

## PENETAPAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN YANG OPTIMAL PADA TEH HITAM KOMBUCHA LOKAL DI BALI DENGAN VARIASI WAKTU FERMENTASI

Pande Putu Ayu Sukmawati<sup>1</sup>, Yan Ramona<sup>2</sup>, Ni Putu Eka Leliqia<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana

<sup>2</sup>Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana

Jalan Kampus Unud-Jimbaran, Jimbaran-Bali, Indonesia 80364

Telp/Fax: 0361-703837

\*Corresponding author : pande.sukma@gmail.com

### ABSTRAK

Teh Kombucha yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan, merupakan campuran teh dan gula yang difermentasi dengan bantuan simbiosis antara bakteri asam asetat dan yeast. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui waktu fermentasi yang memberikan aktivitas antioksidan optimal pada teh hitam Kombucha lokal di Bali. Uji penangkapan radikal DPPH dilakukan pada teh hitam Kombucha lokal di Bali dengan konsentrasi gula 5% b/v pada waktu fermentasi yang bervariasi (hari ke-1, 8 dan 15). Analisis data dilakukan dengan repeated ANOVA pada tingkat kepercayaan 95%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa teh hitam Kombucha lokal di Bali pada waktu fermentasi hari ke-1 memberikan aktivitas antioksidan yang optimal karena dalam waktu fermentasi yang pendek mampu menghasilkan % penangkapan radikal DPPH yang tidak berbeda signifikan dibandingkan teh hitam Kombucha lokal yang memberikan aktivitas antioksidan terbesar.

---

Kata kunci : teh hitam, Kombucha lokal di Bali, antioksidan, waktu fermentasi

### 1. PENDAHULUAN

Teh Kombucha merupakan campuran teh dan gula yang difermentasi dengan bantuan simbiosis antara bakteri asam asetat dan yeast sehingga membentuk suatu teh jamur (Dufresne and Farnworth, 2000; Jayabalan et al., 2008; Teoh et al., 2004). Teh Kombucha umumnya dibuat dari teh hitam karena teh hitam merupakan teh yang paling banyak dikonsumsi di dunia. Teh Kombucha merupakan salah satu minuman yang telah dikenal memiliki aktivitas antioksidan. Antioksidan adalah zat yang dalam jumlah kecil mampu mencegah oksidasi selular dengan menstabilkan, menonaktifkan, atau meminimalkan efek merusak radikal bebas akibat stres oksidatif (Percival, 1998; Priyadarsini, 2005). Teh mengandung senyawa polifenol, alkaloid (kafein, teofilin, dan teobromin), asam amino, karbohidrat, protein, klorofil, mineral dan komponen lainnya. Diantara senyawa-senyawa tersebut, polifenol merupakan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan yang paling kuat (Cabrera et al., 2003).

Hasil penelitian Chu and Chen (2006) menunjukkan bahwa kultur Kombucha yang berasal dari daerah yang berbeda-beda memberikan aktivitas antioksidan yang berbeda. Menurut Jayabalan et al. (2006), teh Kombucha

menunjukkan peningkatan aktivitas antioksidan selama proses fermentasi. Hal ini memperlihatkan bahwa waktu fermentasi mempengaruhi aktivitas antioksidan. Berdasarkan hal tersebut maka dilakukan optimalisasi waktu fermentasi untuk penetapan aktivitas antioksidan teh hitam Kombucha lokal di Bali.

### 2. METODE PENELITIAN

#### 2.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah produk teh hitam (SariWangi) serta kultur starter Kombucha yang diperoleh dari kultur Kombucha lokal di Bali (daerah Sukawati) dan telah dilakukan penentuan karakteristik mikroorganisme pada studi sebelumnya (Sukmawati, 2012).

#### 2.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pH meter (TOA ION Meter IM-40S) dan spektrofotometer UV-visibel (Shimadzu).

#### 2.3 Prosedur Penelitian

##### 2.3.1 Pengambilan Sampel

Kultur teh hitam Kombucha dibuat dengan menambahkan 20 mL kultur starter kombucha dan gula 5% (b/v) ke dalam larutan teh hitam.

Dilakukan pengumpulan data dari sampel yaitu pH, kadar fenolik total, dan aktivitas antioksidan. Data pH diperoleh dengan menggunakan pH meter elektronik, kadar fenolik total ditentukan dengan menggunakan metode Folin–Ciocalteu yang merujuk pada penelitian Jayabalan et al. (2008) dengan modifikasi pada jumlah sampel, pereaksi Folin–Ciocalteu dan natrium karbonat yang digunakan, dan uji aktivitas antioksidan ditentukan dengan menggunakan metode DPPH sesuai prosedur Yen and Chen (1995). Pada penentuan kadar fenolik total, sebanyak 40  $\mu$ L larutan sampel ditambahkan dengan 0,4 mL pereaksi Folin–Ciocalteu, didiamkan selama 5 menit, ditambahkan 4 mL natrium karbonat 7% dan aquadestilata hingga 10 mL, didiamkan selama 2 jam dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 760 nm. Untuk pengujian aktivitas antioksidan, sebanyak 1 mL larutan

DPPH ditambahkan 50  $\mu$ L larutan sampel, ditambahkan etanol p.a hingga 5 mL, didiamkan pada suhu kamar selama 30 menit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm.

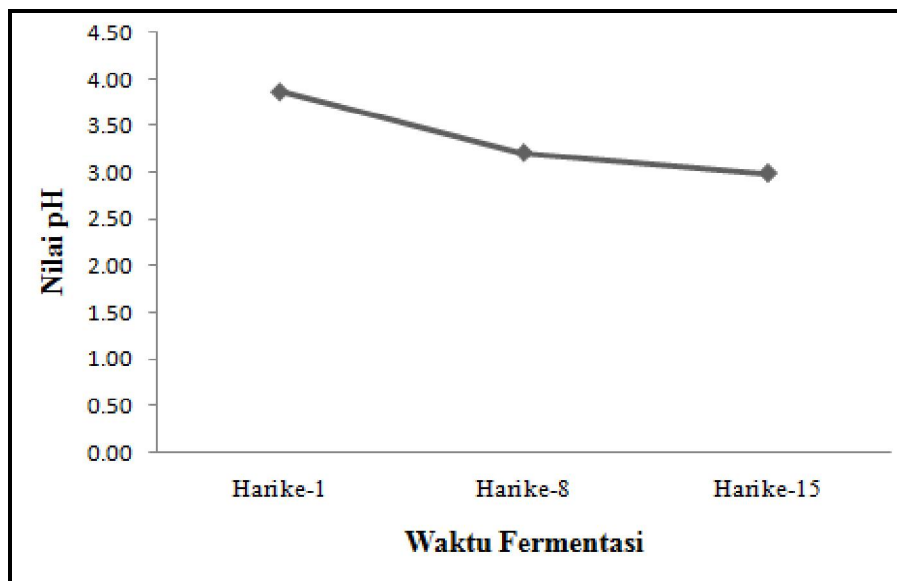
### 2.3.2 Analisis Data

Untuk mengetahui pengaruh waktu fermentasi terhadap nilai pH, kadar fenolik total dan aktivitas antioksidan dilakukan analisis data secara statistik dengan uji repeated ANOVA pada taraf kepercayaan 95%, dimana untuk pH dilanjutkan dengan uji Post Hoc Pairwise Comparisons.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1 Analisis pH

Teh hitam Kombucha lokal di Bali mengalami penurunan pH dengan bertambahnya waktu fermentasi (Gambar A.1).



Gambar A.1 Kurva pengaruh variasi waktu fermentasi terhadap nilai pH teh hitam Kombucha lokal di Bali. Data dinyatakan sebagai nilai rata-rata dengan  $n = 3$  sampel.

Berdasarkan hasil analisis statistik, teh hitam Kombucha lokal di Bali mengalami penurunan pH yang bermakna dengan bertambahnya waktu fermentasi. Penurunan nilai pH teh hitam Kombucha lokal di Bali disebabkan oleh penambahan substansi yang bersifat asam ke dalam teh dan mungkin disebabkan oleh peningkatan konsentrasi asam organik yang diproduksi oleh bakteri dan yeast dengan bertambahnya waktu fermentasi. Menurut Junior et al. (2009), selama awal proses fermentasi, penurunan pH disebabkan oleh bakteri dan yeast yang memetabolisme sukrosa menjadi asam organik. Tingginya kadar gula dalam larutan

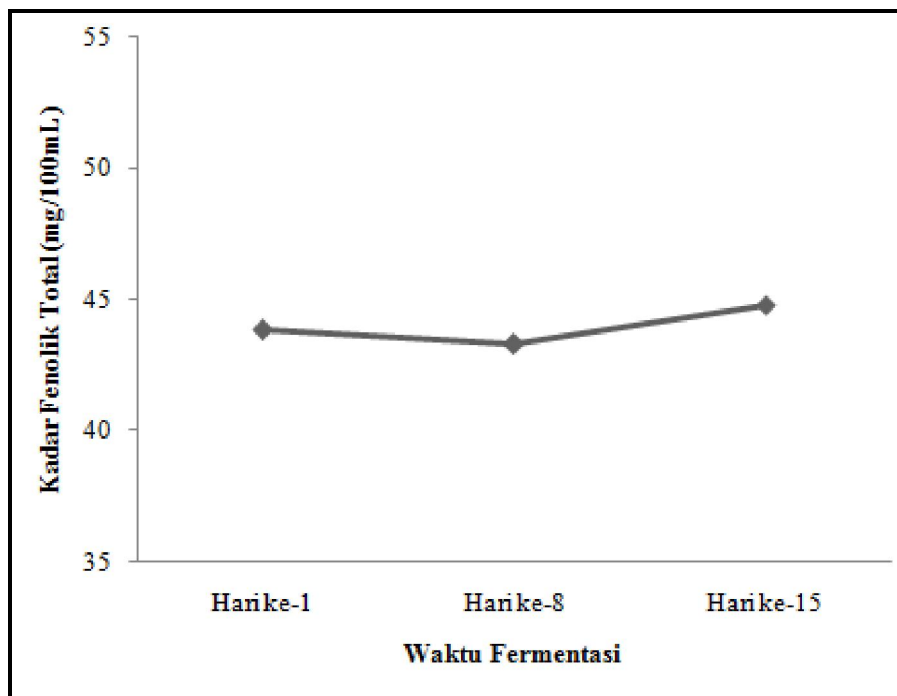
menyebabkan peningkatan aktivitas mikroorganisme dan produksi asam organik sehingga menurunkan pH larutan (Nainggolan, 2009).

### 3.2 Kadar Fenolik Total

Kadar fenolik total pada teh hitam Kombucha lokal di Bali mengalami penurunan pada waktu fermentasi hari ke-8 dibandingkan pada waktu fermentasi hari ke-1 dan meningkat pada waktu fermentasi hari ke-15 dibandingkan pada waktu fermentasi hari ke-8 (Gambar A.2) namun berdasarkan hasil analisis statistik, waktu

fermentasi tidak berpengaruh terhadap kadar

fenolik total teh hitam Kombucha lokal di Bali.

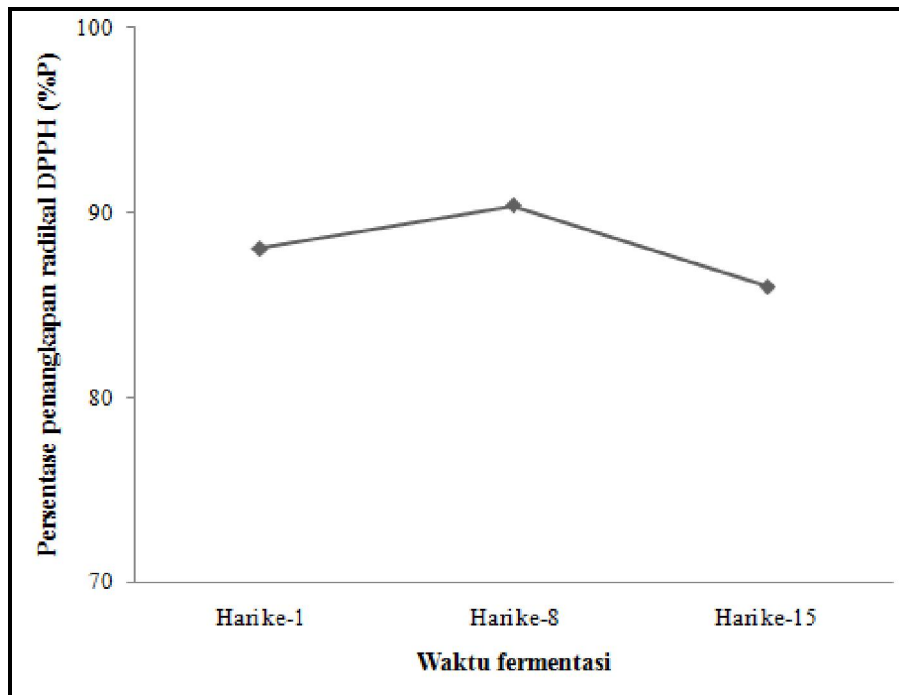


Gambar A.2 Kurva pengaruh variasi waktu fermentasi terhadap kadar fenolik total pada teh hitam Kombucha lokal di Bali. Data dinyatakan sebagai nilai rata-rata dengan  $n = 3$  sampel.

Perubahan kadar fenolik total pada teh hitam Kombucha lokal di Bali selama proses fermentasi menunjukkan pola yang hampir sama dengan pola yang dihasilkan dari penelitian Jayabalan et al. (2006). Berdasarkan penelitiannya, terdapat variasi stabilitas empat jenis isomer epikatekin selama fermentasi teh hitam Kombucha yaitu epigallocatekin galat, epikatekin galat, epigallocatekin dan epikatekin. Pada awal fermentasi semua jenis katekin mengalami degradasi dan meningkat pada hari ke-12 fermentasi. Peningkatan polifenol ini mungkin disebabkan oleh proses biotransformasi epigallocatekin galat menjadi epigallocatekin dan epikatekin galat menjadi epikatekin oleh enzim yang dihasilkan mikroorganisme dalam kultur Kombucha serta pelepasan katekin dari sel mikroorganisme yang sensitif terhadap asam.

### 3.3 Uji Aktivitas Antioksidan

Kemampuan menangkap radikal DPPH merupakan salah satu indikasi bahwa teh hitam Kombucha lokal di Bali memiliki aktivitas antioksidan. Besarnya kemampuan untuk menangkap radikal DPPH dinyatakan dalam persentase penangkapan radikal DPPH (%P). Selama proses fermentasi, teh hitam Kombucha lokal di Bali mengalami peningkatan persentase penangkapan radikal DPPH pada waktu fermentasi hari ke-1 hingga hari ke-8 dan mengalami penurunan persentase penangkapan radikal DPPH setelah hari ke-8 hingga hari ke-15 (Gambar A.3) namun berdasarkan hasil analisis statistik, waktu fermentasi tidak berpengaruh terhadap persentase penangkapan radikal DPPH teh hitam Kombucha lokal di Bali.



Gambar A.3 Kurva pengaruh variasi waktu fermentasi terhadap persentase penangkapan radikal DPPH (%P) pada teh hitam Kombucha lokal di Bali. Data dinyatakan sebagai nilai rata-rata dengan n = 3 sampel.

Pola aktivitas antioksidan pada teh hitam Kombucha lokal di Bali tidak menunjukkan korelasi dengan hasil pengujian kadar fenolik total. Hal ini mungkin disebabkan selama proses fermentasi terjadi degradasi kompleks polifenol menjadi molekul sederhana yang aktivitasnya rendah, namun tetap terdeteksi sebagai senyawa fenol sehingga hasil pengukuran tetap tinggi walaupun aktivitas antioksidannya menurun (Jayabalan et al., 2006; Chu and Chen, 2006). Selain itu, selama proses fermentasi terjadi peningkatan jumlah asam-asam organik karena aktivitas bakteri dan yeast. Suasana asam menyebabkan senyawa fenolik menjadi semakin stabil dan sulit melepaskan proton yang dapat berikatan dengan DPPH sehingga aktivitas antioksidannya menurun.

Penentuan teh hitam Kombucha lokal di Bali yang memberikan aktivitas antioksidan optimal didasarkan pada pH yang aman untuk dikonsumsi dan persentase penangkapan radikal DPPH. Berdasarkan data pada tabel B.1, teh hitam Kombucha lokal di Bali pada waktu fermentasi hari ke-1 menunjukkan aktivitas antioksidan yang optimal karena memiliki pH yang aman untuk dikonsumsi, waktu fermentasi yang cepat dan persentase penangkapan radikal DPPH yang tidak berbeda bermakna dengan teh hitam Kombucha lokal di Bali yang memberikan aktivitas antioksidan tertinggi (waktu fermentasi hari ke-8). Hasil pengujian pH, kadar fenolik total dan aktivitas antioksidan dapat dilihat pada tabel B.1.

Tabel B.1. Hasil Uji Ph, Kadar Fenolik Total dan Persentase Penangkapan Radikal DPPH (%P) Teh Hitam Kombucha Lokal di Bali

Waktu Fermentasi	Hasil Pengujian		
	pH ( $\bar{x} \pm SD$ )	Kadar Fenolik Total ( $\bar{x} \pm SD$ )	% P ( $\bar{x} \pm SD$ )
Hari ke-1	3,87 ± 0,02	43,84 ± 0,76	88,07 ± 1,80
Hari ke-8	3,21 ± 0,04	43,28 ± 3,19	90,39 ± 8,41
Hari ke-15	2,99 ± 0,02	44,78 ± 2,03	85,99 ± 1,05

Keterangan:  $\bar{x}$  = rata-rata dan SD = Standar Deviasi. Berdasarkan hasil analisis statistik, waktu fermentasi berpengaruh bermakna terhadap penurunan pH dan tidak berpengaruh bermakna terhadap kadar fenolik total dan aktivitas antioksidan teh hitam Kombucha lokal di Bali.

#### 4. KESIMPULAN

Berdasarkan data yang diperoleh, produk teh hitam Kombucha lokal di Bali pada waktu fermentasi hari ke-1 menunjukkan aktivitas antioksidan yang optimal karena dalam waktu fermentasi yang lebih singkat mampu memberikan persentase penangkapan radikal DPPH yang tidak berbeda bermakna dengan teh hitam Kombucha lokal di Bali yang memberikan aktivitas antioksidan tertinggi.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Kepada reviewer Ibu Ni Putu Ariantari, S.Farm., M.Farm., Apt., dan Ibu Ni Luh Putu Vidya Paramita, S.Farm., Apt.  
Kepada Universitas Udayana yang telah mendanai penelitian ini melalui program PNBP penelitian dosen muda tahun 2011.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Cabrera, C., R. G. Nez, and M. C. Loä Pez. (2003). Determination of Tea Components with Antioxidant Activity. *J. Agric. Food Chem.* 51: 4427-4435
- Chu, S. and C. Chen. (2006). Effects of Origin and Fermentation Time on the Antioxidant Activities of Kombucha. *Food Chem.* 98: 502-507.
- Dufresne, C. and E. Farnworth. (2000). Tea, Kombucha, and Health: a Review. *Food Research International.* 33: 409-421.
- Goh, W.N., A.Rosma, B. Kaur, A. Fazilah, A.A. Karim, and R. Bhat. (2012). Fermentation of Black Tea Broth (Kombucha): I. Effects of Sucrose Concentration and Fermentation Time on Yield of Microbial Cellulose. *International Food Reaserch Journal.* 19 (1): 109-117.
- Jayabalan, R., S. Marimuthu, and K. Swaminathan. (2006). Changes in Content of Organic Acids and Tea Polyphenol during Kombucha Tea Fermentation. *Food Chem.* 102: 392-398.
- Jayabalan, R., P. Subathradevi, S. Marimuthu, M. Sathishkumar and K. Swaminathan. (2008). Changes in Free-Radical Scavenging Ability of Kombucha Tea during Fermentation. *Food Chem.* 109: 227-234.
- Júnior, R.J.S., R.A. Batista, S.A. Rodrigues, L.X. Filho, and Á.S. Lima. (2009). Antimicrobial Activity of Broth Fermented with Kombucha Colonies. *J. Microbiol. Biochem. Technol.* 1 (1): 072-078.
- Nainggolan, J. (2009). Kajian Pertumbuhan Bakteri *Acetobacter* sp. Dalam Kombucha-Rosela Merah (*Hibiscus sabdariffa*) pada Kadar Gula dan Lama Fermentasi yang Berbeda (Tesis). Sekolah Pascasarjana-Universitas Sumatera Utara, Medan. hal. 58.
- Percival, M. (1998). Antioxidants. *Clinical Nutrition Insights.* 31. p. 1-4.
- Priyadarsini, K.I. (2005). Molecular Mechanisms Involving Freeradical Reactions of Antioxidants and Radioprotectors. *Founder's Day Special Issue.* hal. 1-6.
- Sukmawati, P.P.A. 2012. Penentuan Karakteristik Mikroorganisme serta Optimalisasi Waktu Fermentasi dan Konsentrasi Gula untuk Penetapan Aktivitas Antioksidan Teh Hitam Kombucha Lokal di Bali (Skripsi). Jurusan Farmasi-Fakultas MIPA-Universitas Udayana, Jimbaran.
- Teoh, A.L., G. Heard, and J. Cox. (2004). Yeast Ecology of Kombucha Fermentation. *International Journal of Food Microbiology.* 95: 119-126.
- Yen, G.C. and H.Y. Chen. (1995). Antioxidant Activity of Various Tea Extract in Relation to Their Antimutagenicity. *J. Agric. Food Chem.* 43: 27-32.