

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Pengaruh Lama Fermentasi terhadap pH Medium Kombucha (Teh, Kopi, Rosela)

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis statistik tentang pH pada fermentasi medium kombucha (teh, kopi, rosela), diketahui bahwa $F_{hitung} > F_{tabel}$ (0,05/0,01). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata pada perlakuan, yakni ada pengaruh jenis medium dan lama fermentasi terhadap penurunan nilai pH medium kombucha (teh, kopi, rosela). Semakin lama waktu fermentasi yang dilakukan maka semakin rendah nilai pH pada medium kombucha (teh, kopi, rosela) sebagaimana yang tercantum pada tabel 4.1

Tabel 4.1 Hasil Analisis 2 Faktor tentang Pengaruh Lama Fermentasi dan Jenis Medium terhadap Nilai pH Medium Kombucha (Teh, Kopi, Rosela)

SK	db	JK	KT	F Hitung	F TAB 0,05	F TAB 0,01
ULANGAN	2	0,00044	0,000222	0,15730	3,34	5,45
PERLAKUAN	14	40,43911	2,888508	2044,674**	2,06	2,80
JENIS MEDIUM (J)	2	14,71244	7,356222	5207,213**	3,34	5,45
LAMA FERMENTASI (L)	4	18,25244	4,563111	3230,067**	2,71	4,07
JL	8	7,47422	0,934278	661,343**	2,29	3,23
GALAT	28	0,03956	0,001413			
TOTAL	44	40,47911				

** : Berbeda sangat nyata

Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji jarak Duncan (UJD). Berdasarkan uji dari rata-rata perubahan nilai pH selama fermentasi, diperoleh notasi seperti pada tabel 4.2. Berdasarkan tabel tersebut, diketahui bahwa terjadi penurunan nilai pH yang sangat berbeda nyata pada perlakuan dengan lama fermentasi selama 12 hari, tetapi penurunan pH terbesar

terjadi pada medium kombucha kopi (6,7-3,7), sedangkan penurunan terkecil terjadi pada medium kombucha Rosela (3,5-3,2).

Tabel 4.2 Hasil Analisis UJD (0,05) tentang Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Nilai pH Medium Kombucha (Teh, Kopi, Rosela)

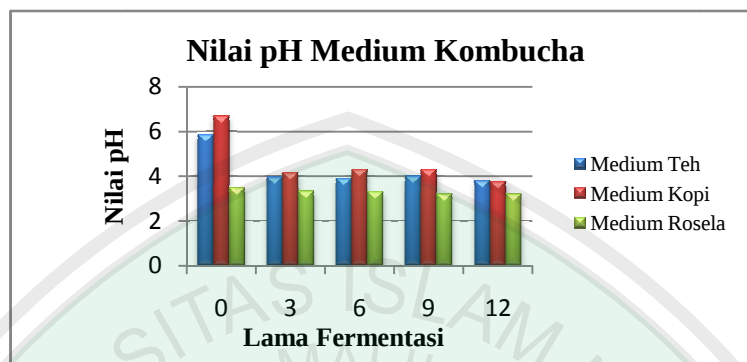
Perlakuan		pH Medium	Notasi UJD (0,05)
Jenis medium	Lama Fermentasi		
Kombucha Rosela	9	3,2	a
Kombucha Rosela	12	3,2	a
Kombucha Rosela	6	3,3	b
Kombucha Rosela	3	3,33	b
Kombucha Rosela	0	3,46	c
Kombucha Kopi	12	3,76	d
Kombucha Teh	12	3,8	d
Kombucha Teh	6	3,9	e
Kombucha Teh	3	3,96	f
Kombucha Teh	9	4	f
Kombucha Kopi	3	4,1	g
Kombucha Kopi	6	4,3	h
Kombucha Kopi	9	4,3	h
Kombucha Teh	0	5,86	i
Kombucha Kopi	0	6,7	j

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom notasi dibawahnya, maka tidak berbeda nyata berdasarkan uji Jarak Duncan 5%

Tabel 4.2 menunjukkan bahwa perlakuan jenis medium kombucha mempunyai pengaruh yang berbeda sangat nyata pada penurunan nilai pH. Rosela mempunyai tingkat penurunan nilai pH yang rendah, hal ini karena rosela sebelum perlakuan mempunyai nilai pH yang paling rendah diantara ketiga jenis medium, hal ini disebabkan karena adanya asam-asam buah seperti asam sitrat, asam malat dan asam askorbat yang terkandung didalamnya.

Semakin lama waktu fermentasi, maka pH medium kombucha semakin menurun. Hal ini disebabkan adanya akumulasi zat asam dan peningkatan jumlah proton H^+ sebagai hasil dari metabolisme bakteri dan khamir yang ada dalam medium. Lama waktu fermentasi medium kombucha akan diikuti dengan

penurunan pH medium, hal ini dapat dilihat dari gambar diagram 4.1 tentang penurunan pH kombucha pada waktu fermentasi yang lebih lama.



Gambar 4.1. Diagram Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Nilai pH Medium Kombucha (Teh, Kopi, Rosela)

Menurut Tranggono (1986), pada umumnya semakin meningkatnya kandungan asam suatu bahan maka nilai pH akan semakin turun. Penurunan pH minuman kombucha diduga disebabkan oleh peningkatan konsentrasi zat-zat asam selama proses fermentasi. Zat asam yang terlarut akan melepaskan proton yang menyebabkan penurunan pH. Sreeramulu *et. al.*, (2000) menyatakan bahwa penurunan pH terjadi karena selama proses fermentasi khamir dan bakteri mensintesis sukrosa menjadi asam-asam organik, seperti asam asetat dan asam glukonat dan beberapa asam organik lainnya, sehingga dengan peningkatan konsentrasi asam-asam organik tersebut mengakibatkan penurunan pH pada medium fermentasi.

4.1.2 Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Ketebalan Nata Medium Kombucha (Teh, Kopi, Rosela)

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis statistik tentang analisis ketebalan nata pada fermentasi medium kombucha (teh, kopi, rosela), diperoleh data yang menunjukkan bahwa $F_{hitung} > F_{tabel}$ (0,05/0,01). Hal ini

menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata pada perlakuan, yakni ada pengaruh jenis medium dan lama fermentasi terhadap peningkatan ketebalan nata medium kombucha (teh, kopi, rosela). Semakin lama waktu fermentasi, maka semakin besar ketebalan nata pada medium kombucha (teh, kopi, rosela) sebagaimana yang tercantum pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil Analisis 2 Faktor tentang Pengaruh Lama Fermentasi dan Jenis Medium terhadap Ketebalan Nata Medium Kombucha (Teh, Kopi, Rosela)

SK	db	JK	KT	F Hitung	F TAB 0,05	F TAB 0,01
ULANGAN	2	0,01378	0,00689	0,38104	3,34	5,45
PERLAKUAN	14	91,67111	6,54794	362,17735**	2,06	2,80
JENIS MEDIUM (J)	2	0,59244	0,29622	16,38454**	3,34	5,45
LAMA FERMENTASI (L)	4	87,3400	21,83500	1207,73050**	2,71	4,07
JL	8	3,73867	0,46733	25,84899**	2,29	3,23
GALAT	28	0,50622	0,01808			
TOTAL	44	92,19111				

** : Berbeda sangat nyata

Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji jarak Duncan (UJD). Berdasarkan uji dari rata-rata peningkatan ketebalan nata yang terjadi selama fermentasi, maka diperoleh notasi seperti pada tabel 4.4. Berdasarkan tabel tersebut, diketahui bahwa terjadi peningkatan ketebalan nata. Perubahan terbesar pada peningkatan ketebalan nata terjadi pada kombucha dengan medium teh (1,8mm – 4,2mm) dan kopi (2mm – 4,2mm), sedangkan perubahan terkecil terjadi pada kombucha dengan medium Rosela (0,8mm – 4,06mm). Rendahnya peningkatan ketebalan nata pada kombucha rosela disebabkan karena pH awal rosela yang rendah. Hal ini terjadi karena aktifitas enzim-enzim yang dihasilkan oleh bakteri *Acetobacter xylinum* bekerja optimum pada pH 4-5 (Aditiwati dan Kusnadi, 2003).

Ketebalan nata pada medium kombucha selama waktu fermentasi akan semakin tinggi, hal ini disebabkan karena selama proses fermentasi, terdapat pemecahan zat gula menjadi komponen yang lebih sederhana yaitu glukosa, fruktosa serta terbentuknya komponen ikatan karbon pembentuk selulosa, sehingga pada rentang lama waktu fermentasi, terdapat akumulasi hasil fermentasi gula secara terus-menerus.

Tabel 4.4 Hasil Analisis UJD (0,05) tentang Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Ketebalan Nata Medium Kombucha (Teh, Kopi, Rosela)

Perlakuan		Ketebalan Nata (mm)	Notasi
Jenis Medium	Lama Fermentasi		
Kombucha Teh	0	0	a
Kombucha Kopi	0	0	a
Kombucha Rosela	0	0	a
Kombucha Rosela	3	0,8	b
Kombucha Teh	3	1,83	c
Kombucha Kopi	3	2	d
Kombucha Kopi	6	2,23	d
Kombucha Kopi	9	2,43	de
Kombucha Rosela	6	2,77	e
Kombucha Teh	6	2,83	f
Kombucha Rosela	9	3,17	f
Kombucha Teh	9	3,2	f
Kombucha Rosela	12	4,07	g
Kombucha Teh	12	4,17	h
Kombucha Kopi	12	4,17	h

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom notasi dibawahnya, maka tidak berbeda nyata berdasarkan uji Jarak Duncan 5%

Terakumulasinya selulosa ini yang akan mengakibatkan tebalnya lapisan nata yang terbentuk. Hasil uji pada ketebalan nata yang dilakukan menunjukkan bahwa ketebalan nata terendah terjadi pada jenis medium rosela (4,0667). Hal ini diduga karena bakteri *Acetobacter xylinum* yang berperan sebagai pensintesis selulosa mempunyai kepekaan terhadap zat-zat yang terkandung dalam rosela,

sehingga menyebabkan kemampuannya dalam mensintesis selulosa akan terhambat.

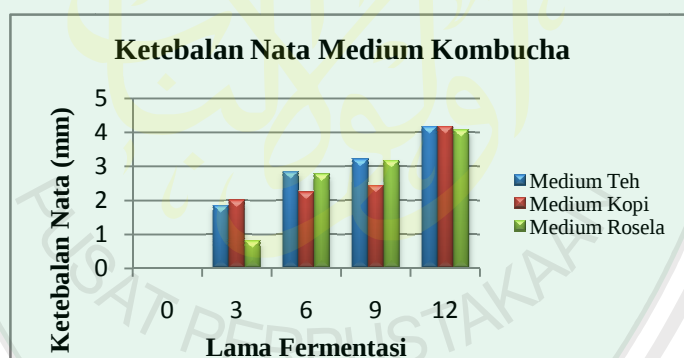
Gula dalam kombucha juga dapat dimanfaatkan sebagai sumber karbon bagi pertumbuhan *Acetobacter xylinum* sehingga dapat terbentuk selulosa. Menurut Tonouchi (1996) dalam Arifiansyah (2000), biosintesa selulosa oleh *Acetobacter xylinum* terjadi setelah dirubahnya sumber gula dalam bentuk lain (maltosa, sukrosa, sorbitol dan lain-lain) menjadi bentuk glukosa dan fruktosa. Oleh karena itu pembentukan nata terjadi dengan adanya sukrosa sebagai sumber gula yang terlebih dahulu dirubah menjadi glukosa dan fruktosa dibantu dengan kondisi asam media fermentasi.

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

Selama proses fermentasi gula berfungsi sebagai sumber karbon yang akan menstimulasi pertumbuhan *Acetobacter xylinum* sehingga mempercepat proses pembentukan selulosa. Williems dan Wimpeny (1977) menyatakan bahwa prosentase gula dalam medium fermentasi kombucha dapat meningkatkan jumlah selulosa yang terbentuk. Semakin tinggi jumlah selulosa maka akan menyebabkan ketebalan nata semakin meningkat, tetapi menurut Maria (2007), makin tingginya konsentrasi gula yang ditambahkan diatas titik optimum dapat menyebabkan

ketebalan nata semakin menurun. Aditiwati dan Kusnadi (2003) menambahkan bahwa penambahan kadar sukrosa diatas titik optimum menyebabkan konsentrasi substrat dalam medium berlebih, sehingga diawal produksi asam asetat akan meningkat dan menyebabkan penghambatan balik terhadap proses enzimatik, hal ini akan menyebabkan produksi asam asetat terhambat.

Semakin lamanya waktu fermentasi, maka ketebalan nata semakin meningkat. Hal ini terjadi karena adanya aktivitas bakteri *Acetobacter xylinum* yang mensintesis glukosa menjadi polisakarida (selulosa) seperti pada gambar diagram (4.2). Perbedaan nilai ketebalan nata pada medium diduga karena mikroba mempunyai tingkat kepekaan yang berbeda-beda pada zat-zat yang terkandung pada tiap-tiap jenis medium.



Gambar 4.2. Diagram Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Ketebalan Nata Medium Kombucha (Teh, Kopi, Rosela)

4.1.3 Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Total Asam Medium Kombucha (Teh, Kopi, Rosela)

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis total asam pada fermentasi medium kombucha (teh, kopi, rosela), diketahui bahwa $F_{hitung} > F_{tabel}$ (0,05/0,01). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata pada perlakuan (lama fermentasi), yakni ada pengaruh lama fermentasi terhadap total

asam medium kombucha (teh, kopi, rosela). Semakin lama waktu fermentasi yang dilakukan maka semakin besar total asam pada medium kombucha (teh, kopi, rosela), tetapi pada perlakuan perbedaan jenis medium (teh, kopi, rosela) $F_{hitung} < F_{tabel}$. Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh jenis medium terhadap nilai total asam yang dihasilkan pada fermentasi medium kombucha (teh, kopi, rosela) sebagaimana yang tercantum pada tabel 4.5.

Tabel 4.5 Hasil Analisis 2 Faktor tentang Pengaruh Lama Fermentasi dan Jenis Medium terhadap Total Asam Medium Kombucha (Teh, Kopi, Rosela)

SK	db	JK	KT	F Hitung	F TAB 0,05	F TAB 0,01
ULANGAN	2	0,00852	0,00426	0,99091	3,34	5,45
PERLAKUAN	14	4,71615	0,33687	78,326**	2,06	2,80
JENIS MEDIUM (J)	2	0,01091	0,00545	1,26797	3,34	5,45
LAMA FERMENTASI (L)	4	4,67939	1,16985	272,004**	2,71	4,07
JL	8	0,02586	0,00323	0,75148	2,29	3,23
GALAT	28	0,12042	0,00430			
TOTAL	44	4,84510				

** : Berbeda sangat nyata

Peningkatan total asam kombucha terus terjadi sampai pengamatan hari ke-12. Hal ini diduga karena dengan semakin lamanya waktu fermentasi, proses pemecahan gula semakin meningkat, sehingga konsentrasi asam asetat menjadi semakin tinggi. Porzio, (2001) menyatakan bahwa semakin tinggi asam organik yang terdapat dalam kombucha maka semakin tinggi pula total asamnya. Hal ini disebabkan oleh semakin lamanya waktu fermentasi, maka akan semakin banyak asam asetat yang terbentuk sebagai hasil metabolisme *Acetobacter xylinum*. Semakin lama fermentasi, maka hasil fermentasi akan semakin asam.

Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji jarak Duncan (UJD). Berdasarkan uji dari rata-rata perubahan total asam yang terjadi selama fermentasi, maka diperoleh notasi seperti pada tabel 4.6.

Berdasarkan tabel tersebut, diketahui bahwa terjadi peningkatan total asam pada perlakuan dengan lama fermentasi 3-12 hari, tetapi perubahan terbesar pada kenaikan total asam, terjadi pada kombucha dengan medium kopi (0,16 – 1,03), sedangkan perubahan terkecil terjadi pada kombucha dengan medium teh (0,193 – 0,996).

Tabel 4.6 Hasil Analisis UJD (0,05) tentang Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Total Asam Medium Kombucha (Teh, Kopi, Rosela)

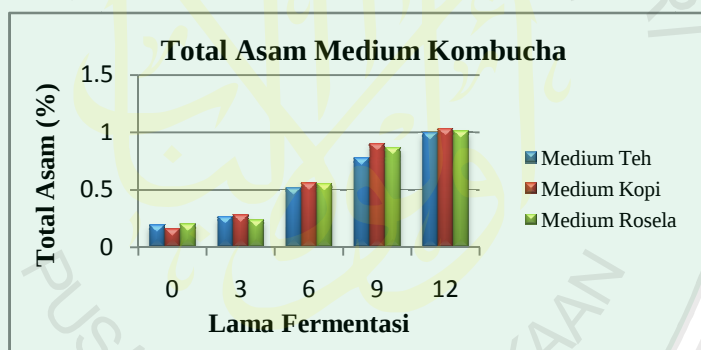
Perlakuan		Total Asam Medium (%)	Notasi
Jenis Medium	Lama Fermentasi		
Kombucha Teh	0	0,19	a
Kombucha Kopi	0	0,16	a
Kombucha Rosela	0	0,21	a
Kombucha Rosela	3	0,24	a
Kombucha Teh	3	0,27	ab
Kombucha Kopi	3	0,28	abc
Kombucha Teh	6	0,52	abc
Kombucha Rosela	6	0,55	abcd
Kombucha Kopi	6	0,56	bcde
Kombucha Teh	9	0,77	cdef
Kombucha Rosela	9	0,87	def
Kombucha Kopi	9	0,90	efg
Kombucha Teh	12	0,99	efg
Kombucha Rosela	12	1,01	fg
Kombucha Kopi	12	1,03	g

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom notasi dibawahnya, maka tidak berbeda nyata berdasarkan uji Jarak Duncan 5%

Peningkatan asam yang semakin tinggi diduga karena bakteri dalam kombucha telah mengalami fase pertumbuhan logaritmik, bersamaan dengan itu bakteri yang mensintesis alkohol menjadi asam semakin banyak sehingga total asam yang dihasilkan juga semakin tinggi. Greenwalt *et. al.*, (1998) menyatakan bahwa selama proses fermentasi kombucha, khamir memecah gula (sukrosa) menjadi glukosa dan fruktosa, dan menggunakan glukosa untuk metabolisme sel sehingga menghasilkan etanol dan karbondoksida. Etanol selanjutnya akan

dioksidasi oleh bakteri asam asetat menjadi asetildehid yang kemudian diubah menjadi asam asetat. Sehingga dengan waktu fermentasi yang lebih lama, akan terjadi peningkatan total asam dalam medium kombucha seperti pada gambar diagram 4.3.

Sreeramulu *et. al.*, (2000) menyatakan bahwa selama proses fermentasi, khamir dan bakteri melakukan metabolisme sukrosa, menghasilkan asam-asam organik seperti asam asetat dan asam glukonat, sehingga konsentrasi asam asetat kombucha akan semakin meningkat jika waktu fermentasinya semakin lama. Asam asetat yang terlarut akan terdisosiasi untuk melepaskan proton-proton bebas yang menurunkan pH larutan (Naidu, 2000).



Gambar 4.3. Diagram Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Total Asam Medium Kombucha (Teh, Kopi, Rosela)

Ketchum (1998) menambahkan bahwa asam akan memberi rasa masam pada larutan dengan melepaskan proton (H^+). Proton-proton ini akan menurunkan pH medium. Sehingga dari 2 pernyataan tersebut dapat disimpulkan bahwa terdapat hubungan (korelasi) antara total asam dengan pH. Aditiwati dan kusnadi (2003) menambahkan bahwa setelah hari ke-8 terjadi penurunan pH medium menjadi asam (kurang dari 3), sehingga aktivitas sel-sel khamir menurun. Berdasarkan pernyataan tersebut (Sreeremulu, 2000 dan Ketchum, 1998), dapat

diartikan bahwa penurunan nilai pH pada kombucha akan diikuti dengan meningkatnya nilai total asam yang terkandung didalamnya.

4.1.4 Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Total Padatan Terlarut Medium Kombucha (Teh, Kopi, Rosela)

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis total padatan terlarut fermentasi medium kombucha (teh, kopi, rosela), diketahui bahwa $F_{hitung} > F_{tabel}$ (0,05/0,01). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata pada perlakuan, yakni ada pengaruh jenis medium dan lama fermentasi terhadap penurunan total padatan terlarut medium kombucha (teh, kopi, rosela). Semakin lama waktu fermentasi, maka semakin rendah nilai total padatan terlarut pada medium kombucha (teh, kopi, rosela) sebagaimana yang tercantum pada tabel 4.7

Total padatan terus menurun selama proses fermentasi. Hal ini diduga karena gula (sebagai zat terlarut) akan dirubah menjadi gula yang lebih sederhana oleh *Acetobacter xylinum* dan *Saccharomyces cerevisiae* dan kemudian diubah menjadi etanol dan karbondioksida. Sukrosa akan diasimilasi menjadi bagian dari nata yang nantinya akan mengambang dipermukaan minuman.

Tabel 4.7 Hasil Analisis 2 Faktor tentang Pengaruh Lama Fermentasi dan Jenis Medium terhadap Total Padatan Terlarut Medium Kombucha (Teh, Kopi, Rosela)

SK	db	JK	KT	F Hitung	F TAB 0,05	F TAB 0,01
ULANGAN	2	0,00043	0,00022	7,84971**	3,34	5,45
PERLAKUAN	14	0,01211	0,00087	31,50289**	2,06	2,8
JENIS MEDIUM (J)	2	0,00600	0,00300	109,3295**	3,34	5,45
LAMA FERMENTASI (L)	4	0,00395	0,00099	36,01156**	2,71	4,07
JL	8	0,00215	0,00027	9,791908**	2,29	3,23
GALAT	28	0,00077	2,75E-0			
TOTAL	44	0,01331				

** : Berbeda sangat nyata

Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji jarak Duncan (UJD). Berdasarkan uji dari rata-rata perubahan nilai total padatan terlarut yang terjadi selama fermentasi, maka diperoleh notasi seperti pada tabel 4.8. Berdasarkan tabel tersebut, diketahui bahwa terjadi penurunan nilai total padatan terlarut selama fermentasi. Perubahan terbesar pada penurunan total padatan terlarut, terjadi pada medium kombucha dengan medium kopi (13,52 – 13,48), sedangkan perubahan terkecil pada penurunan pH, terjadi pada minuman kombucha dengan medium Rosela (13,48 – 13,47).

Tabel 4.8 Hasil Analisis UJD (0,05) tentang Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Total Padatan Terlarut Medium Kombucha (Teh, Kopi, Rosela)

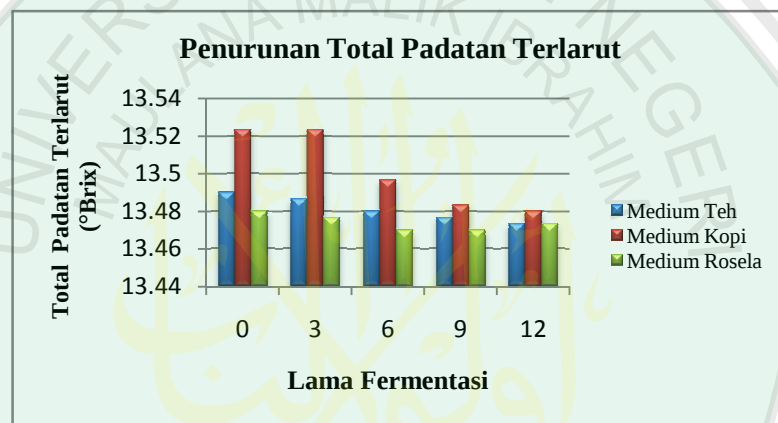
Perlakuan		Total Padatan Terlarut Medium (°Brix)	Notasi
Jenis Medium	Lama Fermentasi		
Kombucha Rosela	6	13,47	a
Kombucha Rosela	9	13,47	a
Kombucha Rosela	12	13,47333	ab
Kombucha Teh	12	13,47333	ab
Kombucha Teh	9	13,47667	abc
Kombucha Rosela	3	13,47667	abc
Kombucha Teh	6	13,48	abc
Kombucha Kopi	12	13,48	bc
Kombucha Rosela	0	13,48	bcd
Kombucha Kopi	9	13,48333	bcd
Kombucha Teh	3	13,48667	cd
Kombucha Teh	0	13,49	cd
Kombucha Kopi	6	13,49667	d
Kombucha Kopi	0	13,52333	d
Kombucha Kopi	3	13,52333	d

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom notasi dibawahnya, maka tidak berbeda nyata berdasarkan uji Jarak Duncan 5%

Greenwalt *et. al.*, (2000) menyatakan bahwa salah satu khamir yang terdapat dalam kultur kombucha adalah *Saccharomyces cerevisiae* yang menurut Wood (1998) mampu memecah gula (sukrosa), untuk kemudian mengubahnya

menjadi alkohol, karbon dioksida dan energi. Etanol kemudian akan dioksidasi oleh *Acetobacter* sp. menjadi asetaldehid dan selanjutnya menjadi asam asetat.

Penurunan total padatan terlarut ini disebabkan oleh perombakan gula menjadi senyawa-senyawa dengan berat molekul yang lebih kecil, sehingga menurunkan nilai total padatan karena glukosa diasimilasi menjadi selulosa yang mengambang. Menurut Jacobs (1968), gula merupakan komponen padatan terlarut yang dominan disamping pigmen, vitamin dan mineral.



Gambar 4.4. Diagram Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Total Padatan Terlarut Medium Kombucha (Teh, Kopi, Rosela)

Total padatan terlarut kombucha terus menurun selama proses fermentasi seperti pada gambar diagram 4.4. Penurunan total padatan terlarut terjadi karena gula (sukrosa) akan dirombak menjadi gula yang lebih sederhana (glukosa dan fruktosa) oleh *Saccharomyces cerevisiae*, s, kemudian diubah menjadi etanol dan karbon dioksida. Karbon diokasida akan menguap keudara, etanol akan dioksidasi menjadi asam asetat yang berwujud cair, sedangkan glukosa hasil pemecahan sukrosa digunakan untuk metabolisme sel mikroba, dan fruktosa tetap berada dalam larutan teh sebagai cadangan sumber energi bagi sel mikroba.

Perubahan bentuk komponen-komponen ini akan menurunkan total padatan terlarut kombucha.

4.1.5 Pengaruh Lama Fermentasi dan Jenis Medium Kombucha (Teh, Kopi, Rosela) terhadap Diameter Zona Hambat pada Pertumbuhan Bakteri *Vibrio cholerae*

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis diameter zona hambat medium kombucha (teh, kopi, rosela) terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio cholerae*, diketahui bahwa $F_{hitung} > F_{tabel}$ (0,05/0,01). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata pada perlakuan (lama fermentasi), yakni ada pengaruh lama fermentasi terhadap diameter zona hambat medium kombucha (teh, kopi, rosela) terhadap bakteri *Vibrio cholerae*. Semakin lama waktu fermentasi, maka semakin besar diameter zona hambat medium kombucha (teh, kopi, rosela) terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio cholerae*, tetapi pada perlakuan perbedaan jenis medium (teh, kopi, rosela) diketahui bahwa $F_{hitung} < F_{tabel}$. Hal ini menunjukkan bahwa jenis medium tidak berpengaruh terhadap diameter zona hambat yang dihasilkan, sebagaimana yang tercantum pada tabel 4.9

Tabel 4.9 Hasil Analisis 2 Faktor tentang Pengaruh Lama Fermentasi dan Jenis Medium Kombucha (Teh, Kopi, Rosela) terhadap Diameter Zona Hambat pada Pertumbuhan Bakteri *Vibrio cholerae*

SK	db	JK	KT	F Hitung	F TAB 0,05	F TAB 0,01
ULANGAN	2	1,70800	0,85400	1,620201	3,34	5,45
PERLAKUAN	14	228,02130	16,28724	30,8999**	2,06	2,80
JENIS MEDIUM (J)	2	1,02533	0,51267	0,972626	3,34	5,45
LAMA FERMENTASI (L)	4	217,42800	54,35700	103,1256**	2,71	4,07
JL	1	9,56800	1,19600	2,26904	2,29	3,23
GALAT	28	14,75867	0,52710			
TOTAL	44	244,48800				

** : Berbeda sangat nyata

Asam asetat berdisosiasi dan melepaskan proton-proton bebas sehingga menurunkan pH larutan. Peningkatan jumlah proton menyebabkan enzim terdenaturasi dan permeabilitas membran sel berubah, sehingga metabolisme sel terganggu dan bakteri (*Vibrio cholerae*) perlahan-lahan mati. (Adams dan Moss, 2000).

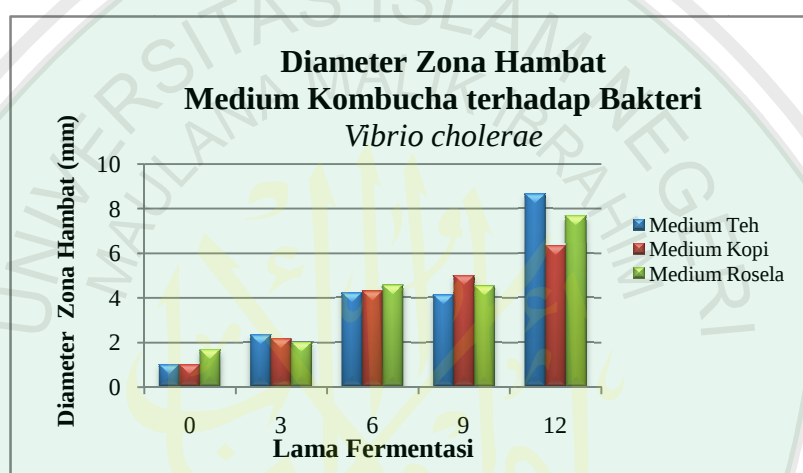
Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji jarak Duncan (UJD). Berdasarkan uji dari rata-rata nilai diameter zona hambat selama fermentasi, diperoleh notasi seperti pada tabel 4.10. Berdasarkan tabel tersebut, diketahui bahwa terjadi peningkatan diameter zona hambat selama fermentasi, tetapi perubahan terbesar pada peningkatan nilai diameter zona hambat terjadi pada medium kombucha dengan medium teh (1 – 8,67), sedangkan peningkatan terkecil terjadi pada kombucha dengan medium kopi (1 – 6,33).

Tabel 4.10 Hasil Analisis UJD (0,05) tentang Pengaruh Lama Fermentasi dan Jenis Medium Kombucha (Teh, Kopi, Rosela) terhadap Diameter Zona Hambat pada Pertumbuhan Bakteri *Vibrio cholerae*

Perlakuan		Diameter Zona Hambat (mm) (<i>Vibrio cholerae</i>)	Notasi
Jenis Medium	Lama Fermentasi		
Kombucha Teh	0	1	a
Kombucha Kopi	0	1	a
Kombucha Rosela	0	1,67	a
Kombucha Rosela	3	2	a
Kombucha Kopi	3	2,17	ab
Kombucha Teh	3	2,33	ab
Kombucha Teh	9	4,13	bc
Kombucha Teh	6	4,23	c
Kombucha Kopi	6	4,3	c
Kombucha Rosela	9	4,53	c
Kombucha Rosela	6	4,57	c
Kombucha Kopi	9	5	cd
Kombucha Kopi	12	6,33	de
Kombucha Rosela	12	7,67	ef
Kombucha Teh	12	8,67	f

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom notasi dibawahnya, maka tidak berbeda nyata berdasarkan uji Jarak Duncan 5%

Kerja asam asetat sebagai senyawa antibakteri kombucha terhadap bakteri gram negatif (*Vibrio cholerae*) yang terdapat pada membran luarnya. Asam asetat yang tidak terdisosiasi dapat melalui "Lipid bilayer" bakteri serta melepaskan proton dalam sitoplasma, ini menyebabkan sitoplasma menjadi asam (Naidu, 2000). Peingkatan nilai diameter zona hambat medium kombucha (teh, kopi, rosela) dapat dilihat pada gambar diagram 4.5 sebagai berikut :



Gambar 4.5. Diagram Pengaruh Lama Fermentasi dan Jenis Medium Kombucha (Teh, Kopi, Rosela) terhadap Diameter Zona Hambat pada Pertumbuhan Bakteri *Vibrio cholerae*

Pada gambar diagram 4.5 dapat diketahui bahwa semakin lama fermentasi, maka akan semakin besar nilai diameter zona hambat yang terbentuk. Hal ini terjadi karena semakin lama fermentasi, maka akan terjadi akumulasi zat-zat asam yang terbentuk. Sehingga kondisi medium akan semakin asam dan sel akan berusaha mempertahankan pH internalnya dengan menetralkan (mengeluarkan) proton-proton yang masuk, sehingga energi akan habis untuk usaha ini dan energi untuk pertumbuhan berkurang. Jika konsentrasi asam ekstraseluler cukup tinggi, energi sel tidak cukup untuk mengeluarkan semua proton dari dalam sel, sehingga

pH sitoplasma akan terus menurun. Akibatnya sel tidak bisa lagi terus bertahan hidup. Ray (1996) menyatakan bahwa pada pH yang lebih rendah dan konsentrasi yang lebih tinggi, suatu asam akan lebih bersifat antimikroba. Tingkat kelarutan asam juga penting untuk efek yang diinginkan.

4.1.6 Pengaruh Lama Fermentasi dan Jenis Medium Kombucha (Teh, Kopi, Rosela) terhadap Diameter Zona Hambat pada Pertumbuhan Bakteri *Bacillus cereus*

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis diameter zona hambat medium kombucha (teh, kopi, rosela) terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*, diketahui bahwa $F_{hitung} > F_{tabel}$ (0,05/0,01). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata pada perlakuan (lama fermentasi), yakni ada pengaruh lama fermentasi terhadap diameter zona hambat medium kombucha (teh, kopi, rosela) terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*. Semakin lama waktu fermentasi, maka semakin besar nilai diameter zona hambat medium kombucha (teh, kopi, rosela) terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*, tetapi pada perlakuan perbedaan jenis medium (teh, kopi, rosela) diketahui bahwa $F_{hitung} < F_{tabel}$. Hal ini menunjukkan tidak ada perbedaan nyata nilai diameter zona hambat yang dihasilkan pada fermentasi medium kombucha (teh, kopi, rosela) sebagaimana yang tercantum pada tabel 4.11

Sebagian bakteri gram positif dinding selnya terdiri atas lapisan peptidoglikan yang berlapis-lapis, membentuk struktur dinding sel yang tebal dan kokoh. Namun kandungan lipopolisakarida, lemak serta lipoproteinnya rendah Tortora et al (2001). Dengan struktur dinding sel yang seperti ini, larutan asam

akan mudah menembusnya dan menyebabkan kerusakan yang berkala pada sitoplasma sel.

Tabel 4.11 Hasil 2 Faktor tentang Analisis Pengaruh Lama Fermentasi dan Jenis Medium Kombucha (Teh, Kopi, Rosela) terhadap Diameter Zona Hambat pada Pertumbuhan Bakteri *Bacillus cereus*

SK	db	JK	KT	F Hitung	F TAB 0,05	F TAB 0,01
ULANGAN	2	1,83644	0,91822	1,655496	3,34	
PERLAKUAN	14	109,82310	7,84451	14,1431**	2,06	2,8
JENIS MEDIUM (J)	2	2,51244	1,25622	2,264889	3,34	5,45
LAMA FERMENTASI (L)	4	103,57640	25,89411	46,6854**	2,71	4,07
JL	8	3,73422	0,46678	0,841571	2,29	3,23
GALAT	28	15,53022	0,55465			
total	44	127,18980				

** : Berbeda sangat nyata

Asam asetat (antibakteri) akan menghambat sintesa dinding sel bakteri menghambat reaksi retakhir (transpeptidasi) dalam rangkaian pembentukan peptidoglikan (Gan, 1987). Antibakteri jenis ini menghasilkan sel bakteri yang rapuh secara osmotik (Mckane dan Kandel, 1986).

Membran sel memegang peranan penting dalam sel, yakni sebagai pengatur permeabilitas selektif, melakukan pengangkutan aktif dan mengendalikan susunan dalam sel. Membran sel mempengaruhi konsentrasi metabolit dan bahan gizi didalam sel karena merupakan tempat berlangsungnya pertukaran gas dan materi organik dan anorganik yang dibutuhkan oleh sel. Beberapa antibakteri diketahui mampu merusak dan memperlemah satu atau lebih dari fungsi tersebut. Bila fungsi-fungsinya terganggu, maka akan menyebabkan gangguan terhadap kehidupan sel (Waluyo, 2004). Kerusakan membran menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dalam sel bakteri seperti protein, asam nukleat, nukleotida dan lain-lain

Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji jarak Duncan (UJD). Berdasarkan uji dari rata-rata nilai diameter zona hambat selama fermentasi, maka diperoleh notasi seperti pada tabel 4.12. Berdasarkan tabel tersebut, diketahui bahwa terjadi peningkatan nilai diameter zona hambat selama fermentasi 3-12 hari. Perubahan terbesar pada peningkatan nilai diameter zona hambat, terjadi pada kombucha dengan medium kopi (1,06 – 6,33), sedangkan perubahan terkecil peningkatan nilai diameter zona hambat, terjadi pada kombucha dengan medium teh (0,9 – 4,8).

Tabel 4.12 Hasil Analisis UJD (0,05) tentang Pengaruh Lama Fermentasi dan Jenis Medium Kombucha (Teh, Kopi, Rosela) terhadap Diameter Zona Hambat pada Pertumbuhan Bakteri *Bacillus cereus*

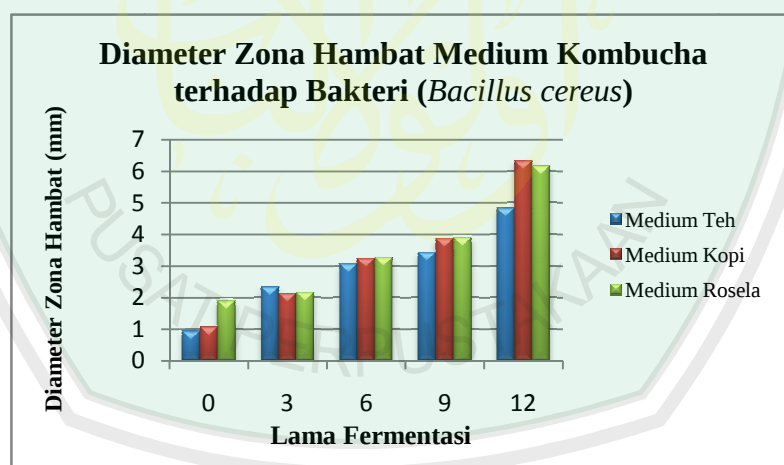
Perlakuan		Diameter Zona Hambat (mm) (<i>Bacillus cereus</i>)	Notasi
Jenis Medium	Lama Fermentasi		
Kombucha Teh	0	0,93	a
Kombucha Kopi	0	1,07	a
Kombucha Rosela	0	1,9	ab
Kombucha Kopi	3	2,13	ab
Kombucha Rosela	3	2,17	ab
Kombucha Teh	3	2,33	abc
Kombucha Teh	6	3,07	bce
Kombucha Kopi	6	3,23	bce
Kombucha Rosela	6	3,27	bce
Kombucha Teh	9	3,43	bce
Kombucha Kopi	9	3,87	cd
Kombucha Rosela	9	3,9	cd
Kombucha Teh	12	4,83	d
Kombucha Rosela	12	6,17	e
Kombucha Kopi	12	6,33	e

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom notasi dibawahnya, maka tidak berbeda nyata berdasarkan uji Jarak Duncan 5%

Asam asetat berdisosiasi dan melepaskan proton-proton bebas sehingga menurunkan pH larutan. Peningkatan jumlah proton menyebabkan enzim terdenaturasi dan permeabilitas membran sel berubah, sehingga metabolisme sel terganggu dan bakteri perlahan-lahan mati. (Adams dan Moss, 2000).

Perbedaan struktur dinding sel antara bakteri gram positif dan gram negatif sangat mempengaruhi efektifitas senyawa antibakteri yang bersangkutan dalam melawan bakteri patogen (Atlas, 1989). Hal ini didukung oleh Ray (1996), yang menyatakan bahwa bakteri gram negatif lebih sensitif terhadap pH rendah daripada gram positif.

Pada hasil penelitian ini, dapat diketahui bahwa semakin lama waktu fermentasi maka semakin besar diameter zona hambat dari medium kombucha. Hal ini terjadi karena dengan semakin lamanya waktu fermentasi, maka akan diikuti dengan penurunan nilai pH dan kenaikan konsentrasi asam (lihat gambar 4.6). Dari gambar diagram 4.6, dapat diketahui bahwa semakin lama fermentasi, maka nilai diameter zona hambat akan semakin meningkat.



Gambar 4.6. Diagram Pengaruh Lama Fermentasi dan Jenis Medium Kombucha (Teh, Kopi, Rosela) terhadap Diameter Zona Hambat pada Pertumbuhan Bakteri *Bacillus cereus*

Subtansi lipofilik menyerang membran sel, menghancurkan atau menembusnya. Hal ini menyebabkan proton mengalir kedalam sel. Sel kemudian harus menggunakan lebih banyak energi untuk mengimbangi penetrasi asam

kedalam sel netral, dan terjadilah perbedaan potensial (Luck dan Jagen, 1997). Molekul-molekul asam lipofilik yang tidak terdisosiasi dapat melalui membrane sel bakteri dengan bebas, dengan demikian, molekul-molekul asam ini berpindah dari suatu lingkungan eksternal ber-pH rendah, dimana prinsip kesetimbangan mendorong molekul yang tak terdisosiasi ke sitoplasma yang pHnya lebih tinggi ($\pm 7,5$). Pada pH yang lebih tinggi ini kesetimbangan berubah dengan adanya molekul yang tidak terdisosiasi sehingga asam terionisasi menghasilkan proton-proton yang cenderung akan mengasamkan sitoplasma dan mengubah komposisi pH dan menyebabkan pergerakan proton. Sel akan berusaha mempertahankan pH internalnya dengan menetralkan atau mengeluarkan proton-proton yang masuk, tapi usaha ini perlahan-lahan akan mengarah pada peralihan energi dari fungsinya yang berhubungan dengan pertumbuhan. Jika pH eksternal cukup rendah dan konsentrasi asam ekstraseluler tinggi, beban sel menjadi besar, sehingga pH sitoplasma turun sampai suatu tingkat dimana pertumbuhan tidak mungkin terjadi lagi dan sel akhirnya mati (Adam and Moss, 2000).

Saat asam asetat terlarut dalam suatu larutan, asam tersebut akan terdisosiasi untuk melepaskan proton-proton yang menurunkan pH larutan. Peningkatan jumlah proton pada permukaan luar mikroorganisme dapat mengganggu fungsi membrane dengan cara mendenaturasi enzim dan mengubah permeabilitas yang menyebabkan destabilisasi membrane. Asam asetat yang tidak terdisosiasi juga dapat melalui lipid bilayer bakteri dan khamir serta melepaskan proton karena ATP diperlukan untuk transport aktif nutrisi melalui membrane,

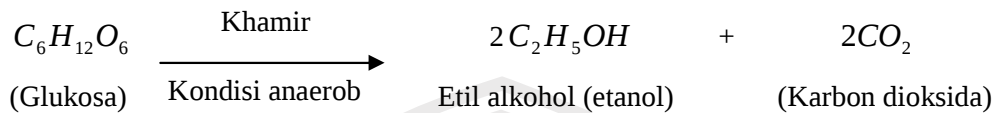
kekurangan nutrisi sel juga dapat terjadi karena keberadaan asam asetat (Naidu, 2000).

Efek antimikroba asam asetat meningkat pada saat pH menurun. Hal ini berarti bahwa aktivitas asam organik secara langsung berhubungan dengan jumlah molekul yang tak terdisosiasi yang akan meningkat saat pH menurunkan peningkatan jumlah proton. Saat pH meningkat, jumlah molekul tidak terdisosiasi akan menjadi relatif rendah yang menimbulkan dugaan bahwa asam asetat dapat menyebabkan kerusakan internal dan eksternal sel yang parah. Kerusakan ini dapat disebabkan oleh proton, molekul yang tidak terdisosiasi, serta asam asetat. Kerusakan yang disebabkan dapat bersifat permanen sehingga menyebabkan kematian sel (bakterisidal) atau dapat juga bersifat sementara yang menimbulkan "luka" pada sel, sehingga sel dapat melakukan multiplikasi sampai sembuh, secara drastis menurunkan laju multiplikasi sel (bakteriostatis) (Naidu, 2000).

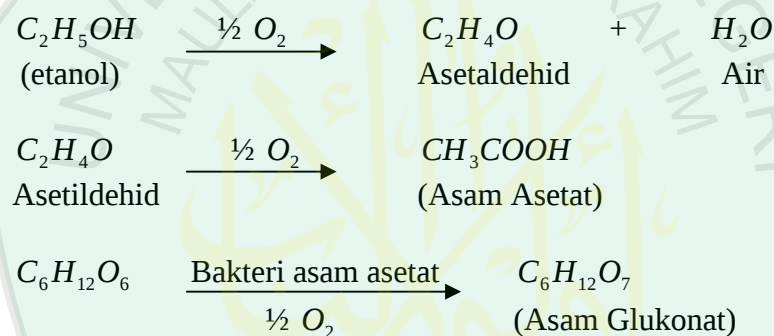
4.2 Pemanfaatan Kombucha dalam Pandangan Islam

Berdasarkan hasil penelitian mengenai potensi lama fermentasi minuman kombucha (teh, kopi, rosela) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio cholerae* dan *Bacillus cereus* telah membuktikan bahwa minuman kombucha ini dapat menghambat pertumbuhan kedua jenis bakteri patogen ini (*Vibrio cholerae* dan *Bacillus cereus*). Kandungan asam asetat pada kombucha dengan lama fermentasi 12 hari dapat mencapai 0,7%. Pada persentase 0,7% ini, kombucha termasuk dalam minuman yang layak untuk dikonsumsi, karena kadar asam asetat yang masih dapat ditoleransi oleh tubuh adalah berkisar antara 4-5% (An-Najjar, 2006).

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



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



Pada proses fermentasi kombucha terjadi proses fermentasi gula oleh khamir menjadi etil alkohol (etanol) dan selanjutnya terjadi reaksi oksidasi etanol menjadi asetaldehid dan kemudian asam asetat (cuka). Pada reaksi ini dapat diketahui bahwa terjadi perubahan dari minuman yang beralkohol (mengandung etanol) yang mempunyai hukum haram untuk dikonsumsi, menjadi asam asetat (cuka) yang mempunyai hukum halal untuk dikonsumsi. Perubahan status hukum minuman ini terjadi karena sebelum minuman ini menjadi asam asetat, medium tidak diberi perlakuan apapun atau perubahan terjadi karena adanya reaksi dari dalam medium itu sendiri. Hal ini sesuai dengan hadits nabi sebagai berikut :

عَنْ أَنَسِ بْنِ مَالِكٍ رَضِيَ اللَّهُ عَنْهُ قَالَ: سُئِلَ رَسُولُ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ عَنِ الْخَمْرِ تَتَّخَذُ خَلًّا؟ فَقَالَ: لَا (أَخْرَجَهُ مُسْلِمٌ وَالتِّرْمِذِيُّ، وَقَالَ حَسَنٌ صَحِيحٌ).

Artinya : Dari Anas bin Malik r.a berkata : Ketika Rasulullah SAW ditanya : haramkah khamar yang berubah menjadi cuka ? Rasulullah menjawab : Tidak. (hadits riwayat muslim dan Tirmidzi)

Menurut imam Syafi'i, imam ahmad dan imam abu Hanifah, berubahnya cuka dari khamar (minuman beralkohol) adalah haram dan tidak suci, sedangkan cuka adalah suci, tetapi semua ulama berpendapat bahwa ketika khamar berubah menjadi cuka dengan sendirinya (tanpa adanya tambahan sesuatu) maka hukumnya suci (Hafidz Ibnu Hajar al-'Asfalani dalam kitab bulughul maram).

Pada proses fermentasi kombucha, terjadi pembentukan zat asam secara terus-menerus sampai kadar gula yang terdapat didalamnya habis, sehingga jumlah asam yang dihasilkan akan semakin besar. Dengan tingginya kadar zat asam ini, maka minuman kombucha tidak lagi layak konsumsi, karena kadar asamnya yang sangat tinggi akan dapat membahayakan tubuh.

Hasil penelitian ini memberikan pelajaran penting akan konsep pengobatan. Setiap obat memiliki aturan dosis tertentu sehingga dapat mempunyai efek yang dibutuhkan dan tidak sampai berbahaya bagi tubuh dengan munculnya beberapa efeknegatif yang ditimbulkan. Allah SWT berfirman dalam surat al-Qamar ayat 49 :

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ﴿٤٩﴾

Artinya : “Sesungguhnya kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran.”

Dari ayat diatas dapat dipahami bahwa Allah SWT menciptakan segala sesuatu adalah dengan ukuran dan dosis dan ukuran masing-masing, sehingga akan terjadi kondisi yang homeostasis (keseimbangan). Berdasarkan hasil penelitian ini, didapat peningkatan total asam selama proses fermentasi, tetapi dengan kandungan total padatan terlarut yang masih tinggi pula, hal ini menunjukkan adanya zat gula (komponen padatan terlarut tertinggi) yang masih belum dimetabolisme secara menyeluruh. Kadar asam yang sangat tinggi dapat berbahaya bagi lambung karena asam ini bersifat constrictor dan melunakkan makanan atau organ-organ tubuh yang mengabsorbsinya, sehingga akan berpengaruh terhadap dinding sel organ-organ pencernaan. Allah SWT berfirman dalam surat Al-A'raf ayat 31 :

﴿يَبْنَىٰٓءَآدَمَ خُذُوْا زِيْنَتَكُمْ عِنْدَ كُلِّ مَسْجِدٍ وَكُلُوْا وَشَرِبُوْا وَلَا تُسْرِفُوْا ۚ إِنَّهٗ

لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِيْنَ ۝ۙ﴾

Artinya: “Hai anak Adam, pakailah pakaianmu yang indah di setiap (memasuki) masjid, makan dan minumlah, dan janganlah berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang berlebih-lebihan.”

Ayat diatas menekankan kita sebagai makhluknya agar kita tidak berlebih-lebihan dalam segala hal. Sesuatu yang baik apabila dilakukan secara berlebihan maka akan menjadi hal yang buruk.

Penelitian tentang kombucha ini turut memaknai konsep “*Ulul albab*”. Ulul albab yang diartikan sebagai orang-orang yang menggunakan segenap akal dan pikirannya untuk senantiasa memikirkan segala ciptaan Allah SWT dan mengintegrasikannya dengan ilmu pengetahuan. Selain dapat menemukan solusi

terhadap suatu permasalahan juga dapat meningkatkan keimanan kita kepada Allah SWT Tuhan semesta alam.

