

**PENGARUH LAMA FERMENTASI TERHADAP KARAKTERISTIK KIMIA DAN
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA KOMBUCHA DAUN LAMPES (*Ocimum sanctum* L.)**

SKRIPSI

Oleh:
AFNAN SYAHIR RAMADHANA
NIM. 19630089



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2024**

**PENGARUH LAMA FERMENTASI TERHADAP KARAKTERISTIK KIMIA DAN
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA KOMBUCHA DAUN LAMPES (*Ocimum sanctum* L.)**

SKRIPSI

**Oleh:
AFNAN SYAHIR RAMADHANA
NIM. 19630089**

**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 KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2024**

**PENGARUH LAMA FERMENTASI TERHADAP KARAKTERISTIK KIMIA DAN
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA KOMBUCHA DAUN LAMPES (*Ocimum sanctum* L.)**

SKRIPSI

Oleh:
AFNAN SYAHIR RAMADHANA
NIM. 19630089

Telah Diperiksa Dan Disetujui Untuk Diuji:
Tanggal : 18 Desember 2024

Pembimbing I



Dr. Anik Maunatin, S.T., M.P
NIP. 19760105 202321 2 012

Pembimbing II



Anita Andriya Ningsih, S.S. M.Pd
NIP. 19850402 202321 2 042

**Mengetahui,
Ketua Program Studi Kimia**



Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010

**PENGARUH LAMA FERMENTASI TERHADAP KARAKTERISTIK KIMIA DAN
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA KOMBUCHA DAUN LAMPES (*Ocimum sanctum* L.)**

SKRIPSI

Oleh:
AFNAN SYAHIR RAMADHANA
NIM. 19630089

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal : 18 Desember 2024

Ketua Penguji	: Dr. Akyunul Jannah, M.P NIP. 19750410 200501 2 009	()
Anggota Penguji I	: Siska Ela Kartika, M.Si NIP. 19871014 202012 2 001	()
Anggota Penguji II	: Dr. Anik Maunatin, S.T., M.P NIP. 19760105 202321 2 012	()
Anggota Penguji III	: Anita Andriya Ningsih, S.S. M.Pd NIP. 19850402 202321 2 042	()

Mengetahui,
Ketua Program Studi Kimia


Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Afnan Syahir Ramadhana
NIM : 19630089
Program Studi : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Karakteristik Kimia Dan Aktivitas Antioksidan Pada Kombucha Daun Lampes (*Ocimum sanctum* L.)

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

Malang, 18 Desember 2024
Yang membuat pernyataan,



Afnan Syahir Ramadhana
NIM. 19630089

MOTTO

“Never stop learning”

HALAMAN PERSEMBAHAN

Dengan penuh rasa syukur dan hormat, skripsi ini kupersembahkan kepada:

Ibu dan Bapak, pahlawanku tanpa tanda jasa, yang telah mengorbankan segalanya demi pendidikanku. Setiap langkahku adalah berkat doa, cinta dan restu kalian, hanya ini yang bisa diberikan saat ini, namun dari sinilah semuanya berawal.

Saudara-saudaraku, yang selalu jadi penyemangat. Atas skripsi ini kalian harus lebih semangat menuntut pendidikan, pilih yang kalian suka dan senang apa yang kalian kerjakan.

Para dosen pembimbing yang telah sabar membimbing dan mengarahkanku dalam menyelesaikan penelitian ini dengan baik dan benar.

Teman-teman dari kimia angkatan 19 dan 20 yang telah menemani suka dan duka selama masa perkuliahan dan penelitian, tak luput untuk Mahsyanda D.G.

KATA PENGANTAR

Assalammu'alaikum Wr. Wb.

Alhamdulillah, puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah Swt. atas limpahan rahmat, taufik, dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan proposal penelitian dengan judul **“Uji Aktivitas Antioksidan Dan Total Fenol Pada Minuman Kombucha Daun Lampes (*Ocimum Sanctum L.*)”**. Semoga semua yang penulis upayakan dapat memberikan manfaat bagi pembaca. Sholawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada *Habibanaa wa Nabiyanaa* Muhammad Saw. Selanjutnya penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu menyelesaikan proposal penelitian ini, khususnya kepada:

1. Prof. Dr. 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. Rachmawati Ningsih, M.Si selaku Ketua Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dr. Anik Maunatin, S.T, M.P dan Anita Andriya Ningsih, S.S. M.Pd selaku dosen pembimbing, yang telah banyak memberikan hal berharga dalam bentuk pengarahan dan pengalaman selama penyusunan naskah ini.
5. Dr. Akyunul Jannah, M.P dan Siska Ela Kartika, M.Si selaku dosen penguji yang senantiasa meluangkan waktunya untuk membagikan ilmu, memberikan masukan serta pengarahannya dalam proses penyusunan skripsi ini.
6. Ahmad Hanapi, M.Sc selaku dosen wali yang memberikan motivasi kepada penulis untuk selalu berusaha dan berdoa dalam menyelesaikan pendidikan ini.
7. Orang tua serta teman-teman penulis yang selalu mendo'akan dan memberikan dukungan baik moril maupun materil.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan proposal penelitian ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, semua kritik dan saran akan penulis terima dengan lapang hati. Penulis juga memohon maaf kepada semua pihak apabila terdapat kesalahan selama penyusunan. Demikian proposal ini ditulis, semoga dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, 18 Desember 2024

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	v
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	vii
MOTTO	ix
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	xi
KATA PENGANTAR.....	xiii
DAFTAR ISI	xv
DAFTAR TABEL.....	xvii
DAFTAR GAMBAR.....	xix
DAFTAR LAMPIRAN.....	xxi
ABSTRAK.....	xxiii
ABSTRACT.....	xxv
مستخلص البحث	xxvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Batasan Masalah.....	3
1.5 Hipotesis Peneitian	4
1.6 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Kombucha	5
2.2 Faktor Fermentasi Kombucha.....	7
2.3.1 Substrat	7
2.3.2 Waktu Fermentasi	8
2.3.3 Suhu.....	9
2.3.4 pH.....	9
2.4 Lampes (<i>Ocimum sanctum</i> L.).....	10
2.4.1 Morfologi.....	10
2.4.2 Fitokimia	11
2.5 Antioksidan Kombucha	12
2.6 Integrasi Islam Fermentasi Kombucha.....	14
BAB III METODE PENELITIAN	16
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	16
3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	16
3.2.1 Alat	16
3.2.2 Bahan	16
3.3 Rancangan Penelitian.....	16

3.4 Tahapan Penelitian	16
3.4 Prosedur Penelitian	17
3.4.1 Pembuatan Ekstrak Teh Daun Lampes (<i>Ocimum sanctum</i> L.)	17
3.4.1 Fermentasi Kombucha	17
3.4.2 Pengukuran Nilai pH (AOAC, 1990)	17
3.4.3 Pengukuran Total Asam Titrasi (Rohman <i>et al.</i> , 2019)	17
3.4.4 Penentuan Aktivitas Antioksidan (Mohsin <i>et al.</i> , 2022)	17
3.4.5 Data Analisis	18
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	19
4.1. Pembuatan Kombucha Daun Lampes (<i>Ocimum sanctum</i> L.)	19
4.2. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Nilai pH Kombucha Daun Lampes (<i>Ocimum sanctum</i> L.)	20
4.3. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Total Asam Titrasi (TAT) Kombucha Daun Lampes (<i>Ocimum Sanctum</i> L.)	21
4.4. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Kombucha Daun Lampes (<i>Ocimum sanctum</i> L.)	23
PBAB V PENUTUP	26
5.1 Kesimpulan	26
5.2 Saran	26
DAFTAR PUSTAKA	27
LAMPIRAN.....	32

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Screening fitokimia kualitatif daun lampes (<i>Ocimum sanctum</i> L.)	11
Tabel 2.2 Persenyawaan pada <i>Ocimum sanctum</i> L.	12
Tabel 4.1 Nilai pH kombucha daun lampes (<i>Ocimum sanctum</i> L.)	21
Tabel 4.2 Nilai %TAT kombucha daun lampes (<i>Ocimum sanctum</i> L.).....	23
Tabel 4.3 Nilai %inhibisi DPPH kombucha daun lampes (<i>Ocimum sanctum</i> L.)	24

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Jalur metabolik utama pada kombucha (Ojo and de Smidt, 2023).....	8
Gambar 2.2 Tanaman <i>Ocimum sanctum</i> L. (Direktorat Jendral Kefarmasian dan Alat Kesehatan, 2017)	10
Gambar 4.1 Simplisia daun lampes (<i>Ocimum sanctum</i> L.).....	19
Gambar 4.2 Kombucha daun lampes (<i>Ocimum sanctum</i> L.).....	20

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Tahapan Penelitian.....	32
Lampiran 2. Skema kerja	33
Lampiran 3. Perhitungan	34
Lampiran 4. Data Mentah Hasil Pengukuran ph, Total Asam Dan Antioksidan Kombucha Daun Lampes (<i>Ocimum sanctum</i> L.).....	37
Lampiran 5. Hasil Analisa Statistik Dengan SPSS 27	38
Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian	41

ABSTRAK

Ramadhana, A. S. 2024. **Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Karakteristik Kimia Dan Aktivitas Antioksidan Pada Kombucha Daun Lampes (*Ocimum sanctum L.*).** Pembimbing I: Anik Maunatin; Pembimbing II: Anita Andriya Ningsih

Kata kunci: *Aktivitas Antioksidan, DPPH, Fermentasi Kombucha, Ocimum sanctum L.*

Kombucha adalah minuman fermentasi teh bergula dengan adanya kultur teh jamur (SCOBY). Adapun substrat alternatif seperti jus buah, ekstrak herbal, dan juga kacang-kacangan, apapun substrat yang digunakan pada fermentasi kombucha bertujuan untuk mendapatkan karakteristik minuman kombucha yang diinginkan dengan cara mengontrol parameter fermentasi, seperti lama waktu fermentasi. Salah satu substrat alternatif dari ekstrak tanaman herbal adalah tanaman lampes (*Ocimum sanctum L.*), lampes merupakan tanaman semak berkambium, termasuk dalam genus kemangi dan basil. Daun lampes banyak digunakan sebagai tanaman herbal yang dapat mengobati batuk, busung air, demam, haid tidak teratur dan masalah pernafasan. Karena kandungan fitokimia pada daunnya terdapat banyak minyak atsiri, metilkavikol, saponin, dan polifenol yang dapat mempengaruhi karakteristik kimia dan aktivitas antioksidan. Penelitian ini menggunakan ekstraksi metode infusa dengan pelarut air minum dalam kemasan hingga mendidih, dan substrat daun lampes berupa serbuk simplisia. Fermentasi dilakukan pada suhu ruang secara triplo. Pengukuran dilakukan secara duplo pada hari ke-3, 6, 9, 12, dan 15. Pengujian karakteristik kimia dilakukan dengan mengukur nilai pH dan total asam tertitrasi, sedangkan pengukuran aktivitas antioksidan diukur menggunakan DPPH dalam %inhibisi menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis. Hasil dari perlakuan lama fermentasi terhadap karakteristik kimia dan aktivitas antioksidan kombucha daun lampes (*Ocimum sanctum L.*), didapatkan adanya pengaruh secara nyata ($p < 0,05$) terhadap karakteristik kimia (pH dan total asam tertitrasi), namun tidak dengan aktivitas antioksidannya. Kecenderungan nilai pH pada kombucha daun lampes (*Ocimum sanctum L.*) menurun, sedangkan total asam tertitrasi cenderung naik, secara *food safety* kombucha daun lampes (*Ocimum sanctum L.*) aman untuk dikonsumsi. Aktivitas antioksidan dalam %inhibisi DPPH tertinggi pada perlakuan 12 hari fermentasi (79,51%).

ABSTRACT

Ramadhana, A. S. 2023. **The Effect Of Fermentation Time On The Chemical Characteristics And Antioxidant Activity Of Lampes Leaf Kombucha (*Ocimum Sanctum* L.). Supervisor I: Anik Maunatin; Supervisor II: Anita Andriya Ningsih**

Keywords: Antioxidant Activity, DPPH, Fermented Kombucha, *Ocimum sanctum* L.

Kombucha is a fermented, sweetened tea drink produced with a SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast). Alternative substrates such as fruit juice, herbal extracts, and nuts can be used in kombucha fermentation to achieve desired characteristics by controlling fermentation parameters, such as fermentation time. One alternative substrate from herbal plant extracts is *Ocimum sanctum* L. (holy basil). Holy basil is a shrub and cambium plant, belonging to the basil genus. Holy basil leaves are widely used as an herbal plant to treat cough, dropsy, fever, irregular menstruation, and respiratory problems. Due to the phytochemical content in its leaves, there are many essential oils, methyl chavicol, saponins, and polyphenols that can affect chemical characteristics and antioxidant activity. This study used an infusion extraction method with boiling drinking water, and the holy basil leaf substrate was in the form of simple powder. Fermentation was carried out at room temperature in triplicate. Measurements were made in duplicate on days 3, 6, 9, 12, and 15. Chemical characteristics were tested by measuring pH and total titratable acid, while antioxidant activity was measured using DPPH in %inhibition using a UV-Vis spectrophotometer. This results of the treatment of fermentation time on the chemical characteristics and antioxidant activity of holy basil kombucha (*Ocimum sanctum* L.) showed a significant effect ($p < 0.05$) on chemical characteristics (pH and total titratable acid), but not on antioxidant activity. The pH trend in holy basil kombucha (*Ocimum sanctum* L.) decreased, while the total titratable acid tended to increase. From a food safety standpoint, holy basil kombucha (*Ocimum sanctum* L.) is safe for consumption. The highest antioxidant activity in % DPPH inhibition was found in the 12-day fermentation treatment (79.51%).

مستخلص البحث

رمضان ، أ. س. 2024. تأثير مدة التخمير على الخصائص الكيميائية والنشاط المضاد للأكسدة في مصابيح أوراق الكمبوتشا (*Ocimum sanctum L.*) بحث جامعي. قسم الكيمياء. جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة الأولى: الدكتورة أنيك ماؤنتين، الماجستير. المشرفة الثانية: أنيتا أندريا نينغسية، الماجستير

الكلمة الرئيسية: *Ocimum sanctum L.* ، تخمير الكمبوتشا، النشاط المضاد للأكسدة، DPPH

الكمبوتشا هو مشروب شاي سكري مخمر مع وجود شاي الفطر كوتور (سكوبي). أما بالنسبة للركائز البديلة مثل عصائر الفاكهة والمستخلصات العشبية والمكسرات أيضا، فإن أي ركيزة مستخدمة في تخمير الكمبوتشا يهدف إلى الحصول على الخصائص المرغوبة لمشروبات الكمبوتشا من خلال التحكم في معلمات التخمير، مثل طول وقت التخمير. واحدة من الركائز البديلة لمستخلصات النباتات العشبية هي *Ocimum sanctum L.* (نبات المصاييح)، المصاييح عبارة عن نبات شجيرة وكامبيوم، ينتمي إلى جنس الريحان والريحان. تستخدم أوراق المصاييح على نطاق واسع كنباتات عشبية يمكنها علاج السعال وأبار المياه والحمى وعدم انتظام الدورة الشهرية ومشاكل الجهاز التنفسي. بسبب المحتوى الكيميائي النباتي في الأوراق، هناك العديد من الزيوت الأساسية، ميثيل كافيكول، الصابونين، والبوليفينول التي يمكن أن تؤثر على الخصائص الكيميائية والنشاط المضاد للأكسدة. استخدمت هذه الدراسة طريقة استخراج التسريب بمذيب المياه المعدنية المغلية، وركيزة أوراق المصاييح على شكل مسحوق سيمبليسيا. يتم التخمير في درجة حرارة الغرفة في ثلاثي. تم إجراء القياسات في نسختين في الأيام 3 و 6 و 9 و 12 و 15. تم إجراء اختبار الخصائص الكيميائية بقيمة الأس الهيدروجيني والحمض المعايير الكلي، بينما تم قياس النشاط المضاد للأكسدة باستخدام DPPH في نسبة التثبيط باستخدام أدوات مقياس الطيف الضوئي للأشعة فوق البنفسجية. نتيجة للمعالجة طويلة الأمد للتخمير على الخصائص الكيميائية والنشاط المضاد للأكسدة لأوراق لامبس كومبوتشا (*Ocimum sanctum L.*)، وجد أن هناك تأثيرا حقيقيا ($p > 0,05$) على الخصائص الكيميائية (درجة الحموضة والحمض المعايير الكلي)، ولكن ليس بنشاطه المضاد للأكسدة. ينخفض ميل قيمة الأس الهيدروجيني في الكمبوتشا (*Ocimum sanctum L.*)، بينما تميل الحموضة الكلية إلى الزيادة، من حيث سلامة الغذاء، الكمبوتشا (*Ocimum sanctum L.*) آمنة للاستهلاك. كان النشاط المضاد للأكسدة في نسبة تثبيط DPPH أعلى في 12 يوما من معالجة التخمير (79,51%).

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kombucha merupakan suatu ekosistem kompleks dari hasil fermentasi daun teh manis, kulturnya dikenal sebagai SCOBY (*Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast*) yang berkompetisi dan bekerja sama membentuk suatu komunitas. Komunitas bakteri dan ragi akan membentuk SCOBY yang dimana sangat bisa bervariasi, bergantung pada geografis kombucha pertama kali dibuat. Variasi mikroba yang terlibat pada fermentasi kombucha bergantung pada kondisi fermentasi seperti suhu, waktu, SCOBY yang ditambahkan dan pada bahan baku serta sumber gula yang digunakan (Morales, 2020). Secara umum fermentasi merupakan proses degradasi secara perlahan pada komponen organik kompleks menjadi senyawa sederhana yang dilakukan oleh mikroba seperti ragi, kapang, dan bakteri. Mikroba ini memainkan peran penting dalam mengubah karbohidrat menjadi alkohol atau asam organik serta produk samping berbentuk gas (Malakar *et al.*, 2020).

Proses fermentasi teh menjadi kombucha menghasilkan beragam senyawa penting bagi kesehatan, seperti asam organik (asetat, glukonat), vitamin B, dan enzim. Senyawa-senyawa ini, termasuk senyawa fenolik dari substrat akan berinteraksi selama fermentasi membentuk kompleks yang memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan teh biasa (seduhan/infusa). Berkat kandungan bioaktifnya, kombucha memiliki potensi sebagai agen antioksidan, anti-inflamasi, dan anti-mikroba, serta dapat membantu menjaga kesehatan pencernaan dan meningkatkan sistem imun. Komposisi kimia teh kombucha bergantung dengan faktor yang berkaitan erat dengan keberagaman jenis mikroba (Morales, 2020). Faktor tersebut juga berkaitan dengan perubahan-perubahan yang akan terjadi, termasuk pada perubahan aktivitas antioksidan selama fermentasi.

Proses fermentasi kombucha melibatkan perubahan kimiawi kompleks dan menghasilkan senyawa bioaktif dalam kurun waktu fermentasi, membuat kita sadar pentingnya waktu dalam kehidupan. Hal ini sejalan dengan pesan Al-Quran dalam surah Al-Baqarah ayat 164 sebagai berikut.

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ وَالْفُلْكِ الَّتِي تَجْرِي فِي الْبَحْرِ بِمَا يَنْفَعُ النَّاسَ وَمَا أَنْزَلَ اللَّهُ مِنَ السَّمَاءِ مِنْ مَّاءٍ فَأَحْيَا بِهِ الْأَرْضَ بَعْدَ مَوْتِهَا وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ طَّوَّصَّرِيفِ الرِّيحِ وَالسَّحَابِ الْمُسَخَّرِ بَيْنَ السَّمَاءِ وَالْأَرْضِ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَعْقِلُونَ

Terjemahan: "Sesungguhnya pada penciptaan langit dan bumi, pergantian malam dan siang,47) bahtera yang berlayar di laut dengan (muatan) yang bermanfaat bagi manusia, apa yang Allah turunkan dari langit berupa air, lalu dengannya Dia menghidupkan bumi setelah mati (kering), dan Dia menebarkan di dalamnya semua jenis hewan, dan pengisaran angin dan awan yang dikendalikan antara langit dan bumi, (semua itu) sungguh merupakan tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang mengerti. Pergantian malam dan siang akibat rotasi bumi menggerakkan udara secara global berupa angin. Dengan angin, kapal dapat bergerak menggunakan layar. Angin pula yang menggerakkan uap air dari lautan hingga membentuk

awan lalu mendorongnya ke daratan hingga tercurah sebagai hujan. Dengan hujan itu, tumbuhlah tumbuhan yang menghidupi beragam jenis hewan.

Tafsir Al-Mahfuzh memberikan perhatian khusus pada konsep waktu dalam ayat tersebut. Kata *خَلَقَ* yang berarti "menciptakan" menunjukkan bahwa segala sesuatu yang ada awalnya tidak ada, lalu diciptakan oleh Allah. Proses penciptaan ini tidak terjadi secara instan, melainkan melalui tahapan-tahapan yang berlangsung dalam kurun waktu tertentu. Kata *اِخْتِلَافٍ* yang berarti "berbeda" dalam konteks ayat ini merujuk pada pergantian siang dan malam secara bergantian. Sedangkan kata *فُلُوكَ* yang sering diterjemahkan sebagai "bahtera" mengacu pada kapal besar, seperti kapal Nabi Nuh yang pembangunannya memerlukan waktu yang sangat lama. Melalui ayat ini, Al-Qur'an mengajarkan kita akan pentingnya menghargai waktu sebagai karunia yang berharga (Sarwat, 2023).

Konsep waktu yang begitu mendasar dalam Islam, seperti yang tercermin dalam ayat-ayat Al-Quran, memiliki implikasi yang luas dalam kehidupan kita. Baik dalam skala kosmik, seperti penciptaan alam semesta, maupun dalam skala mikro, seperti proses fermentasi kombucha, waktu berperan sebagai konstanta yang mengatur segala sesuatu. Penelitian oleh Gamboa-Gómez *et al.* (2016) menunjukkan bahwa pada tingkat kimiawi, waktu memiliki pengaruh yang signifikan terhadap hasil akhir suatu proses fermentasi kombucha didapatkan nilai pH yang menurun, dari pH infusa *Litsea glaucescens* 5,1 menjadi 3 dan juga terjadi pada pH *Eucalyptus camaldulensis* dari 5 menjadi 3. Hasil yang sama juga diperoleh oleh Silva, *et al.* (2021), nilai pH ekstrak infusa *Malvaviscus arboreus* Cav. 6,7 menjadi 2,7 dan teh hijau dari pH 6,2 menjadi 3,3. Senyawa asam asetat muncul setelah fermentasi menggunakan titrasi asam-basa masing-masing sebesar 8,8 g/L dan 3,8 g/L.

Tidak hanya itu, senyawa bioaktif seperti senyawa fenolik yang memiliki aktivitas antioksidan juga mengalami perubahan selama fermentasi berlangsung. Gamboa-Gómez *et al.* (2016) mengevaluasi adanya pengaruh fermentasi kombucha dengan substrat alternatif terhadap aktivitas antioksidan, menggunakan tiga indikator aktivitas antioksidan yaitu, *Thiobarbituric acid reactive substances* (TBARS), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) dan oksida nitrat. Para peneliti tersebut menemukan bahwa proses fermentasi kombucha meningkatkan kapasitas antioksidan pada infusa herbal yang secara efektif mengais radikal bebas dan menghambat lipid peroksidasi.

Al-Quran, dalam surah Al-Baqarah ayat 164, mengajarkan kita bahwa waktu adalah kunci perubahan. Prinsip ini terlihat jelas dalam proses fermentasi kombucha. Penelitian telah menunjukkan bahwa lama fermentasi sangat mempengaruhi kualitas produk akhir, termasuk peningkatan kapasitas antioksidan. Pemanfaatan waktu dan mengeksplorasi substrat alternatif seperti tanaman lampes, kita dapat menciptakan inovasi baru dalam produksi kombucha yang lebih sehat dan bermanfaat. Tanaman lampes (Holy basil/Ruku-ruku/Kemangi hutan) adalah tumbuhan perdu tahunan yang tumbuh tegak. Tanaman ini umumnya ditanam

di kebun, halaman rumah, sawah, ataupun pinggiran jalan (Sulianti, 2008). Lampes termasuk dalam keluarga *Lamiaceae*, memiliki tiga sinonim nama ilmiah yaitu *Ocimum sanctum*, *Ocimum tomentosum* dan *Ocimum tenuiflorum* L. Daun lampes dapat digunakan sebagai pengobatan tradisional dengan cara diseduh menjadi teh herbal untuk mengobati batuk, busung air, demam, haid tidak teratur, pelancar air susu ibu, pereda panas, membantu memperbaiki pencernaan (Inventaris Tanaman Obat Indonesia I Jilid 2, 2001).

Penelitian Yıkmış and Tuğgüm (2019) telah menunjukkan potensi besar dari kombucha lampes ungu dalam peningkatan aktivitas antioksidan (64,19%). Namun, penelitian tersebut masih terbatas pada satu spesies *Ocimum*. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk melanjutkan eksplorasi potensi spesies *Ocimum* lainnya, khususnya *Ocimum sanctum*, sebagai substrat fermentasi kombucha. Dengan demikian, penelitian ini dilakukan dengan harapan dapat ditemukan alternatif minuman fungsional baru yang kaya akan antioksidan dan memiliki manfaat kesehatan yang lebih luas. Hal ini sejalan dengan semangat Al-Quran yang mendorong manusia untuk terus belajar dan berinovasi.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimana pengaruh lama fermentasi terhadap karakteristik kimia pada kombucha daun lampes (*Ocimum sanctum* L.)?
2. Bagaimana pengaruh lama fermentasi terhadap aktivitas antioksidan pada kombucha daun lampes (*Ocimum sanctum* L.)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh lama fermentasi terhadap karakteristik kimia pada Kombucha daun lampes (*Ocimum sanctum* L.).
2. Mengetahui pengaruh lama fermentasi terhadap aktivitas antioksidan pada Kombucha daun lampes. (*Ocimum sanctum* L.).

1.4 Batasan Masalah

Adapun batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. SCOBY diperoleh dari toko online "Mambucha".
2. SCOBY bakteri dan ragi spesies tidak teridentifikasi.
3. Siplisia daun lampes diperoleh dari Materia Medica Kota Batu, Jawa Timur.
4. Lama waktu fermentasi selama 3, 6, 9, 12 dan 15 hari.
5. Karakteristik kimia yang dimaksud diantaranya; nilai pH dan total asam.
6. Metode pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dan representasi hasil berupa %inhibisi DPPH.

1.5 Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang dapat diajukan dari penelitian ini berupa H0 dan H1 sebagai berikut:

H0: Tidak adanya pengaruh lama fermentasi terhadap karakteristik kimia dan aktivitas antioksidan pada kombucha daun lampes.

H1: Adanya pengaruh lama fermentasi terhadap karakteristik kimia dan aktivitas antioksidan pada kombucha daun lampes.

1.6 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tambahan kepada masyarakat dan akademisi tentang adanya pengaruh lama fermentasi kombucha oleh SCOBY terhadap perubahan senyawa bioaktif pada ekstrak daun lampes (*Ocimum sanctum L.*) salah satunya yang sangat penting yaitu karakteristik kimia dan aktivitas antioksidan, mengingat berbagai penyakit yang diderita manusia modern banyak disebabkan oleh radikal bebas yang berasal dari tubuh maupun luar tubuh. Manfaat untuk masyarakat, dapat menjadi minuman fermentasi kombucha sebagai minuman kesehatan alternatif maupun minuman pengganti teh dan kopi dalam keseharian yang aman dan *toyyiban*.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kombucha

Konsumsi kombucha secara rutin dipercaya memiliki khasiat sehat. Mengingat sejarah konsumsinya yang panjang sebagai minuman kesehatan, kombucha akan terus dieksplorasi karena khasiatnya tersebut. Khasiat dari minuman tersebut antara lain berasal dari aktivitas antioksidan yang berperan dalam mengembalikan keseimbangan antara produksi radikal bebas dan mekanisme pertahanan tubuh. Kombucha dapat berkontribusi pada pengurangan gangguan kesehatan seperti kanker, penyakit kardiovaskular, dan penyakit neurodegeneratif. Secara umum, kombucha menunjukkan efek positif pada pencernaan dan mikrobiota usus, meredakan radang sendi, memiliki aktivitas antimikroba, meredakan wasir, mendetoksifikasi tubuh, menunjukkan efek hepatoprotektif, serta mengurangi insomnia, meredakan sakit kepala, dan berdampak positif pada suasana hati (Watawana *et al.*, 2015; Martínez *et al.*, 2018; Al-Mohammadi *et al.*, 2021).

Menurut Antolak *et al.* (2021) khasiat tersebut berasal dari: (1) adanya senyawa fenolik pada daun teh; (2) senyawa fenolik yang dihasilkan dari aktivitas metabolisme mikroba (aktivitas enzim yang menghidrolisis polifenol teh); (3) adanya asam organik yang dihasilkan oleh mikroba; (4) adanya vitamin dari daun teh atau produk metabolisme mikroba; (5) adanya enzim dan protein mikroba, serta (6) aktivitas probiotik mikroba. Hasil uji secara *in vivo* telah dilakukan oleh beberapa peneliti salah satunya Cardoso *et al.* (2020) menemukan 127 senyawa fenolik (70,2% flavonoid, 18,3% asam fenolat 8,4% polifenol lainnya, 2,3% lignan, dan 0,8% stilbenes) yang dimana diidentifikasi dalam kombucha teh hijau dan hitam yang difermentasi selama 10 hari mengandung senyawa fenolik terbanyak.

Keberadaan senyawa bioaktif yang bersifat antioksidan berperan dalam menekan stres oksidatif. Senyawa bioaktif dengan sifat antioksidan dapat menekan stres oksidatif. Dugaan khasiat kombucha sebagai antidiabetes dan antikarsinogenik didukung oleh penelitian Srihari *et al.* (2013), yang mengevaluasi efek antihiperlipidemik ekstrak kombucha pada tikus diabetes selama 45 hari dengan berbagai konsentrasi. Pada dosis 6 mg/kg berat badan per hari, pemberian ekstrak kombucha terbukti menurunkan kadar hemoglobin glikosilasi dan meningkatkan kadar insulin plasma pada tikus diabetes. Penelitian Bhattacharya *et al.* (2013) meneliti efek perlindungan kombucha pada berbagai organ tikus diabetes, termasuk pankreas, hati, ginjal, dan jantung. Hasilnya menunjukkan potensi antidiabetes yang signifikan, diduga terkait dengan pemulihan dari perubahan patofisiologis yang diinduksi oleh diabetes pada organ-organ tersebut.

Adanya aktivitas senyawa bioaktif kombucha tidak lepas dari kulturnya yaitu, SCOBY atau disebut juga "*tea fungus*". Pada SCOBY terdapat sebuah simbiosis dari bakteri asam asetat, bakteri asam laktat, dan ragi osmofilik (Cardoso *et al.*, 2020). Proses fermentasi kombucha melibatkan interaksi kompleks berbagai mikroorganisme. Menurut Tran *et al.*

(2020), kombucha tidak dihasilkan oleh satu konsorsium mikroba tunggal, melainkan oleh berbagai matriks konsorsium yang saling bergantung. Asal-usul interaksi di antara mikroba-mikroba ini masih belum sepenuhnya dipahami. Selama fermentasi, aktivitas bakteri aerob menghasilkan filamen selulosa yang berakumulasi di permukaan cairan dan membentuk lapisan mengambang dengan bantuan ragi. Lapisan-lapisan ini kemudian membentuk *biofilm* yang lebih besar dan kuat (May *et al.*, 2019). *Biofilm* ini, yang dikenal sebagai SCOBY, muncul secara simultan dengan proses fermentasi. Bakteri yang hidup dalam *biofilm* diperkirakan memberikan mekanisme pertahanan pertama dari bakteri patogen yang berasal dari lingkungan luar dan juga digunakan sebagai penyimpanan sumber daya (Stewart, 1996). *Biofilm* memiliki tekstur padat seperti jeli serta menghasilkan bau yang mirip dengan cuka, bau seperti cuka merupakan indikator yang baik bahwa SCOBY sehat, sedangkan bau tidak sedap atau berjamur dapat menandakan bahwa SCOBY membusuk atau terkontaminasi (Crum, *et al.*, 2016).

Ragam kultur SCOBY pada Kombucha selalu bervariasi bergantung pada kondisi lingkungan dan jenis teh yang digunakan, namun menurut Gaggia *et al.* (2019) menunjukkan adanya persamaan pada komposisi bakteri dari substrat teh hijau, hitam dan rooibos dengan dominasi *Komagataeibacter* spp. (*Komagataeibacter rhaeticus*). Berdasarkan sekuensing *high-throughput gen* 16S rRNA *Acetobacteraceae* ditemukan sebagai *family* utama, diikuti dengan *Komagataeibacter* spp. sebagai genus dominan, tetapi *Lactobacillaceae*, *Paenibacillaceae*, *Staphylococcaceae*, *Streptococcaceae*, *Lachnospiraceae* juga terdeteksi. Pada ragi, *Pichiaceae* (*Brettanomyces bruxellensis*) dan *Saccharomycetaceae* (*Zygosaccharomyces parvibailii*) ditemukan berdasarkan sekuensing ITS *region*. Dalam penelitian terbaru terhadap lebih dari 100 sampel teh kombucha dari Amerika Utara, diantaranya: *Komagataeibacter* (*K.europaeus*, *K. medellinensis*, *K. saccharivorans*, *K. nataicola*, *K. xylinus*, *K. rhaeticus*), *Acetobacter* (*A. senegalensis*, *A. tropicalis*), *Gluconobacter* (*G. oxydans*), dan *Liquorilactobacillus nagelii* digambarkan sebagai bakteri utama, sedangkan *Brettanomyces* (*B. bruxellensis* dan *B. anomalus*), *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomycodes ludwigii*, *Zygosaccharomyces bisporus*, *Starmerella davenportii*, *Schizosaccharomyces pombe* diidentifikasi sebagai strain ragi (Harrison and Curtin, 2021).

Konsorsium SCOBY terdapat sejumlah interaksi antar mikroba yang bersimbiosis (gambar 2.1), dan juga antara mikroba dengan lingkungan fermentasi. Salah satu yang paling penting dan terdokumentasi dengan baik adalah pemanfaatan sukrosa sebagai hasil dari aktivitas invertase (β -frukto-furanosidase, EC 3.2.1.26) merupakan strain ragi yang menghidrolisis sukrosa, dan akan melepaskan glukosa dan fruktosa yang merupakan substrat untuk produksi metabolit lanjut. Secara umum *Saccharomyces* spp. menggunakan glukosa dan menghasilkan etanol melalui glikolisis, sedangkan *Zygosaccharomyces* spp. menghasilkan etanol lebih efisien dari fruktosa. Terlebih lagi, strain ragi tertentu dapat menghasilkan etanol dari asam malat seperti yang dilakukan oleh strain *Schizosaccharomyces*

pombe, atau asam asetat berkonsentrasi tinggi dalam kondisi aerobik dilakukan oleh strain *Brettanomyces bruxellensis* (Villarreal-Soto *et al.*, 2018). Selanjutnya etanol akan dioksidasi oleh BAA menjadi asam asetat. Mula-mula, etanol akan diubah menjadi asetaldehid oleh enzim dehidrogenase. Asetaldehid kemudian dioksidasi oleh enzim aldehyd dehidrogenase menghasilkan Asetil Co-A. Asetil Co-A oleh enzim fosfotransasetilase diubah menjadi asetil fosfat. Asetil fosfat kemudian mengalami defosforilasi oleh enzim asetat kinase menjadi asam asetat (Mehta *et al.*, 2012). Asam asetat yang dihasilkan bertindak sebagai stimulan bagi ragi untuk menghasilkan lebih banyak etanol. Etanol ini kemudian diubah menjadi asam asetat oleh bakteri yang sama. Proses ini menghasilkan akumulasi etanol dan asam asetat dalam medium dan bertindak sebagai agen antimikroba yang mencegah kontaminasi mikroba patogen (Liu *et al.*, 1996).

Tidak hanya produksi asam organik saja, BAA seperti *Komagataeibacter* spp. menggunakan glukosa untuk mensintesis selulosa bakteri (*biofilm*), tidak hanya glukosa, senyawa lain seperti etanol, sukrosa ataupun gliserol juga mengambil bagian dalam sintesis *biofilm* tersebut (Chawla *et al.*, 2009; Villarreal-Soto *et al.*, 2018). BAA bertanggung jawab atas produksi asam glukuronat, asam uronat dihasilkan dari glukosa yang dimetabolisme menjadi asam glukonat dan kemudian diubah menjadi asam glukuronat yang memberikan banyak manfaat kesehatan bagi yang mengonsumsinya (Martínez *et al.*, 2020; Villarreal-Soto *et al.*, 2018). Selain itu, strain *Gluconobacter* dapat mensintesis vitamin C (asam L-askorbat) dari D-sorbitol, yang diperoleh dari glukosa (Mamlouk and Gullo, 2013). Tergantung pada spesies BAL dapat menggunakan glukosa salah satunya dalam jalur *Embden-Meyerhof-Parnas*, di mana asam laktat diperoleh sebagai metabolit utama (BAL homofermentatif), atau melalui jalur pentosa fosfat yang menghasilkan sintesis asam laktat, etanol, dan karbon dioksida (BAL heterofermentatif). Dalam kasus fruktosa, asam asetat diproduksi sebagai pengganti etanol (Laureys *et al.*, 2020).

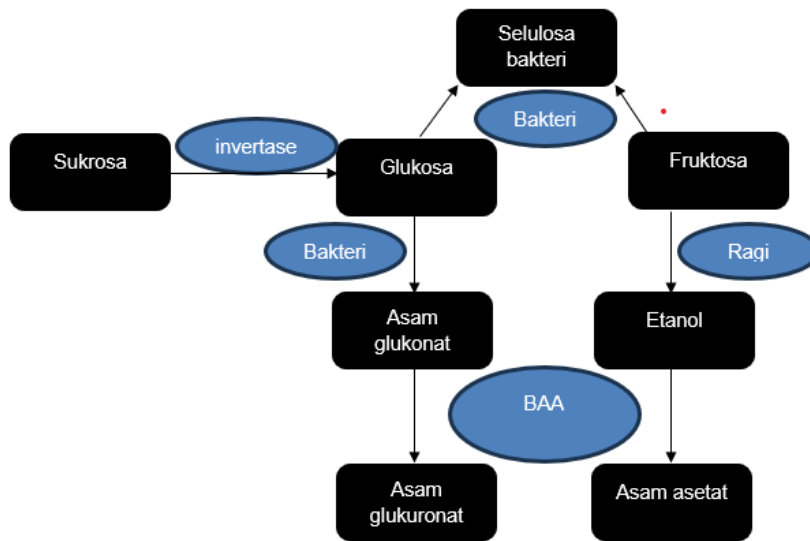
2.2 Faktor Fermentasi Kombucha

Fermentasi dipengaruhi oleh banyak faktor seperti suhu, pH, jumlah oksigen, CO₂ terlarut, sistem operasi, ketersediaan prekursor, *shear rate* pada fermentor, serta sifat dan komposisi medium (Marsh *et al.*, 2014). Variasi apapun dalam faktor-faktor ini dapat mempengaruhi laju fermentasi, spektrum, kinerja, sifat organoleptik, kualitas nutrisi, dan sifat fisikokimia lainnya terhadap produk akhir. Varietas tanaman sebagai substrat yang berbeda, konsentrasi gula, waktu fermentasi, dan komposisi SCOBY dapat menyebabkan perbedaan komposisi, oleh karena itu aktivitas biologis juga akan terpengaruh (Wolfe and Dutton, 2015).

2.3.1 Substrat

Biasanya kombucha diperoleh dari fermentasi teh hijau atau hitam, namun beberapa penelitian telah mempelajari substrat lain sebagai alternatif produksinya dan mendapatkan hasil yang menarik. Battikh *et al.* (2012) menguji aktivitas antimikroba dari beberapa analog

teh kombucha dan menemukan nilai penghambatan yang lebih baik dibandingkan dengan kombucha tradisional (teh), sebagian besar terhadap spesies *Candida*.



Gambar 2.1 Jalur metabolik utama pada kombucha (Ojo and de Smidt, 2023)

Watawana *et al.* (2015) memfermentasi air kelapa (*Cocos nucifera* var. *aurantiaca*) dengan konsorsium kombucha dan mengamati peningkatan beberapa aktivitas biologis. Velicanski *et al.* (2013) menunjukkan bahwa *Echinacea purpurea* L. dan *Satureja montana* L. dapat digunakan sebagai sumber nitrogen alternatif, mengurangi waktu fermentasi dan memperoleh karakteristik yang sebanding dengan kombucha tradisional. Ayed *et al.* (2016) mengembangkan kombucha dari jus anggur dengan peningkatan sifat sensorik dan fungsional hanya 6 hari fermentasi. Khosravi *et al.* (2019) menemukan bahwa baik waktu fermentasi maupun jenis substrat secara signifikan mempengaruhi konsentrasi asam asetat dan asam glukonat dalam kombucha. Selain itu, senyawa bioaktif pada substrat berperan sebagai stimulator produksi *biofilm* dengan mencegah biotransformasi senyawa bis-(3',5')-siklik diguanosin monofosfat (c-di-GMP) (faktor terpenting dalam sintesis *biofilm*) oleh enzim fosfodiesterase (Kaczmarczyk *et al.*, 2014; Teoh *et al.*, 2004).

2.3.2 Waktu Fermentasi

Fermentasi teh kombucha biasanya berkisar antara 7 hingga 60 hari, aktivitas biologis dapat meningkat selama proses ini. Namun, hasil terbaik diperoleh rata-rata dalam 15 hari (Chu and Chen, 2006). Meskipun sebagian besar aktivitas antioksidan yang diperoleh meningkat seiring dengan waktu inkubasi, fermentasi yang berkepanjangan tidak dianjurkan karena akumulasi asam organik, yang dapat mencapai tingkat yang merusak pencernaan jika dikonsumsi langsung. Pemilihan durasi periode fermentasi juga bergantung pada atribut sensorik yang diharapkan. Reiss (1994) melaporkan bahwa dalam waktu 6 sampai 10 hari fermentasi diperoleh kombucha menyegarkan seperti buah, rasa seperti cuka jika dalam fermentasi dengan waktu lama. Menurut model aturan *Food and Drug Administration* untuk

pembuatan kombucha direkomendasikan tidak lebih dari 10 hari fermentasi untuk dikonsumsi manusia. Coton *et al.* (2017) mempelajari perubahan populasi mikroba teh kombucha dari produksi industri sepanjang waktu (0, 2, 4, dan 8 hari). Mereka mengamati bahwa sebagian besar BAA lebih melimpah dalam *biofilm* dibandingkan dalam kaldu pada hari ke-0 dan setelah hari ke-8 mereka mencapai kesetimbangan, dibandingkan spesies ragi tampaknya cukup stabil di kedua cairan dan *biofilm* selama fermentasi. Chakravorty *et al.* (2016) mengevaluasi kandungan polifenol dan aktivitas antioksidan teh kombucha selama fermentasi (0, 7, 14, dan 21 hari) dan mengamati kecenderungan peningkatan tertinggi khususnya setelah hari ke-7, dimungkinkan karena keanekaragaman mikroba yang lebih tinggi dicapai. Begitu juga dengan nilai TAT (Total Asam Titrasi) meningkat, dan nilai pH teh kombucha menurun selama proses fermentasi berlangsung pada kombucha serai (Purwaningtyas dan Cahyaningtyas, 2024)

2.3.3 Suhu

Mempertahankan suhu optimal selama fermentasi menghasilkan pertumbuhan mikroba dan aktivitas enzim yang lebih baik, sehingga manfaat dari produk fermentasi meningkat. Selain itu, aktivitas antioksidan pada pangan dari tumbuhan dapat dipengaruhi oleh variasi suhu, misalnya produksi senyawa fenolik (Hur *et al.*, 2014). Umumnya nilai suhu fermentasi kombucha berkisar antara 22°C hingga 30°C. Vitas *et al.* (2013) melakukan fermentasi produk susu dengan SCOBY pada nilai suhu: 37°C, 40°C, dan 43°C menggunakan model optimasi, menurut hasil fermentasi tersebut suhu merupakan faktor yang paling berpengaruh terhadap lamanya fermentasi. Fermentasi dan nilai aktivitas antioksidan tertinggi diperoleh dengan nilai suhu antara 37°C hingga 42°C. Menurut Loncar *et al.* (2006), jumlah asam dan metabolit yang dihasilkan, serta vitamin C, lebih besar pada sampel yang diperoleh pada suhu lebih tinggi.

2.3.4 pH

pH merupakan faktor pembatas pertumbuhan mikroba dalam fermentasi kombucha. Rentang pH asam optimal bagi pertumbuhan bakteri asam asetat dan ragi yang berperan dalam pembentukan kombucha. Penurunan pH selama fermentasi menciptakan lingkungan selektif yang menguntungkan bagi mikroorganisme target dan menghambat pertumbuhan mikroba lain. pH produk akhir yang berada dalam kisaran 2,7-3,2 mengindikasikan keberhasilan proses fermentasi dan kualitas produk yang baik (Harler 1964; Kumar and Joshi, 2016). Hal ini juga berkaitan erat dengan pertumbuhan mikroba yang nantinya dapat merubah struktur senyawa fitokimia dan akhirnya mempengaruhi aktivitas antioksidan (Hur *et al.*, 2014). Namun, nilai pH terendah yang dapat diterima tidak boleh turun di bawah 3, yaitu pada batas kondisi saluran pencernaan (Loncar *et al.*, 2006). Namun, untuk memperoleh nilai ini mungkin berbeda tergantung pada substrat dan parameter fermentasi lainnya.

2.4 Lampes (*Ocimum sanctum* L.)

2.4.1 Morfologi

Tanaman yang dikenal dengan nama ilmiah *Ocimum sanctum* (atau *Ocimum tenuiflorum*) merupakan salah satu tanaman populer di India yang diberi nama *Holy Basil* (internasional), dan *Tulsi* (India). Tergolong keluarga *Lamiaceae* yang berasal dari benua India dan telah dibudidayakan selama ribuan tahun (Cohen, 2014). Sedangkan di Indonesia dikenal dengan nama lampes (Shasany, 2016; Sudiati, 2013)

Berdasarkan taksonomi dapat diklasifikasikan menjadi berikut. (Monokesh *et al.*, 2013)

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Ordo	: <i>Lamiales</i>
Familia	: <i>Lamiaceae</i>
Genus	: <i>Ocimum</i>
Species	: <i>Ocimum sanctum</i>



Gambar 2.2 Tanaman *Ocimum sanctum* L. (Direktorat Jendral Kefarmasian dan Alat Kesehatan, 2017)

Secara morfologi, tanaman lampes merupakan tumbuhan semak tegak berkambium pada batangnya dengan tinggi 30-50 cm serta memiliki aroma kuat (Monokesh *et al.*, 2013). Daun yang dimiliki tanaman lampes merupakan daun tunggal, berwarna hijau, berbentuk bulat dengan ujung runcing atau tumpul, serta terdapat bulu halus di kedua sisi muka daun. Tulang daun menyirip, lebar 0,5-2,75 cm dan panjang sekitar 0,75-7,5 cm. Bunga tanaman lampes memiliki susunan majemuk berkarang dengan ukuran tinggi 2,5-14 cm dan terdapat daun pelindung bertangkai pendek, berbentuk elips, atau bulat telur. Akarnya tunggang dan berbiji bertipe keras serta berwarna cokelat tua (Sudiati, 2013). Pemerian Simplisia daun lampes berupa helaian daun bentuk bulat telur, menggulung, pangkal runcing, tepi bergerigi, tidak rata,

tidak beraturan, ujung meruncing, pertulangan daun menyirip, ibu tulang daun tampak jelas, menonjol di permukaan bawah, kedua permukaan kasar; warna hijau muda; bau khas; tidak berasa (Farmakope Herbal Indonesia Edisi II, 2017).

Lampes memiliki tempat khusus dalam sistem pengobatan tradisional, termasuk Ayurveda, Siddha, dan pengobatan tradisional cina, karena khasiat terapeutiknya dan banyaknya jumlah manfaat kesehatan (Singh and Majumdar, 2019). Dalam agama Hindu, lampes dianggap sebagai tanaman suci dan sering kali dianggap sebagai sesembahan di rumah dan kuil (Bhattacharyya *et al.*, 2021). Hal ini diyakini sebagai sebuah inkarnasi Tulusi dan terkait dengan ritual, doa, dan festival (Bhattacharyya *et al.*, 2021; Cohen, 2014). Penyembuhan India kuno, *Ayurveda*, lampes dianggap sebagai ramuan penting untuk meningkatkan kesehatan secara keseluruhan dan kesejahteraan (Cohen, 2014). Lampes juga diklasifikasikan sebagai *Rasayana*, yang artinya diyakini dapat meningkatkan umur panjang dan vitalitas (Cohen, 2014). Lampes secara tradisional telah digunakan untuk mengobati berbagai macam penyakit, termasuk gangguan pernafasan, masalah pencernaan, penyakit kulit, dan sebagai adaptogen untuk melawan stres (Bhattacharyya *et al.*, 2021; Singh dan Majumdar, 2019)

2.4.2 Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder daun lampes yang dilakukan oleh Borah and Biswas (2018) sebagai berikut.

Tabel 2.1 Screening fitokimia kualitatif daun lampes (*Ocimum sanctum* L.)

Fitokimia	Ekstrak air	Ekstrak metanol	Ekstrak etanol
Protein	Negatif	Negatif	Negatif
Karbohidrat	Negatif	Positif	Positif
Fenol	Positif	Positif	Negatif
Tanin	Negatif	Positif	Positif
Flavonoid	Positif	Positif	Positif
Saponin	Negatif	Positif	Positif
Glikosida	Positif	Positif	Positif
Steroid	Negatif	Negatif	Negatif
Terpenoid	Negatif	Positif	Negatif
Alkaloid	Positif	Positif	Positif
Antrakuinon	Negatif	Negatif	Negatif

Komposisi fitokimia lampes dapat berbeda-beda tergantung berbagai faktor seperti lokasi geografis, praktik budidaya, dan metode ekstraksi. Kandungan fitokimianya berkontribusi terhadap beragam khasiat terapeutik lampes, termasuk efek antioksidan, anti-inflamasi, antimikroba, antikanker, dan imunomodulator (Baliga *et al.*, 2013; Cohen, 2014; Prakash *et al.*, 2014). Dibuktikan adanya berbagai macam konstituen kimiawi, seperti minyak esensial, fenol, flavonoid dengan menggunakan berbagai metode ekstraksi dan pelarut pada daun lampes (*Ocimum sanctum* L.) disajikan pada tabel 2.2 telah dirangkum oleh Takur and Thapa (2023) sebagai berikut.

Tabel 2.2 Persenyawaan pada *Ocimum sanctum* L.

Fitokimia	Senyawa
Minyak esensial	Kandungan utama minyak esensial lampes termasuk eugenol, eugenol metil eter, 1,8- <i>cineole</i> , linalool, dan metil eugenol (Singh <i>et al.</i> , 2015).
Senyawa fenol	Beberapa senyawa fenolik ditemukan dalam lampes terdapat asam rosmarinik, apigenin, orientin, vicenin, dan cirsimaritin (Cohen, 2014; Prakash <i>et al.</i> , 2014).
Terpenoid	Lampes mengandung <i>beta-caryophyllene</i> , <i>germacrene-D</i> , <i>beta-elemene</i> , dan berbagai seskuiterpen dan diterpen lainnya (Cohen, 2014; Prakash <i>et al.</i> , 2014).
Alkaloid	Alkaloid yang ada dalam lampes termasuk <i>vascobasine</i> , <i>vasicine</i> , dan <i>vasicinone</i> (Prakash <i>et al.</i> , 2014).
Flavonoid	Beberapa flavonoid penting ditemukan dalam lampes termasuk apigenin, luteolin, kaempferol, dan <i>quercetin</i> (Baliga <i>et al.</i> , 2013; Prakash <i>et al.</i> , 2014).
Steroid	Sterol utama yang ditemukan dalam lampes termasuk β -sitosterol, stigmasterol, dan campesterol (Prakash <i>et al.</i> , 2014).
Glikosida	Salah satu glikosida penting yang ada pada lampes adalah ocimarin yang merupakan turunan glukosa (Baliga <i>et al.</i> , 2013).
Triterpen	Beberapa triterpen penting ditemukan pada lampes termasuk asam ursolat, asam oleanolat, asam <i>betulinic</i> , dan lupeol (Singh <i>et al.</i> , 2015).
Vitamin dan mineral	Mengandung vitamin A, C, dan K, sedangkan mineral seperti kalsium, zat besi, dan seng (Cohen, 2014).
Senyawa volatil	Senyawa yang mudah menguap ini antara lain <i>limonene</i> , eugenol, <i>myrcene</i> , dan <i>beta-pinene</i> (Prakash <i>et al.</i> , 2014).
Polifenol	Polifenol ini termasuk, katekin, dan asam ellagic (Baliga <i>et al.</i> , 2013; Prakash <i>et al.</i> , 2014).

2.5 Antioksidan Kombucha

Radikal bebas merupakan atom, molekul atau ion dengan pasangan elektron yang sangat aktif bereaksi dengan molekul lainnya. Dalam sistem biologi radikal bebas sering diturunkan dari oksigen, nitrogen dan molekul sulfur. Radikal bebas merupakan bagian dari kelompok molekul seperti spesi oksigen reaktif (ROS), spesi nitrogen reaktif (RNS) dan spesi sulfur reaktif (RSS). Contoh ROS yaitu anion superoksida ($O_2^{\cdot-}$), radikal perhidroksi (HO_2^{\cdot}), radikal hidroksil ($\cdot OH$), nitrat oksida dan spesi lain seperti hidrogen peroksida (H_2O_2), oksigen singlet ($1O_2$), asam hipoklorous (HOCl) dan peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$). RNS diturunkan dari nitrat oksida melalui reaksi dengan $O_2^{\cdot-}$ membentuk $ONOO^{\cdot}$. RSS mudah dibentuk dari reaksi tiol dengan ROS (Lü *et al.*, 2010).

ROS dihasilkan selama metabolisme sel dan aktivitas fungsional, berperan penting dalam sinyal sel apoptosis, ekspresi gen dan transportasi ion. Namun, kelebihan ROS dapat menimbulkan efek yang tidak diinginkan terhadap banyak molekul seperti lipid, protein, RNA dan DNA karena ukuran dan sifat yang sangat kecil dan sangat reaktif. ROS dapat menyerang basa nitrogen dalam molekul asam nukleat, rantai samping asam amino dan ikatan rangkap dalam asam lemak tak jenuh dimana $\cdot OH$ sebagai oksidan terkuat. ROS menyerang makromolekul dan menyebabkan stres oksidatif. Sel biasanya mampu menangkal kerusakan akibat ROS dengan menggunakan enzim intraseluler untuk menjaga keseimbangan ROS pada tingkat rendah. Namun, ketika tubuh mengalami stres lingkungan atau sel mengalami

disfungsi, produksi ROS akan meningkat tajam dan menyebabkan kerusakan sel yang signifikan. Akibatnya, stres oksidatif menjadi penyebab utama berbagai penyakit seperti peradangan, penyakit jantung, diabetes, Alzheimer, katarak, dan penuaan. Untuk mengatasi kerusakan oksidatif, tubuh memiliki sistem pertahanan antioksidan yang terdiri dari enzim, pengkelat logam, dan senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas.

Antioksidan merupakan molekul yang dapat menetralkan radikal bebas dengan menerima atau mendonorkan elektron untuk menghilangkan elektron tidak berpasangan dari radikal. Molekul antioksidan secara langsung bereaksi dengan radikal reaktif dan merusaknya, kemudian molekul antioksidan akan menjadi radikal bebas baru yang kurang aktif, bertahan lama dan kurang reaktif dibanding radikal yang dinetralkan. Antioksidan yang menjadi radikal akan dinetralkan oleh antioksidan atau melalui mekanisme lain untuk menghentikan sifat radikalnya. Berbagai metode evaluasi aktivitas antioksidan telah dikembangkan dengan metode analisis yang berbeda seperti %DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl), assay ABTS^{•+} (2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), FRAP (*ferric reducing antioxidant power*), ORAC (*oxygen radical absorption capacity*), CUPRAC (*cupric reducing antioxidant capacity*), total kapasitas reduksi (Chen *et al.*, 2013), dan penghambatan oksidasi low-density lipoprotein (LDL) (Szabo *et al.*, 2007). Di antara metode-metode tersebut, metode %DPPH merupakan metode assay yang paling populer digunakan karena prosedur sederhana, mudah, cepat, biaya relatif murah dan efisien.

Berbagai parameter dapat mempengaruhi konsentrasi antioksidan yang terdapat pada kombucha seperti jenis daun teh yang digunakan dan durasi fermentasi (Jakubczyk *et al.*, 2022). Analisis potensi antioksidan sampel (teh hijau, hitam, putih dan merah) yang dilakukan oleh Jakubczyk *et al.* (2022) mengungkapkan bahwa kandungan senyawa antioksidan dengan uji radikal DPPH berada di antara kisaran 70,62% dan 94,61%, kombucha substrat dari teh hijau memiliki potensi antioksidan dengan nilai tertinggi pada hari pertama fermentasi (94,61%). Analisis terhadap berbagai substrat minuman kombucha menunjukkan adanya tren penurunan kemampuan dalam menonaktifkan radikal bebas seiring bertambahnya durasi fermentasi. Namun, pengamatan pada kombucha teh hijau mengalami penurunan signifikan dari 94,61% pada hari pertama menjadi 88,23% pada hari ke-14. Temuan ini kontras dengan penelitian Jayabalan *et al.* (2008) yang melaporkan adanya penurunan aktivitas pada hari ke-14 setelah peningkatan aktivitas antioksidan pada awal fermentasinya. Perubahan aktivitas antioksidan pada kombucha terkait erat dengan kandungan senyawa fenol. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa semakin banyak fenol yang dihasilkan selama proses fermentasi, semakin tinggi pula aktivitas antioksidannya. Hasil ini sejalan dengan temuan Bhanja *et al.* (2009) yang juga melaporkan korelasi kuat antara fenol dan aktivitas antioksidan. Bahkan, penelitian Muhiyudin *et al.* (2019) menunjukkan bahwa peningkatan waktu fermentasi dapat meningkatkan total kandungan fenol (TPC) dan aktivitas antioksidan tanpa mengubah pH dan rasa kombucha.

SCOBY memainkan peran penting dalam mempengaruhi komposisi kombucha yang dihasilkan, akibat berbagai mikroflora unik yang ada di SCOBY (Chen and Liu, 2000). Studi lain melaporkan bahwa penggunaan SCOBY yang berbeda sebagai starter dalam kombucha menghasilkan aktivitas antioksidan yang juga bervariasi (Malbaša *et al.*, 2011). Hasil metabolit tidak lepas dari peran ragi dan bakteri yang menghasilkan enzim. Enzim berperan dalam konversi kompleks polifenol menjadi komponen fenolik yang lebih sederhana. Peningkatan kandungan fenol dapat disebabkan oleh biotransformasi yang memodifikasi gugus fungsi spesifik menjadi zat penyusun yang dilakukan oleh enzim. Proses biotransformasi ini dapat menyebabkan kerusakan struktural dinding sel tumbuhan, mengarah pada pembebasan atau sintesis berbagai senyawa antioksidan. Menurut Srihari and Satyanarayana (2012), penggunaan enzim dalam biotransformasi dapat meningkatkan aktivitas biologis spesifik senyawa-senyawa tersebut. Kompleksitas pada matriks karena adanya proses fermentasi memungkinkan terjadinya interaksi sinergis antara komponennya, sehingga aktivitas antioksidan tidak hanya ditentukan oleh satu senyawa saja (Maier *et al.*, 2009). Selain itu juga terdapat peptida yang dilepaskan oleh ragi selama autolisis dapat menjadi sumber antioksidan baru. Alcaide-Hidalgo *et al.* (2007) melaporkan bahwa peptida dari *Saccharomyces cerevisiae* yang mengalami autolisis dalam kondisi mirip *wine* mampu meningkatkan aktivitas pemulungan radikal DPPH melalui pelepasan atau produksi senyawa peptida nitrogen aktif secara biologis.

Senyawa bioaktif seperti aktivitas antioksidan pada substrat berperan sebagai stimulator produksi biofilm dengan mencegah biotransformasi senyawa bis-(3',5')-siklik diguanosin monofosfat (c-di-GMP) (faktor terpenting dalam sintesis *biofilm*) oleh enzim fosfodiesterase (Kaczmarczyk *et al.*, 2014; Teoh *et al.*, 2004). Sel bakteri juga dirangsang oleh vitamin dan nutrisi lain yang dilepaskan sebagai hasil kematian dan autolisis sel ragi (Chakravorty *et al.*, 2016). Hasil penelitian dari Jafari *et al.* (2020) menunjukkan bahwa aktivitas enzim invertase yang dihasilkan oleh komunitas mikroba kombucha jus ceri mengalami peningkatan selama proses fermentasi. Peningkatan aktivitas invertase ini berkorelasi positif dengan peningkatan aktivitas antioksidan, mengindikasikan bahwa senyawa polifenol terdegradasi oleh enzim tersebut.

2.6 Integrasi Islam Fermentasi Kombucha

Allah Subhanahu wa Ta'ala berfirman:

وَقُلْ اَعْمَلُوا فَسَيَرَى اللهُ عَمَلَكُمْ وَرَسُولُهُ وَالْمُؤْمِنُونَ وَسَتُرَدُّونَ اِلَىٰ عِلْمِ الْغَيْبِ وَالشَّهَادَةِ فَيُنبِّئُكُمْ بِمَا كُنْتُمْ تَعْمَلُونَ

Terjemahan: "Katakanlah (Nabi Muhammad), "Bekerjalah! Maka, Allah, rasul-Nya, dan orang-orang mukmin akan melihat pekerjaanmu. Kamu akan dikembalikan kepada (Zat) yang mengetahui yang gaib dan yang nyata. Lalu, Dia akan memberitakan kepada kamu apa yang selama ini kamu kerjakan." (At-taubah/9: 105)

Ayat di atas memberikan gambaran jelas tentang pentingnya waktu dan usaha dalam kehidupan manusia. Allah SWT mengajak kita untuk terus berikhtiar dan bekerja keras. Proses fermentasi, sebagai contoh nyata dari transformasi yang membutuhkan waktu, sejalan dengan pesan ayat ini. Sama seperti bakteri dan ragi mengubah bahan baku menjadi produk baru dalam waktu tertentu, kita pun perlu waktu dan usaha untuk mencapai tujuan kita. Ayat ini mendorong kita untuk memanfaatkan waktu sebaik-baiknya dan tidak menyia-nyiakan kesempatan untuk berbuat baik.

Proses fermentasi dikenal secara awam sering diperbincangkan dan dikaitkan sebagai minuman memabukkan, minuman memabukkan dijelaskan dalam An-Nahl/16: 67.

وَمِنْ ثَمَرَاتِ النَّخِيلِ وَالْأَعْنَابِ تَتَّخِذُونَ مِنْهُ سَكَرًا وَرِزْقًا حَسَنًا إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَعْلَمُونَ

Terjemahan: "Dari buah kurma dan anggur, kamu membuat minuman yang memabukkan dan rezeki yang baik. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang mengerti."

Berdasarkan beberapa kitab tafsir seperti *Rawā'iu al-Bayān* karya Muhammad 'Ali al-Shābūni, *Tafsir Al-Wajiz* karya Zuhaili, dan *Tafsir Al-Maraghi* karya Al-Maraghi, kata "sesuatu yang memabukkan" dalam surah An-Nahl ayat 67 merujuk pada minuman keras atau khamr. Para ahli tafsir ini sepakat bahwa dalam konteks ayat tersebut, "sesuatu yang memabukkan" dan "khamr" memiliki makna yang sama. Kesimpulan ini juga sejalan dengan pengertian "khamr" dalam Kamus Besar Bahasa Indonesia (KBBI) yang diartikan sebagai minuman keras. Dengan demikian, makna kontekstual dari kata سَكَرًا dalam ayat tersebut adalah khamr atau minuman keras (Rakhmadi, 2024).

Analisis kimia menunjukkan bahwa sifat memabukkan pada sakar atau khamr disebabkan oleh kandungan etanol dengan rumus molekul C_2H_5OH . Jenis alkohol (etanol) adalah satu-satunya alkohol yang biasa diminum, yakni sebagai minuman keras yang memabukkan (Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Qur'an Badan Litbang & Diklat Kementerian Agama RI, 2013). Etanol dapat dibuat dari semua jenis sumber karbohidrat, dapat berasal dari buah-buahan, sereal, dan juga umbi-umbian. Pembuatan etanol dari sumber karbohidrat tersebut dilakukan dengan fermentasi menggunakan ragi. Mikroba inilah yang mengubah karbohidrat menjadi etanol (Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Qur'an Badan Litbang & Diklat Kementerian Agama RI, 2013). Ragi sebagai bahan utama dalam proses fermentasi, secara alami terdapat dalam udara bebas. Oleh karena itu, jika kita memiliki jus buah yang kita biarkan saja dalam udara terbuka, maka ia akan berubah menjadi etanol (Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Qur'an Badan Litbang & Diklat Kementerian Agama RI, 2013).

Namun demikian, jika alkohol tersebut teroksidasi hingga berubah menjadi asam cuka, maka produk asam cuka tersebut adalah halal (MUI, 2018). Sama halnya dengan kombucha yang mengalami oksidasi etanol oleh mikroba bakteri asam asetat menjadi asam asetat (asam cuka), kombucha tergolong minuman fermentasi yang halal untuk dikonsumsi, namun dengan hasil akhir kombucha memiliki kadar etanol berada dalam jumlah yaitu $<0,5\%$ (MUI, 2018).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biokimia, Program Studi Kimia, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Penelitian dilaksanakan pada bulan September hingga Oktober tahun 2024.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, spatula, neraca analitik, stove, kertas saring, corong, kain penutup, *aluminium foil*, plastik wrap, autoklaf, tube, sentrifugasi, pH meter, botol UC 1000, mikropipet, spektrofotometer UV-Vis, botol semprot, tabung reaksi dan vortex.

3.2.2 Bahan

Simplisia serbuk daun lampes (*Ocimum sanctum* L.) berasal dari lahan UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu, Pesanggrahan, Kec. Batu, Kota Batu, Jawa Timur, air minum dalam kemasan (Cleo), gula kristal putih (Rose Brand), kultur SCOBY dan larutan SCOBY, Phenolphthalein (PP), larutan NaOH 0,1 N, 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazi (DPPH) dan metanol p.a.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan metode rancangan acak lengkap (RAL), mula-mula pembuatan teh daun lampes (*Ocimum sanctum* L.) dengan cara menambahkan simplisia daun lampes kedalam air minum dalam kemasan, dan dipanaskan hingga mendidih. Setelah mendidih, disaring dan diambil filtratnya. Setelah filtrat bersuhu ruang, dipindahkan ke dalam toples kaca yang telah disterilisasi, ditambahkan juga gula pasir, kultur SCOBY dan larutan kombucha yang telah dibeli. Kemudian difermentasi selama 15 hari secara triplo. Pengujian dilakukan secara duplo untuk menentukan pH, total asam tertitrasi, dan aktivitas antioksidan. Hasil penelitian kemudian dianalisis secara statistika menggunakan SPSS 27.

3.4 Tahapan Penelitian

1. Pembuatan teh daun lampes
2. Fermentasi kombucha daun lampes
3. Pengukuran nilai pH
4. Pengukuran total asam tertitrasi
5. Penentuan aktivitas antioksidan
6. Data analisis

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pembuatan Ekstrak Teh Daun Lampes (*Ocimum sanctum L.*)

Daun lampes yang telah dalam bentuk simpliia dari Laboratorium Materia Medica Batu seberat 5 g dan ditambahkan 250 ml air minum dalam kemasan setiap sampelnya, kemudian dipanaskan hingga mendidih. Setelah itu, disaring dan diambil filtratnya (Jayabalan *et al.*, 2014).

3.4.1 Fermentasi Kombucha

Ekstrak daun lampes dipindahkan ke dalam toples kaca steril dan ditambahkan gula pasir 25 g diduk hingga larut. Setelah ekstrak bersuhu ruang ditambahkan kultur SCOBY sebanyak 7,5 g dan larutan Kombucha sebelumnya 25 mL. Mulut erlenmeyer ditutup dengan menggunakan kain penutup, fermentasi dilakukan pada suhu ruang selama 15 hari. Pengujian pH, total asam tertitrasi dan aktivitas antioksidan dilakukan pada hari ke-3, 6, 9, 12, dan 15. Sebelum dilakukan pengukuran aktivitas antioksidan kombucha, dilakukan pemisahan sel dengan sentrifuge sebanyak 15 ml dengan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit. Kemudian, disimpan dalam *freezer* (Jayabalan *et al.*, 2014).

3.4.2 Pengukuran Nilai pH (AOAC, 1990)

Analisis derajat asam atau pH menggunakan alat pH meter (*Onemad*). Sebelum melakukan pengukuran pada sampel, pH meter dilakukan pengkalibrasi dengan menggunakan larutan buffer pH 6,86 dan 4,01, jika nilai stabil barulah digunakan untuk pengukuran. Pengukuran dilakukan dengan mencelupkan bagian detektor alat pada sampel beberapa saat hingga muncul nilai pH yang konstan atau stabil kemudian dicatat hasilnya.

3.4.3 Pengukuran Total Asam Tertitrasi (Rohman *et al.*, 2019)

Analisis total asam menggunakan metode iodometri. Pengukuran dilakukan dengan menambahkan indikator PP (Phenolphthalein) pada sampel uji kemudian dititrasi menggunakan larutan NaOH 0,1 N hingga sampel berwarna merah muda. Perhitungan total asam dihitung dengan rumus.

$$TA(\%) = \frac{Volume\ NaOH \times N\ NaOH \times BM \times fp}{Volume\ sampel \times 1000} \times 100\%$$

Keterangan:

BM: berat molekul asam asetat (60 g/mol)

3.4.4 Penentuan Aktivitas Antioksidan (Mohsin *et al.*, 2022).

3.4.4.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Sejumlah 2,5 mg bubuk DPPH ditimbang dan dilarutkan dalam 50 mL metanol p.a hingga didapatkan konsentrasi DPPH 0,1 mM. Tahap berikutnya adalah membuat larutan blanko. Larutan blanko yang digunakan adalah 1 mL metanol p.a dimasukkan ke dalam tabung

reaksi, ditambahkan 3 mL larutan DPPH 0,1 mM, kemudian dihomogenkan menggunakan vortex, diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit dan diukur serapannya pada panjang gelombang pada spektrum serapan 400-700 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

3.4.4.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Kombucha

Kombucha daun lampes (*Ocimum sanctum* L.) secukupnya, untuk dimasukkan ke dalam tube dan disentrifuge selama 15 menit dengan 5.000 rpm, kemudian diambil 1 mL ke tabung reaksi, ditambahkan dengan 3 mL DPPH 0,1 mM dalam larutan metanol p.a. Sampel diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit dan absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Aktivitas antioksidan pada sampel dihitung menggunakan persamaan berikut.

$$\% \text{radical scavenging} = \left(\frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{kontrol}}} \right) \times 100\%$$

3.4.5 Data Analisis

Data hasil pengamatan yang diperoleh kemudian dianalisa secara statistika menggunakan one-way ANOVA (*Analysis of Variance*), jika nilai signifikansi $p < 0,05$ dilanjutkan dengan *post hoc* uji beda nyata jujur Tukey untuk mengetahui adanya perbedaan hasil analisa setiap sampel terhadap lama fermentasi. Seluruh analisis data diolah menggunakan SPSS 27.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Pembuatan Kombucha Daun Lampes (*Ocimum sanctum* L.)

Kombucha dibuat dari teh, gula pasir dan SCOBY yang difermentasi pada suhu ruang, namun dalam penelitian ini menggunakan substrat alternatif yaitu daun lampes (*Ocimum sanctum* L.) sebagai pengganti daun teh. Penyeduhan daun lampes (*Ocimum sanctum* L.) yang berupa serbuk (gambar 4.1) dengan menggunakan air minum dalam kemasan hingga mendidih, perlakuan tersebut bertujuan untuk memaksimalkan senyawa bioaktif yang terkandung dalam daun lampes (*Ocimum sanctum* L.). Seperti yang dijelaskan oleh Erkekoglou *et al.* (2017), secara umum total kandungan polifenol meningkat dengan waktu perendaman yang lebih lama, dan ekstraksi air panas lebih disukai untuk mencapai aktivitas antioksidan yang tinggi. Bentuk (serbuk atau utuh) simplisia juga akan mempengaruhi kandungan bioaktif, pada bentuk serbuk memiliki total fenol dan aktivitas antioksidan yang tinggi bahkan hampir berlipat ganda dibandingkan dengan daun utuh (Kharobi and Soubh, 2019), hal ini disebabkan oleh luas permukaan kontak air yang lebih tinggi pada bubuk dan memfasilitasi ekstraksi yang efektif (Zayapor and Syahida, 2023).



Gambar 4.1 Simplisia daun lampes (*Ocimum sanctum* L.)

Seduhan teh daun lampes (*Ocimum sanctum* L.) difermentasi secara aerob dalam toples kaca steril (Gambar 4.2). Gula pasir ditambahkan sebagai substrat penyedia karbon untuk pertumbuhan SCOBY. Penutup kain berfungsi sebagai penghalang fisik untuk mencegah kontaminasi mikroba eksternal maupun benda asing, sekaligus memungkinkan difusi oksigen yang diperlukan untuk proses fermentasi. Ketersediaan oksigen akan menentukan pertumbuhan BAA, karena mikroba ini bersifat aerob obligat. Pada tahap awal, teh mengalami oksidasi penuh akibat paparan oksigen yang optimal. Namun, proses ini mengalami penurunan seiring waktu. Hal ini disebabkan oleh konsumsi oksigen oleh BAA dan terhambatnya difusi oksigen akibat terbentuknya lapisan *biofilm* di permukaan cairan. Lapisan *biofilm* ini bertindak sebagai penghalang fisik menyebabkan pertukaran gas terhambat. Oleh karena itu, kemungkinan bagian bawah wadah fermentasi akan menjadi anaerob, membatasi konversi etanol dan glukosa menjadi asam asetat dan asam glukonat. Namun sebagian besar ragi, seperti spesies *Saccharomyces* dan *Dekkera* akan terus melakukan metabolisme

fermentatif selama substrat tersedia, bahkan dalam kondisi aerob. (Rodrigues *et al.*, 2006; Rozpedowska *et al.*, 2011). Jika oksigen terbatas, produksi asam akan berkurang, sehingga pH cairan menjadi lebih tinggi. Ketika pH naik diatas 4, lingkungan akan lebih cocok bagi pertumbuhan bakteri asam laktat (BAL). BAL akan bersaing dengan BAA dan menghasilkan asam laktat, yang pada akhirnya dapat mengubah rasa dan karakteristik minuman kombucha (De Filippis *et al.*, 2018).



Gambar 4.2 Kombucha daun lampes (*Ocimum sanctum* L.)

Sukrosa merupakan sumber karbon yang paling umum digunakan dalam fermentasi kombucha, baik karena kemampuannya untuk menyediakan glukosa dan fruktosa untuk jalur metabolisme mikroba, sukrosa harganya murah dan banyak ditemukan dimanapun. Penelitian oleh Greenwalt *et al.* (2000) menunjukkan bahwa sukrosa merupakan substrat yang lebih efisien dalam proses fermentasi kombucha dibandingkan glukosa dan fruktosa. Ragi berperan dalam fermentasi kombucha bertindak sebagai pemecah sukrosa menjadi molekul yang lebih sederhana, yaitu glukosa dan fruktosa. Ragi mengubah gula menjadi alkohol (etanol) dan gas (karbon dioksida). Alkohol ini kemudian diubah lagi menjadi asam cuka (asam asetat) oleh BAA. Asam asetat inilah yang membuat larutan menjadi semakin asam. Selain itu, BAA juga bisa mengubah gula menjadi senyawa asam lain (Jayabalan *et al.*, 2014). Umumnya, kadar gula pasir (sukrosa) yang paling baik untuk membuat kombucha sekitar 5-10% w/v (Goh *et al.*, 2012; Banerjee and Chatterjee, 2015).

4.2. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Nilai pH Kombucha Daun Lampes (*Ocimum sanctum* L.)

Sebelum kombucha aman untuk dikonsumsi, menurut *Centre of Disease Control of British Columbia* (BCCDC) rekomendasi keamanan pangan untuk proses pembuatan kombucha komersial, ditetapkan batas kritis untuk nilai pH yaitu tidak boleh di bawah 2,5 untuk menghindari kontaminasi mikrobiologis dan asidosis (*Pennsylvania Department of Agriculture* (USA), 2022). Hasil pengukuran menunjukkan bahwa semakin lama fermentasi, nilai pH pada kombucha daun lampes (*Ocimum sanctum* L.) menurun hingga hari ke-12 (tabel 4.1). Penurunan nilai pH diakibatkan adanya produk metabolit yang bersifat asam seperti asam asetat, glukuronat, glukonat, tartarat, malat, sitrat, laktat, suksinat, malonat (Villarreal-Soto *et al.*, 2018; Jayabalan *et al.*, 2010), asam organik tersebut akan terdisosiasi dan melepaskan

hidrogen (H^+), semakin bertambah konsentrasi H^+ dalam kombucha dapat menyebabkan penurunan pH pada larutan. Produk metabolit asam tersebut berkorelasi langsung dengan pertumbuhan bakteri asam laktat dan ragi serta proses metabolisme yang terjadi (Jayabalan *et al.*, 2014). Namun, fenomena yang menarik terjadi pada hari ke-15, yaitu kenaikan nilai pH. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh beberapa faktor, seperti keterbatasan substrat glukosa untuk sintesis asam asetat oleh BAA, penurunan metabolisme etanol oleh ragi akibat pH yang sangat rendah, atau adanya mekanisme kompensasi oleh mikroba lain dalam komunitas kombucha (Chen and Liu, 2000).

Hasil analisa keragaman (ANOVA) menunjukkan bahwa perlakuan lama fermentasi terhadap nilai pH kombucha daun lampes (*Ocimum sanctum* L.) berpengaruh nyata ($p < 0,05$). Pada uji lanjut Tukey didapatkan hasil nilai yang berbeda nyata antar perlakuan pada hari ke-3 dan 12 dengan nilai masing-masing pH 3,57 dan 3,20, perubahan kecil ini akibat dari efek *buffering*. Dalam penelitian Cvjetiković *et al.* (2008), mereka mengamati bahwa produksi gas karbon dioksida selama proses fermentasi berlangsung secara bertahap, namun mengalami peningkatan yang signifikan setelah 2-3 hari. Ketika gas karbon dioksida larut dalam air, gas tersebut akan terurai menjadi ion bikarbonat. Ion ini memiliki kemampuan untuk bereaksi dengan ion hidrogen yang dihasilkan dari asam-asam organik yang terbentuk selama fermentasi oleh mikroba. Reaksi inilah yang berperan sebagai penyangga, menjaga stabilitas tingkat keasaman larutan. pH hasil fermentasi kombucha daun lampes (*Ocimum sanctum* L.) terendah pada hari ke-12 (3,20) yang dimana tidak sampai batas kritis keamanan kombucha, sehingga seluruh perlakuan lama fermentasinya aman untuk dikonsumsi. Penurunan nilai pH ini telah dibuktikan juga oleh Shahbazi *et al.* (2018) dengan menggunakan substrat tanaman obat (kayu manis, kapulaga dan timi) sebagai campuran dengan teh hijau, pH kombucha turun hingga 3,30 pada hari ke 14.

Tabel 4.1 Nilai pH kombucha daun lampes (*Ocimum sanctum* L.)

Lama Fermentasi (Hari)	Nilai pH
3	3,57 ^b
6	3,38 ^{ab}
9	3,25 ^{ab}
12	3,20 ^a
15	3,28 ^{ab}

Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata menggunakan uji Tukey ($p < 0,05$)

4.3. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Total Asam Titrasi (TAT) Kombucha Daun Lampes (*Ocimum Sanctum* L.)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penurunan nilai pH selama fermentasi kombucha daun lampes (*Ocimum Sanctum* L.) seiring dengan peningkatan kadar asam organik, yang ditandai oleh peningkatan persentase total asam titrasi (%TAT) yang signifikan. Menurut Frazier and Westhoff (1987), pengukuran total asam tertitrasi didasarkan pada komponen

asam yang terdapat di dalam larutan, baik yang terdisosiasi maupun yang tidak terdisosiasi. Mengingat asam asetat merupakan produk utama fermentasi kombucha, maka nilai TAT yang diperoleh dari larutan teh kombucha daun lampes (*Ocimum sanctum* L.) dapat diasumsikan sebagian besar berasal dari kontribusi asam asetat yang dihasilkan oleh metabolisme BAA kombucha. Peningkatan total asam selama fermentasi kombucha sejalan dengan pertumbuhan eksponensial mikroba, terutama selama fase logaritmik (2-10 jam pertama). Aktivitas metabolisme yang tinggi menghasilkan berbagai produk asam organik, seperti asam asetat, yang berkontribusi pada penurunan pH. Pertumbuhan mikroba akan berlanjut hingga nutrisi habis atau akumulasi produk metabolisme, seperti alkohol atau asam organik tertentu yang dapat menghambat pertumbuhan (De Filippis et al., 2018).

Hasil analisis *varians* (ANOVA) menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) pada persentase total asam tertitiasi, yang ekuivalen dengan kadar asam asetat, akibat perbedaan lama fermentasi. Dilanjutkan menggunakan uji Tukey didapatkan adanya perbedaan secara signifikan ($p < 0,05$) pada hari ke-3 dan 12 (tabel 4.2). Hasil analisa %TAT tertinggi pada hari ke-12 sebesar 0,72%. Hasil tersebut mendekati hasil penelitian Silva *et al.* (2021) kombucha menggunakan substrat *wax mallow* yang difermentasi selama 14 hari menunjukkan %TAT asam asetat 0,88% dengan pH 2,7.

Peningkatan produksi asam organik menyebabkan total asam tertitiasi terus meningkat, terutama pada sampel yang difermentasi lebih lama. Bakteri asam asetat memanfaatkan glukosa hasil perombakan aktivitas enzim invertase ragi untuk membentuk asam glukonat (Mo *et al.*, 2008). Substrat etanol yang merupakan produk dari metabolisme fruktosa oleh ragi kemudian dimanfaatkan sebagai substrat oleh bakteri asam asetat untuk menghasilkan asam asetat secara aerob (Jayabalan *et al.*, 2014) melalui enzim alkohol dehidrogenase dan aldehyd dehidrogenase. Dehidrogenase (DH) merupakan enzim yang berperan penting dalam proses pemecahan molekul organik, termasuk alkohol. Terdapat dua jenis DH utama dalam sel, yaitu mDH (*membrane-bound dehydrogenases*) dan cDH (*cytoplasmic dehydrogenases*). mDH terletak pada membran sel dan sangat aktif dalam kondisi ketika sel memiliki banyak substrat seperti gula atau alkohol. Sebaliknya, cDH berada di dalam sitoplasma dan aktivitasnya meningkat ketika substrat mulai berkurang (Baldrian, 2006; Hölscher and Görisch, 2006). Perbedaan lokasi dan aktivitas antara mDH dan cDH ini mencerminkan strategi sel dalam mengoptimalkan pemanfaatan energi berdasarkan ketersediaan nutrisi (He *et al.*, 2022). *membrane-binding alcohol dehydrogenase* (mADH) dari genus *Gluconobacter* dapat mengoksidasi etanol menjadi asam asetat, dan juga dapat mengoksidasi D-glukosa, Asam glukonat, D-sorbitol, dan gliserol menjadi produk yang sesuai. Sedangkan, mADH dari genus *Acetobacter* atau *Komagataeibacter* hanya dapat mengoksidasi etanol, hampir tidak mungkin untuk mengoksidasi substrat lain (Matsushita *et al.*, 2016).

Namun, terjadi penurunan produksi asam asetat pada hari ke-15, pada tahap akhir fermentasi ini bakteri asam asetat akan mengurai asam asetat yang telah terbentuk sebelumnya, sehingga kadar asam asetat secara keseluruhan akan menurun kembali (Martínez *et al.*, 2018). Enzim-enzim seperti asetil-CoA hidrolase dan fosfotransasetilase bekerja sama untuk mengubah asam asetat yang masuk ke dalam sel menjadi asetil-CoA. Asetil-CoA inilah yang kemudian masuk ke dalam siklus TCA untuk diolah lebih lanjut. Penelitian yang dilakukan oleh Román-Camacho *et al.* (2022) melaporkan bahwa siklus TCA digunakan oleh BAA untuk menetralkan asam asetat yang dihasilkan dari metabolisme etanol, sekaligus menyediakan energi dan bahan baku untuk pertumbuhan sel. Hal ini sejalan dengan temuan penelitian sebelumnya (Ramírez-Bahena *et al.*, 2013; Adler *et al.*, 2014; Andrés-Barrao *et al.*, 2016; Zheng *et al.*, 2017)

Nilai pH rendah dan tingkat keasaman tinggi hanya mendukung pertumbuhan mikroba tertentu yang mampu beradaptasi. Kondisi ini secara alami menciptakan perlindungan terhadap mikroba asing atau kontaminan (Greenwalt *et al.*, 2000). Agar mendapatkan minuman yang asam dengan rasa yang menyenangkan, fermentasi harus dihentikan ketika total asam mencapai nilai optimal 4-4,5 g/L (Cvetković, 2018). Berdasarkan nilai optimal tersebut, perlakuan terbaik pada lama fermentasi 6 dan 9 hari, hal ini juga termasuk dalam rentang lama fermentasi optimal (Reiss, 1994). Kombucha daun lampes (*Ocimum sanctum* L.) pada semua perlakuan lama fermentasi memenuhi standar internasional yang ditetapkan oleh Uganda National Bureau of Standards (2018) dengan nilai total asam maksimal 2%.

Tabel 4.2 Nilai %TAT kombucha daun lampes (*Ocimum sanctum* L.)

Lama Fermentasi (Hari)	%TAT
3	0,23 ^a
6	0,59 ^{ab}
9	0,54 ^{ab}
12	0,72 ^b
15	0,65 ^{ab}

Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata menggunakan uji Tukey ($p < 0,05$)

4.4. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Kombucha Daun Lampes (*Ocimum sanctum* L.)

Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis sebesar 514,9 nm, serupa dengan pengukuran Ulya (2023) pada panjang gelombang maksimum diperoleh 514,9 nm. Aktivitas antioksidan diukur dalam %inhibisi DPPH, periode fermentasi yang lebih lama meningkatkan TPC dan aktivitas antioksidan tanpa mempengaruhi nilai pH dan karakteristik sensorik (Muhialdin *et al.*, 2019). Nilai tertinggi dengan perlakuan lama fermentasi pada hari ke-12 sebesar 79,51%, jika dibandingkan dengan penelitian lain yang menggunakan substrat dalam genus *Ocimum* yang dilakukan oleh Yıkmış and Tuğgüm (2019) kombucha kemangi ungu (*Ocimum basilicum* L.)

sebesar 64,19%. Menurut hasil analisa keragaman (ANOVA) kombucha daun lampes (*Ocimum sanctum* L.) tidak adanya pengaruh lama fermentasi terhadap aktivitas antioksidan metode DPPH secara nyata. Kemungkinan besar, substrat menghambat aktivitas SCOBY, sehingga produksi metabolit menurun. Pembentukan *biofilm* dapat menjadi indikasi dari kondisi ini.

Tabel 4.3 Nilai %inhibisi DPPH kombucha daun lampes (*Ocimum sanctum* L.)

Lama Fermentasi (Hari)	%inhibisi DPPH
3	74,16
6	65,25
9	76,75
12	79,51
15	77,77

Banyak spesies *Gluconacetobacter* dan *Komagataeibacter* menghasilkan polisakarida selulosa yang tidak larut dalam air yaitu β -(1 \rightarrow 4)-glukan dari glukosa, fruktosa, sukrosa, dan substrat lain seperti etanol dan gliserol (Valera *et al.* 2015). Banyak faktor mempengaruhi produksi *biofilm* oleh BAA, seperti jenis substrat, konsentrasi substrat, dan pH (Soh and Lee 2002; Goh *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2018). Konsentrasi *biofilm* juga dapat terkait dengan kandungan fenol dan vitamin C yang ada pada substrat, menurut Leonarski *et al.* (2020) menggunakan teh sebanyak 0,5% (5 g/L) memiliki kandungan polifenol dan vitamin C yang tinggi yang akhirnya dapat meningkatkan laju metabolisme bakteri penghasil selulosa (khususnya *Komagataeibacter rhaeticus*). Sehingga perkembangan *biofilm* dapat mengindikasikan kandungan metabolit yang terbentuk selama fermentasi, seperti senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan. Salah satunya adalah polifenol, namun Kurtzman *et al.* (2001) melaporkan bahwa teh dalam konsentrasi lebih tinggi dari 6 g/L dapat menghambat pertumbuhan bakteri asam asetat sehingga juga dapat menghambat produksi selulosa.

Aktivitas antioksidan kombucha daun lampes (*Ocimum sanctum* L.) didapat dari substrat daun lampes itu sendiri yang dimana terdapat polifenol dan flavonoid seperti kaempferol, quercetin, katekin dan asam rosmarinic (Baliga *et al.*, 2013). Fermentasi menggunakan SCOBY secara keseluruhan pengaruh lama fermentasi meningkatkan aktivitas antioksidan kombucha daun lampes (*Ocimum sanctum* L.) melalui biotransformasi senyawa oleh enzim-enzim yang dihasilkan SCOBY. Enzim-enzim dapat mengubah senyawa polifenol kompleks menjadi senyawa fenolik yang lebih sederhana. Proses biotransformasi ini memodifikasi gugus fungsi spesifik pada senyawa polifenol, sehingga meningkatkan jumlah total senyawa fenolik dan aktivitas biologisnya (Srihari and Satyanarayana, 2012). Ada juga enzim seperti selulase, amilase, esterase, tannase, dan glukosidase, yang dapat memecah dinding sel tanaman, membebaskan senyawa bioaktif seperti flavonoid, asam fenolik, dll (Ricci *et al.*, 2019). Namun, terjadi penurunan sementara pada hari ke-6 yang disebabkan oleh kondisi asam dapat menghambat pelepasan proton dari senyawa fenolik (Puspitasari dkk.,

2017). Adanya penghambatan pada aktivitas antioksidan dapat dijelaskan dalam penelitian Xie *et al.* (2018) bahwa keasaman (pH rendah) dalam larutan berair berdampak negatif pada aktivitas antioksidan higenamin. Hal ini disebabkan oleh dua mekanisme: penekanan ionisasi akibat keberadaan ion H^+ dan pelemahan transfer elektron akibat protonasi atom nitrogen (melalui efek -I yaitu efek induktif penarikan elektron). Kedua mekanisme ini bekerja bersama-sama untuk mengurangi efektivitas antioksidan higenamin. Senyawa higenamin sebagai bagian dari golongan alkaloid fenolik.

Aktivitas antioksidan alkaloid fenolik dan senyawa fenolik lainnya diketahui melibatkan transfer proton (H^+) (Li *et al.*, 2018; Jiang *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2013). Proses ini sangat berkaitan dengan pelepasan ion H^+ dari gugus fenolik-OH, terutama dalam pelarut protik (Foti, 2007). Karena atom nitrogen (N) pada alkaloid fenolik sangat reaktif terhadap H^+ , ia akan berikatan dan membentuk garam amina, sehingga terjadi protonasi pada atom N. Protonasi ini menyebabkan atom N bermuatan positif dan memiliki kemampuan menarik elektron yang kuat. Perubahan densitas elektron ini berdampak pada tingkat antioksidan karena kemampuan transfer elektron (ET) merupakan aspek penting dari aktivitas antioksidan (Li *et al.*, 2013).

Pengaruh enzim-substrat berlangsung seimbang hingga mencapai titik optimal tertentu, namun akan kembali menurun seiring berjalannya waktu fermentasi. Aktivitas enzim dalam kombucha daun lampes (*Ocimum sanctum* L.) menunjukkan pola keseimbangan yang khas, mencapai titik optimal pada hari ke-12. Kondisi optimal ini ditandai dengan pH 3,20, persentase total asam titrasi (TAT) tertinggi (0,72%), dan aktivitas antioksidan maksimal (79,51%). Keseimbangan ini serupa dengan prinsip yang tertuang dalam Al-Quran surah Al-Mulk ayat 3 menjelaskan tentang keseimbangan dalam alam semesta. Pada kondisi optimal ini, kombucha daun lampes menghasilkan senyawa-senyawa yang bermanfaat bagi kesehatan, seperti asam organik dan antioksidan, yang berperan penting dalam menjaga keseimbangan tubuh.

الَّذِي خَلَقَ سَبْعَ سَمَاوَاتٍ طِبَاقًا مَّا تَرَى فِي خَلْقِ الرَّحْمَنِ مِن تَفْوُتٍ فَارْجِعِ الْبَصَرَ هَلْ تَرَى مِن فُطُورٍ

Terjemahan: “(Dia juga) yang menciptakan tujuh langit berlapis-lapis. Kamu tidak akan melihat pada ciptaan Tuhan Yang Maha Pengasih ketidakseimbangan sedikit pun. Maka, lihatlah sekali lagi! Adakah kamu melihat suatu cela?”

Maksud dari ayat tersebut, segala sesuatu yang diciptakan Allah di alam semesta ini pasti dalam keadaan yang seimbang. Keseimbangan juga terjadi antara enzim dengan substratnya, dimana laju reaksi enzim di pengaruhi oleh jumlah substrat. Semakin banyak substrat maka semakin banyak pula substrat yang menempati sisi aktif enzim. Apabila jumlah substrat tidak seimbang maka enzim akan mengalami kejenuhan (Putri dkk., 2023). Memahami prinsip keseimbangan ini dapat membantu kita dalam menjaga kesehatan tubuh dan lingkungan, serta dalam mengembangkan berbagai teknologi yang berkelanjutan.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Adanya pengaruh nyata antara lama fermentasi terhadap karakteristik kimia yaitu pH dan total asam tertitrasi pada hari ke-3 dan 12. Semakin lama fermentasi dilakukan pada suhu ruang, maka pH akan cenderung turun, sebaliknya nilai total asam tertitrasi (asam asetat) akan cenderung naik. Karakteristik kimia terbaik kombucha daun lampes (*Ocimum sanctum* L.) didapatkan nilai pH terendah 3,20, sedangkan %TAT asam asetat tertinggi sebesar 0,72%. Hasil tersebut menyatakan kombucha daun lampes (*Ocimum sanctum* L.) aman untuk dikonsumsi.
2. Tidak adanya pengaruh signifikan antara lama fermentasi terhadap aktivitas antioksidan metode DPPH, %inhibisi DPPH tertinggi pada hari ke-12 sebesar 79,51% pada kombucha daun lampes (*Ocimum sanctum* L.). Dimungkinkan adanya pengaruh dari penurunan aktivitas SCOBY, akibat interaksinya dengan substrat daun lampes (*Ocimum sanctum* L.).

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa lama fermentasi tidak menjadi faktor dominan dalam meningkatkan aktivitas antioksidan kombucha daun lampes. Untuk penelitian selanjutnya, disarankan untuk melakukan optimasi pada variabel-variabel proses fermentasi lainnya, seperti suhu, pH, dan inokulum SCOBY, serta kombinasi berbagai jenis daun untuk memperoleh profil senyawa bioaktif yang lebih beragam dan meningkatkan aktivitas antioksidan. Selain itu, perlu dilakukan kajian lebih lanjut mengenai pengaruh penambahan prebiotik atau probiotik terhadap pertumbuhan mikroorganisme dan pembentukan senyawa bioaktif dalam kombucha daun lampes.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad M. Al-Maraghi. (1993). Tafsir Al-Maraghi, Semarang: PT. Karya Toha Putra.
- Aleksandra S. Velićanski, Dragoljub D. Cvetković, Siniša L. Markov, V. T. T. Š. and J. J. V. (2014). Antioxidant and Antibacterial Activity of the Beverage lemon balm. *Food Technol. Biotechnol*, 52(4), 420–429.
- Antolak, H., Piechota, D., & Kucharska, A. (2021). Kombucha tea—A double power of bioactive compounds from tea and symbiotic culture of bacteria and yeasts (SCOBY). *Antioxidants*, 10(10). <https://doi.org/10.3390/antiox10101541>.
- Ayed, L., Ben Abid, S., & Hamdi, M. (2017). Development of a beverage from red grape juice fermented with the Kombucha consortium. *Annals of Microbiology*, 67(1), 111–121. <https://doi.org/10.1007/s13213-016-1242-2>.
- Banerjee, S.; Chatterjee, J. Efficient extraction strategies of tea (*Camellia sinensis*) biomolecules. *J. Food Sci. Technol.* **2015**, 52, 3158–3168.
- Bishop, P., Pitts, E. R., Budner, D., & Thompson-Witrick, K. A. (2022). Kombucha: Biochemical and microbiological impacts on the chemical and flavor profile. *Food Chemistry Advances*, 1(October 2021). <https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100025>
- Cardoso, R. R., Neto, R. O., dos Santos D’Almeida, C. T., do Nascimento, T. P., Pressete, C. G., Azevedo, L., Martino, H. S. D., Cameron, L. C., Ferreira, M. S. L., & Barros, F. A. R. de. (2020). Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities. *Food Research International*, 128(August 2019), 108782. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108782>
- Chakravorty, S., Bhattacharya, S., Chatzinotas, A., Chakraborty, W., Bhattacharya, D., & Gachhui, R. (2016). Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. *International Journal of Food Microbiology*, 220, 63–72. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.12.015>
- Chaudhary, A., Sharma, S., Mittal, A., Gupta, S., & Dua, A. (2020). Phytochemical and antioxidant profiling of *Ocimum sanctum*. *Journal of Food Science and Technology*, 57(10), 3852–3863. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04417-2>
- Chu, S. C., & Chen, C. (2006). Effects of origins and fermentation time on the antioxidant activities of kombucha. *Food Chemistry*, 98(3), 502–507. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.05.080>
- De Filippis, F.; Troise, A. D.; Vitaglione, P.; Ercolini, D. Different Temperatures Select Distinctive Acetic Acid Bacteria Species and Promotes Organic Acids Production during Kombucha Tea Fermentation. *Food Microbiol.* 2018, 73, 11–16. DOI: 10.1016/j.fm.2018.01.008.
- De Miranda, J. F., Ruiz, L. F., Silva, C. B., Uekane, T. M., Silva, K. A., Gonzalez, A. G. M., Fernandes, F. F., & Lima, A. R. (2022). Kombucha: A review of substrates, regulations, composition, and biological properties. *Journal of Food Science*, 87(2), 503–527. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16029>
- Demain, A. L., & Solomon, N. A. (1981). Industrial microbiology. In *Scientific American* (Vol. 245, Issue 3). <https://doi.org/10.1038/scientificamerican0981-66>
- Eriandani, Pudjolaksono, H. (2018). Calyptra: Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya

- Vol.7 No.2. Calyptra, 2(2), 1–12 Fletcher, E., & Baetz, K. (2020). Multi-Faceted Systems Biology Approaches Present a Cellular Landscape of Phenolic Compound Inhibition in *Saccharomyces cerevisiae*. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8(October), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.539902>
- Gaggia, F., Baffoni, L., Galiano, M., Nielsen, D. S., Jakobsen, R. R., Castro-Mejía, J. L., Bosi, S., Truzzi, F., Musumeci, F., Dinelli, G., & Di Gioia, D. (2019). Kombucha beverage from green, black and rooibos teas: A comparative study looking at microbiology, chemistry and antioxidant activity. *Nutrients*, 11(1), 1–22. <https://doi.org/10.3390/nu11010001>
- Gamboa-Gómez, C. I., González-Laredo, R. F., Gallegos-Infante, J. A., Pérez, M. M. L., Moreno-Jiménez, M. R., Flores-Rueda, A. G., & Rocha-Guzmán, N. E. (2016). Antioxidant and angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of *Eucalyptus camaldulensis* and *Litsea glaucescens* infusions fermented with kombucha consortium. *Food Technology and Biotechnology*, 54(3), 367–373. <https://doi.org/10.17113/ftb.54.03.16.4622>
- Goh, W.N.; Rosma, A.; Kaur, B.; Fazilah, A.; Karim, A.A.; Bhat, R. Fermentation of black tea broth (kombucha): I. Effects of sucrose concentration and fermentation time on the yield of microbial cellulose. *Int. Food Res. J.* **2012**, 19, 109–117.
- Hsieh, Y., Chiu, M. C., & Chou, J. Y. (2021). Efficacy of the Kombucha Beverage Derived from Green, Black, and Pu'er Teas on Chemical Profile and Antioxidant Activity. *Journal of Food Quality*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/1735959>
- Isnaeni, N. (2021). *Machine Translated by Google Machine Translated by Google Tugas Makalah Mata Kuliah Biorganik PEREDAMAN RADIKAL BEBAS 2 , 2-DIPHENYL-1-PIKRILHIDRAZIL (DPPH) Disusun oleh : Neni Isnaeni. January.*
- Ivanišová, E., Meňhartová, K., Terentjeva, M., Harangozo, L., Kántor, A., & Kačániová, M. (2020). The evaluation of chemical, antioxidant, antimicrobial and sensory properties of kombucha tea beverage. *Journal of Food Science and Technology*, 57(5), 1840–1846. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04217-3>
- Jakubczyk, K., Kałduńska, J., Kochman, J., & Janda, K. (2020). Chemical profile and antioxidant activity of the kombucha beverage derived from white, green, black and red tea. *Antioxidants*, 9(5). <https://doi.org/10.3390/antiox9050447>
- Jamshidi, N., & Cohen, M. M. (2017). The Clinical Efficacy and Safety of Tulsi in Humans: A Systematic Review of the Literature. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/9217567>
- Jayabalan, R., Marimuthu, S., & Swaminathan, K. (2007). Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation. *Food Chemistry*, 102(1), 392–398. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.05.032>
- Jayabalan, R., Subathradevi, P., Marimuthu, S., Sathishkumar, M., & Swaminathan, K. (2008). Changes in free-radical scavenging ability of kombucha tea during fermentation. *Food Chemistry*, 109(1), 227–234. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.037>
- Khattak, M. M. A. K., Abidin, A. Z., & Azahari, N. (2019). Ideal extraction temperature for antioxidants from holy basil and bunching onion. *Progress in Nutrition*, 21(4), 971–976. <https://doi.org/10.23751/pn.v21i4.6179>
- Klawpiyapamornkun, T., Uttarotai, T., Wangkarn, S., Sirisa-ard, P., Kiatkarun, S., Tragoolpua, Y., & Bovonsombut, S. (2023). Enhancing the Chemical Composition of Kombucha

- Fermentation by Adding Indian Gooseberry as a Substrate. *Fermentation*, 9(3), 1–15. <https://doi.org/10.3390/fermentation9030291>
- Kustiati, U., Wihadmadyatami, H., & Kusindarta, D. L. (2022). Dataset of Phytochemical and secondary metabolite profiling of holy basil leaf (*Ocimum sanctum* Linn) ethanolic extract using spectrophotometry, thin layer chromatography, Fourier transform infrared spectroscopy, and nuclear magnetic resonance. *Data in Brief*, 40. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2021.107774>
- M, P. G., Dorajeerao, A. V. D., Madhavi, M., & Suneetha, S. (2021). *Quantification of phytochemicals and its association study with leaf oil percentage in different genotypes of Ocimum tenuiflorum L.* 10(2), 601–605.
- Martínez, J.; Suárez, L. V.; Jayabalan, R.; Oros, J. H.; Escalante-Aburto, A. (2018). A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. *CyTAJ. Food*, 16:390–399, doi:10.1080/19476337.2017.1410499.
- 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*, 2019(9), 1–22. <https://doi.org/10.7717/peerj.7565>
- Mitra, E., Ghosh, D., Ghosh, A. K., & Chattopadhyay, A. (2013). *properties and protects against cadmium-induced oxidative stress in rat heart AND PROTECTS AGAINST CADMIUM-INDUCED OXIDATIVE STRESS IN RAT HEART.* May 2016.
- Pattanayak, P., Behera, P., Das, D., & Panda, S. (2010). *Ocimum sanctum* Linn. A reservoir plant for therapeutic applications: An overview. *Pharmacognosy Reviews*, 4(7), 95–105. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.65323>
- Pavithra, K. H. G. (2019). Qualitative and Quantitative Phytochemical Analysis on *Ocimum* Species of Karnataka. *Indian Journal of Pure & Applied Biosciences*, 7(6), 192–202. <https://doi.org/10.18782/2582-2845.7876>
- Puspitasari, Y., Palupi, R., & Nurikasari, M. (2017). Analisis Kandungan Vitamin C Teh Kombucha Berdasarkan Lama Fermentasi Sebagai Alternatif Minuman Untuk Antioksidan. *Global Health Science*, 2(3), 245–253.
- Ponugoti, M. (2017). Review Article A PHARMACOLOGICAL AND TOXICOLOGICAL REVIEW OF MATCHLESS HERB : TULASI Department of Pharmacology , Hindu College of Pharmacy ,. *Ijrpc*, 7(4), 407–424.
- R, B., & S. P., B. (2018). Tulsi (*Ocimum sanctum*), excellent source of phytochemicals. *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology*, 3(5), 1732–1738. <https://doi.org/10.22161/ijeab/3.5.21>
- Riyani, N., Artini, K. S., & Wardani, T. S. (2022). *Approches de modélisation mathématique pour Blockchain Technologie POUR.* 13–15. <https://doi.org/10.1088/1757>
- Rodrigues, F.; Ludovico, P.; Le~ao, C. Sugar Metabolism in Yeasts: An Overview of Aerobic and Anaerobic Glucose Catabolism. In *The Yeast Handbook: Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts*, Rosa, C., Peter, G., Eds.; Springer: Heidelberg, Germany, 2006; pp 101–122.
- Royle, J. F. (2014). Products of Fermentation. *A Manual of Materia Medica and Therapeutics*, 633–649. <https://doi.org/10.1017/cbo9781107252738.009>
- Rozpedowska, E.; Hellborg, L.; Ishchuk, O. P.; Orhan, F.; Galafassi, S.; Merico, A.; Woolfit,

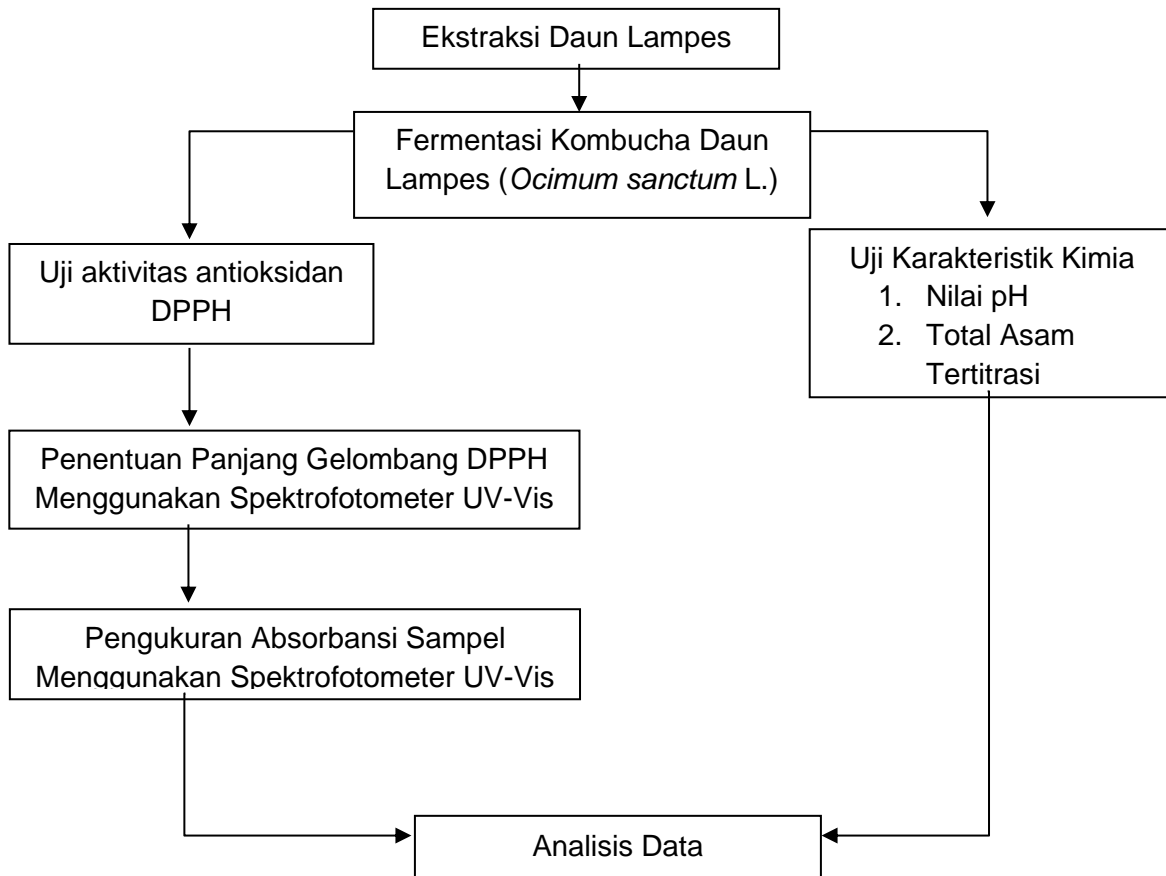
M.; Compagno, C.; Piskur, J. Parallel Evolution of the Make-Accumulate-Consume Strategy in *Saccharomyces* and *Dekkera* Yeasts. *Nat. Commun.* 2011, 2, 302. DOI: 10.1038/ncomms1305.

- Silva, K. A., Uekane, T. M., Miranda, J. F. de, Ruiz, L. F., Motta, J. C. B. da, Silva, C. B., Pitangui, N. de S., Gonzalez, A. G. M., Fernandes, F. F., & Lima, A. R. (2021). Kombucha beverage from non-conventional edible plant infusion and green tea: Characterization, toxicity, antioxidant activities and antimicrobial properties. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 34(May). <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102032>
- Su, J., Tan, Q., Tang, Q., Tong, Z., & Yang, M. (2023). Research progress on alternative kombucha substrate transformation and the resulting active components. *Frontiers in Microbiology*, 14(September). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1254014>
- Tewari, D., N, S. A., K, P. H., & S, M. H. (2012). A Review on Phytoconstituents of *Ocimum* (Tulsi). *International Journal of Ayurvedic Medicine*, 3(1), 1–9. <https://doi.org/10.47552/ijam.v3i1.103>
- Thakur, A., & Thapa, D. (2023). *Holy Basil (Ocimum Sanctum): A Comprehensive Review of Traditional Uses, Phytochemical Composition, Medicinal Properties and Future Directions*. July.
- Tran, T., Grandvalet, C., Verdier, F., Martin, A., Alexandre, H., & Tourdot-Maréchal, R. (2020). Microbiological and technological parameters impacting the chemical composition and sensory quality of kombucha. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(4), 2050–2070. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12574>
- Villarreal, S. A., Beaufort, S., Bouajila, J., Souchard, J., & Taillandier, P. (2018). Understanding Kombucha Tea Fermentation : A Review To cite this version : HAL Id : hal-01945573. *Journal of Food Science*, 3, 1750–3841.
- Vitas, J. S., Cvetanović, A. D., Mašković, P. Z., Švarc-Gajić, J. V., & Malbaša, R. V. (2018). Chemical composition and biological activity of novel types of kombucha beverages with yarrow. *Journal of Functional Foods*, 44(February 2017), 95–102. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.02.019>
- Vogel, H. C., & Todaro, C. M. (2014). Fermentation and Biochemical Engineering Handbook: Principles, Process Design, and Equipment: Third Edition. In *Fermentation and Biochemical Engineering Handbook: Principles, Process Design, and Equipment: Third Edition*. <https://doi.org/10.1016/C2011-0-05779-4>
- Wangcharoen, W., & Morasuk, W. (2007). Antioxidant capacity and phenolic content of holy basil. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 29(5), 1407–1415.
- Wongsen, W., Bodhipadma, K., Noichinda, S., & Leung, D. W. M. (2013). Relationship between leaf position and antioxidant properties in three basil species. *International Food Research Journal*, 20(3), 1113–1117.
- Xiong, R. G., Wu, S. X., Cheng, J., Saimaiti, A., Liu, Q., Shang, A., Zhou, D. D., Huang, S. Y., Gan, R. Y., & Li, H. Bin. (2023). Antioxidant Activities, Phenolic Compounds, and Sensory Acceptability of Kombucha-Fermented Beverages from Bamboo Leaf and Mulberry Leaf. *Antioxidants*, 12(8). <https://doi.org/10.3390/antiox12081573>
- Zayapor, M.N. & Syahida, M. (2023). Herbal infusion – processing techniques, bioactivity, quality, and safety. *Food Research* 6 (Suppl. 2): 134 – 154.

- Zhang, J., Van Mullem, J., Dias, D. R., & Schwan, R. F. (2021). The chemistry and sensory characteristics of new herbal tea-based kombuchas. *Journal of Food Science*, *86*(3), 740–748. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15613>
- Zhao, C. N., Tang, G. Y., Cao, S. Y., Xu, X. Y., Gan, R. Y., Liu, Q., Mao, Q. Q., Shang, A., & Li, H. Bin. (2019). Phenolic profiles and antioxidant activities of 30 tea infusions from green, black, oolong, white, yellow and dark teas. *Antioxidants*, *8*(7), 9–13. <https://doi.org/10.3390/antiox8070215>
- Zhao, Y. S., Eweys, A. S., Zhang, J. Y., Zhu, Y., Bai, J., Darwesh, O. M., Zhang, H. B., & Xiao, X. (2021). Fermentation affects the antioxidant activity of plant-based food material through the release and production of bioactive components. *Antioxidants*, *10*(12). <https://doi.org/10.3390/antiox10122004>
- Yıkılmış, Seydi & Tuğgüm, Sergen. (2019). Evaluation of Microbiological, Physicochemical and Sensorial Properties of Purple Basil Kombucha Beverage. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*. *7*. 1321-1327. [10.24925/turjaf.v7i9.1321-1327.2550](https://doi.org/10.24925/turjaf.v7i9.1321-1327.2550).
- Zou, C., Li, R. Y., Chen, J. X., Wang, F., Gao, Y., Fu, Y. Q., Xu, Y. Q., & Yin, J. F. (2021). Zijuan tea- based kombucha: Physicochemical, sensorial, and antioxidant profile. *Food Chemistry*, *363*(May), 3–10. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130322>

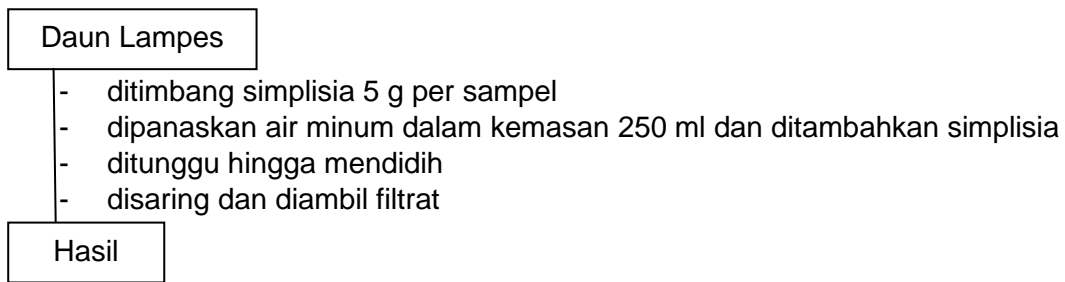
LAMPIRAN

Lampiran 1. Tahapan Penelitian

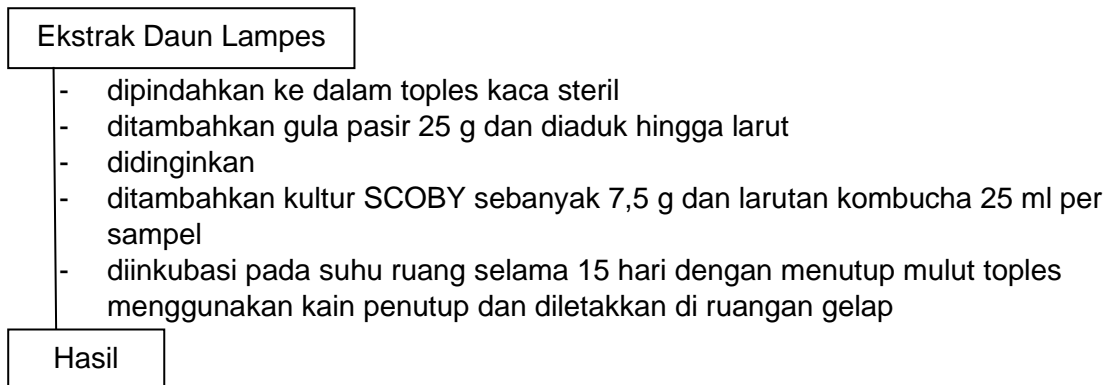


Lampiran 2. Skema kerja

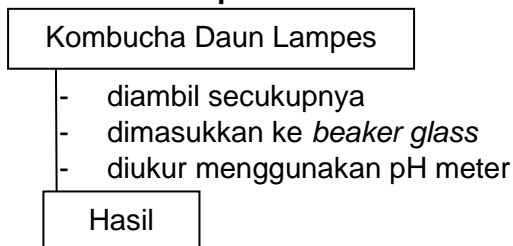
L.2.1 Pembuatan Ekstrak Teh Daun Lampes



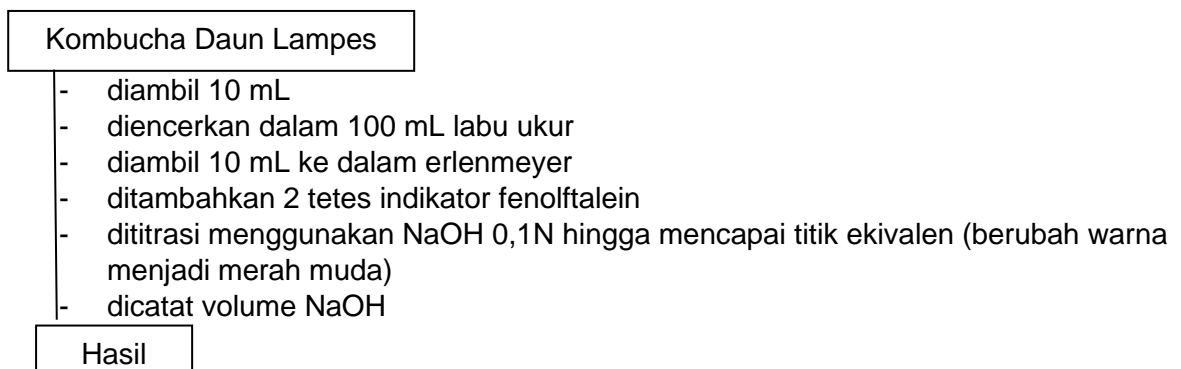
L.2.2 Fermentasi Kombucha



L.2.3 Penentuan pH

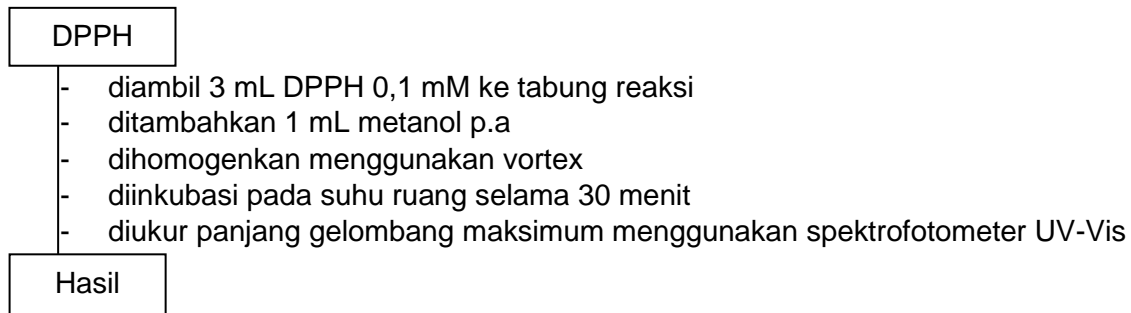


L.2.4 Penentuan Total Asam Tertitiasi

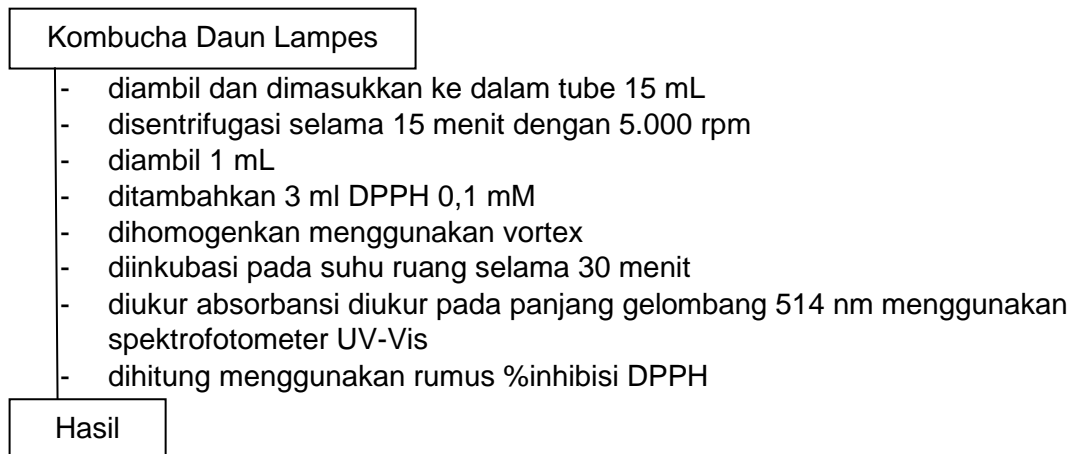


L.2.5 Penentuan Aktivitas Antioksidan

L.2.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum



L.2.5.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan menggunakan DPPH



Lampiran 3. Perhitungan

L.3.1 Total Asam Tertirasi

L.3.1.1 Ulangan 1 Lama Fermentasi 3 Hari

$$TA(\%) = \frac{0,45 \text{ mL} \times 0,1N \times 60 \text{ g/mol} \times 10}{10 \text{ mL} \times 1000} \times 100\%$$

$$= 0,27 \%$$

L.3.1.2 Ulangan 1 Lama Fermentasi 6 Hari

$$TA(\%) = \frac{0,50 \text{ mL} \times 0,1N \times 60 \text{ g/mol} \times 10}{10 \text{ mL} \times 1000} \times 100\%$$

$$= 0,30 \%$$

L.3.1.3 Ulangan 1 Lama Fermentasi 9 Hari

$$TA(\%) = \frac{0,70 \text{ mL} \times 0,1N \times 60 \text{ g/mol} \times 10}{10 \text{ mL} \times 1000} \times 100\%$$

$$= 0,42 \%$$

L.3.1.4 Ulangan Lama Fermentasi 12 Hari

$$TA(\%) = \frac{0,80 \text{ mL} \times 0,1N \times 60 \text{ g/mol} \times 10}{10 \text{ mL} \times 1000} \times 100\%$$

$$= 0,48 \%$$

L.3.1.5 Ulangan 1 Lama Fermentasi 15 Hari

$$TA(\%) = \frac{0,80 \text{ mL} \times 0,1N \times 60 \text{ g/mol} \times 10}{10 \text{ mL} \times 1000} \times 100\%$$

$$= 0,48 \%$$

L.3.1.6 Ulangan 2 Lama Fermentasi 3 Hari

$$TAT(\%) = \frac{0,35 \text{ mL} \times 0,1N \times 60 \text{ g/mol} \times 10}{10 \text{ mL} \times 1000} \times 100\%$$

$$= 0,21 \%$$

L.3.1.7 Ulangan 2 Lama Fermentasi 6 Hari

$$TAT(\%) = \frac{1,1 \text{ mL} \times 0,1N \times 60 \text{ g/mol} \times 10}{10 \text{ mL} \times 1000} \times 100\%$$

$$= 0,66 \%$$

L.3.1.8 Ulangan 2 Lama Fermentasi 9 Hari

$$TAT(\%) = \frac{1,35 \text{ mL} \times 0,1N \times 60 \text{ g/mol} \times 10}{10 \text{ mL} \times 1000} \times 100\%$$

$$= 0,81 \%$$

L.3.1.9 Ulangan 2 Lama Fermentasi 12 Hari

$$TAT(\%) = \frac{1,4 \text{ mL} \times 0,1N \times 60 \text{ g/mol} \times 10}{10 \text{ mL} \times 1000} \times 100\%$$

$$= 0,84 \%$$

L.3.1.10 Ulangan 2 Lama Fermentasi 15 Hari

$$TAT(\%) = \frac{1,1 \text{ mL} \times 0,1N \times 60 \text{ g/mol} \times 10}{10 \text{ mL} \times 1000} \times 100\%$$

$$= 0,66 \%$$

L.3.1.11 Ulangan 3 Lama Fermentasi 3 Hari

$$TAT(\%) = \frac{0,35 \text{ mL} \times 0,1N \times 60 \text{ g/mol} \times 10}{10 \text{ mL} \times 1000} \times 100\%$$

$$= 0,21 \%$$

L.3.1.12 Ulangan 3 Lama Fermentasi 6 Hari

$$TAT(\%) = \frac{1,1 \text{ mL} \times 0,1N \times 60 \text{ g/mol} \times 10}{10 \text{ mL} \times 1000} \times 100\%$$

$$= 0,66 \%$$

L.3.1.13 Ulangan 3 Lama Fermentasi 9 Hari

$$TAT(\%) = \frac{0,90 \text{ mL} \times 0,1N \times 60 \text{ g/mol} \times 10}{10 \text{ mL} \times 1000} \times 100\%$$

$$= 0,54 \%$$

L.3.1.14 Ulangan 3 Lama Fermentasi 12 Hari

$$TAT(\%) = \frac{1,40 \text{ mL} \times 0,1N \times 60 \text{ g/mol} \times 10}{10 \text{ mL} \times 1000} \times 100\%$$

$$= 0,84 \%$$

L.3.1.15 Ulangan 3 Lama Fermentasi 15 Hari

$$TAT(\%) = \frac{1,35 \text{ mL} \times 0,1N \times 60 \text{ g/mol} \times 10}{10 \text{ mL} \times 1000} \times 100\%$$

$$= 0,81 \%$$

L.3.2. Aktivitas Antioksidan**L.3.2.1 Ulangan 1 Lama Fermentasi 3 Hari**

$$\begin{aligned} \% \text{inhibisi DPPH} &= \left(\frac{0,7306 - 0,3177}{0,7306} \right) \times 100\% \\ &= 56,52 \% \end{aligned}$$

L.3.2.2 Ulangan 1 Lama Fermentasi 6 Hari

$$\begin{aligned} \% \text{inhibisi DPPH} &= \left(\frac{0,7316 - 0,5219}{0,7316} \right) \times 100\% \\ &= 28,66 \% \end{aligned}$$

L.3.2.3 Ulangan 1 Lama Fermentasi 9 Hari

$$\begin{aligned} \% \text{inhibisi DPPH} &= \left(\frac{0,7314 - 0,2481}{0,7314} \right) \times 100\% \\ &= 66,08 \% \end{aligned}$$

L.3.2.4 Ulangan 1 Lama Fermentasi 12 Hari

$$\begin{aligned} \% \text{inhibisi DPPH} &= \left(\frac{0,7319 - 0,1908}{0,7319} \right) \times 100\% \\ &= 73,93 \% \end{aligned}$$

L.3.2.5 Ulangan 1 Lama Fermentasi 15 Hari

$$\begin{aligned} \% \text{inhibisi DPPH} &= \left(\frac{0,7316 - 0,2345}{0,7316} \right) \times 100\% \\ &= 68,00 \% \end{aligned}$$

L.3.2.6 Ulangan 2 Lama Fermentasi 3 Hari

$$\begin{aligned} \% \text{inhibisi DPPH} &= \left(\frac{0,8467 - 0,1401}{0,8467} \right) \times 100\% \\ &= 83,45 \% \end{aligned}$$

L.3.2.7 Ulangan 2 Lama Fermentasi 6 Hari

$$\begin{aligned} \% \text{inhibisi DPPH} &= \left(\frac{0,8479 - 0,1568}{0,8479} \right) \times 100\% \\ &= 81,51 \% \end{aligned}$$

L.3.2.8 Ulangan 2 Lama Fermentasi 9 Hari

$$\begin{aligned} \% \text{inhibisi DPPH} &= \left(\frac{0,8479 - 0,1509}{0,8479} \right) \times 100\% \\ &= 82,20 \% \end{aligned}$$

L.3.2.9 Ulangan 2 Lama Fermentasi 12 Hari

$$\begin{aligned} \% \text{inhibisi DPPH} &= \left(\frac{0,8456 - 0,1466}{0,8456} \right) \times 100\% \\ &= 82,66 \% \end{aligned}$$

L.3.2.10 Ulangan 2 Lama Fermentasi 15 Hari

$$\begin{aligned} \% \text{inhibisi DPPH} &= \left(\frac{0,8467 - 0,1179}{0,8467} \right) \times 100\% \\ &= 86,08 \% \end{aligned}$$

L.3.2.11 Ulangan 3 Lama Fermentasi 3 Hari

$$\begin{aligned} \% \text{inhibisi DPPH} &= \left(\frac{0,8480 - 0,1482}{0,8480} \right) \times 100\% \\ &= 82,52 \% \end{aligned}$$

L.3.2.12 Ulangan 3 Lama Fermentasi 6 Hari

$$\begin{aligned} \% \text{inhibisi DPPH} &= \left(\frac{0,8458 - 0,1219}{0,8458} \right) \times 100\% \\ &= 85,59 \% \end{aligned}$$

L.3.2.13 Ulangan 3 Lama Fermentasi 9 Hari

$$\begin{aligned} \% \text{inhibisi DPPH} &= \left(\frac{0,8476 - 0,1527}{0,8476} \right) \times 100\% \\ &= 81,98 \% \end{aligned}$$

L.3.2.14 Ulangan 3 Lama Fermentasi 12 Hari

$$\begin{aligned} \% \text{inhibisi DPPH} &= \left(\frac{0,8488 - 0,1533}{0,8488} \right) \times 100\% \\ &= 81,94 \% \end{aligned}$$

L.3.2.15 Ulangan 3 Lama Fermentasi 15 Hari

$$\begin{aligned} \% \text{inhibisi DPPH} &= \left(\frac{0,8479 - 0,1762}{0,8479} \right) \times 100\% \\ &= 79,22 \% \end{aligned}$$

Lampiran 4. Data Mentah Hasil Pengukuran Ph, Total Asam Dan Antioksidan Kombucha Daun Lampes (*Ocimum sanctum* L.)

Ulangan	Lama Fermentasi (Hari)	Parameter		
		pH	%TAT	%inhibisi DPPH
I	3	3,36	0,27	56,52
	6	3,35	0,30	28,66
	9	3,13	0,42	66,08
	12	3,05	0,48	73,93
	15	3,15	0,48	68,00
II	3	3,64	0,21	83,45
	6	3,41	0,66	82,20
	9	3,27	0,81	82,66
	12	3,31	0,84	86,08
	15	3,28	0,66	82,52
III	3	3,71	0,21	85,59
	6	3,37	0,66	81,98
	9	3,36	0,54	81,98
	12	3,24	0,84	81,94
	15	3,42	0,81	79,22

Lampiran 5. Hasil Analisa Statistik Dengan SPSS 27

L.5.1. Nilai pH

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
pH	.183	15	.191	.939	15	.368

^a. Lilliefors Significance Correction

Tests of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
pH	Based on Mean	1.567	4	10	.257
	Based on Median	.454	4	10	.768
	Based on Median and with adjusted df	.454	4	5.892	.768
	Based on trimmed mean	1.461	4	10	.285

ANOVA

pH					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.254	4	.063	3.728	.042
Within Groups	.170	10	.017		
Total	.424	14			

pH

Tukey HSD ^a			
Lama Fermentasi(Hari)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
12	3	3.2000	
9	3	3.2533	3.2533
15	3	3.2833	3.2833
6	3	3.3767	3.3767
3	3		3.5700
Sig.		.497	.082

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

^a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

L.5.2. Total Asam Tertitiasi

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
%TAT	.157	15	.200 [*]	.909	15	.132

^{*}. This is a lower bound of the true significance.

^a. Lilliefors Significance Correction

Tests of Homogeneity of Variances

		Levene	df1	df2	Sig.
		Statistic			
%TAT	Based on Mean	1.869	4	10	.193
	Based on Median	.267	4	10	.893
	Based on Median and with adjusted df	.267	4	6.388	.890
	Based on trimmed mean	1.644	4	10	.239

ANOVA

%TAT					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.429	4	.107	3.462	.051
Within Groups	.310	10	.031		
Total	.738	14			

%TAT

Tukey HSD^a

Hari	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
ke-3	3	.2300	
ke-6	3	.5400	.5400
ke-9	3	.5900	.5900
ke-15	3	.6500	.6500
ke-12	3		.7200
Sig.		.088	.723

Means for groups in homogeneous subsets

are displayed.

^a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

L.5.2. Aktivitas Antioksidan (%inhibisi DPPH)

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
%inhibisi DPPH	.201	18	.053	.741	18	<.001

^a. Lilliefors Significance Correction

Tests of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
%inhibisi DPPH	Based on Mean	7.232	5	12	.002
	Based on Median	.616	5	12	.690
	Based on Median and with adjusted df	.616	5	3.694	.700
	Based on trimmed mean	5.950	5	12	.005

ANOVA

%inhibisi DPPH					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	401.191	5	80.238	.335	.882
Within Groups	2870.934	12	239.245		
Total	3272.125	17			

Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian

L.6.1.Perkembangan SCOBY Pada Pengulangan II & III

Hari ke-3



42

Hari ke-6



Hari ke-9



Hari ke-12



Hari ke-15

