

**ANALISIS KANDUNGAN VITAMIN C DAN AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN TEH KOMBUCHA BERDASARKAN LAMA
FERMENTASI DAN JENIS TEH**

SKRIPSI

Oleh:

RAHADI SANTOSO

17620008



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**ANALISIS KANDUNGAN VITAMIN C DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
TEH KOMBUCHA BERDASARKAN LAMA FERMENTASI DAN JENIS
TEH**

SKRIPSI

Oleh:

RAHADI SANTOSO

17620008

Diajukan kepada:

Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang

Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam

Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**ANALISIS KANDUNGAN VITAMIN C DAN AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN TEH KOMBUCHA BERDASARKAN LAMA
FERMENTASI DAN JENIS TEH**

SKRIPSI

Oleh: RAHADI SANTOSO

NIM. 17620008

disetujui untuk ujian skripsi

tanggal:

15 September 2021

Pembimbing I

Ir. Liliek Harianie AR, M.P
NIP.19620901 1998 2 001

Pembimbing II

Oky Bagas Prasetyo, M.Pdi
NIP.19890113201802011244



**Mengetahui,
Ketua Program Studi**

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP.197410182003122002

**ANALISIS KANDUNGAN VITAMIN C DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN TEH
KOMBUCHA BERDASARKAN LAMA FERMENTASI DAN JENIS TEH**

SKRIPSI

Oleh:

RAHADI SANTOSO

17620008

**Telah Dipertahankan Di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk Memperoleh Gelar
Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal,**

Ketua Penguji	Prof. Dr.Ulfah Utami, M.Si NIP. 19650509 199903 2 002	
Anggota Penguji 1	Prilya Dewi Fitriyani, M.Sc NIPT. 19900428 2016080 1 2062	
Anggota Penguji 2	Ir. Liliek Harianie AR, M.P NIP. 19620901 199803 2 001	
Anggota Penguji 3	Okky Bagus Prasetyo, M.Pdi NIP. 19890113 20180201 1 244	

Mengetahui dan mengesahkan
Kepala Program Studi



Dr. Wylica Sandi Savitri, M.P
NIP.19741018 200312 2 002

HALAMAN PERSEMBAHAN

Tulisan ini saya persembahkan kepada keluarga tercinta terutama kepada kedua orang tua, Bapak Sumadi dan Ibu Rusmala, kemudian kepada Istri tercinta, abang Margi beserta mbak Maulina dan teman-teman angkatan biologi 2017 yang telah membantu saya dalam menyelesaikan skripsi ini melalui dukungan doa, support dan motivasi sehingga saya bisa menyelesaikan skripsi ini. Terimakasih atas doa dan dukungan semuanya dan mohon maaf untuk keluarga jika hingga hari ini saya belum bisa memberikan terbaik.

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rahadi Santoso
NIM : 17620008
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Analisis Kandungan Vitamin C dan Aktivitas
Antioksidan Teh Kombucha Berdasarkan Lama
Fermentasi dan Jenis Teh

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan, dan / atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan dan/atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 1 September 2021
yang membuat pernyataan



Rahadi Santoso
NIM. 17620008

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan, namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Wr. Wb.

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan pada Allah SWT atas segala limpahan rahmat, taufiq serta hidayahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Analisis Kandungan Vitamin C dan Aktivitas Antioksidan Teh Kombucha Berdasarkan Lama Fermentasi dan Jenis Teh”** ini dengan baik. Selanjutnya shalawat serta salam semoga tetap terlimpahkan pada junjungan kita Nabi Agung Muhammad SAW beserta keluarganya serta para sahabatnya. Semoga kelak kita mendapatkan syafaatnya di hari kiamat nanti, Aamiin.

Tak lupa pula penulis menyampaikan rasa terima kasih yang mendalam pada berbagai pihak yang telah membantu penulis baik secara langsung maupun tidak langsung guna terselesaikannya penulisan skripsi ini. Ucapan terima kasih yang mendalam penulis sampaikan pada:

1. Prof. Dr. H. M. Zainuddin, MA selaku rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri M.P selaku Ketua Program Studi Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ir. Liliek Harianie AR M.P dan Bapak Oky Bagus Prasetyo, M.PdI selaku dosen pembimbing skripsi yang telah banyak meluangkan waktu, kesabaran, kesungguhan, serta berbagai saran dan arahan untuk saya selama ini.
5. Prof. Dr. Hj. Ulfah Utami M.Si dan Ibu Prilya Dewi Fitriasari M.Sc selaku dosen penguji yang telah memberikan banyak masukan dan saran dalam penulisan skripsi saya ini.
6. Dosen wali Bapak Bayu Agung Prahardika, M.Si, dosen-dosen, laboran dan staff administrasi prodi Biologi yang telah banyak membantu dan memberikan fasilitas kepada saya.
7. Kedua Orang Tua saya tercinta dan tersayang Bapak Sumadi dan Ibu Rusmala, Istri tercinta Lilis Sulastri, abang Margi, mbak Lina selaku kakak ipar, atok, nenek, mbah putri dan mbah kakung yang sudah membantu, mendoakan dan menjadi semangat buat saya hingga saat ini.
8. Seluruh teman angkatan 2017 khususnya kelas biologi A dan terlebih lagi teman bermain dan belajar selama di Malang Naufal, Asna, Erza, Shofa, Syilvi, Qoyim dan Titis yang saling memberi semangat untuk menyelesaikan skripsi.
9. Semua pihak yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu yang telah banyak membantu dalam terselesaikannya skripsi ini.

Semoga Allah SWT memberikan balasan yang terbaik untuk kalian semuanya dan semoga karya tulis ini dapat memberikan manfaat dan menjadi inspirasi untuk semuanya, Aamiin

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	v
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
ABSTRAK	xiii
ABSTRACT.....	xiv
مستخلص البحث.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan	5
1.4 Manfaat	5
1.5 Hipotesa Penelitian	5
1.6 Batasan Masalah	5
BAB II KAJIAN PUSTAKA.....	6
2.1 Teh	6
2.2 Jenis-Jenis Teh	7
2.2.1 Teh Hijau	7
2.2.1 Teh Hitam	8
2.3 Fermentasi Kombucha	10
2.4 Teh Kombucha.....	14
2.5 Antioksidan	17
2.5.1 Antioksidan Teh Kombucha	17

2.5.2 Vitamin C.....	19
BAB III METODE PENELITIAN	21
3.1 Rancangan Penelitian.....	21
3.1.1 Design Penelitian.....	21
3.1.2 Populasi Penelitian	22
3.1.3 Sampel Penelitian	22
3.1.4 Variabel Penelitian	22
3.2 Waktu Dan Tempat	23
3.2.1 Waktu	23
3.2.2 Tempat	23
3.3 Alat Dan Bahan.....	23
3.3.1 Alat.....	23
3.3.2 Bahan	23
3.4 Prosedur Penelitian	24
3.4.1 Tahap Pembuatan Kombucha	24
3.5 Pengamatan	24
3.5.1 Pengukuran Vitamin C	24
3.5.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan.....	25
3.5.3 Diagram Alir Prosedur Penelitian	26
3.6 Teknik Analisis Data.....	27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	28
4.1 Kandungan Vitamin C Teh Kombucha Berdasarkan Lama Fermentasi.....	28
4.2 Kandungan Antioksidan Teh Kombucha Berdasarkan Lama Fermentasi.....	32
BAB V PENUTUP.....	35
5.1 Kesimpulan	35
5.2 Saran	35
DAFTAR PUSTAKA.....	36
LAMPIRAN.....	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Fermentasi Kombucha	10
Gambar 2.2 Metabolisme Kombucha dan Interaksi Mikroba.....	12
Gambar 2.3 Teh Kombucha	15
Gambar 2.4 Mekanisme antioksidan vitamin C.....	18
Gambar 2.5 Proses Sintesis Vitamin C oleh <i>Acetobacter xylinum</i>	20
Gambar 4.1 Grafik Kandungan Vitamin C Teh Hijau dan Teh Hitam	28
Gambar 4.2 Grafik Kandungan Antioksidan Teh Hijau dan Teh Hitam	31

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Proses Pembuatan Teh Kombucha	45
Lampiran 2. Hasil Kandungan Vitamin C dan Antioksidan Teh Kombucha.....	47
Lampiran 3. Data Mentah Kandungan Vitamin C dan Antioksidan Teh Kombucha	48
Lampiran 4. Perhitungan vitamin C dan Antioksidan.....	49
Lampiran 5. Hasil Statistik Vitamin C dengan SPSS	50
Lampiran 6. Hasil Statistik Antioksidan dengan SPSS	52

Analisis Kandungan Vitamin C Dan Aktivitas Antioksidan Teh Kombucha Berdasarkan Lama Fermentasi Dan Jenis The

Rahadi Santoso, Liliek Harianie, Oky Bagas Prasety

Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

ABSTRAK

Teh kombucha merupakan teh hasil fermentasi menggunakan simbiosis bakteri asam asetat dan spesies ragi yang dikenal dengan SCOBY (*Symbiotic Cultures of Bacteria and Yeasts*). Selama proses fermentasi, bakteri dan ragi memetabolisme sukrosa menjadi sejumlah asam organik seperti asam asetat dan asam glukuronat, asam amino, antibiotik dan berbagai mikronutrien. Proses fermentasi teh dengan kultur kombucha dapat meningkatkan antioksidan dan kandungan vitamin C. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui lama fermentasi yang paling optimum terhadap kandungan vitamin C dan antioksidan. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktor, yaitu lama fermentasi (5, 7, 9 dan 11 hari) dan jenis teh (teh hijau dan teh hitam) dengan pengulangan sebanyak 3 kali. Setiap teh dilakukan kontrol tanpa dilakukan fermentasi. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan korelasi dan *Analysis of Variance* (ANOVA). Kemudian dilakukan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama fermentasi yang optimum untuk vitamin C yaitu hari ke 7 dengan nilai 5,17 mg/L untuk teh hijau dan 4,18 mg/L untuk teh hitam. Sedangkan kandungan antioksidan tertinggi di hari ke 7 dengan nilai (92,57%) teh hijau dan (83,75%) teh hitam.

Kata Kunci: Teh Kombucha, Fermentasi, Vitamin C, Antioksidan

Analysis of Vitamin C Content and Antioxidant Activity of Kombucha Tea Based on Fermentation Time and Type of Tea

Rahadi Santoso, Liliek Harianie, Oky Bagas Prasety

Biology Program Study, Faculty of Science and Technology, Maulana Malik
Ibrahim State Islamic University of Malang

ABSTRACT

Keywords: Kombucha Tea, Fermentation, Vitamin C, Antioxidant

Kombucha tea is fermented using a symbiosis of acetic acid bacteria and yeast species such as bacteria *xylinum*, bacteria *xylinoides*, bacteria *glukonikum*, *Saccharomyces ludwigii*, *Saccharomyces varietas apiculatus*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Acetobacter ketogenum*, *varietas Torula*, *Pichia fermentans*. During the fermentation process, bacteria and yeast metabolize sucrose into a number of organic acids such as acetic acid and glucuronic acid, amino acids, antibiotics and various micronutrients. This study aims to determine the optimum fermentation time for the content of vitamin C and antioxidants. This study used a completely randomized design (CRD) with the research stages carried out with 8 treatments and carried out 3 replications with 5, 7, 9 and 11 days of fermentation. Each tea was controlled without fermentation. The data obtained were analyzed using correlation and *Analysis of Variance* (ANOVA). Then the *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) 5% was carried out further. The results showed that the optimum fermentation time for vitamin C was day 7 with a value of (5.17 mg/L) for green tea and (4.18 mg/L) for black tea. While the highest antioxidant content on day 7 with a value of (92.57%) green tea and (83.75%) black tea.

Keywords: Kombucha Tea, Fermentation, Vitamin C, Antioxidant

تحليل محتوى فيتامين ج ونشاط مضاد الأوكسيد في شاي كومبوتشا بناءً على مدة التخمير ونوع الشاي

. قسم علم الحياة، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج

رهادي ليليك هاريا ،: أوكي باجاس براسيتيو الماجستير.

مستخلص البحث

شاي كمبوتشا هو التخمير باستخدام تكافل بكتيريا حمض الخليك وأنواع الخميرة مثل بكتيريا زيلينوم، وبكتيريا زيلينويد، وبكتيريا جلوكونيكوم، وسكارومييسيس لودويجي، وأصناف السكارومييسيس أبيكولاتوس، وشيزوساكارومييسيس بومبي، أسيتوبكتير كيتوجينوم، وأصناف تورولا، ومخمر البييتشيا. أثناء عملية التخمير، يقوم البكتيريا والخميرة بأبيض السكر إلى عدد من الأحماض العضوية مثل حمض حمض الخليك وحمض جلوكونيك وحمض الأميني والمضاد الحيوي والمغذيات الدقيقة المختلفة. يهدف هذا البحث إلى تحديد مدة التخمير الأمثل لمحتوى فيتامين ج مضاد الأوكسيد. يستخدم هذا البحث تصميمًا عشوائيًا كاملاً مع مراحل البحث نفذت بـ 8 معالجات ونفذت 3 تكرارات مع 5 و 7 و 9 و 11 يومًا من التخمير. يضبط كل شاي بدون تخمير. تُحلل البيانات المحسولة باستخدام الارتباط وتحليل التباين (ANOVA). ثم إجراء اختبار دنكان متعدد المدى 5%. تظهر نتائج البحث أن الوقت الأمثل للتخمير لفيتامين ج هو اليوم السابع بقيمة (5.17 mg/ml) للشاي الأخضر و (4.18 mg/ml) للشاي الأسود. أما كان أعلى محتوى مضاد الأوكسيد في اليوم السابع بقيمة (92.57%) شاي أخضر و (83.75%) شاي أسود.

الكلمات الرئيسية: شاي كمبوتشا، التخمير، فيتامين ج، مضاد الأوكسيد

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Teh merupakan salah satu minuman yang paling sering dikonsumsi di seluruh dunia, dengan banyak manfaat bagi kesehatan. Daun teh yang segar kaya akan senyawa polifenol yang berfungsi sebagai antioksidan (Roy *et al*, 2019). Lebih dari 30 negara membudidayakan teh, dengan produksi tahunan lebih dari 3,8 juta ton. Menurut tingkat fermentasi, teh terbagi menjadi dua kategori yaitu teh hijau (nonfermentasi) dan teh hitam (difermentasi). Teh hitam merupakan jenis teh yang paling banyak dikonsumsi. Negara yang sebagian besar mengonsumsi teh yaitu Cina dan Jepang. Jumlah produksi teh hitam mencapai 78% dari teh dunia yang berasal dari negara Barat dan Asia, teh hijau 20% dari total produksi yang berasal dari negara-negara Asia dan sisanya jenis teh lain 2% dari negara Asia (Huang *et al*, 2017; Islam *et al*, 2018).

Kombucha adalah salah satu olahan hasil fermentasi gula dan teh dengan campuran starter kultur kombucha yang disebut SCOBY (*Symbiotic Cultures of Bacteria and Yeasts*). Kombucha sudah sejak lama dikenal di luar negeri diantaranya negara Rusia dan China, kombucha dijadikan sebuah minuman kesehatan bagi penduduk tersebut. Teh kombucha memiliki rasa asam dan menyegarkan yang mirip dengan sari apel. Fermentasi teh kombucha dilakukan dengan menggunakan 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 dengan kecepatan rendah apabila tidak menggunakan sukrosa secara langsung, sedangkan khamir akan mendegradasi sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa, setelah itu difermentasi lebih lanjut untuk menghasilkan etanol (Michałowska *et al*, 2016).

Fermentasi teh kombucha biasanya membutuhkan waktu selama 8 hingga 10 hari dan mengandung asam asetat, sejumlah kecil etanol dan CO₂. Lama fermentasi dapat membentuk komposisi yang lebih baik dibandingkan sebelum difermentasi. Struktur kimiawi kombucha didominasi oleh asam organik di antaranya, asetat, glukonik, glukuronat dan polifenol. Manfaat dari mengkonsumsi teh kombucha bagi kesehatan yaitu, sebagai anti-karsinogenik, anti-diabetes, potensi detoksifikasi, peningkatan respon imun, pengobatan tukak lambung dan kolesterol darah tinggi (Filippis *et al*, 2018).

Teh kombucha ini berasal dari bagian tumbuhan (daun) yang diolah menjadi teh. Hal ini telah dituliskan di dalam Q.S Asy-Syu'ara: 7 yang berbunyi:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam pasangan (tumbuh-tumbuhan) yang baik?”.

Pada Q.S Asy-Syu'ara: 7 diatas, menurut tafsir Al Qurthubi ada tiga kata yang ditekankan yaitu kata يَرَوْا yang artinya mempertahankan, زَوْج yang artinya tumbuh-tumbuhan dan كَرِيم artinya baik dan mulia. Dalam ayat tersebut Allah telah menumbuhkan berbagai macam “tumbuh-tumbuhan yang baik” salah satunya teh yang diperoleh dari daun-daunan. Pada teh kombucha ini memiliki banyak khasiat bagi tubuh karena tingginya antioksidan yang dimilikinya. Kandungan antioksidan tinggi didapatkan dari hasil fermentasi teh dengan bantuan bakteri dan khamir.

Proses fermentasi teh dengan kultur kombucha dapat meningkatkan antioksidan dan kandungan vitamin C. Lama fermentasi akan berdampak pada kandungan vitamin C yang ada dalam teh. Semakin lama fermentasi maka semakin turun kandungan vitamin C. 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 aktivitas antioksidan pada teh kombucha.

Vitamin C memiliki banyak manfaat pada kesehatan seperti sistem kekebalan yang kuat, produksi kolagen, penyembuhan luka, kesehatan gigi, regenerasi kulit, jaringan ikat, pembuluh darah. Vitamin C juga dapat membantu

menangkal banyak penyakit terkait dengan oksidasi. Kandungan vitamin C dalam teh kombucha rata-rata 25 mg/L, konsentrasi vitamin C terus meningkat, mencapai 28,98 mg/L pada hari kesepuluh fermentasi (Özdemir and Çon, 2017; Soto *et al*, 2018).

Kandungan vitamin C memiliki hubungan terhadap aktivitas antioksidan.. Fermentasi teh kombucha diketahui meningkatkan aktivitas antioksidan. Peningkatan aktivitas antioksidan terjadi karena adanya zat bebas fenolik yang diperoleh selama proses fermentasi, karena semakin tinggi kandungan fenolik yang dihasilkan, semakin tinggi aktivitas antioksidan. Selama fermentasi kombucha, mikroorganisme juga menghasilkan asam organik yang dapat mempengaruhi rasa dan aroma kombucha, sehingga lama fermentasi dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan kombucha (Fibrianto *et al*, 2020).

Perubahan yang terjadi selama fermentasi dengan kultur kombucha akan mengakibatkan perubahan kadar fenolik yang semakin meningkat karena perbedaan waktu lama fermentasi, tetapi perbedaan nilai tersebut tidak terlalu jauh. Selain itu, proses pembuatan teh kombucha dengan perbedaan lama fermentasi dan jenis teh seperti jenis teh hijau dan teh hitam dapat menghasilkan perbedaan rasa, aroma, komposisi dan jumlah kandungan kimia didalamnya.

Pembuatan teh kombucha yang dibuat dari berbagai variasi daun yaitu daun salam, daun jambu, daun sirih, daun sirsak, daun kopi, dan daun teh, menyatakan bahwa teh kombucha terbaik adalah yang terbuat dari daun teh, karena di dalam daun teh paling tinggi tingkat antioksidannya (Purnami dkk, 2018). Penelitian ini menggunakan teh hijau dan teh hitam karena termasuk jenis teh yang paling banyak dikonsumsi. Kedua jenis teh tersebut memiliki perbedaan dalam proses pembuatan teh meliputi teh hijau (non-fermentasi) dan teh hitam (difermentasi) (Kaewkod *et al*, 2019). Dalam proses pengolahan, teh hitam melewati proses pelayuan, penggilingan, fermentasi, pengeringan dan sortasi. Proses penggilingan pada pembuatan teh hitam bertujuan untuk memecah dinding sel-sel pada daun teh sehingga proses fermentasi dapat berlangsung secara merata.

Proses pengolahan teh hijau hampir sama dengan pengolahan teh hitam namun ada sedikit perbedaan dalam proses pelayuan, penggilingan dan fermentasinya (Wardani dan Fernanda, 2016). Dalam pengolahan teh hijau, proses

pelayuan dilakukan dengan pemanasan menggunakan uap panas untuk menginaktifkan enzim oksidase atau fenolase yang terdapat dalam pucuk daun teh segar. Dengan menginaktifkan enzim oksidase atau fenolase tersebut maka proses oksidasi enzimatis akan terhambat. Proses penggilingan berjalan lebih cepat dibandingkan dengan teh hitam, sekitar 30 menit. Teh hijau diproses dengan metode pengeringan alami, sehingga disebut dengan teh non-fermentasi (Batista *et al*, 2021). Tahapan pembuatan teh hitam menurut Kunarto (2005) meliputi pelayuan, penggilingan dan penggulingan dan sortasi basah, fermentasi, pengeringan, serta sortasi kering. Proses pengeringan dalam produksi teh hitam menggunakan panas yang cukup tinggi dan lama.

Masalah kesehatan memiliki peranan penting dalam kehidupan manusia bisa dibilang kini menjadi salah satu kebutuhan primer dalam kehidupan kita. Namun, dengan berkembangnya zaman banyak makanan dan minuman yang justru menimbulkan penyakit, karena terlalu banyak bahan pengawet dan bahan kimia yang dimasukkan dalam makanan dan minuman tanpa kita ketahui. Inilah yang mendorong orang untuk mencari makanan dan minuman alternatif yang aman di konsumsi juga dapat memberikan kesehatan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Berapakah lama fermentasi yang dibutuhkan teh hijau dan teh hitam setelah fermentasi kombucha untuk memiliki kandungan vitamin C paling optimum?
2. Berapakah lama fermentasi yang dibutuhkan teh hijau dan teh hitam setelah fermentasi kombucha untuk memiliki aktivitas antioksidan dengan penghambatan DPPH yang paling optimum ?

1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah di atas tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Menentukan lama fermentasi kombucha dari teh hijau dan teh hitam yang paling optimum terhadap kandungan vitamin C.
2. Menentukan lama fermentasi kombucha teh hijau dan teh hitam yang paling optimum terhadap aktivitas antioksidan dengan penghambatan DPPH.

1.4 Manfaat

Manfaat yang diharapkan dapat diperoleh dari penelitian ini adalah:

1. Bagi masyarakat
Memberikan bahan informasi kepada masyarakat bahwa teh kombucha merupakan minuman fermentasi mengandung vitamin C 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 yang berpengaruh terhadap kandungan vitamin C.

1.5 Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang dapat diajukan dari penelitian ini adalah:

1. Ada pengaruh lama fermentasi terhadap kandungan vitamin C teh kombucha.
2. Ada pengaruh lama fermentasi terhadap aktivitas antioksidan teh kombucha.

1.6 Batasan masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Jenis teh yang digunakan yaitu teh hijau dan teh hitam
2. Lama fermentasi terdiri dari hari ke 5, 7, 9 dan 11.
3. Kultur kombucha didapatkan dari www.indokombucha.com berukuran diameter 9 cm.
4. Jumlah berat teh dan gula yang digunakan sama antara teh hijau dan teh hitam yaitu 10% (b/v) (Zubaidah *et al*, 2019).
5. Aktivitas antioksidan ditentukan dengan metode penghambatan DPPH.

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Teh

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). Seperti yang dijelaskan dalam Q.S Ta-Ha: 53 yang berbunyi:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ
السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِنْ نَبَاتٍ شَتَّى

Artinya: “Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam”.

Ayat tersebut menjelaskan mengenai jenis tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam. Allah SWT menciptakan tumbuhan yang memiliki fungsi dan manfaat masing-masing, mulai dari akar hingga daun semua bagian tumbuhan memiliki manfaat bagi manusia, seperti daun teh yang memiliki banyak manfaat kesehatan bagi manusia. Tafsir Al-Wajiz/Syaikh Prof. Dr. Wahbah az-Zuhaili bahwa Dzat yang menciptakan untuk kalian bumi yang terhampar layaknya kasur supaya bisa hidup di atasnya dengan mudah, dan memudahkan untuk kalian jalan yang bisa kalian lewati dari satu tanah menuju tanah lainnya supaya kalian bisa

mendapatkan manfaatnya. Serta menurunkan hujan dari langit (awan), lalu dengan hujan itu Kami menumbuhkan berbagai jenis tumbuhan yang berbeda-beda warna, rasa dan aromanya. Contoh dari tafsir tersebut yaitu daun teh yang memiliki rasa, bentuk yang berbeda-beda dan memiliki kegunaan dalam kesehatan bagi manusia.

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).

2.2 Jenis-Jenis Teh

Jenis-jenis teh yang paling umum berdasarkan pengolahannya yaitu teh hijau (teh tidak difermentasi) dan teh hitam (difermentasi) (Kaewkod *et al*, 2019):

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).

Teh hijau memiliki banyak manfaat kesehatan, seperti penghambatan pertumbuhan mikroba dan virus berbahaya, serta pengurangan risiko penyakit kardiovaskular dan kanker, karena efek katekin sebagai zat bioaktif utama. Konsumsi teh hijau juga dipengaruhi oleh rasa utama yang terdiri dari rasa pahit, enak dan sisa rasa manis (Xu *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 dibandingkan dengan teh hitam. Setiap 2 gram teh hijau mengandung rata-rata 2 mg vitamin C (Rossi dkk, 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 utama dari total Senyawa fenolik dalam daun teh hijau adalah flavonoid yang menutupi 90% kering berat senyawa fenolik. Daun teh hijau segar memiliki katekin (flavonol) dengan jumlah yang besar yaitu 30% dari kering bobot. Komposisi daun teh hijau dapat ditentukan oleh asal geografis, ketinggian tempat tumbuh atau kondisi iklim yang berbeda. (Bharti and Singh, 2019). Komponen fenolik teh hijau yang melimpah adalah flavonoid, yang merupakan lebih dari 70% dari total senyawa fenolik yang ada dalam warna teh hijau. Teh hijau mengandung 4–16% lemak, mineral, vitamin, protein, asam amino, sterol, perisa dan triterpenoid. Komponen lainnya mengandung asam galat dan flavonol (katekin) dalam jumlah yang lebih tinggi, sehingga antioksidan didalam teh hijau lebih baik dibandingkan dengan teh hitam. Polifenol yang ada dalam teh hijau juga memiliki sifat anti-inflamasi, antijamur, antimutagenik, antiklastogenik, antikarsinogenik, kemopreventif dan terapeutik (Lorenzo and Munikata, 2016).

2. Teh Hitam

Teh hitam merupakan salah satu teh yang paling banyak dikonsumsi di Indonesia. Teh hitam diproduksi sebanyak 78%, kemudian teh hijau 20% dan

sisanya merupakan jenis teh lainnya. Daun teh hitam memiliki kandungan golongan fenol yang berfungsi sebagai penghilang infeksi jamur. Manfaat lain dari teh hitam yaitu sebagai antioksidan, anti-jamur dan dapat mencegah penyakit kardiovaskuler (Felita, 2017). Proses pembuatan teh hitam dilakukan dengan tahap fermentasi. Proses awal dilakukan dengan mengambil daun teh yang masih hijau dan diletakkan diatas wadah, kemudian dilakukan proses pelayuan selama 12-18 jam. Setelah itu, masuk proses penggilingan hingga daun hancur, kemudian keluar minyak esensial dan sari teh hingga muncul aroma khas. Proses selanjutnya dibawa ke tempat yang lembab dan dingin untuk difermentasi. Setelah itu, warna daun teh menjadi gelap dan sarinya menjadi kurang pahit, hal tersebut terjadi selama proses fermentasi (Ardheniati, 2008). Mekanisme perubahan tersebut terjadi karena ada senyawa nonvolatil, seperti asam organik, gula, dan asam amino bebas (FAA) yang umumnya bertanggung jawab atas rasa dalam teh hitam. FAA sangat menarik karena tidak hanya berkontribusi pada rasa gurih, bahkan memiliki korelasi positif dan signifikan dengan kualitas sensorik lainnya (termasuk aroma dan warna) (Ouyang *et al*, 2020). Selain itu, selama proses fermentasi, oksidasi enzimatis dari polifenol yang ditemukan dalam teh menghasilkan pembentukan theaflavin dan thearubigins, yang memberikan warna hitam dan rasa khas yang terdapat dalam teh hitam (Nakov *et al*, 2020).

Teh hitam memiliki kandungan vitamin C yang sangat sedikit dibandingkan dengan teh hijau, hal tersebut karena teh hitam telah melalui proses oksidasi (pengolahan) yang dapat merusak kandungan vitamin C. Setiap 2 gram teh hitam hanya memiliki kurang lebih 0,2 mg vitamin C, sehingga didalam teh hitam terkandung theaflavin sebagai sumber antioksidan. Theaflavin hampir sama dengan katekin yang terdapat didalam teh hijau, karena kandungan antioksidan alami ini berfungsi sebagai penangkal radikal bebas (Ulfa dkk, 2016). Theaflavin dan thearubigin adalah karakteristik polifenol dalam teh hitam dan hasil dari oksidasi daun teh selama tahap fermentasi dalam pemrosesan teh. Teh hitam memiliki banyak komponen seperti flavonoid (katekin), asam fenolat, asam kauramat, methylxanthines (kafein), asam amino (theanine), karbohidrat, lipid, protein, β -karoten, volatil senyawa-fluoride, vitamin C, K, A dan folat. Theanine merupakan asam amino yang utama di teh hitam dengan lebih dari 50% dari

semua asam amino. Beberapa asam amino lain seperti alanin dan arginin berkontribusi pada rasa pahit pada teh (Naveed *et al*, 2018).

2.3 Fermentasi Kombucha

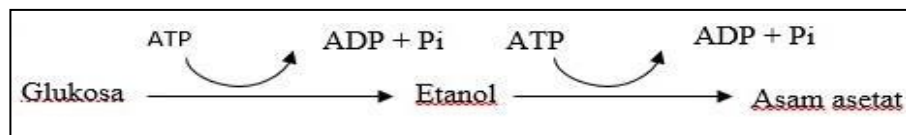
Tahapan fermentasi terbagi dalam dua tahap, diantaranya fermentasi aerob dan anaerob. Tahapan fermentasi aerob dimulai ketika gula akan diubah menjadi H_2O , CO_2 , dan energi. Tahapan fermentasi aerob sering dikatakan sebagai masa pertumbuhan yeast. Apabila masa pertumbuhan yeast berakhir yang ditandai dengan habisnya oksigen, maka proses fermentasi anaerob dimulai. Fermentasi aerob terjadi selama proses kombucha berlangsung. Parameter yang tepat untuk proses fermentasi kombucha menentukan kualitas minuman yang diperoleh, termasuk kandungan bahan yang baik (Skocińska *et al*, 2017). Di dalam kondisi aerob dapat dilakukan dengan simbiosis kombucha untuk mengubah gula dan teh dalam waktu 7 hingga 10 hari dalam waktu yang singkat, sehingga menghasilkan minuman berkarbonasi, sedikit asam, dan menyegarkan yang tersusun dari beberapa asam, 14 asam amino, vitamin, dan beberapa enzim hidrolitik (Soto *et al*, 2018).



Gambar 2.1: fermentasi kombucha (Sumber: Amarasinghe *et al*, 2018)

Fermentasi kombucha dilakukan pada suhu kamar, mengoptimalkan waktu fermentasi. Substrat yang digunakan dalam fermentasi kombucha terdiri dari 10 g / L yang dicampur dengan sukrosa digunakan sebagai sumber karbon utama dalam konsentrasi 5-8 %, kemudian menyediakan media dan nutrisi yang diperlukan untuk perkembangan mikroorganisme (Kaewkod *et al*, 2019). SCOBY (*Symbiotic Cultures of Bacteria and Yeasts*) yang dihasilkan pada konsentrasi 10% dari sebelumnya fermentasi dapat digunakan sebagai kultur starter untuk fermentasi (Leal *et al*, 2018).

Konsentrasi asam asetat yang terdapat pada kombucha akan mengalami kenaikan hingga batas tertentu kemudian mengalami penurunan. Menurut Kadir (2003) pH medium turun terjadi karena penguraian gula hingga mendapatkan etanol oleh *Saccharomyces* dan *Acetobacter xylinum*, setelah itu diganti menjadi asam asetat, contoh reaksinya sebagai berikut:

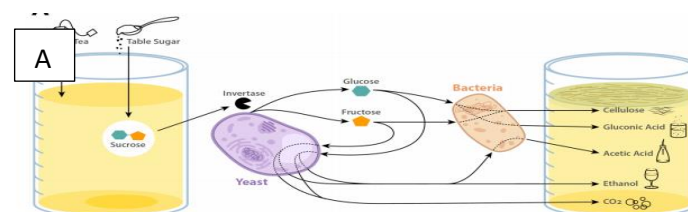


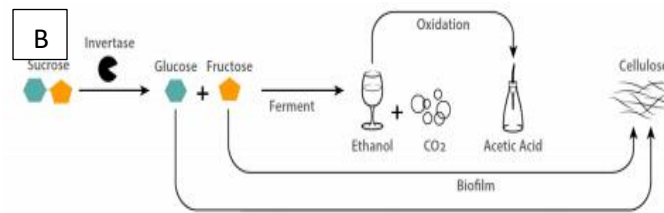
Fermentasi kombucha terdiri dari alkohol, laktat dan asetat, karena terdapat beberapa bakteri dan khamir hidup berdampingan di medium. Proses dibantu mikroorganisme osmotoleran yang didominasi oleh asam sejenis (Soto *et al*, 2018). Ada banyak genus dan spesies khamir dalam kultur kombucha yang terdiri dari spesies *Zygosaccharomyces*, *Candida*, *Kloeckera/Hanseniaspora*, *Torulaspora*, *Pichia*, *Brettanomyces/Dekkera*, *Saccharomyces*, *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 Gramnegatif (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.*, *Torulaspora 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). 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 2.2** menurut May, *et al* (2019):





Gambar 2.2: metabolisme kombucha dan interaksi mikroba

(A) Kombucha diseduh dengan menambahkan teh dan gula ke dalam sedikit starter kombucha yang mengandung khamir dan bakteri. Mikroba ini mulai memecah gula, menyebabkan aliran metabolisme yang menghasilkan minuman bergelembung, asam, dan sedikit beralkohol. (B) Selama proses fermentasi, terjadi interaksi kooperatif dan kompetitif antar mikroba. 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.

2.3.1 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Fermentasi Kombucha

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

1. pH

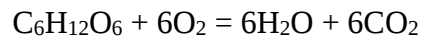
Nilai pH yang terlalu tinggi justru dapat mengganggu aktivitas biologis fermentasi mikroba karena asidogen umumnya berfungsi dari pH 4 hingga 8,5 (Maspolim *et al*, 2015).

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 optimun atau suhu dibawah rata-rata akan mengakibatkan pertumbuhan mikroorganisme akan berhenti dan sel-sel akan mati (Vitas *et al*, 2013).

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).

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.

2.4 Teh Kombucha

Teh kombucha sudah sejak lama dikenal manusia dalam kurun waktu yang sangat panjang. Banyak masyarakat menduga bahwa teh kombucha pertama kali berasal dari China. Masyarakat disana sudah mengenal jenis the fermentasi ini sejak sekitar 2000 tahun yang lalu (Amarasinghe *et al*, 2018). Pada tahun 221 SM diketahui bahwa para penduduk disana telah terbiasa minum teh kombucha setiap hari dan sudah mengetahui khasiatnya sebagai penjaga kesehatan tubuh. Masyarakat China telah menganggap teh kombucha sebagai minuman yang dapat membuat usia menjadi lebih panjang, sehingga mereka memberi nama minuman

ini “tea of immortality” (Naland, 2008). Teh kombucha juga digunakan sebagai obat tradisional yang efektif di negara Rusia pada tahun 1800-an. Kombucha mulai menyebar ke negara saat Perang Dunia I yaitu negara Jerman dan Rusia, setelah itu kombucha semakin berkembang hingga ke negara-negara lain di Eropa, Afrika dan Asia (Kim and Adhikari, 2020).

Teh kombucha adalah fermentasi tradisional teh manis yang dilakukan dengan menggunakan simbiosis bakteri asam asetat dan spesies ragi seperti bakteri *xylinum*, bakteri *xylinoides*, bakteri *glukonikum*, *Saccharomyces ludwigii*, *Saccharomyces varietas apiculatus*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Acetobacter ketogenum*, *varietas Torula*, *Pichia fermentans*. Selama proses fermentasi, bakteri dan ragi memetabolisme sukrosa menjadi sejumlah asam organik seperti asam asetat dan asam glukuronat, asam amino, antibiotik dan berbagai mikronutrien. Kombucha dikatakan dapat meningkatkan daya tahan tubuh terhadap kanker, mencegah penyakit kardiovaskular, meningkatkan pencernaan, merangsang kekebalan dan mengurangi peradangan. Selain itu, mengandung detoksifikasi hati, antioksidan, polifenol, probiotik dan bentuk bebas asam amino (Lobo *et al*, 2017). Proses fermentasi dilakukan selama 7-14 hari. Setelah sampai 10-14 hari fermentasi, SCOBY baru memiliki tebal kultur hingga 8-12 mm yang terpisah dari induk inakulasi (Soto *et al*, 2019).

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) (Ivanišová *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). Teh kombucha memiliki unsur-unsur yang berguna bagi manusia contoh pada **Tabel 2.1**.

Berikut merupakan unsur-unsur teh kombucha:

Tabel 2.1 Unsur-unsur Teh Kombucha (Naland, 2008)

Unsur-unsur teh kombucha	Kegunaan bagi manusia
Asam laktat	Proses saluran penutrisi tubuh manusia
Asam asetat	Menghalangi bakteri beresiko
Asam malat	Sebagai penghambat racun tubuh
Asam oksalat	Mencegah kerusakan alami
Asam glukonat	anti jamur
Asam butirat	anti infeksi khamir
Asam nukleat	Perbaikan jaringan yang rusak
Asam folat	Pembentukan substansi antar sel
Asam glukuronat	Memproduksi sel-sel darah
Asam hyaluronic	Penghubung racun berbahaya
Antibiotik	Mehambat pertumbuhan mikroba
Antioksidan	Meningkatkan daya tahan tubuh
Vitamin B1	Pembentukan protein
Vitamin B2	Metabolisme tubuh
Vitamin B3	Tahapan asam amino, lemak dan karbohidrat
Vitamin B6	Menurunkan kadar kolestrol
Vitamin B12	Memperbaiki saluran penutrisi
Vitamin B15	Metabolisme antar sel pada tubuh
Vitamin C	Sebagai oksigenator dalam tubuh

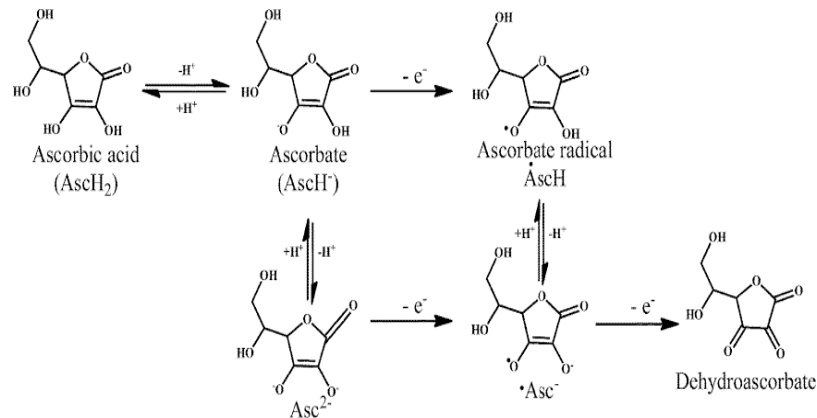
2.5 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menunda, menghambat, atau mencegah oksidasi bahan yang dapat teroksidasi dengan membersihkan radikal bebas dan mengurangi stres oksidatif. Sebagian besar antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan termasuk dalam golongan senyawa fenolik, polifenol, karotenoid dan vitamin. Selain itu, potensi antioksidan terkait dengan keberadaan senyawa lain seperti alkaloid. Senyawa alkaloid adalah senyawa nitrogen dengan berat molekul rendah, dibandingkan senyawa fenolik (Carp *et al*, 2021). Teh

hitam kombucha memiliki kandungan fenolik total 1,09 mg GAE/mL, sedangkan teh hijau kombucha dengan 0,70 mg GAE/mL. Sebanyak 127 senyawa fenolik diidentifikasi dalam kombucha teh hijau dan teh hitam yang sebagian besar termasuk dalam kelas flavonoid (70,2%), diikuti oleh asam fenolat (18,3%), polifenol lainnya (8,4%), lignan (2,3%), dan stilbenes (0,8%) (Cardoso *et al*, 2020). Antioksidan dapat dibagi menjadi reaktif oksigen spesies (ROS) enzimatis dan non-enzimatis berdasarkan fungsi biologisnya. Antioksidan enzimatis terdiri dari katalase (CAT), superoksida dismutase (SOD), glutathione peroksidase, glutathione reduktase, glutamyl transpeptidase (GT). Antioksidan non-enzimatis adalah senyawa yang meliputi mineral (selenium, seng) vitamin (C, E) dan juga asam urat, ubiquinol, tokoferol, retinol dan glutathione (Warraich *et al*, 2020).

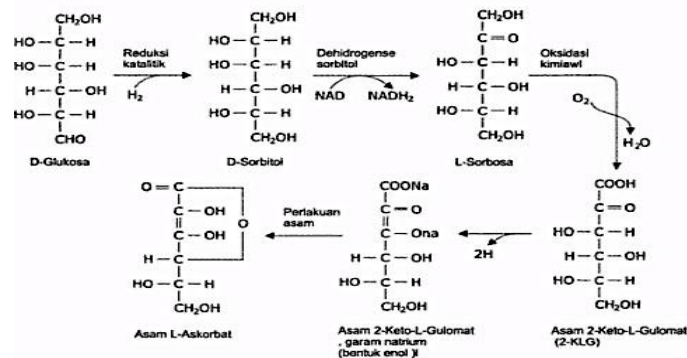
2.5.1 Vitamin C

Vitamin C memiliki sifat antioksidan yang kuat dan berinteraksi dengan H_2O_2 , radikal hidroksil (OH) dan O_2 , kemudian mengubahnya menjadi produk non-radikal, menyediakan sel dengan penetralisir radikal bebas. Pada konsentrasi yang cukup tinggi, asam askorbat mengurangi dan menghancurkan radikal yang terbentuk. kemampuan antioksidan plasma di bawah tekanan oksidatif menunjukkan bahwa tingkat asam askorbat telah diturunkan lebih awal, kemudian setelah penipisan, peroksidasi lipid telah berkembang, sehingga tokoferol (antioksidan yang larut dalam lemak) plasma berada di konsentrasi normal (Nikolova *et al*, 2019). Vitamin C (Vitamin C, asam askorbat) termasuk dalam kelompok vitamin yang larut dalam air. Vitamin C terdiri dari dua bentuk yaitu tereduksi asam askorbat (AA) yang tepat yang dalam pH fisiologis terjadi dalam bentuk anion dari askorbat dan yang teroksidasi asam dehidroaskorbat (DHA) yang merupakan produk dari dua oksidasi elektron asam askorbat. Dalam proses metabolisme radikal bebas askorbat dapat diproduksi sebagai hasil dari oksidasi satu elektron. proses ini selanjutnya dapat mengalami pembongkaran membentuk askorbat dan DHA (Kocot *et al*, 2017).



Gambar 2.4: Mekanisme antioksidan vitamin C (Haryanto, 2018)

Vitamin C merupakan salah satu vitamin yang dapat terlarut didalam air. Vitamin C memiliki berbagai manfaat kesehatan untuk tubuh, salah satunya sumber antioksidan. Selain itu vitamin C juga bermanfaat sebagai senyawa pembentuk kolagen yang merupakan protein penting penyusun jaringan kulit, tulang, sendi dan jaringan penyangk lainnya (Mulyani, 2018). Manfaat lain vitamin C menurut Nerdy (2018) bahwa vitamin C dikenal sebagai senyawa penting dalam tubuh seperti pembawa lemak, pengatur kolesterol, dan kekebalan tubuh. Kadar vitamin C dalam sel darah putih lebih tinggi daripada dalam plasma, sehingga mengindikasikan peran fungsional vitamin dalam sel sistem kekebalan tubuh. Vitamin C terbukti berpengaruh dalam fungsi fagosit, produksi interferon, replikasi virus, dan pematangan Limfosit-T, efek dari vitamin C yaitu untuk kekebalan tubuh (Hemilä, 2017). Kebutuhan harian mengonsumsi vitamin C bergantung pada usia dan jenis kelamin. Rata-rata membutuhkan 80 mg/ hari untuk di bawah usia 18 tahun, sedangkan usia diatas 18 tahun membutuhkan 85 mg/ hari (Hidayah, 2020).



Gambar 2.5: Proses Sintesis Vitamin C oleh *Acetobacter xylinum* (Haryanto, 2018)

Proses fermentasi bakteri *Acetobacter xylinum* akan mendapatkan vitamin C dari D-Glukosa yang kemudian tereduksi menjadi D -sorbitol. Pada tahap awal fermentasi, senyawa D-sorbitol akan berubah bentuk menjadi L-sorbosa dengan adanya enzim yang dihasilkan oleh bakteri *Acetobacter xylinum*. Gugus alkohol dari senyawa gula dapat dioksidasi oleh bakteri dengan adanya oksigen. L-Sorbosa yang telah mengalami fermentasi lebih lanjut akan diubah menjadi vitamin C (Darmawan *et al*, 2018). Selain itu, adanya aktifitas *Saccharomyces cerevisiae* yang terkandung dalam starter kombucha yang mengoksidasi sukrosa dalam substrat menjadi CO₂ dan H₂O. Selanjutnya CO₂ dan H₂O bereaksi membentuk asam askorbat. vitamin C rusak yang terjadi karena terdapat reaksi dari bakteri yang bisa menghasilkan enzim L-gulonolakton oksidase yang berperan dalam perubahan L-gulonolakton oksidase ke bentuk 2-keto-L-gulonolakton sebagai tahap akhir dalam sintesis vitamin C (Nurikasari *et al*, 2017).

Vitamin C terdapat dua gugus alkohol yang bersifat asam dan gugus endiol, hal tersebut karena vitamin C merupakan agen pereduksi. Vitamin C teroksidasi menghasilkan asam dehidroaskorbat, setelah itu mengalami hidrolisis menghasilkan asam 2, 3- diketoglutanat dalam air, sehingga semakin kecil kandungan airnya, maka vitamin C akan semakin sulit terdegradasi. Selain itu, tahapan oksidasi vitamin C dapat dipercepat dengan adanya cahaya, panas, kation logam berat, seperti tembaga dan besi (Devianti dan Wardhani, 2018).

2.5.2 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. Senyawa fenolik yang ada di kombucha, diantaranya flavonoid dan katein (Cardoso *et al*, 2020). Proses fermentasi berpengaruh terhadap peningkatan sifat antioksidan yang mengacu pada teh, dengan lama fermentasi dan jenis tehnya. 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). 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 dkk, 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).

Metoda 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 perendaman 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). 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 hydrogen yang didonorkan oleh antioksidan. Setelah mendapatkan atom hydrogen kemampuan absorpsi DPPD menjadi berkurang dan membuat warna DPPH berubah menjadi kuning pucat yang kemudian akan dibaca dengan spektrofotometer UV-Vis (Aji, 2014).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

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 (5, 7, 9 dan 11 hari). Faktor kedua jenis teh yang digunakan, terdiri atas 2 jenis yaitu teh hijau dan teh hitam. Setiap perlakuan diulang 3 kali.

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah kandungan vitamin C dan aktivitas antioksidan pada setiap perlakuan. Penentuan jumlah pengulangan menurut Felita (2017) dapat dihitung dengan rumus:

$$t(r-1) \geq 15$$

Keterangan:

t = *treatment* (jumlah perlakuan)

r = *replication* (jumlah pengulangan)

15= derajat kebebasan umum

Jumlah perlakuan dalam penelitian ini ada delapan, maka diperlukan jumlah pengulangan sebagai berikut:

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

$$t(r-1) \geq 15$$

$$(8-1)(r-1) \geq 15$$

$$7(r-1) \geq 15$$

$$7r - 7 \geq 15$$

$$7r \geq 15 + 7$$

$$7r \geq 22$$

$$r \geq 22:7$$

$$r = 3,1 = 3$$

T \ P	Kontrol	(Hari) 5	(Hari) 7	(Hari) 9	(Hari) 11
Hijau (T ₁)	KT ₁	P ₁ T ₁	P ₂ T ₁	P ₃ T ₁	P ₄ T ₁
Hitam (T ₂)	KT ₂	P ₁ T ₂	P ₂ T ₂	P ₃ T ₂	P ₄ T ₂

Keterangan:

KT₁ -KT₂ = Kontrol teh hijau dan teh hitam tanpa fermentasi

P₁T₁ = Perlakuan pertama dengan fermentasi 5 hari, teh hijau pertama

P₂T₁ = Perlakuan kedua fermentasi 7 hari, teh hijau kedua

P₃T₁ = Perlakuan ketiga fermentasi 9 hari, teh hijau ketiga

P₄T₁ = Perlakuan keempat fermentasi 11 hari, teh hijau keempat

P₁T₂ = Perlakuan pertama fermentasi 5 hari, teh hitam pertama

P₂T₂ = Perlakuan kedua fermentasi 7 hari, teh hitam kedua

P₃T₂ = Perlakuan ketiga fermentasi 9 hari, teh hitam ketiga

P₄T₂ = Perlakuan keempat fermentasi 11 hari, teh hitam keempat

Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali ulangan

a. Populasi Penelitian

Dalam penelitian ini yang menjadi populasi adalah seluruh teh kombucha dari teh hijau dan teh hitam dengan volume setiap toples 500 ml.

b. Sampel Penelitian

Dari masing-masing teh kombucha teh hijau dan teh hitam yang dihasilkan, diambil masing-masing 150 ml teh setiap perlakuan dan pengulangan.

c. Variabel Penelitian

Terdapat tiga variable dalam penelitian ini, yakni:

- 1) Variabel Bebas : Lama fermentasi (5, 7, 9 dan 11 hari) dan jenis teh yang digunakan adalah teh hijau dan teh hitam.
- 2) Variabel Terikat : Kandungan vitamin C, aktivitas antioksidan
- 3) Variabel Terkendali : Suhu medium, konsentrasi gula, konsentrasi teh, *SCOBY*.

3.2 Tempat dan Waktu

Pelaksanaan penelitian analisis vitamin C dan aktivitas antioksidan terhadap lama fermentasi dan jenis-jenis teh dilakukan di laboratorium Mikrobiologi dan Genetika Molekuler Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. Penelitian dilakukan selama 5 bulan dari bulan Februari hingga Juli 2021.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu kompor, panci, beaker glass, tabung reaksi, erlenmeyer, spektrofotometer, pH meter, saringan, pengaduk, kain, gelas ukur, timbangan, karet gelang, kertas label dan alat tulis.

3.3.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ialah kultur kombucha (didapatkan dari www.indokombucha.com), air, gula pasir (merk gulaku), teh hijau, teh hitam, larutan amilum, aquades, larutan DPPH, larutan iodin, dan metanol.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Tahap Pembuatan kombucha

Menurut Zubaidah *et al* (2019) tahapan pembuatan kombucha dilakukan dengan tahapan sebagai berikut:

Tahap awal dengan menyiapkan media fermentasi dengan pemanasan masing-masing medium 500 ml air dalam beaker glass steril sampai suhu 100° C hingga mendidih, dilanjutkan dengan penambahan masing-masing teh hijau 10% (b/v) dan teh hitam 10% (b/v). Kemudian masing-masing campuran hasil teh hijau dan teh hitam disaring. Setelah itu, ditambahkan masing-masing gula 10% (b/v), dan diencerkan sampai homogen. Setelah semua selesai medium didinginkan hingga suhu ruang. Selanjutnya, media olahan teh hijau dan teh hitam dikombinasikan dengan kultur kombucha 10% (b/v). Selanjutnya, botol ditutup dengan kain dan ditutup dengan karet. Kemudian disimpan pada suhu ruang dan difermentasi selama 5, 7, 9, 11 hari.

3.5 Pengamatan

3.5.1 Pengukuran Vitamin C

Pengukuran vitamin C dilakukan dengan menggunakan metode titrasi iodium menurut Nurikasari, *et al* (2017) yaitu dengan mengambil 10 ml filtrat, dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Kemudian menambahkan 20 ml aquades dan ditambahkan 2 ml larutan amilum 1%. Selanjutnya, mentitrasi sampai berwarna biru dengan larutan iodine 0,01 N. Mentitrasi blanko dengan mengambil 20 ml aquades + 2 ml larutan amilum 1% ke dalam erlenmeyer, lalu mentitrasi dengan larutan iodine 0,01 N sampai berwarna biru.

Menurut Zamroni, dkk (2020) Kandungan vitamin C (mg/100gr) dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Kandungan vitamin C \%} = \frac{(\text{Vol I2} \times 0,88 \times \text{Fp})}{\text{W sampel (g)}} \times 100\%$$

Keterangan:

Vol I2 : Volume iodine (mL)
 0,88 : 0,88 mg Vitamin C setara dengan 1 mL larutan I2 0,01 N
 Fp : faktor pengenceran
 Ws : Berat sampel (g)

3.5.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

Menurut Dwiputri and Feroniasanti (2019) pengukuran aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Tahap uji antioksidan dengan metode DPPH dilakukan dengan mencampurkan 1 ml teh kombucha dan 1 ml larutan DPPH didalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambahkan pelarut metanol sampai volume akhir menjadi 5 ml. Tahap selanjutnya tabung reaksi ditutup menggunakan aluminium foil, kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Sampel kontrol disiapkan dengan mencampurkan 1 ml DPPH dan 4 ml metanol, tanpa penambahan larutan kombucha. Absorbansi larutan dibaca setelah inkubasi menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 517 nm.

Perhitungan persentase penghambatan DPPH oleh antioksidan dihitung dengan persamaan (Dwiputri and Feroniasanti, 2019):

$$\% \text{ Penghambatan DPPH} = \frac{A_1 - A_2}{A_1} \times 100\%$$

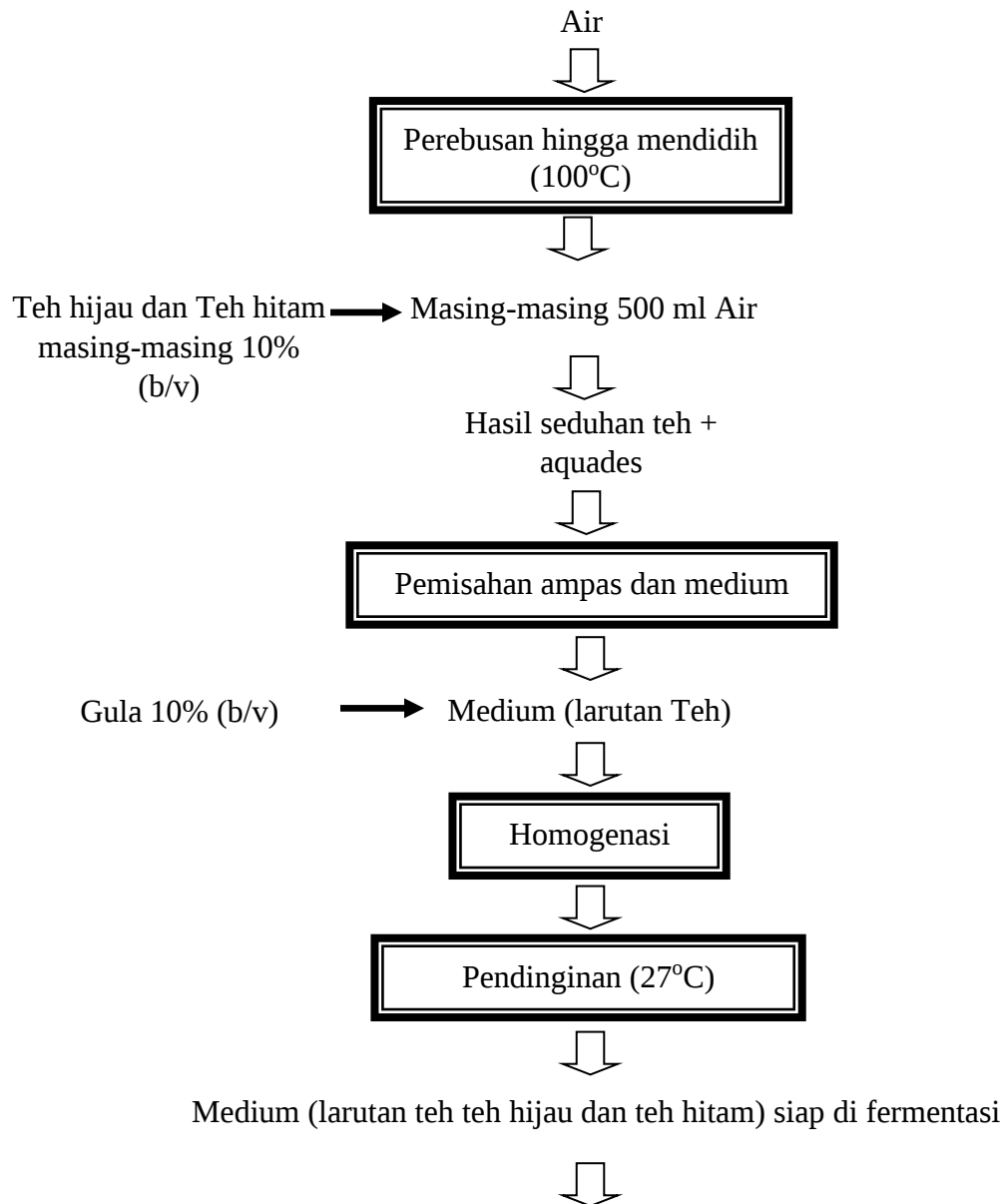
Keterangan:

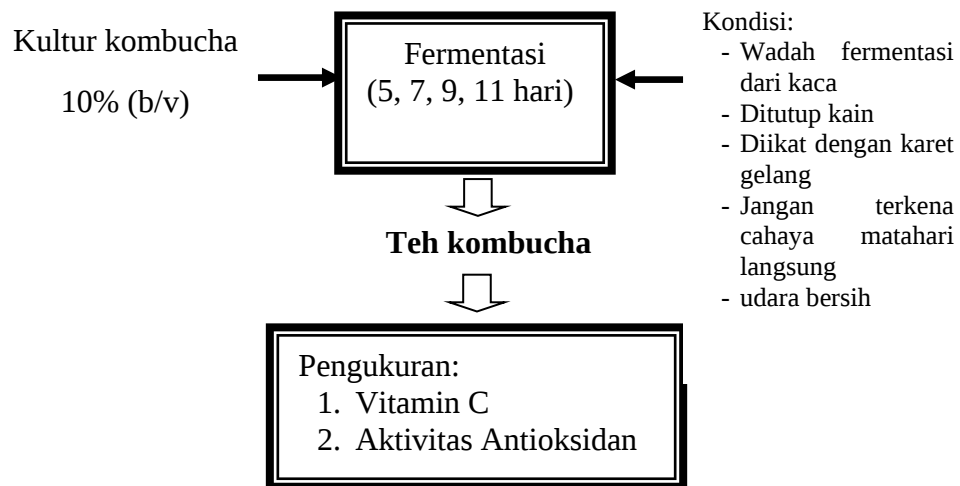
A1 : Absorbansi kontrol

A2 : Absorbansi sampel uji

3.5.3 Diagram Alir Prosedur Penelitian

Diagram alir dalam penelitian ini sebagai berikut:





3.6 Teknik Analisis Data

Penelitian ini menggunakan teknik analisis kuantitatif atau data yang menggunakan angka. Analisis kuantitatif yang digunakan jenis statistik induktif yang artinya sudah ada upaya untuk mengadakan penarikan kesimpulan dan membuat keputusan berdasarkan analisis yang telah dilakukan. Analisis yang digunakan yaitu analisis korelasi dan ANOVA faktorial (Muhson, 2006). Analisis korelasi merupakan analisis statistik yang mencari hubungan dan pengaruh antar dua variabel, misalkan pengaruh lama fermentasi dan jenis teh terhadap kandungan vitamin C dan aktivitas antioksidan teh kombucha. Sedangkan ANOVA faktorial merupakan uji yang dilakukan lebih dari satu faktor yang dipertimbangkan.

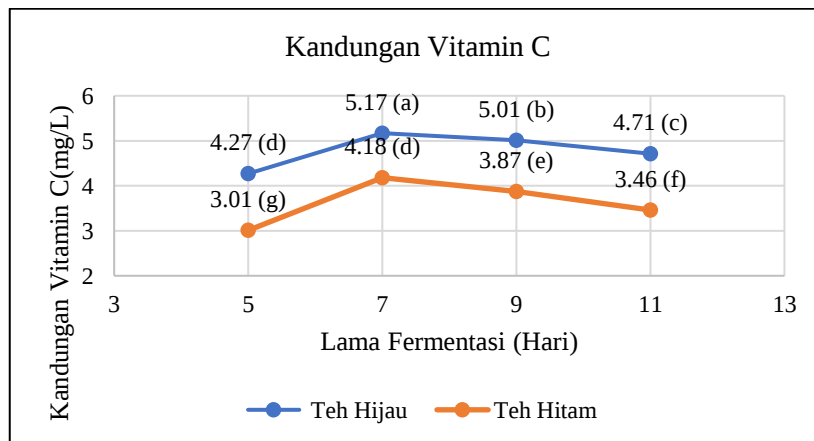
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kandungan Vitamin C Teh Kombucha

Berdasarkan uji homogenitas pada lama fermentasi vitamin C teh hijau dan teh hitam nilai signifikansi menunjukkan bahwa nilai yang diperoleh yaitu lebih dari 0,05 yang artinya data tersebut homogen (**lampiran 4**). Berdasarkan uji korelasi menunjukkan bahwa data antara lama fermentasi dengan vitamin C teh hijau dan teh hitam menunjukkan nilai signifikansi kurang dari 0,05 yang artinya berkorelasi (**lampiran 4**). Adapun nilai signifikansi ANOVA menunjukkan bahwa lama fermentasi dan vitamin C memiliki nilai kurang 0,05 (**lampiran 4**) yang artinya ada pengaruh antara lama fermentasi dan kandungan vitamin C pada kedua jenis teh tersebut.

Berdasarkan uji lanjut menggunakan Duncan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata kandungan vitamin C antara hari ke 5 dengan hari ke 7, baik pada teh hijau maupun teh hitam, tetapi antara perlakuan hari ke 5 teh hijau tidak berbeda nyata dengan perlakuan hari ke 7 pada teh hitam, perlakuan hari ke 7 dengan hari ke 9 dan hari ke 11 berbeda nyata. Sedangkan hari ke 5 teh hijau dengan teh hitam hari ke 7 tidak beda nyata dengan ditandai simbol (d) (**lampiran 2**). Berikut grafik dari kandungan vitamin C teh hijau dan teh hitam kombucha pada **gambar 4.1**



Gambar 4.1 Grafik kandungan vitamin C teh hijau dan teh hitam

Dari grafik diatas (Gambar 4.1) dapat dilihat bahwa lama fermentasi menyebabkan terjadinya peningkatan kandungan vitamin C, baik pada teh hijau maupun teh hitam. Peningkatan kandungan vitamin C pada kedua jenis teh terjadi secara signifikan yang ditandai dengan notasi yang berbeda. Sebelum fermentasi kandungan vitamin C teh hijau 2,83 mg/L dan kandungan vitamin C teh hitam 2,15 mg/L. Setelah fermentasi hari ke 5 mulai terjadi peningkatan kandungan vitamin C yaitu 4.27 mg/L pada teh hijau dan 3.01 mg/L pada teh hitam. Kandungan vitamin C tertinggi didapatkan pada hari ke 7 fermentasi baik pada teh hijau (5,17 mg/L) maupun teh hitam (4,18 mg/L). Namun pada hari ke 9 fermentasi, kandungan vitamin C pada kedua jenis teh mulai mengalami penurunan sampai dengan hari ke 11.

Menurut Sari (2014) bahwa penambahan starter kombucha pada teh yang difermentasi selama 5-11 hari menghasilkan nilai kandungan vitamin C yang baik dihari ke 7. Fermentasi yang lama dapat menghasilkan komponen teh kombucha menjadi lebih baik dikarenakan terdapat beberapa macam komponen seperti asam-asam organik, antibiotik, vitamin yang baik untuk kesehatan. Menurut Naland (2008) asam organik yang didapatkan dari proses fermentasi kombucha salah satunya adalah vitamin C.

Terjadinya peningkatan vitamin C teh kombucha (teh hijau dan teh hitam) karena selama fermentasi, bakteri *Acetobacter xylinum* akan menghasilkan vitamin C dari D-Glukosa yang akan tereduksi menjadi D -sorbitol. Pada tahap pertama fermentasi, senyawa D-sorbitol akan berubah bentuk menjadi L-sorbosa dengan adanya enzim yang dihasilkan oleh bakteri *Acetobacter xylinum*. Gugus alkohol dari senyawa gula dapat dioksidasi oleh bakteri dengan adanya oksigen. L-Sorbosa yang telah mengalami fermentasi lebih lanjut akan diubah menjadi vitamin C (Darmawan *et al*, 2018). Selain itu, aktifitas *Saccharomyces cerevisiae* yang terkandung dalam starter kombucha yang mengoksidasi sukrosa dalam substrat menjadi CO₂ dan H₂O. Selanjutnya CO₂ dan H₂O bereaksi menghasilkan Vitamin C.

Fermentasi yang semakin lama akan mengakibatkan kandungan gula menjadi berkurang, sehingga berpengaruh terhadap kandungan vitamin C yang semakin menurun setelah hari ke 7. Selain itu, dihari ke 9 dan ke 11 penurunan

kandungan mulai terjadi disebabkan rusaknya vitamin C yang terjadi karena terdapat reaksi dari bakteri yang bisa menghasilkan enzim L-gulonolakton oksidase yang berperan dalam perubahan L-gulonolakton oksidase ke bentuk 2-keto-L-gulonolakton sebagai tahap akhir dalam sintesis vitamin C (Nurikasari *et al*, 2017).

Kandungan vitamin C teh hitam lebih rendah dari teh hijau. Hal ini terjadi karena pengolahan teh hitam melalui tahapan pengeringan menggunakan panas yang dapat merusak vitamin C yang memang bersifat termolabil. Dengan kandungan vitamin C awal (sebelum fermentasi) yang lebih rendah menyebabkan kandungan vitamin C pada kombucha teh hitampun lebih rendah daripada kombucha teh hijau.

Vitamin C memiliki manfaat bagi kesehatan manusia, seperti yang telah dijelaskan didalam Q.S Al-Imran: 190 dan Q.S Al-An'am: 99 yang berbunyi:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ
لِّأُولَى الْأَلْبَابِ

Artinya: *Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan pergantian malam dan siang terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berakal (Q.S Al-Imran: 190).*

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ
فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُّخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ
دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ ۚ أَنْظُرُوا
إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۚ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ

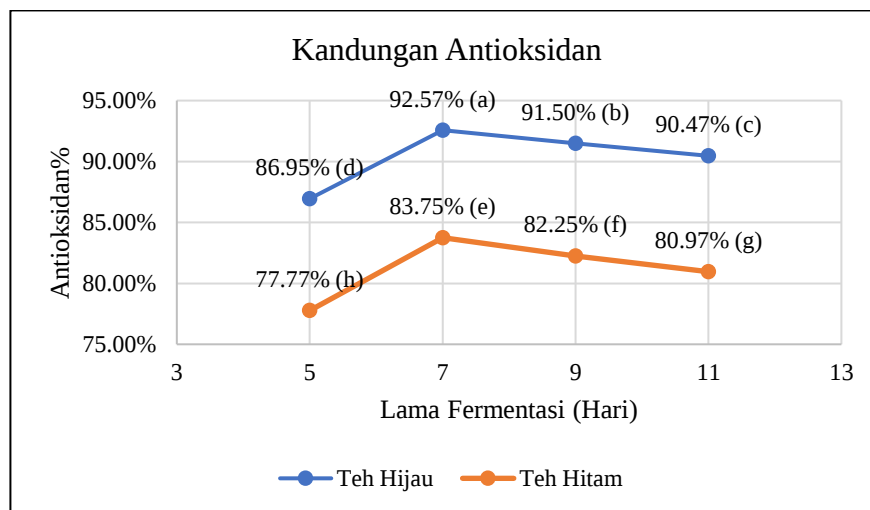
Artinya: *"Dialah yang menurunkan air dari langit lalu dengannya Kami menumbuhkan segala macam tumbuhan. Maka, darinya Kami mengeluarkan tanaman yang menghijau. Darinya Kami mengeluarkan butir yang bertumpuk (banyak). Dari mayang kurma (mengurai) tangkai-tangkai yang menjuntai. (Kami menumbuhkan) kebun-kebun anggur. (Kami menumbuhkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya pada waktu berbuah dan menjadi masak. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang beriman (Q.S Al-An'am: 99).*

Ayat di atas menjelaskan tentang kebesaran Allah yang menurunkan air dari langit dan kemudian menumbuhkan berbagai macam tanaman, yang mana setiap tanaman membutuhkan cahaya agar dapat tumbuh dengan baik, terutama pada bagian daun, seperti tanaman teh yang memiliki manfaat bagi kesehatan dibagian daunnya untuk dikonsumsi bagi orang-orang yang berakal. Tafsir Al-Muyassar Q.S Al-Imran: 190 berbunyi sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi yang tanpa ada contoh sebelumnya dan dalam pergantian malam dan siang dan perbedaan waktu keduanya dengan memanjang dan memendek benar-benar merupakan petunjuk-petunjuk dan bukti-bukti yang agung atas keesaan Allah bagi orang-orang yang mempunyai akal-akal yang selamat.

Tafsir Jalalayn QS Al-An'am: 99 yang berbunyi (Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan) dalam ayat ini terkandung iltifat dari orang yang ketiga menjadi pembicara (dengan air itu) yakni dengan air hujan itu (segala macam tumbuh-tumbuhan) yang dapat tumbuh (maka Kami keluarkan darinya) dari tumbuh-tumbuhan itu sesuatu (tanaman yang hijau) yang menghijau (Kami keluarkan darinya) dari tanaman yang menghijau itu (butir yang banyak) yang satu sama lainnya bersusun seperti bulir-bulir gandum dan sejenisnya (dan dari pohon kurma) menjadi khabar dan dijadikan sebagai mubdal minhu (yaitu dari mayangnya) yaitu dari pucuk pohonnya; dan muhtadanya ialah (keluar tangkai-tangkainya) tunas-tunas buahnya (yang mengurai) saling berdekatan antara yang satu dengan yang lainnya (dan) Kami tumbuhkan berkat air hujan itu (kebun-kebun) tanaman-tanaman (anggur, zaitun dan delima yang serupa) dedaunannya. Sesungguhnya yang demikian itu ada tanda-tanda) yang menunjukkan kepada kekuasaan Allah swt. dalam menghidupkan kembali yang telah mati dan lain sebagainya (bagi orang-orang yang beriman) mereka disebut secara khusus sebab hanya merekalah yang dapat memanfaatkan hal ini untuk keimanan mereka, berbeda dengan orang-orang kafir. Contoh dari proses tersebut yaitu tongkol bunga, kurma, mengurai tangkai-tangkai yang menjulai yang mudah dipetik, dan kebun-kebun anggur, dan Allah mengeluarkan zaitun dan delima yang sama bentuk buahnya dan yang tidak sama aroma dan manfaatnya.

4.2 Penghambatan DPPH oleh Antioksidan Teh Kombucha

Berdasarkan uji homogenitas pada lama fermentasi dan antioksidan teh hijau dan teh hitam nilai signifikansi menunjukkan bahwa nilai yang diperoleh yaitu lebih besar 0,05 yang artinya data tersebut homogen (**lampiran 5**). Berdasarkan uji korelasi menunjukkan bahwa data antara lama fermentasi dengan penghambatan DPPH antioksidan teh hijau dan teh hitam menunjukkan nilai signifikansi kurang dari 0,05 yang artinya berkorelasi (**lampiran 5**). Adapun nilai signifikansi ANOVA menunjukkan bahwa lama fermentasi dan aktivitas antioksidan memiliki nilai kurang dari 0,05 (**lampiran 5**) yang artinya ada pengaruh antara lama fermentasi dan penghambatan DPPH antioksidan pada kedua jenis teh tersebut. Selanjutnya untuk uji lanjut menggunakan Duncan menunjukkan adanya perbedaan nyata antara hari ke 5 hingga hari ke 11 pada masing-masing teh (**lampiran 2**). Hal tersebut berbeda nyata karena kandungan vitamin C yang diperoleh memiliki rata-rata (mean) yang berbeda cukup jauh, sehingga dari uji tersebut didapatkan bahwa lama fermentasi hari ke 7 memiliki dan penghambatan DPPH antioksidan yang optimum dibandingkan dengan hari lainnya. Berikut grafik dari perubahan penangkapan radikal DPPH teh hijau dan teh hitam kombucha pada **gambar 4.2**



Gambar 4.2 Perubahan Persentase Penangkapan Radikal DPPH Teh Hijau dan Teh Hitam

Dari grafik diatas (Gambar 4.2) dapat dilihat bahwa lama fermentasi menyebabkan terjadinya peningkatan penangkapan radikal DPPH, baik pada teh hijau maupun teh hitam. Peningkatan penangkapan radikal oleh kedua jenis teh

terjadi secara signifikan yang ditandai dengan notasi yang berbeda. Sebelum fermentasi, penghambatan DPPH antioksidan teh hijau 73,67% dan penghambatan DPPH antioksidan teh hitam 66,83%. Setelah fermentasi hari ke 5 mulai terjadi peningkatan penghambatan DPPH antioksidan yaitu 86,95% pada teh hijau dan 77,77% pada teh hitam. Penghambatan DPPH antioksidan tertinggi didapatkan pada hari ke 7 fermentasi baik pada teh hijau (92,57%) maupun teh hitam (83,75%). Namun pada hari ke 9 fermentasi, penghambatan DPPH antioksidan pada kedua jenis teh mulai mengalami penurunan sampai dengan hari ke 11.

Pengujian homogenitas dilakukan pada tingkat signifikansi (α) 5% dengan pernyataan hipotesis, yaitu Jika nilai p-value lebih besar dari tingkat signifikansi (α) sebesar 0,05 maka hipotesis H_0 tidak dapat ditolak, dengan kata lain H_0 diterima dan data homogen. Sedangkan nilai p-value lebih kecil dari tingkat signifikansi (α) sebesar 0,05 maka, dengan kata lain H_0 ditolak dan data tidak homogen. p-value merupakan nilai probabilitas yang didapat dari suatu uji statistik. Perbedaan tersebut terjadi karena didalam teh kombucha terdapat asam organik salah satunya vitamin C, sehingga terjadinya perbedaan jumlah kandungan antioksidan dari kedua jenis teh tersebut (Windatiningsih dan Harlan, 2019). Meningkatnya aktivitas antioksidan disebabkan karena adanya fenolik bebas yang dihasilkan selama proses fermentasi, sehingga semakin tinggi kadar fenolik yang dihasilkan semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Menurut Sukmawati *et al* (2013) selama proses fermentasi terjadi juga peningkatan jumlah asam-asam organik karena aktivitas khamir dan bakteri yang berada dalam kombucha. Suasana asam menyebabkan senyawa fenolik menjadi semakin stabil dan sulit melepaskan proton yang dapat berikatan dengan DPPH sehingga aktivitas antioksidannya menurun.

Menurut Khaerah, dkk (2019) Teh yang akan difermentasi diberi tambahan pemanis (gula, biasanya dalam bentuk sukrosa) sebagai sumber energi bagi konsorsium mikrobial tersebut (SCOBY). Sukrosa yang terdapat di dalam sistem fermentasi dihidrolisis oleh enzim invertase yang dimiliki oleh khamir dalam SCOBY menjadi glukosa dan fruktosa. Glukosa yang dihasilkan dirubah menjadi asam glukonat, sedangkan fruktosa dirubah menjadi berbagai asam

organik. Glukosa dan fruktosa difermentasi menjadi etanol oleh khamir, yang kemudian dioksidasi oleh bakteri asam asetat menjadi asam asetat. Menurut Adawiah, dkk (2015) Senyawa fenolik, flavonoid dan vitamin C mampu mendonorkan atom hidrogen ke radikal bebas DPPH membentuk senyawa DPPH tereduksi (DPPH-H) yang stabil. Semakin tinggi kandungan fenolik, flavonoid dan vitamin C maka semakin banyak radikal DPPH yang bereaksi sehingga konsentrasinya semakin berkurang. Semakin besar penurunan konsentrasi DPPH semakin tinggi aktivitas antioksidannya.

Menurut Andarina dan Djauhari (2017) Selain sebagai antioksidan vitamin C memiliki beberapa peranan penting yaitu bekerja pada sintesis kolagen dan memiliki efek fotoprotektif terhadap sinar UV. Sebagai antioksidan vitamin C menetralkan ROS yaitu anion superoksida dan radikal hidroksil pada kompartemen *aquous* pada kulit. Di samping itu vitamin C dapat mengaktifkan antioksidan lain seperti vitamin E melalui pengaktifan kembali α -tokoferol dari radikal tokoferol. Vitamin C bekerja secara sinergis dengan vitamin E untuk menstabilkan radikal peroksid lemak.

Teh kombucha yang difermentasi biasanya menunjukkan potensi antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan teh yang tidak difermentasi (Essawet *et al*, 2015). Antioksidan utama dalam minuman teh kombucha fermentasi adalah polifenol dan metabolit jamur teh seperti vitamin dan asam organik. Komponen asam organik yang ada dalam proses fermentasi kombucha dapat meningkat dengan semakin lama fermentasi dilakukan. Selama proses fermentasi berlangsung, bakteri dan khamir mengatur proses metabolisme terhadap sukrosa dan memperoleh beberapa asam-asam organik diantaranya asam asetat, asam glukonat, dan asam glukuronat yang menyebabkan terjadi peningkatan kadar asam-asam organik. Sehingga asam organik yang tinggi didalam kombucha akan mengakibatkan total asam yang tinggi (Jayabalan *et al*, 2007).

Menurut Ivanisova *et al* (2019) aktivitas antioksidan teh kombucha dari teh hijau lebih tinggi dibandingkan dengan kombucha teh hitam yang diuji dengan metode DPPH dan daya reduksi. Menurut Pure and Pure (2016) menegaskan bahwa teh hitam fermentasi memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi

dengan metode DPPH dibandingkan teh hitam non-fermentasi. Menurut Malbaša *et al* (2011) bahwa selain konsentrasi dan komposisi fenolat dalam kombucha, metabolit lain yang dihasilkan selama fermentasi, seperti asam askorbat dan asam organik lainnya, juga dapat memodifikasi kapasitas antioksidan kombucha.

Kapasitas antioksidan kombucha juga dipengaruhi oleh suhu dan waktu fermentasi. Menurut Goh *et al* (2012) kandungan antioksidan dalam kombucha teh hitam dan teh hijau memperoleh nilai maksimal di fermentasi hari ke-7 dan kandungan antioksidan muai menurun pada hari ke-10 fermentasi. Menurunnya kandungan antioksidan setelah fermentasi hari ke-7, disebabkan karena suasana asam yang mengakibatkan senyawa fenolik menjadi lebih stabil dan sulit melepaskan proton yang dapat berikatan dengan DPPH, sehingga kandungan antioksidan menurun.

Penghambatan DPPH antioksidan meningkat didukung oleh adanya senyawa fenol yang terkandung di dalam bahan dasar pembuatan kombucha, yang dapat meningkat seiring berjalannya waktu fermentasi. Tinggi rendahnya aktivitas antioksidan yang dihasilkan oleh kombucha dipengaruhi oleh aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh bahan dasar pembuatan kombucha, dalam hal ini teh yang digunakan (Suhardini dan Zubaidah, 2016). Variasi jenis teh memberikan pengaruh nyata terhadap kadar antioksidan. Saat proses fermentasi kombucha berlangsung, terdapat pembentukan asam askorbat oleh bakteri *Acetobacter xylinum*. Teh hitam memiliki senyawa theastavin dan thearubigin yang bersifat anti mikroba, sehingga pembentukan karbondioksida dan air oleh yeast tidak maksimal. Hal ini mengakibatkan kadar antioksidan teh hitam memiliki nilai lebih rendah dari teh hijau (Heong *et al*, 2011).

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian yang telah dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Lama fermentasi yang optimum untuk menghasilkan vitamin C tertinggi pada teh hijau kombucha adalah 7 hari dengan nilai vitamin C (5,17 mg/L), sedangkan untuk teh hitam kombucha 7 hari dengan nilai vitamin C (4,18 mg/L)
2. Lama fermentasi yang optimum untuk menghasilkan penghambatan DPPH antioksidan tertinggi pada teh hijau kombucha adalah 7 hari dengan nilai aktivitas antioksidan (92,57%), sedangkan untuk teh hitam kombucha 7 hari dengan nilai aktifitas antioksidan (83,75%).

5.2 Saran

Saran untuk penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap mikroorganisme yang ada di dalam kultur kombucha agar lebih diketahui komponen mikroorganisme yang paling aktif didalamnya.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap jenis-jenis teh yang lain selain teh hitam dan teh hijau.
3. Penelitian selanjutnya dapat menambahkan jumlah hari yang akan di amati agar mendapatkan perbedaan kandungan yang lebih detail.

DAFTAR PUSTAKA

- Adawiah, Dede Sukandar dan Anna Muawanah. 2015. Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Komponen Bioaktif Sari Buah Namnam. *Jurnal Kimia VALENSI: Jurnal Penelitian dan Pengembangan Ilmu Kimia*. 1(2). Diakses 2 November 2021.
- Aji, Rahman Mukti. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Daging Daun Lidah Buaya (*Aloe vera*) Menggunakan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Skripsi. Fakultas Kedokteran. UIN Jakarta.
- Amarasinghe, Hashani, Nimsha S. Weerakkody and Viduranga Y. Waisundara. 2018. Evaluation of Physicochemical Properties and Antioxidant Activities of Kombucha “Tea Fungus” During Extended Periods of Fermentation. *Journal Food Science and Nutrition*. 6:659–665. DOI.org/10.1002/fsn3.605. Diakses 18 Januari 2021.
- Andarina Rosi dan Tantawi Djauhari. 2017. Antioksidan dalam dermatologi. *JKK*. Volume 4, No 1.
- Ardheniati, Minang. 2008. Kinetika Fermentasi Pada Teh Kombucha Dengan Variasi Jenis Teh Berdasarkan Pengolahannya. *Biofarmasi*. Vol. 7, No. 1. Diakses 4 Maret 2021.
- Batista, Érica A., Giovanna N. M. Silva, Livia F. Sgobbi, Fabio B. Machado, Isaac Y. Macedo, Emily K. Moreno, Jerônimo R. Neto, Paulo S. Scalize and Eric S. Gil. 2021. Article: Enzymatic Electroanalytical Biosensor Based on *Maramiellus colocasiae* Fungus for Detection of Phytomarkers in Infusions and Green Tea Kombucha. *Biosensors*. 11, 91. Diakses 1 Mei 2021.
- Bharti, R., and Singh, B. 2019. Green Tea (*Camellia Assamica*) Extract as An Antioxidant Additive to Enhance the Oxidation Stability of Biodiesel Synthesized from Waste Cooking Oil. *Fuel*. DOI: 10.1016/j.fuel.2019.116658. Diakses 2 Maret 2021.
- 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 Larraz Ferreira, Frederico Augusto Ribeiro de Barros. 2020. Kombuchas From Green and Black Teas Have Different Phenolic Profile, Which Impacts Their Antioxidant Capacities, Antibacterial and Antiproliferative Activities. *Food Research International*. 128. DOI.org/10.1016/j.foodres.2019.108782. Diakses 20 Januari 2021.
- Carp, Oana Elena, Aurelian Moraru, Mariana Pinteala and Adina Arvinte. 2021. Electrochemical Behaviour of Piperine Comparison with Control Antioxidants. *Journal Food Chemistry*. 339. Diakses 3 Maret 2021.

- 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). DOI:10.1186/s12866-017-1142-z. Diakses 2 Maret 2021.
- Chakravorty, Somnath, Semantee Bhattacharya, Antonis Chatzinotas, Writachit Chakraborty, Debanjana Bhattacharya and Ratan Gachhui. 2016. Kombucha Tea Fermentation: Microbial and Biochemical Dynamics. *International Journal of Food Microbiology*. DOI.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.12.015 0168-1605. Diakses 3 Februari 2021.
- Coton, M., Pawtowski, A., Taminiau, B., Burgaud, G., Deniel, F., Coulloume-Labarthe, L., Coton, E. 2017. Unraveling microbial ecology of industrial-scale Kombucha fermentations by metabarcoding and culture-based methods. *FEMS Microbiology Ecology*. 93(5). DOI:10.1093/femsec/fix048. Diakses 4 April 2021.
- Darmawan, Ahmad Edi, Sunarno Sunarno, Vinsensius Dhani M and Garin Fairuzzaki F. 2018. Effect of Rosella-Based Kombucha Tea on The Lipid Profile on Hyperlipidemic Rats (*Rattus norvegicus*). *NICHE Journal of Tropical Biology*. 1(2). Diakses 1 April 2021.
- Devianti, Vika Ayu dan Ratih Kusuma Wardhani. 2018. Degradasi Vitamin C Dalam Jus Buah. Dengan Penambahan Sukrosa Dan Lama Waktu Konsumsi. *Journal of Research and Technology*. Vol. 4, No. 1. E-ISSN: 2477 – 6165. Diakses 20 Januari 2021.
- Dwiputri, Maria Christiani and Y.M. Lauda Feroniasanti. 2019. Effect of Fermentation to Total Titrable Acids, Flavonoid and Antioxidant Activity of Butterfly Pea Kombucha. *Journal of Physics: Conference Series*. DOI:10.1088/1742-6596/1241/1/012014. Diakses 25 Januari 2021.
- Essawet NA, Cvetkovic D, Velicanski A, C' anadanovic'-Brunet J, Vulic J, Maksimovic V, Markov S (2015) Polyphenols and Antioxidant Activities of Kombucha Beverage Enriched with Coffeeberry Extract. *Chem Ind Chem Eng Q*. 21:399–409. Diakses 12 Juni 2021.
- Felita, Lelyana S, Winata T. 2017. Efek Seduhan Teh Hitam terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. *SONDE (Sound of Dentistry)*. Vol. 2 No. 1. Diakses 1 Maret 2021.
- Fibrianto, K, E Zubaidah, N A Muliandari, L Y Wahibah, S D Putri, A M Legowo and A N Al-Baarri. 2020. Antioxidant activity optimisation of young Robusta coffee leaf kombucha by modifying fermentation time and withering pretreatment. *International Conference on Green Agro-industry and Bioeconomy*. 475. DOI:10.1088/1755-1315/475/1/012029. Diakses 1 Maret 2021.

- Filbert, dkk. 2014. Penentuan Aktivitas Antioksidan Berdasarkan Nilai IC50 Ekstrak Metanol dan Fraksi Hasil Partisinya pada Kulit Biji Pinang Yaki (Areca vestiara Giseke). *Jurnal MIPA Unsrat Online* 3 (2) Filbert, dkk. 2014. Penentuan Aktivitas Antioksidan Berdasarkan Nilai IC50 Ekstrak Metanol dan Fraksi Hasil Partisinya pada Kulit Biji Pinang Yaki (Areca vestiara Giseke). *Jurnal MIPA Unsrat Online*. 3 (2).
- 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. DOI: 10.1016/j.fm.2018.01.008. Diakses 17 Januari 2021.
- 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. Diakses 13 Juni 2021.
- 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. Diakses 2 Maret 2021.
- Hassmy, Nursyah Putri, Jemmy Abidjulu, dan Adithya Yudistira. 2017. Analisis Aktivitas Antioksidan Pada The Hijau Kombucha Berdasarkan Waktu Fermentasi yang Optimal. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. Vol. 6 No. 4. Diakses 20 Januari 2021.
- Hemilä, Harri. 2017. Review: Vitamin C and Infections. *Nutrients*. 9, 339. DOI:10.3390/nu9040339. Diakses 20 Januari 2021.
- Heong, C. S., Kaur, B. N., Huda, A.A., Karim and Fazilah, A. 2011. Effect of Fermentation on The Composition of CantellaAsiatica Teas. *American Journal of Food Technology*. 6(7). Diakses 13 Juni 2021.
- 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 ABDINUS: Jurnal Pengabdian Nusantara*. Vol. 4, No. 1. DOI: DOI.org/10.29407/jav4i1.14641. Diakses 20 Januari 2021.
- Huang, H., Han, G.-Y., Jing, L.-P., Chen, Z.-Y., Chen, Y.-M., and Xiao, S.-M. 2017. Tea Consumption is Associated with Increased Bone Strength in Middle-Aged and Elderly Chinese Women. *The Journal of Nutrition, Health & Aging*. 22(2). 216–221. DOI:10.1007/s12603-017-0898-z. Diakses 2 Maret 2021.
- 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. DOI:10.1088/1742-6596/1217/1/012158. Diakses 18 Januari 2021.

- Islam, Shaikh N, Sumaya Farooq and Amit Sehgal. Effect of Consecutive Steeping on Antioxidant Potential of Green, Oolong and Black Tea. *International Journal of Food Science and Technology*. 53, 182–187. Diakses 18 Maret 2021.
- Ivanišová, Eva, Kristína Meňhartová, Margarita Terentjeva, L'uboš Harangozo, Attila Kántor and Miroslava Kačániová. 2020. The Evaluation of Chemical, Antioxidant, Antimicrobial and Sensory Properties of Kombucha Tea Beverage. *Journal Food Science and Technology*. Vol. 57(5):1840–1846. DOI.org/10.1007/s13197-019-04217-3. Diakses 18 Januari 2021.
- 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. Diakses 1 Maret 2021.
- Jayabalan, Rasu, Radomir V. Malbăsa, Eva S. Loňcar, Jasmina S. Vitas, and Muthuswamy Sathishkumar. 2014. A Review on Kombucha Tea Microbiology, Composition, Fermentation, Beneficial Effects, Toxicity, and Tea Fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. Vol. 13. DOI: 10.1111/1541-4337.12073. Diakses 5 Februari 2021.
- 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. DOI: 10.1016/j.jfca.2019.01.005. Diakses 2 Maret 2021.
- Kadir, S.2003. Karakteristik Nata De Coco dari Starter Ampas Nenas Melalui Penambahan Sukrosa dan Keasaman Medium. *Journal agroland*, 10(2), pp.145-150. Diakses 21 Februari 2021.
- Kaewkod, Thida, Sakunnee Bovonsombut and Yingmanee Tragoolpua. 2019. Article: Efficacy of Kombucha Obtained from Green, Oolong, and Black Teas on Inhibition of Pathogenic Bacteria, Antioxidation, and Toxicity on Colorectal Cancer Cell Line. *Microorganisms*. Hal 1-2. doi:10.3390/microorganisms7120700. Diakses 30 Januari 2021.
- Kim, Juyoung and Koushik Adhikari. 2020. Review: Current Trends in Kombucha: Marketing Perspectives and the Need for Improved Sensory Research. *Beverages*. Vol. 6, No. 15. DOI:10.3390/beverages6010015. Diakses 18 Januari 2021.

- Kocot, Joanna, Dorota Luchowska-Kocot, Małgorzata Kielczykowska, Irena Musik and Jacek Kurzepa. 2017. Review: Does Vitamin C Influence Neurodegenerative Diseases and Psychiatric Disorders. *Nutrients*. 9, 659. DOI:10.3390/nu9070659. Diakses 8 Maret 2021.
- 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. DOI.org/10.1080/19476337.2017.1410499. Diakses 19 Januari 2021.
- 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. DOI:10.3390/molecules23051010. Diakses 2 Maret 2021.
- Lobo, R.O., Dias, F.O. and Shenoy, C.K. 2017. Kombucha For Healthy Living: Evaluation of Antioxidant Potential and Bioactive Compounds. *International Food Research Journal*. 24(2): 541-546. Diakses 18 Januari 2021.
- Lorenzo, J. M., & Munekata, P. E. S. 2016. Phenolic compounds of green tea: Health benefits and technological application in food. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(8). 709–719. DOI:10.1016/j.apjtb.2016.06.01. Diakses 2 Maret 2021.
- Malbaša, Radomir V., Eva S. Loncar, Jasmina S. Vitas, Jasna M. Canadanovic - Brunet. 2011. Influence of Starter Cultures on The Antioxidant Activity of Kombucha Beverage. *Food Chemistry*. 127: 1727–1731. Diakses 13 Juni 2021.
- 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). DOI:10.2298/ABS1204439M. Diakses 9 Februari 2021.
- 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*. Diakses 3 maret 2021.
- May, A., Narayanan, S., Alcock, J., Varsani, A., Maley, C., & Aktipis, A. 2019. Kombucha: a novel model system for cooperation and conflict in a complex multi-species microbial ecosystem. *PeerJ*. 7, e7565. DOI:10.7717/peerj.7565. Diakses 4 apr il 2021.
- 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. DOI: 10.17306/J.AFS.2016.4.43. Diakses 5 Februari 2021.
- 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*. 26(2). Diakses 3 Maret 2021.
- Muhson, Ali. 2006. *Teknik Analisis Kuantitatif*. Yogyakarta: UNY.
- Mulyani, Elly. 2018. Perbandingan Hasil Penetapan Kadar Vitamin C pada Buah Kiwi (*Actinidia deliciosa*) dengan Menggunakan Metode Iodimetri dan Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Farmasi, Sains, dan Kesehatan*. Vol. 3, No. 2. ISSN 2442-9791. Diakses 20 Januari 2021.
- Munawir, Ihsan Rizki. 2010. Pembuatan Sorbitol Dari Sirup Glukosa Dengan Proses Dehidrogenasi Katalistik Kapasitas 60 Ton/Hari. *Skripsi*. Universitas Sumatra Utara, Medan.
- Nakov, Gjore, Nastia Ivanova, Marko Jukić, Daliborka Koceva Komlenić, Davor Daniloski and Jasmina Lukinac. 2020. Perceptions of Consumer for Preparation and Consumption of Tea and Analysis of Biologically Active Compounds of Black Tea. *Scientific Papers Series Management, Economic Engineering in Agriculture and Rural Development*. Vol. 20, Issue 1. ISSN 2284-7995, E-ISSN 2285-3952. Diakses 18 Maret 2021.
- Naland, Henry. 2008. *Kombucha: The Ajaib Pencegah Aneka Penyakit*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Naveed, M., BiBi, J., Kamboh, A. A., Suheryani, I., Kakar, I., Fazlani, S. A. and XiaoHui, Z. (2018). Pharmacological Values and Therapeutic Properties of Black Tea (*Camellia sinensi*): A Comprehensive Overview. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 100, 521–531. DOI:10.1016/j.biopha.2018.02.048. Diakses 2 Maret 2021.
- Nerdy. 2018. Determination of Vitamin C in Various Colours of Bell Pepper (*Capsicum annuum* L.) by Titration Method. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*. Vol. 14(1). Diakses 24 Februari 2021.
- Nikolova, G., Karamalakova, Y., & Gadjeva, V. (2019). Reducing Oxidative Toxicity of L-Dopa in Combination with Two Different Antioxidants: an Essential Oil Isolated From Rosa Damascena Mill., and Vitamin C. *Toxicology Reports*. 6, 267–271. doi:10.1016/j.toxrep.2019.03.006. Diakses 8 Maret 2021.
- Nurikasari, Maulina, Yenny Puspitasari and Retno Palupi Yoni Siwi. 2017. Characterization and Analysis Kombucha Tea Antioxidant Activity Based on Long Fermentation as A Beverage Functional. *Journal of Global*

- Research in Public Health*. Vol. 2 No. 2. e-ISSN 2599-2880. Diakses 5 Februari 2021.
- Ouyang, Qin, Yongcun Yang, Jizhong Wu, Quansheng Chen, Zhiming Guo and Huanhuan Li. Measurement of Total Free Amino Acids Content in Black Tea Using Electronic Tongue Technology Coupled with Chemometrics. *LWT - Food Science and Technology*. 118.108768. DOI.org/10.1016/j.lwt.2019.108768. Diakses 18 Maret 2021.
- Özdemir, Nilgün and Ahmet Hilmi Çon. 2017. Kombucha and Health. *Journal of Health Science*. 5. DOI: 10.17265/2328-7136/2017.05.005. Diakses 17 Januari 2021.
- Pure AE, Pure ME (2016) Antioxidant and Antibacterial Activity of Kombucha Beverages Prepared Using Banana Peel, Common Nettles and Black Tea Infusions. *Appl Food Biotechnol*. 3:125–130.
- Purnami, Ketut Ita, A.A.G.N. Anom Jambe dan Ni Wayan Wisaniyasa. 2018. Pengaruh Jenis Teh Terhadap Karakteristik Teh Kombucha. *Jurnal ITEPA*. Vol. 7 No. 2. Diakses 1 Maret 2021.
- Rossi, Ara, Maria Gustina, Herry Hermawan. 2010. *1001 Teh dari Asal Usul, Tradisi, Khasiat Hingga Racikan Teh*. Yogyakarta: CV. Andi Offset.
- 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. Diakses 2 Maret 2021.
- Ruayati, Wulan Sari, Endah Rita dan Dyah Ayu Widyastuti. 2019. Kandungan Vitamin C Pada Fermentasi Kombucha Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). *Seminar Nasional Edusainstek*. ISBN: 2685 – 5852. Diakses 17 Januari 2021.
- Sari, N. 2014. Perbandingan Aktivitas Antioksidan Kombucha Teh Hijau (*Camelia sinensis*) dengan Teh Daun Mangga (*Mangifera indica*) dipengaruhi oleh Lama Fermentasi. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta. *Skripsi*. Diakses 13 Juni 2021.
- Selviana, Ike. 2019. Pengembangan Modul Biologi Problem Based Learning Untuk Meningkatkan Kemampuan Berpikir Kritis Peserta Didik SMA. *Indonesian J. Integr. Sci. Education*. Vol. 1 (2). Diakses 17 Januari 2021.
- 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*. 6:2568–2577. DOI: 10.1002/fsn3.873. Diakses 20 Januari 2021.

- Skocińska, Katarzyna Neffe, Barbara Sionek, Iwona Ścibisz and Danuta Kołożyn-Krajewska. 2017. Acid Contents and The Effect of Fermentation Condition of Kombucha Tea Beverages on Physicochemical, Microbiological and Sensory Properties. *Journal of Food*. Vol. 15, No. 4. DOI: 10.1080/19476337.2017.1321588. ISSN: 1947-6337. Diakses 19 Januari 2021.
- 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. DOI: 10.1111/1750-3841.14068. Diakses 17 Januari 2021.
- Soto, Silvia Alejandra Villarreal, Sandra Beauforta, Jalloul Bouajilaa, Jean-Pierre Souchard, Thierry Renardc, Serge Rollanc and Patricia Taillandier. 2019. Impact of fermentation conditions on the production of bioactive compounds with anticancer, anti-inflammatory and antioxidant properties in kombucha tea extracts. *Process Biochemistry*. 83. 44-54. ISSN 1359-5113. Diakses 18 Januari 2021.
- Suhardini, Prasis Nursyam dan Elok Zubaidah. 2016. Studi Aktivitas Antioksidan Kombucha Dari Berbagai Jenis Daun Selama Fermentasi. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol. 4 No. 1. Diakses 17 Januari 2021.
- Sukmawati, P.P.A., Ramona, Y., dan Leliqia, N.P.E. 2013. Penetapan Aktivitas Antioksidan Yang Optimal Pada Teh Hitam Kombucha Lokal Di Bali Dengan Variasi Waktu Fermentasi. *Jurnal Farmasi Udayana*. 2 (1) : 25-29. Diakses 2 November 2021.
- Syah, Andi Nur Alam. 2006. *Taklukkan Penyakit dengan Teh Hijau*. Jakarta: AgroMedia 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*. DOI: 10.1111/jfbc.13574. Diakses 1 Maret 2021.
- 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. DOI: 10.1111/1541-4337.12574. Diakses 19 Januari 2021.
- Ulfa, Maria, Nur Khairi dan Fadillah Maryam. 2016. Formulasi dan Evaluasi Fisik Krim Body Scrub dari Ekstrak Teh Hitam (*Camellia sinensis*), Variasi Konsentrasi Emulgator Span-Tween 60. *JF FIK UINAM*. Vol. 4 No. 4. Diakses 18 Maret 2021.

- Vīna, I., Linde, R., Patetko, A., & Semjonovs, P. (2013). Glucuronic acid from fermented beverages: Biochemical functions in humans and its role in health protection. *International Journal of Recent Research and Applied Studies*. 14, 17–25. Diakses 2 Mei 2021.
- 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). Diakses 4 Maret 2021.
- 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). DOI: 10.13040/IJPSR.0975-8232.9(5).1723-36. Diakses 17 Maret 2021.
- Wardani, Ratih Kusuma dan M. A. Hanny Ferry Fernanda. 2016. Analisis Kadar Kafein Dari Serbuk Teh Hitam, Teh Hijau dan Teh Putih (*Camellia sinensis L.*). *Journal of Pharmacy and Science*. Vol. 1, No.1.
- Warraich, U. A., Hussain, F., and Kayani, H. U. R. 2020. Aging - Oxidative stress, antioxidants and computational modeling. *Heliyon*. 6(5), e04107. Diakses 3 Maret 2021.
- Werdhasari, Asri. 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*. Vol.3, No.2. Diakses 20 Januari 2021.
- Windatiningsih, Desi dan Dhemi Harlan. 2019. Uji Validasi Data Debit Untuk Deteksi Penyimpangan Data Studi Kasus: Das Citarum Hulu. *Jurnal Sumber Daya Air*. Vol. 15 No.2.
- Xu, Y.-Q., Zhang, Y.-N., Chen, J.-X., Wang, F., Du, Q.-Z., & Yin, J.-F. 2018. Quantitative Analyses of The Bitterness and Astringency of Catechins From Green Tea. *Food Chemistry*. 258, 16–24. Diakses 2 Maret 2021.
- Yıkmaş, Seydi and Seren Tuğgüm. 2019. Evaluation of Microbiological, Physicochemical and Sensorial Properties of Purple Basil Kombucha Beverage. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*. 7(9): 1321-1327. DOI: doi.org/10.24925/turjaf.v7i9.1321-1327.2550. Diakses 16 Maret 2021.
- Yildiz, Elif, Metin Guldas dan Ozan Gurbuz. 2020. Determination of In-Vitro Phenolics, Antioxidant Capacity and Bio-Accessibility of Kombucha Tea Produced from Black Carrot Varieties Grown in Turkey. *Journal Food Science and Technology*. dx.doi.org/10.1590/fst.00320. Diakses 16 Maret 2021.
- Youngson, Robert. 2005. *Antioksidan Vitamin C dan E Bagi Kesehatan*. Jakarta:

Arcan.

- Zamroni, Ahmad, Netty Maria Naibaho, Eko Junirianto, Hamka Nurkaya, Rudito, Khusnul Khotimah dan Andi Lisnawati. 2020. Rancang Bangun Alat Titrasi Semi-Otomatis Untuk Analisa Kadar Vitamin C. *Buletin LOUPE*. Vol 16 No. 02. ISSN: 1411-8548. Diakses 24 Februari 2021.
- Zhang, W., Liu, C., Yang, R., Zheng, T., Zhao, M., Ma, L., & Yan, L. 2019. Comparison of Volatile Profiles and Bioactive Components of Sun-dried Pu-erh Tea Leaves from Ancient Tea Plants on Bulang Mountain Measured by GC-MS and HPLC. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B*. 20(7). 563–575. DOI:10.1631/jzus.b1800183. Diakses 2 Maret 2021.
- Zubaidah, Elok, Chairul Anam Afganib, Umi Kalsumb, Ignatius Sriantac, Philippe J. Blanc. 2019. Comparison of In Vivo Antidiabetes Activity of Snake Fruit Kombucha, Black Tea Kombucha And Metformin. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 17: 465–469.

LAMPIRAN 1

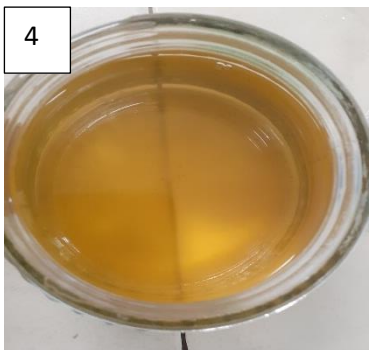
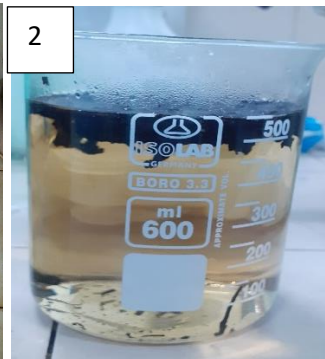
Teh Hijau



Teh Hitam



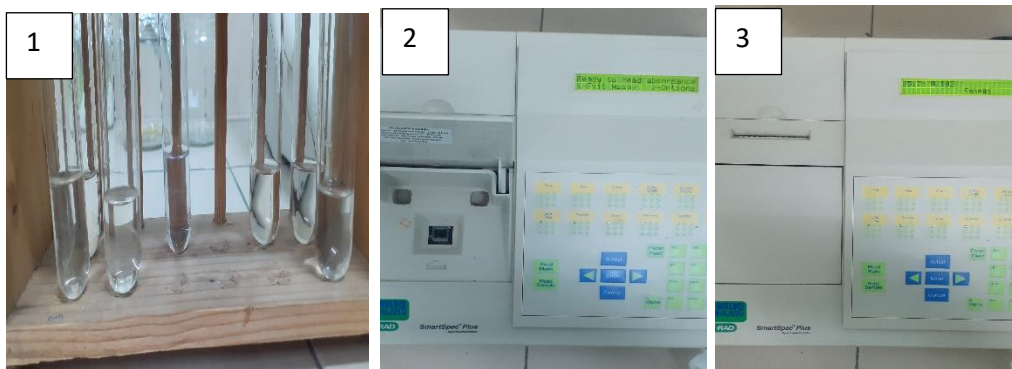
Proses Pembuatan Teh Kombucha



Uji Vitamin C



Uji Antioksidan



LAMPIRAN 2

Hasil Kandungan Vitamin C Teh Kombucha

Jenis Teh	Lama Fermentasi (hari)	Kandungan Vitamin C (% mg/L)
Hijau	5	4,27 d
	7	5,17 a
	9	5,01 b
	11	4,71 c
Hitam	5	3,01 g
	7	4,18 d
	9	3,87 e
	11	3,46 f

Hasil Kandungan Antioksidan Teh Kombucha

Jenis Teh	Lama Fermentasi (hari)	Kandungan Antioksidan (%)
Hijau	5	86,95 d
	7	92,57 a
	9	91,50 b
	11	90,47 c
Hitam	5	77,77 h
	7	83,75 e
	9	82,25 f
	11	80,97 g

LAMPIRAN 3

Teh Hijau

Hari/Perlakuan	Ulangan	Antioksidan
5	1	86.77
5	2	87.08
5	3	87.02
7	1	92.39
7	2	92.76
7	3	92.57
9	1	91.65
9	2	91.53
9	3	91.34
11	1	90.52
11	2	90.26
11	3	90.64

Teh Hitam

Hari/Perlakuan	Ulangan	Antioksidan
5	1	77.44
5	2	78.12
5	3	77.75
7	1	82.8
7	2	84.72
7	3	83.73
9	1	82.5
9	2	82.26
9	3	82.01
11	1	81.28
11	2	80.54
11	3	81.1

Teh Hijau

Hari/Perlakuan	Ulangan	Vitamin C
5	1	4.4
5	2	4.18
5	3	4.25
7	1	5.28
7	2	5.1
7	3	5.15
9	1	5.06
9	2	5
9	3	4.98
11	1	4.84
11	2	4.53
11	3	4.77

Teh Hitam

Hari/Perlakuan	Ulangan	Vitamin C
5	1	3.08
5	2	3
5	3	2.97
7	1	4.18
7	2	4.24
7	3	4.12
9	1	3.96
9	2	3.78
9	3	3.89
11	1	3.52
11	2	3.4
11	3	3.46

LAMPIRAN 4

Perhitungan kandungan vitamin C

Teh Hijau hari ke 5 ulangan 1

Diketahui:

Berat = 50 gr

N (Normalitas) = 0,01

VI2 = 10 ml

VI2 = (N X V)

$$\text{Faktor Pengenceran} = \frac{V \text{ yang dibuat}}{V \text{ yang direaksikan}} = \frac{500}{20} = 25$$

$$\text{Kandungan vitamin C \%} = \frac{(0,01 \times 10) \times 0,88 \times 25}{50} \times 100\% = 4,4\%$$

Perubahan Persen ke mg/L Teh Hijau Hari ke 5

1% = 10.000 ppm

4,27% = 42.700 ppm

1.000 ppm = 1 gr/ml = 1.000 mg/ml = 1 mg/L

42.700 ppm = 42, 7 gr/ml = 42.700 mg/ml = 42,7 mg/L

Perhitungan Radikal Bebas DPPH

Teh Hijau hari ke 5 ulangan 1

Diketahui:

A1 (kontrol) = 1,618

A2 (sampel uji) = 0,214

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{1,618 - 0,214}{1,618} \times 100\% = 86,77\%$$

LAMPIRAN 5

Hasil Statistik vitamin C dengan SPSS

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		perlakuan	vitaminc
N		24	24
Normal Parameters ^a	Mean	4.50	4.2142
	Std. Deviation	2.341	.72063
Most Extreme Differences	Absolute	.114	.113
	Positive	.114	.082
	Negative	-.114	-.113
Kolmogorov-Smirnov Z		.559	.554
Asymp. Sig. (2-tailed)		.913	.919

a. Test distribution is Normal.

Correlations

		perlakuan	vitaminc
perlakuan	Pearson Correlation	1	-.635**
	Sig. (2-tailed)		.001
	N	24	24
vitaminc	Pearson Correlation	-.635**	1
	Sig. (2-tailed)	.001	
	N	24	24

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Test of Homogeneity of Variances

vitaminc

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.652	7	16	.192

ANOVA

Vitamin C teh hijau
dan teh hitam

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11.808	7	1.687	198.162	.000
Within Groups	.136	16	.009		
Total	11.944	23			

Vitamin C

Duncan

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
perlakuan hari ke 5 (Teh Hitam)	3	3.0167						
perlakuan hari ke 11 (Teh Hitam)	3		3.4600					
perlakuan hari ke 9 (Teh Hitam)	3			3.8767				
perlakuan hari ke 7 (Teh Hitam)	3				4.1800			
perlakuan hari ke 5 (Teh Hijau)	3				4.2767			
perlakuan hari ke 11 (Teh Hijau)	3					4.7133		
perlakuan hari ke 9 (Teh Hijau)	3						5.0133	
perlakuan hari ke 7 (Teh Hijau)	3							5.1767
Sig.		1.000	1.000	1.000	.218	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 6

Hasil Statistik antioksidan dengan SPSS

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		perlakuan	antioksidan
N		24	24
Normal Parameters ^a	Mean	4.50	85.7825
	Std. Deviation	2.341	5.19701
Most Extreme Differences	Absolute	.114	.181
	Positive	.114	.134
	Negative	-.114	-.181
Kolmogorov-Smirnov Z		.559	.884
Asymp. Sig. (2-tailed)		.913	.415

a. Test distribution is Normal.

Correlations

		perlakuan	antioksidan
perlakuan	Pearson Correlation	1	-.694**
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	24	24
antioksidan	Pearson Correlation	-.694**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	
	N	24	24

**. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Test of Homogeneity of Variances

antioksidan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.932	7	16	.130

ANOVA

antioksidan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	618.465	7	88.352	515.849	.000

antioksidan

Duncan

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
perlakuan hari ke 5 (Teh Hitam)	3	77.770							
perlakuan hari ke 11 (Teh Hitam)	3		80.973						
perlakuan hari ke 9 (Teh Hitam)	3			82.256					

Within Groups	2.740	16	.171		
Total	621.205	23			

perlakuan hari ke 7 (Teh Hitam)	3				83.750				
perlakuan hari ke 5 (Teh Hijau)	3					86.956			
perlakuan hari ke 11 (Teh Hijau)	3						90.4733		
perlakuan hari ke 9 (Teh Hijau)	3							91.5067	
perlakuan hari ke 7 (Teh Hijau)	3								92.5733
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 7

Bukti Konsultasi Biologi



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Rahadi Santoso
NIM : 17620008
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Ganjil TA 2021/2020
Pembimbing : Ir. Liliek Haranie AR, M.P
Judul Skripsi : Analisis Kandungan Vitamin C Dan Aktivitas Antioksidan Teh Kombucha Berdasarkan Lama Fermentasi Dan Jenis Teh

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	1/03/2021	Konsultasi online	
2.	2/03/2021	Konsultasi & revisi Judul, BAB I, II, III	
3.	5/03/2021	Konsultasi & revisi Judul, BAB I, II, III	
4.	16/03/2021	Konsultasi & revisi Judul, BAB I, II	
5.	29/03/2021	Konsultasi & revisi Judul, BAB I, II, III	
6.	1/04/2021	Konsultasi & revisi Judul, BAB I, II, III	
7.	5/04/2021	ACC Proposal Skripsi	
8.	21/06/2021	Revisi BAB IV dan V	
9.	30/06/2021	Revisi BAB IV dan V	
10.	12/07/2021	Revisi BAB IV dan V	
11.	27/08/2021	Revisi BAB IV	
12.	2/08/2021	Revisi BAB IV	
13.	4/08/2021	ACC Daftar Sidang	

Pembimbing Skripsi,

Ir. Liliek Haranie AR, M.P
NIP. 19620901 199803 2 001



Malang, 2 September 2021
Ketua Program Studi,

Dr. Eryka Sudi Savitri, M.P
NIP. 197401018200312200

Lampiran 8

Bukti Konsultasi Agama



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

KARTU KONSULTASI INTEGRASI ISLAM DAN SAINS

Nama : Rahadi Santoso
NIM : 17620008
Program Studi : SI Biologi
Semester : Ganjil TA 2021/2020
Pembimbing : Oky Bagas Prasetyo, M.Pdi
Judul Skripsi : Analisis Kandungan Vitamin C Dan Aktivitas Antioksidan Teh Kombucha Berdasarkan Lama Fermentasi Dan Jenis Teh

[illegible]

Pembimbing Skripsi,

[Handwritten signature]

Oky Bagas Prasetyo, M.Pdi
NIP. 19890113 20180201 1 244



Malang, 2 September 2021
Kendal Program Studi,

Dr. Savika Sandi Savitri, M.P
BNIP 19241018200312200

Lampiran 9

Bukti Check Plagiasi



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
 Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
 Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

Form Checklist Plagiasi Skripsi

Nama : Rahadi Santoso
NIM : 17620008
Judul : Analisis Kandungan Vitamin C Dan Aktivitas Antioksidan Teh Kombucha Berdasarkan Lama Fermentasi Dan Jenis Teh

No	Tim Cek Plagiasi	Tgl Cek	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rahmah, M.Sc	13 Agustus 2021	25%	
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc			
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si			



Diketahui,
 Ketua Program Studi Biologi,

 Dr. Erika Sandi Savitri, M.P
 NIM 17041018 200312 2 002