

# 1. PENDAHULUAN

## 1.1. Latar Belakang

Dewasa ini pengembangan pangan fungsional semakin berkembang, sehingga banyak dilakukan pengembangan pangan berbasis kesehatan. Daun teh dikenal sebagai tanaman herbal yang memiliki berbagai macam manfaat kesehatan. Seduhan daun teh yang telah diolah merupakan salah satu jenis minuman yang tinggi antioksidan. Jenis teh yang dihasilkan di Indonesia sangat beragam. Pada umumnya dikenal 2 jenis teh yaitu teh hitam dan teh hijau, namun sebenarnya terdapat berbagai jenis teh menurut proses pengolahannya. Berdasarkan proses pengolahannya secara garis besar terdapat 2 tipe yaitu teh dengan fermentasi yaitu teh hitam, semi-fermentasi yaitu teh oolong, teh tanpa fermentasi yaitu teh hijau, dan teh dengan proses khusus seperti teh putih. Proses pengolahan teh menentukan kandungan senyawa aktif didalamnya (Karori *et al*, 2007).

Indonesia merupakan negara penghasil teh terbesar ke 8 di dunia, namun konsumsi teh masyarakat Indonesia hanya 0,31 kg perkapita per tahun. Disisi lain produk teh yang dihasilkan oleh petani maupun perusahaan teh dengan kualitas premium diekspor keluar negeri dalam keadaan bulk bukan produk hilir sehingga harganya jauh lebih rendah. Maka perlu dilakukan inovasi baru untuk menarik minat masyarakat dan memberikan produk olahan teh yang baru untuk meningkatkan konsumsi teh. di Indonesia teh putih sendiri merupakan produk yang tergolong baru karena jarang diproduksi sehingga harganya menjadi cukup tinggi. Padahal teh putih memiliki banyak manfaat bagi kesehatan. (Winarno & Kristiono, 2016)

Salah satu manfaat dari teh putih adalah sifat antioksidan yang dapat mengatasi radikal bebas dalam tubuh. Radikal bebas diketahui menyebabkan beberapa gangguan pada kesehatan manusia seperti kanker, artherosclerosis, arthritis, ischemia, *Central Nervous System*(CNS) injury, gastritis, dementia, *renal disorders* and *Acquired Immune Deficiency Syndrome* (AIDS). Radikal bebas dapat berasal dari polusi lingkungan, radiasi, bahan kimia, racun, stress, dan oksidasi

selama proses metabolisme makanan dan obat (Karori *et al*, 2007). Senyawa Flavonoid merupakan senyawa dalam teh yang memiliki kemampuan antioksidan lebih tinggi dibandingkan dengan vitamin E dan C (Karori, Wachira, Wanyoko, & Ngure, 2007).

Kandungan antioksidan pada teh bergantung pada jenis teh dan cara pengolahannya. Salah satu hasil olahan teh yaitu kombucha atau teh kombu yang merupakan hasil fermentasi seduhan teh oleh *tea fungus* (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast/ Scoby*) (Dufresne & Farnworth, 2000). Kombucha memiliki beberapa manfaat kesehatan seperti sumber antimikrobia, sumber antioksidan, dan antikanker (Jayabalan *et al*, 2014). Jenis teh yang digunakan sebagai substrat kombucha umumnya adalah teh hitam. Penelitian-penelitian sebelumnya, ada beberapa upaya pengembangan kombucha dengan penggantian substrat selain teh hitam seperti coca-cola, susu, wine anggur, *white wine*, *acid whey*, dan masih banyak lagi (Malbasa, Loncar, & Canadanovic, 2011).

Selain substrat, gula juga berperan penting dalam mengoptimalkan proses fermentasi. Pada proses fermentasi mikroba dapat merobak sukrosa menjadi energi untuk pertumbuhan. Mikroba menggunakan gula dalam aktivitas metabolismenya untuk perkembangan sel dan untuk menghasilkan metabolitnya. Sehingga diduga gula akan mempengaruhi jumlah sel mikroba dalam proses fermentasi (Spreer, 1998).

Bakteri probiotik merupakan bakteri yang sengaja dikonsumsi untuk meningkatkan kesehatan. Bakteri ini biasanya merupakan jenis bakteri asam laktat yang bersifat tidak patogen. Mengonsumsi probiotik akan memberikan banyak manfaat kesehatan seperti : mengurangi racun dalam tubuh, memperbaiki komposisi mikroorganisme dalam usus, menghasilkan enzim laktase untuk membantu penderita intoleran terhadap laktosa (Yulinery, Yulianto, & Nurhidayat, 2006).

Perkembangan teknologi memunculkan pengembangan pangan dengan memodifikasi bahan makanan agar menambah nilai fungsionalnya sehingga dapat semakin meningkatkan kesehatan. Penelitian ini dimaksudkan untuk melakukan pengembangan minuman fermentasi kaya antioksidan dan memperkuat probiotik dari minuman kombucha. Dalam penelitian ini akan dilakukan analisa terhadap total flavonoid, aktivitas antioksidan, penurunan pH, pertumbuhan mikroorganisme selama proses fermentasi teh kombucha dengan penambahan BAL pada sumber karbon glukosa, fruktosa dan sukrosa. Parameter yang dibandingkan adalah aktivitas antioksidan, kestabilan kuarsetin, pH, total padatan sel, dan aktivitas probiotik.

## **1.2. Tinjauan Pustaka**

### **1.2.1. Teh putih**

Teh putih merupakan jenis teh yang jarang diproduksi karena memerlukan proses khusus dan hanya melibatkan bagian pucuk teh yang masih menggulung dan mengandung polifenol yang tinggi dibandingkan bagian teh yang lain. Teh putih memiliki bulu putih yang terdapat diseluruh permukaan daun yang masih menggulung yang menyebabkan warna silver ketika daun dikeringkan, namun ketika diseduh menghasilkan warna kuning pada larutan. Proses pengolahan teh putih meliputi pengukusan secara cepat kemudian dikeringkan, proses pengolahan ini menyebabkan kandungan polifenol pada teh putih tidak berubah (Karori *et al*, 2007)

Komposisi kimia dari teh sangat kompleks termasuk kandungan polifenol, alkaloid, asam amino, karbohidrat, protein, klorofil, komponen volatil, mineral. Polifenol merupakan senyawa bioaktif utama dalam teh (Karori *et al*, 2007). Senyawa polifenol terbesar yang ada didalam tumbuhan adalah flavonoid. Flavonoid terbagi menjadi beberapa subkategori yaitu flavonones, flavanones, flavonols, flavanols dan anthocyanins (Davies & Yanez, 2013). Berikut

perbandingan kandungan senyawa bioaktif pada teh putih, teh hitam dan teh hijau dapat dilihat pada Tabel dibawah ini:

Tabel 1. Komponen senyawa bioaktif dalam berbagai jenis teh

Komponen (% b/b)	Teh putih	Teh hijau	Teh oolong	Teh hitam
Total polifenol	21,54	19,18	17,6	16,5
Total katekin	13,22	12,95	10,3	4,2
Kafein	4,85	3,4	3,7	3,5

(Winarno. 2016).

### 1.2.2. Kombucha

Kombucha merupakan minuman yang memiliki nilai fungsional yang tinggi karena bersifat menurunkan tekanan darah bagi penderita hipertensi, meningkatkan daya tahan tubuh, memperbaiki komposisi mikroflora usus, antioksidan dan antibakteri. Kombucha mengandung komposisi nutrisi seperti asam organik, mineral, enzim, dan vitamin (Wistiana & Zubaidah, 2015). Kombucha dibuat dengan menginkulasikan *tea fungus* pada larutan teh manis kemudian difermentasi selama 10-14 hari (Jayabalan *et al*, 2014).

*Tea fungus* bukanlah sejenis jamur tetapi merupakan selulosa yang terbentuk dari simbiosis bakteri dan khamis atau *scooby* (*simbiotic culture of bacteriy and yeast*). Bakteri yang terbesar yang berada dalam *tea fungus* adalah jenis bakteri asam asetat diantaranya *A. xylium*, *A. pasteurianus*, *A.aceti*, dan *Gluconobacter oxydans*(Liu *et al.*,1996 dalam (Jayabalan *et al*, 2014). Sedangkan khamir yang terdapat dalam *tea fungus* antara lain *Saccharomyces*, *Saccharomycodes*, *Schizosaccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Brettanomyces/Dekkera*, *Candida*, *Torulospora*, *Koleckera*, *Pichia*, *Mycotorula*, dan *Mycoderma*(Jayabalan *et al*, 2014).

Selama proses fermentasi berlangsung terjadi simbiosis antar mikroorganisme dalam kultur kombucha yaitu *Acetobacter xylinum* dengan beberapa jenis khamir

seperti *Brettanomyces*, *Zygosaccharomyces*, dan *Saccharomyces*. Selama proses bakteri dan khamir sama – sama menggunakan substrat untuk menghasilkan metabolit seperti asam organik khususnya asam asetat, asam glukonat, etanol dan sebagian kecil asam laktat, asam fenolat, vitamin B, dan enzim. Selain itu selama proses fermentasi terjadi peningkatan aktivitas antioksidan dikarenakan terjadi peningkatan pelepasan fenolik bebas (Suhardini & Zubaidah, 2016).

Menurut penelitian sebelumnya kadar gula terbaik yang ditambahkan pada fermentasi kombucha adalah 10% (b/v) karena dapat memproduksi asam asetat yang tertinggi. Hal ini disebabkan jumlah enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme sebanding dengan jumlah substrat yang dibutuhkan sehingga laju pembentukan asam asetat menjadi optimal. Suhu inkubasi mempengaruhi laju pembentukan asam asetat. Jika suhu terlalu rendah maka pembentukan asam akan melambat akibat energi aktivasi yang dibutuhkan semakin besar, sebaliknya jika suhu terlalu tinggi maka enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme menjadi inaktif. Pertumbuhan dan metabolisme bakteri asam asetat optimal pada suhu 30°C (Aditiwat & Kusnadi, 2003).

Pembuatan kombucha juga sangat mudah yaitu hanya melakukan inkubasi dalam wadah berbahan kaca dan ditutup dengan kain secara rapat, setelah itu disimpan dalam suhu ruang selama 14 hari. Suhu inkubasi mempengaruhi laju pembentukan asam asetat. Jika suhu terlalu rendah maka pembentukan asam akan melambat akibat energi aktivasi yang dibutuhkan semakin besar, sebaliknya jika suhu terlalu tinggi maka enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme menjadi inaktif. Pertumbuhan dan metabolisme bakteri asam asetat optimal pada suhu 30°C (Aditiwat & Kusnadi, 2003).

Untuk membuat kombucha diperlukan kultur starter yang sering disebut *tea fungus*. *Tea fungus* bukanlah sejenis jamur tetapi merupakan selulosa yang terbentuk dari simbiosis bakteri dan khamis atau *scooby* (*symbiotic culture of bacteria and yeast*). Kultur kombucha sendiri sebenarnya terdiri dari 2 bagian yaitu

selulosa berbentuk nata, dan cairan asam yang berisi kultur bakteri atau sering disebut kombucha *broth* (Battikh *et al*, 2011).

### 1.2.3. Senyawa Antioksidan

Komponen utama dari teh putih adalah air, polifenol, enzim dan asam amino. Polifenol pada teh terdiri dari flavanol, flavandiols, flavonoid, dan asam fenolat (Tang Ho, Kun Lin, & Shahidi, 2009). Flavonoid terbagi menjadi beberapa subkategori yaitu flavonones, flavanones, flavonols, flavanols dan anthocyanins (Davies & Yanez, 2013). Sub kategori flavones dan flavanols (katekin) yang memiliki kemampuan terbesar untuk melindungi tubuh dari oksigen reaktif, sedangkan flavanol (kuersetin, kaempferol, morin, myricetin dan rutin) berperan dalam melindungi tubuh dari radikal bebas dengan berperan sebagai *free radical scavengers*. Kuersetin diketahui memiliki aktivitas penangkapan antioksidan terbesar setelah myricetin (Tapas, Sakarkar, & Kakde, 2008).

Kuersetin dapat ditemukan pada tanaman herbal salah satunya pada teh hijau yaitu sebanyak 255.55 ml/100 g dan 204.66 mg/100 g pada teh hitam. Kuersetin memiliki manfaat kesehatan yaitu sebagai anti-inflamatory, antihistamin, antikanker, mentasbilkan membran sel, menghambat penuaan pada kulit dan efek positif pada peredaran darah. Dosis konsumsi kuersetin dalam asupan pangan dalam satu hari yaitu sebanyak 4-68 mg. Kuersetin pada sampel cair dapat diekstraksi menggunakan metanol, etanol atau campuran keduanya dengan air. Penentuan jumlah kuersetin dapat dilakukan dengan pengukuran menggunakan *HPLC photometric UV detectors* pada panjang gelombang 360–370 nm, dengan sensitifitas 0.01–0.5 µg/mL (Dmitrienko, Kudrinskaya, & Apyari, 2012).

Selama proses fermentasi, metabolisme mikroorganisme dalam kultur kombucha akan meningkatkan senyawa fenol karena adanya biotransformasi polifenol oleh enzim yang dihasilkan oleh kultur kombucha. Sehingga semakin lama fermentasi

maka aktivitas antioksidan akan semakin meningkat. Khamir dalam kultur kombucha mampu menghasilkan enzim *vinyl phenol reductase* dan enzim *ferulic acid reductase* yang menstimulasi reaksi dekarboksilasi dari asam sinamat dan firulat membentuk fenol. Asam sinamat terdapat secara alami pada tumbuhan sedangkan asam firulat merupakan turunan dari kelompok asam hidroksi sinamat yang terdapat di dalam dinding sel tanaman. Kedua senyawa ini juga memiliki sifat antioksidan. Namun menurut penelitian setelah fermentasi selama 14 hari aktivitas antioksidan mengalami penurunan dikarenakan suasanya yang terlalu asam menyebabkan senyawa fenolik menjadi semakin stabil sehingga tidak dapat lagi mendonorkan proton pada radikal bebas (Suhardini & Zubaidah, 2016).

Antioksidan yang dihasilkan dari fermentasi kombucha merupakan hasil metabolit sekunder karena senyawa fenol bebas dihasilkan atau terbentuk selama fermentasi pada fase stasioner. Selain fenol bebas dihasilkan juga metabolit sekunder lainnya yang yaitu polifenol akibat substrat mulai habis dan akan merangsang terbentuknya enzim-enzim yang menstimulasi pembentukan metabolit sekunder (Suhardini & Zubaidah, 2016).

Polifenol dan flavonoid pada teh mengalami peningkatan secara progresif selama proses fermentasi. Peningkatan ini dikarenakan adanya degradasi polifenol dan flavonoid kompleks pada teh menjadi molekul yang lebih sederhana oleh enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme. Mikroorganisme dari genus *Candida* diketahui memiliki kemampuan untuk mendegradasi polifenol dan flavonoid (Chakravorty *et al.*, 2016).

#### **1.2.4. Bakteri Asam Laktat**

Bakteri asam laktat dapat ditemukan pada kultur Kombucha hanya saja hanya terdapat dalam jumlah yang kecil, dan bukan merupakan utama dalam proses simbiosis dalam *tea fungus*. Namun pada penelitian sebelumnya diketahui terdapat simbiosis antara bakteri asam laktat dengan bakteri asam asetat.

Simbiosis bakteri asam laktat dan bakteri asam asetat dalam kultur kombucha meningkatkan produksi D-saccharic acid 1,4 lactone (DSL).

Bakteri asam laktat dapat meningkatkan pertumbuhan bakteri asam asetat dan mengoptimalkan fungsi kultur campuran kombucha. Sedangkan vitamin B kompleks yang disekresikan oleh bakteri asam asetat mengoptimalkan kondisi lingkungan pertumbuhan bakteri asam laktat (Nguyen *et al*, 2014). Selama proses fermentasi bakteri asam laktat akan memanfaatkan zat padat yang terdapat didalam kombucha sebagai sumber nutrisi seperti gula, asam-asam organik dan kafein. Pertumbuhan bakteri asam laktat akan menurun jika kandungan gula dalam larutan habis dan terbentuknya alkohol (Wistiana & Zubaidah, 2015).

Kombinasi *Lactobacillus* spp. dengan bakteri asam asetat dari kombucha meningkatkan konsentrasi D-saccharic acid 1,4 lactone (DSL) yang menentukan tingkat asam glukoronat yang dihasilkan pada jalur glukoronat. Hal ini menjelaskan penurunan pH pada larutan kombucha (Nguyen *et al*, 2015). Penelitian sebelumnya diketahui bahwa penambahan BAL juga dapat meningkatkan aktivitas antioksidan dibandingkan dengan aktivitas antioksidan pada kultur kombucha tanpa penambahan BAL. pengujian dilakukan dengan menambahkan oxidant 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), sehingga aktivitas antioksidan tergantung pada kemampuan memberikan ion hidrogen. Hal ini dikarenakan pembentukan vitamin C, vitamin B dan DSL lebih tinggi pada penambahan BAL pada kultur kombucha. Vitamin C dikenal sebagai antioksidan alami pada makanan (Nguyen *et al*, 2014).

#### **1.2.5. Kemampuan Probiotik**

Bakteri probiotik adalah golongan bakteri yang tidak bersifat patogen dan memberikan manfaat kesehatan bila dikonsumsi. Bakteri ini mengurangi racun yang dihasilkan selama metabolisme lemak dan protein, atau pada pemecahan enzim didalam tubuh. Selama berada didalam pencernaan manusia bakteri ini menghasilkan beberapa enzim diantaranya laktase yang berfungsi untuk memecah



laktosa sehingga membantu penderita intoleransi terhadap laktosa, dan enzim *bile salt hydrolase* yang membantu menurunkan kolesterol (Yulinery, Yulianto, & Nurhidayat, 2006).

Menurut penelitian sebelumnya diketahui bahwa *Lactobacillus* merupakan salah satu bakteri yang bersifat probiotik yang mampu bertahan pada pH rendah, garam empedu, dan menghasilkan asam-asam organik yang dapat menurunkan kolesterol (Yulinery, Yulianto, & Nurhidayat, 2006).

#### **1.2.6. Gula**

Sukrosa atau yang lebih dikenal sebagai gula tebu merupakan jenis karbohidrat yang tergolong pada kelompok disakarida. Sukrosa memiliki rasa yang paling manis dibandingkan dengan jenis disakarida lainnya. Ketika sukrosa dihidrolisis maka akan dihasilkan dua molekul monosakarida. Monosakarida hasil dihidrolisis sukrosa diantaranya glukosa dan fruktosa (De Man, 1997; Sastrohamidjo, 2005).

Pada proses fermentasi mikroba dapat merobak sukrosa menjadi energi untuk pertumbuhan. Sukrosa merupakan salah satu sumber karbon yang berperan penting dalam pertumbuhan mikroba selama proses fermentasi. Mikroba menggunakan sukrosa dalam aktivitas metabolismenya untuk perkembangan sel dan untuk menghasilkan metabolitnya. Maka gula akan mempengaruhi jumlah sel mikroba dalam proses fermentasi (Spreer, 1998). Selama proses fermentasi mikroba akan menghidrolisis sukrosa menggunakan enzim invertase menjadi glukosa dan fruktosa (De Man, 1997).

Glukosa adalah karbohidrat yang paling sederhana atau merupakan jenis monosakarida. Glukosa tidak dapat lagi dihidrolisa (Murray R,K, 2003). Fruktosa juga merupakan monosakarida yang tidak dapat dihidrolisa. Perbedaan antara glukosa dan fruktosa terletak pada susunan atom – atom molekulnya. Fruktosa dalam bebas didominasi dalam bentuk piranosa, sedangkan dalam didominasi dalam bentuk furanosa. Furanosa dalam merupakan senyawa yang terikat sebagai

sakrosa dan inulin. Fruktosa merupakan monosakarida yang paling manis, dikenal sebagai gula buah (Tarigan, 1983).

### **1.2.7. Metode Pemodelan Matematika**

Model matematika merupakan suatu alat yang dapat digunakan untuk menjelaskan karakteristik suatu fenomena dalam bentuk ekspresi matematika. Ekspresi matematika dapat berupa suatu persamaan, sistem persamaan maupun fungsi atau relasi. Dalam pembuatan model matematika dilakukan pendekatan didasarkan pada eksperimen terhadap fenomena yang ingin dimodelkan. Model matematika dibedakan menjadi model statistik, model deterministik, dan model probabilistik atau model stokastik. Model statistik dapat berupa fungsi matematika dengan satu variabel atau lebih. Fungsi berasal dari analisa statistik yang menggambarkan hubungan antar variabel. Model ini menunjukkan kecenderungan hubungan antar variabel yang diteliti, namun dimungkinkan adanya penyimpangan secara statistika.

Pemodelan matematika adalah proses menurunkan suatu model matematika dari suatu fenomena berdasarkan beberapa asumsi yang digunakan, meliputi 3 langkah yaitu :

- 1 . Pemodelan matematika suatu fenomena, perumusan masalah.
- 2 . Pencarian solusi/ kesimpulan matematika.
- 3 . Interpretasi sulosi.

(Cahyono, 2013).

### **1.3. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh jenis gula terhadap aktivitas antioksidan dari fermentasi kombucha dengan adanya penambahan Bakteri Asam Laktat ditinjau dari aktivitas antioksidan, kestabilan antioksidan selama proses fermentasi, dan kemampuan probiotik yang dihasilkan.