrol} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. Kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,9644 - 0,7278}{0,9644} \times 100\% \\ &= 24,53\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 100 \text{ ppm \% Inhibisi} &= \frac{\text{Abs. Kontrol} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. Kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,9644 - 0,6279}{0,9644} \times 100\% \\ &= 34,89\% \end{aligned}$$

5. Perhitungan %Inhibisi Vitamin C

$$\begin{aligned} 20 \text{ ppm \% Inhibisi} &= \frac{\text{Abs. Kontrol} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. Kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,9644 - 0,8366}{0,9644} \times 100\% \\ &= 13,25\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 40 \text{ ppm \% Inhibisi} &= \frac{\text{Abs. Kontrol} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. Kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,9644 - 0,8178}{0,9644} \times 100\% \\ &= 15,20\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 60 \text{ ppm \% Inhibisi} &= \frac{\text{Abs. Kontrol} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. Kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,9644 - 0,8008}{0,9644} \times 100\% \\ &= 16,96\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
80 \text{ ppm } \% \text{ Inhibisi} &= \frac{\text{Abs. Kontrol} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. Kontrol}} \times 100\% \\
&= \frac{0,9644 - 0,7745}{0,9644} \times 100\% \\
&= 19,69\%
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
100 \text{ ppm } \% \text{ Inhibisi} &= \frac{\text{Abs. Kontrol} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. Kontrol}} \times 100\% \\
&= \frac{0,9644 - 0,7135}{0,9644} \times 100\% \\
&= 26,02\%
\end{aligned}$$

Lampiran 8 Perhitungan nilai IC_{50} Teh Kombucha dan Vitamin C

$$y = ax + b$$

1. Nilai IC_{50} Teh Kombucha 1 Hari

$$\begin{aligned}
IC_{50} &= \frac{(50-b)}{a} \\
&= \frac{(50-16,795)}{3,0009} \\
&= 11,07
\end{aligned}$$

2. Nilai IC_{50} Teh Kombucha 2 Hari

$$\begin{aligned}
IC_{50} &= \frac{(50-b)}{a} \\
&= \frac{(50-18,33)}{4,527} \\
&= 7,00
\end{aligned}$$

3. Nilai IC_{50} Teh Kombucha 3 Hari

$$\begin{aligned}
IC_{50} &= \frac{(50-b)}{a} \\
&= \frac{(50-29,966)}{2,8565} \\
&= 7,01
\end{aligned}$$

4. Nilai IC_{50} Teh Kombucha 5 Hari

$$\begin{aligned}
IC_{50} &= \frac{(50-b)}{a} \\
&= \frac{(50-4,8505)}{5,3268} \\
&= 8,48
\end{aligned}$$

5. Nilai IC_{50} Vitamin C

$$\begin{aligned} IC_{50} &= \frac{(50-b)}{a} \\ &= \frac{(50-9,2154)}{3,0027} \\ &= 13,58 \end{aligned}$$

Lampiran 9 Pembuatan Variasi Konsentrasi

$$V_1 = \frac{V_2 \times M_2}{M_1}$$

- Pembuatan Larutan Uji Teh Kombucha

$$\begin{aligned} 20 \text{ ppm} &= \frac{V_2 \times M_2}{M_1} \\ &= \frac{20 \times 10}{1000} \\ &= 0,2 \text{ ml} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 40 \text{ ppm} &= \frac{V_2 \times M_2}{M_1} \\ &= \frac{40 \times 10}{1000} \\ &= 0,4 \text{ ml} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 60 \text{ ppm} &= \frac{V_2 \times M_2}{M_1} \\ &= \frac{60 \times 10}{1000} \\ &= 0,6 \text{ ml} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 80 \text{ ppm} &= \frac{V_2 \times M_2}{M_1} \\ &= \frac{80 \times 10}{1000} \\ &= 0,8 \text{ ml} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 100 \text{ ppm} &= \frac{V_2 \times M_2}{M_1} \\ &= \frac{100 \times 10}{1000} \\ &= 1 \text{ ml} \end{aligned}$$

- Pembuatan Larutan Uji Teh Kombucha

$$\begin{aligned} 2 \text{ ppm} &= \frac{V_2 \times M_2}{M_1} \\ &= \frac{2 \times 10}{100} \\ &= 0,2 \text{ ml} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 4 \text{ ppm} &= \frac{V_2 \times M_2}{M_1} \\ &= \frac{4 \times 10}{100} \\ &= 0,4 \text{ ml} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 6 \text{ ppm} &= \frac{V_2 \times M_2}{M_1} \\ &= \frac{6 \times 10}{100} \\ &= 0,6 \text{ ml} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 8 \text{ ppm} &= \frac{V_2 \times M_2}{M_1} \\ &= \frac{8 \times 10}{100} \\ &= 0,8 \text{ ml} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 10 \text{ ppm} &= \frac{V_2 \times M_2}{M_1} \\ &= \frac{10 \times 10}{100} \\ &= 1 \text{ ml} \end{aligned}$$

Lampiran 11 SK Determinasi dan Proses pengolahan Teh Hijau



4 Maret 2024

Nomor : 030401/RPN-PPTK/III/2024
Lampiran : 2 (dua) berkas
Perihal : Data Determinasi dan Proses Pengolahan Teh Hijau

Kepada Yth.
Ketua Program Studi Farmasi
Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda
di Tempat

Dengan hormat,

Menindak lanjuti surat Nomor 29S/STIKDS-Far/II/2024 tanggal 29 Februari 2024 perihal Pengajuan Pembelian Bahan. Bersama surat ini kami kirimkan data determinasi dan proses pengolahan teh hijau (terlampir).

Demikian surat pengantar ini kami sampaikan. Atas perhatian dan kerjasama yang baik kami ucapkan terima kasih.


M. Adhial Agustina, M.Sc.
Kepala

Tembusan:
- 2; 4; 4.2
- Arsip



Kantor Direksi
Jl. Sate No 14, Rong NRE, Jawa Barat - Indonesia
☎ +62 251 833190 ✉ rpn@rpnind.com
☎ +62 251 833985 ✉ rpn.ind



PPTK - Gamsung
Komplek PPTK Gamsung Di, Mekarsari Kav. Panyamtu,
Kab. Bandung 40172 Jawa Barat
☎ +62 22 5931788 ✉ sekretariat@pki.org
☎ +62 22 5931986 ✉ www.pki.org



Lampiran No : 030401/RPN-PPTK/III/2024

1. Data Determinasi

Bersama dengan ini kami sampaikan, identifikasi dan deskripsi botanis tanaman teh yang umumnya dibudidayakan di Indonesia. Tanaman teh (*Camellia sinensis* L.) berdasarkan atas perbedaan sifat-sifat morfologi digolongkan dalam dua varietas, yaitu *Camellia sinensis* var. *Sinensis* dan *Camellia sinensis* var. *Assamica*. Varietas *sinensis* berbentuk perdu, tinggi tanaman antara 1-2 m, warna daun hijau gelap, panjang daun antara 3-6 cm dan permukaan daun bagian atas mempunyai lapisan lilin. Sementara itu, varietas *assamica* berbentuk pohon dengan tinggi antara 10-15 m, warna daun hijau, panjang daun antara 15-20 cm dengan permukaan daun mengkilap (Visser, 1969). Secara umum taksonomi dari tanaman teh adalah:

Regnum : Plantae
Sub Regnum : Tracheobionta
Super Divisio : Spermatophyta
Divisio : Magnoliophyta
Classes : Magnoliopsida (dikotil)
Sub Classes : Dilleniidae
Ordo : Theales
Familia : Theaceae
Genus : *Camellia*
Species : *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze

Demikian semoga bermanfaat.

Sumber Pustaka: Visser, T. 1969. Tea (*Camellia sinensis* L.) O. Kuntze. In: Ferweda and F. Wit (ed). *Outlines of Perennial Crop Breeding in the Tropics*: 459-493. II. Veenman and Zonen N. V, Wageningen.

