

**PENGARUH WAKTU FERMENTASI DAN KONSENTRASI GULA
TERHADAP KARAKTERISTIK FISIKA, KIMIA DAN AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN TEH KOMBUCHA DAUN BELIMBING WULUH
(*Avverhoa bilimbi* Linn.)**

SKRIPSI



Disusun oleh :

**FANNY FAJRIN AULIA ROSYADA
NIM: H01218004**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL
SURABAYA
2022**

PERNYATAAN KEASLIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Fanny Fajrin Aulia Rosyada

NIM : H01218004

Program Studi : Biologi

Angkatan : 2018

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul: "PENGARUH WAKTU FERMENTASI DAN KONSENTRASI GULA TERHADAP KARAKTERISTIK FISIKA, KIMIA DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KOMBUCHA DAUN BELIMBING WULUH (*Avverhoa bilimbi* Linn.)". Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan tindakan plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian pernyataan keaslian ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 11 Agustus 2022

Yang menyatakan,



Fanny Fajrin A R
NIM. H01218004

HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi

Pengaruh Waktu Fermentasi dan Konsentrasi Gula Terhadap Karakteristik Fisika,
Kimia dan Aktivitas Antioksidan Kombucha Daun Belimbing Wuluh (*Avverhoa
bilimbi* Linn.)

Diajukan oleh :

Fanny Fajrin Aulia Rosyada

NIM : H01218004

Telah diperiksa dan disetujui
di Surabaya, 5 Agustus 2022

Dosen Pembimbing Utama



Eva Agustina, M.Si
NIP. 198908302014032008

Dosen Pembimbing Pendamping



Hanik Faizah, S.Si., M.Si
NUP.201409019

PENGESAHAN TIM PENGUJI SKRIPSI

Skripsi Fanny Fajrin Aulia Rosyada ini telah dipertahankan
di depan tim penguji skripsi
di Surabaya, 10 Agustus 2022

Mengesahkan,

Dewan Penguji

Penguji I



Eva Agustina, M.Si
NIP. 198908302014032008

Penguji II



Hanik Faizah, S.Si., M.Si
NUP. 201409019

Penguji III



Risa Purnamasari, S.Si., M.Si
NUP. 201409002

Penguji IV



Ika Mustika, M.Kes
NIP. 198702212014032004

Mengetahui,

Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Jember
Surabaya



Effendy Hamdani, M.Pd.
NIP. 196507312000031002



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL SURABAYA
PERPUSTAKAAN

Jl. Jend. A. Yani 117 Surabaya 60237 Telp. 031-8431972 Fax.031-8413300
E-Mail: perpus@uinsby.ac.id

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika UIN Sunan Ampel Surabaya, yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : FANNY FAJRIN AULIA ROSYADA
NIM : H01218004
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi / Biologi
E-mail address : fannyfajrin93@gmail.com

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif atas karya ilmiah :

Skripsi Tesis Desertasi Lain-lain (.....)

yang berjudul :

PENGARUH WAKTU FERMENTASI DAN KONSENTRASI GULA TERHADAP
KARAKTERISTIK FISIKA, KIMIA DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN TEH KOMBUCHA
DAUN BELIMBING WULUH (*Avverhoa bilimbi* Linn.)

beserta perangkat yang diperlukan (bila ada). Dengan Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif ini Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya berhak menyimpan, mengalih-media/format-kan, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (database), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di Internet atau media lain secara *fulltext* untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan atau penerbit yang bersangkutan.

Saya bersedia untuk menanggung secara pribadi, tanpa melibatkan pihak Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, segala bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah saya ini.

Demikian pernyataan ini yang saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 4 November 2022

Penulis

(Fanny Fajrin Aulia Rosyada)

ABSTRAK

PENGARUH WAKTU FERMENTASI DAN KONSENTRASI GULA TERHADAP KARAKTERISTIK FISIKA, KIMIA DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN TEH KOMBUCHA DAUN BELIMBING WULUH (*Avverhoa bilimbi* Linn.)

Kombucha merupakan minuman hasil fermentasi dari teh hitam yang mengandung gula yang memiliki banyak senyawa antioksidan sehingga dapat memberikan efek baik pada aktivitas usus, penderita diabetes, masalah penuaan dan asam urat. Daun belimbing wuluh menjadi salah satu bahan yang dapat digunakan dalam pembuatan kombucha. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh waktu fermentasi dan konsentrasi gula terhadap karakteristik fisika, kimia, dan aktivitas antioksidan teh kombucha daun belimbing wuluh (*Avverhoa bilimbi* Linn). Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri atas 12 perlakuan. Kombucha daun belimbing wuluh dibuat dengan konsentrasi gula 10%, 15% dan 20 % dengan waktu fermentasi 0 hari, 4 hari, 8 hari dan 12 hari. Perlakuan tersebut dilakukan uji karakteristik fisika meliputi uji organoleptik aroma, warna, dan rasa dilakukan dengan melakukan uji hedonik terhadap 15 panelis. Pada karakteristik kimia dilakukan uji nilai pH, kadar total asam tertitrasi, fenolik dan alkohol. Aktivitas antioksidan pada teh kombucha daun belimbing wuluh diketahui dengan menentukan nilai IC_{50} . Data penilaian organoleptik, pH, kadar total asam tertitrasi dan kadar fenolik dianalisis menggunakan uji *Kruskal Wallis* dan uji *Mann Whitney*. Pada data alkohol dan aktivitas antioksidan dianalisis secara deskriptif. Hasil uji *Mann-Whitney* memiliki perbedaan signifikan ($p < 0,05$) pada uji hedonik rasa, pH, tat, dan fenolik. Nilai rata-rata hedonik pada uji organoleptik yang paling banyak disukai adalah sampel G (fermentasi 12 hari dan gula 10%). Pada karakteristik kimia paling bagus yaitu pada perlakuan P4G1 (fermentasi 12 hari dengan konsentrasi gula 10%) dengan nilai pH 3, kadar tat 0,11%, kadar fenolik 87,33 mg/ml GAE dan kadar alkohol 0,41%. Aktivitas antioksidan pada semua perlakuan teh kombucha menghasilkan antioksidan kuat dan aktivitas antioksidan tertinggi yaitu pada perlakuan P4G1 (fermentasi 12 hari dengan konsentrasi gula 10%) dengan nilai IC_{50} sebesar 3,65.

Kata Kunci: aktivitas antioksidan, kombucha, konsentrasi gula, Total asam tertitrasi, total fenolik, waktu fermentasi.

ABSTRACT

EFFECT OF FERMENTATION TIME AND SUGAR CONCENTRATION ON THE PHYSICAL, CHEMICAL CHARACTERISTICS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF KOMBUCHA TEA WULUH STAR FRUIT LEAVES (*Avverhoa bilimbi* Linn.)

*Kombucha is a fermented drink from black tea that contains sugar which has many antioxidant compounds so that it can have a good effect on intestinal activity, diabetics, aging problems and gout. Star fruit leaves are one of the ingredients that can be used in making kombucha. This study was conducted to determine the effect of fermentation time and sugar concentration on the physical, chemical, and antioxidant characteristics of star fruit leaf kombucha tea (*Avverhoa bilimbi* Linn). This study is an experimental study with a complete randomized design (RAL) consisting of 12 treatments. Kombucha star fruit leaves are made with a sugar concentration of 10%, 15% and 20% with fermentation times of 0 days, 4 days, 8 days and 12 days. The treatment was carried out physical characteristics tests including organoleptic tests of aroma, color, and taste carried out by conducting hedonic tests on 15 panelists. On the chemical characteristics, a test of the pH value is carried out, the total levels of titrated acids, phenolics and alcohols. Antioxidant activity in star fruit leaf kombucha tea is known by determining the IC₅₀ value. Data on the assessment of organoleptics, pH, total levels of titrated acid and phenolic levels were analyzed using the Kruskal Wallis test and the Mann Whitney test. On alcohol data and antioxidant activity were analyzed descriptively. The results of the Mann-Whitney test had significant differences ($p < 0.05$) in the hedonic tests of taste, pH, tat, and phenolic. The hedonic mean value in the most preferred organoleptic assay was sample G (12-day fermentation and 10% sugar)." The best chemical characteristics are in the P4G1 treatment (12-day fermentation with a sugar concentration of 10%) with a pH value of 3, a tat content of 0.11%, a phenolic content of 87.33 mg/ml GAE and an alcohol content of 0.41%. Antioxidant activity in all kombucha tea treatments produces strong antioxidants and the highest antioxidant activity is in the P4G1 treatment (12-day fermentation with a sugar concentration of 10%) with an IC₅₀ value of 3.65.*

Keywords: antioxidant activity, kombucha, sugar concentration, total titrated acid, total phenolic, fermentation time.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI	iv
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	8
1.3 Tujuan.....	9
1.4 Manfaat.....	9
1.5 Batasan Masalah.....	9
1.6 Hipotesis Penelitian.....	10
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	11
2.1 Kombucha	11
2.1.1 Deskripsi Kombucha.....	11
2.1.2 Fermentasi Kombucha	12
2.1.3 Kandungan kimia kombucha	16
2.1.4 Mikrobiologi Kombucha.....	22
2.2 Belimbing Wuluh	23
2.2.1 Klasifikasi	23
2.2.2 Morfologi	24
2.2.3 Manfaat dan kandungan Fitokimia Daun Belimbing Wuluh.....	25
2.3 Aktivitas Antioksidan.....	26
BAB III METODE PENELITIAN	30
3.1 Rancangan Penelitian	30

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	31
3.3 Alat dan Bahan	31
3.4 Variabel Penelitian	32
3.5 Prosedur Penelitian.....	33
3.6 Analisis Data	40
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	41
4.1 Pengaruh Waktu Fermentasi dan Konsentrasi Gula Terhadap Karakteristik Fisika Teh Kombucha Daun Belimbing Wuluh (Avverhoa bilimbi Linn).....	41
4.2 Pengaruh Waktu Fermentasi dan Konsentrasi Gula Terhadap Karakteristik Kimia Teh Kombucha Daun Belimbing Wuluh (Avverhoa bilimbi Linn)	53
4.3 Pengaruh Waktu Fermentasi dan Konsentrasi Gula Terhadap Aktivitas Antioksidan Teh Kombucha Daun Belimbing Wuluh (Avverhoa bilimbi Linn)	74
BAB V PENUTUP	78
5.1 Simpulan.....	78
5.2 Saran	78
DAFTAR PUSTAKA	79
LAMPIRAN.....	87

UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Spesies Bakteri dan Khamir pada Kombucha.....	22
Tabel 3.1 Perlakuan.....	30
Tabel 3.2 Jadwal Pelaksanaan Penelitian	31
Tabel 4.1 Skala hedonik uji organoleptik	41
Tabel 4.2 Hasil Penelitian Karakteristik Fisika	42
Tabel 4.3 Hasil Uji Hedonik Aroma	43
Tabel 4.4 Hasil uji hedonik warna	46
Tabel 4.5 Hasil uji Hedonik Rasa	50
Tabel 4.6 Hasil uji <i>Mann Whitney</i> uji hedonik rasa	51
Tabel 4.7 Hasil penelitian karakteristik kimia teh kombucha.....	54
Tabel 4.8 Hasil pengukuran pH	55
Tabel 4.9 Hasil uji <i>Mann Whitney</i> pH.....	56
Tabel 4.10 Hasil rata-rata kadar tat	60
Tabel 4.11 Hasil uji <i>Mann Whitney</i> kadar tat.....	61
Tabel 4.12 Hubungan pH dan kadar tat	63
Tabel 4.13 Hasil rata-rata kadar fenolik.....	66
Tabel 4.14 Hasil uji <i>Mann Whitney</i> kadar fenolik	67
Tabel 4.15 Hasil uji kadar alkohol teh kombucha.....	71
Tabel 4.16 Hubungan kadar fenolik dan nilai IC ₅₀	76

UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Aktivitas metabolit utama dari khamir, bakteri asam asetat dan asam laktat selama fermentasi kombucha	13
Gambar 2.2 Kombucha yang difermentasikan jamur teh.....	15
Gambar 2.3 Daun belimbing wuluh	24
Gambar 2.4 Buah belimbing wuluh	25
Gambar 2.5 Reaksi antara DPPH dengan senyawa antioksidan	28
Gambar 4.1 Grafik rata-rata uji hedonik aroma	44
Gambar 4.2 Grafik rata-rata uji hedonik warna	47
Gambar 4.3 Grafik rata-rata uji hedonik rasa.....	52
Gambar 4.4 Grafik rata-rata pH kombucha.....	57
Gambar 4.5 Grafik rata-rata uji hedonik warna	62
Gambar 4.6 Grafik persamaan linier standar asam galat	65
Gambar 4.7 Grafik rata-rata kadar fenolik.....	68
Gambar 4.8 Grafik rata-rata kadar etanol	73
Gambar 4.9 Grafik rata-rata nilai IC ₅₀	75

UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kesehatan merupakan hal yang sangat berharga bagi manusia yang umumnya sering diabaikan. Timbulnya berbagai masalah kesehatan membuat masyarakat sadar akan pentingnya menjaga kesehatan sehingga mencari cara untuk menerapkan pola hidup sehat seperti mengonsumsi makanan maupun minuman yang dapat menyehatkan tubuh (Cahanar dan Suhandi, 2006).

Salah satu minuman yang dapat meningkatkan kesehatan tubuh yaitu teh kombucha. Kombucha merupakan salah satu minuman tradisional yang telah difermentasi dari teh hitam yang mengandung gula dengan jamur teh yang umumnya dikenal dengan nama SCOBY (*Symbiotic culture of bacteria and yeast*). SCOBY merupakan jamur teh yang dihasilkan dari simbiosis antara mikroba yaitu bakteri dan khamir. Mikroba yang memiliki peran dalam pembuatan minuman kombucha yaitu *Acetobacter xylinum*, *A. aceti*, *A. pausterianus*, dan *Bacterium gluconicum* dari Kelompok bakteri asam asetat dan *Candida* sp., *Kloeckera* sp., *Schizosaccharomyces pombe*, *S. ludwigii*, *S. cerevisiae*, *Torulospira* sp., *Zygosaccharomyces bailii* dan spesies *Pichia* yang termasuk kedalam jenis khamir. Banyak ahli mengatakan bahwa kombucha berasal dari Cina dan diproduksi secara tradisional oleh beberapa rumah tangga. Hal ini juga dilakukan oleh negara Rusia dan Ukraina yang melakukan fermentasi dengan jamur teh yang diteruskan dari rumah ke rumah (Goh dkk, 2012).

Kombucha memiliki rasa seperti sari apel bersoda. Selama masa fermentasi, kombucha akan mengalami perubahan rasa dari asam menyegarkan menjadi

asam seperti cuka. Hal ini terjadi dikarenakan bakteri dan khamir pada kombucha akan mengubah gula menjadi beberapa senyawa mayor, yaitu asam asetat, etanol, dan asam glukoronat serta senyawa minor, yaitu asam laktat, asam fenolat, vitamin B dan enzim. Banyaknya senyawa yang terkandung tersebut membuat kombucha memiliki sangat banyak keunggulan dibandingkan dengan teh pada umumnya. Senyawa asam organik akan mengalami peningkatan selama proses fermentasi berlangsung, hal ini juga berpengaruh terhadap penurunan pH pada kombucha (Wistiana dan Elok, 2015). Asam organik yang dihasilkan dari fermentasi merupakan metabolit utama yang dihasilkan dan dapat bertindak sebagai bahan aktif untuk memberikan efek kesehatan yang bermanfaat seperti antioksidan (Suhardini dan Elok, 2016; Purnami dkk, 2018 Muhialdin, 2019).

Senyawa antioksidan didefinisikan sebagai suatu senyawa yang dapat menunda, memperlambat, dan mencegah proses oksidasi (Simanjutak, 2012). Menurut Zubaidah dkk (2015) yang telah melakukan penelitian tentang mengonsumsi kombucha dapat memberikan efek yang cukup baik pada aktivitas usus, lambung dan kelenjar. Efek antoksidan pada kombucha juga dapat mengatasi *arteriosclerosis*, ekskresi toksin, diabetes, gugup dan masalah penuaan. Selain itu, juga dapat bertindak sebagai pencahar dan dikenal untuk meredakan aktivitas antioksidan pada cuka salak diketahui bahwa aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh kandungan fenol dan asam-asam organik yang tinggi. Teh kombucha merupakan minuman yang dikenal memiliki aktivitas antioksidan, sehinggarematik sendi, asam urat, dan wasir (Goh dkk, 2012). Menurut Khamidah dan Antarlina (2020) kombucha juga dapat digunakan

untuk mencegah penyakit kanker, sakit kepala dan dapat menstimulasi sistem imun pada tubuh.

Allah SWT menciptakan segala sesuatu di bumi untuk dapat dimanfaatkan oleh umatnya, hal ini juga telah diterangkan pada firman Allah Surat Al-Baqarah ayat 29 sebagai berikut:

هُوَ الَّذِي خَلَقَ لَكُمْ مَّا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا ثُمَّ اسْتَوَىٰ إِلَى السَّمَاءِ فَسَوَّاهُنَّ سَبْعَ سَمَاوَاتٍ ۗ وَهُوَ بِكُلِّ شَيْءٍ عَلِيمٌ

Artinya : Dialah Allah, yang menjadikan segala yang ada di bumi untuk kamu dan Dia berkehendak (menciptakan) langit, lalu dijadikan-Nya tujuh langit. Dan Dia Maha Mengetahui segala sesuatu.

Menurut Tafsir Al-Azhar Ayat tersebut menjelaskan bahwa Manusia diberikan oleh Allah SWT segala sesuatu di bumi seperti air yang mengalir, lautan yang terbentang, pasir di pantai, binatang ternak dan tanaman yang ada di bumi serta bila bumi digali selapis dua lapis akan ditemukan kekayaan seperti minyak tanah, mangan, uranium, besi dan segala macam logam. Manusia sebagai umat-Nya diberi alat untuk mengambil manfaat dari pemberian rahmat, nikmat dan karunia tersebut yaitu akal dan ilmu pengetahuan (Hamka, 2001).

Salah satu contoh pemanfaatan kekayaan alam yang telah diberikan oleh Allah SWT yaitu pembuatan kombucha menggunakan daun tanaman. Pada proses pembuatan kombucha untuk menghasilkan cita rasa yang enak umumnya menggunakan teh hitam dikarenakan teh hitam merupakan salah satu jenis teh yang memiliki aroma yang wangi dibandingkan teh lain, akan tetapi untuk tujuan kesehatan pembuatan kombucha dapat menggunakan tanaman herbal lain yang memiliki kandungan zat aktif berupa antioksidan alami dengan kadar yang lebih tinggi (Naland, 2008). Kombucha dapat dibuat dari daun-daun yang

memiliki kandungan polifenol yang tinggi seperti tanin dan flavonoid. Pembuatan kombucha menggunakan bahan selain teh hitam telah banyak dilakukan. Penelitian yang telah dilakukan oleh Suhardini dan Elok (2016) tentang studi aktivitas antioksidan pada kombucha dari beberapa jenis daun dengan menggunakan daun kopi, daun jambu, daun sirsak, daun salam, daun teh dan daun sirih diketahui bahwa senyawa fenol yang terkandung dalam dedaunan yang digunakan akan meningkat selama masa fermentasi dan juga akan mempengaruhi kadar antioksidan didalamnya. Dalam penelitian tersebut juga disebutkan bahwa kadungan tanin dalam dedaunan juga dapat berpengaruh pada media pertumbuhan bakteri dan khamir pada kombucha sehingga bakteri dan khamir berkembang dengan baik dan menghasilkan kombucha terbaik.

Salah satu daun tanaman yang berpotensi untuk digunakan sebagai bahan pembuatan kombucha yaitu daun belimbing wuluh. Belimbing wuluh (*Avverhoa bilimbi* Linn.) merupakan tanaman yang berbuah dan sering dimanfaatkan sebagai obat alami pada hampir seluruh bagian dari tumbuhan tersebut, yaitu mulai dari buah, batang, daun, hingga bunga. Buah belimbing wuluh memiliki rasa yang asam sehingga dapat dimanfaatkan sebagai sirup dan penedap pada makanan. Sedangkan bagian daun pada belimbing wuluh sering dimanfaatkan untuk mengurangi rasa sakit atau nyeri dan membunuh kuman serta dapat membantu menurunkan gula darah (Hidjrawan, 2018). Menurut Zarwinda dkk (2021) daun belimbing wuluh juga banyak digunakan sebagai obat tradisional pada kulit seperti gatal-gatal, bengkak dan kulit melepuh.

Penggunaan daun belimbing wuluh sebagai bahan pembuatan kombucha belum pernah dilaporkan. Padahal daun belimbing wuluh memiliki beberapa

kandungan kimia yang memiliki potensi untuk dimanfaatkan seperti saponin, tannin, sulfur, asam format, dan senyawa fenol yaitu flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu senyawa fenol yang dimiliki oleh banyak jenis tanaman dan memiliki beberapa aktivitas farmakologikal yang berfungsi sebagai antioksidan dan antidiabetes (Kurniawaty dan Lestari, 2016). Senyawa flavonoid dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan, sehingga semakin banyak senyawa flavonoid maka aktivitas antioksidannya semakin meningkat (Fajar dkk, 2018). Kandungan senyawa flavonoid total pada daun belimbing wuluh tidak kurang dari 0,7% (Misfadhila dkk, 2016). Selain senyawa flavonoid, tanin juga berperan dalam peningkatan aktivitas antioksidan. Menurut Adriani (2019) daun belimbing wuluh memiliki kadar kandungan tanin lebih tinggi yaitu 10,92% dibandingkan dengan daun teh hijau sebesar 1,44% dan daun jeruk purut sebesar 1,8%. Pada penelitian yang telah dilakukan Hanifah (2014) tentang pemanfaatan daun belimbing wuluh dalam bentuk infusa dan sedian celup terhadap penurunan berat badan diketahui bahwa daun belimbing wuluh positif mengandung flavonoid dan tannin. Penelitian tersebut juga menyatakan bahwa daun belimbing wuluh dalam bentuk infusa dan seduhan teh celup memiliki efek sebagai penurun berat badan pada tikus. Hal ini disebabkan daun belimbing wuluh memiliki kadar tanin yang mampu mengurangi penyerapan makanan dengan cara mengendapkan mukosa protein yang terdapat dipermukaan usus. Selain itu senyawa tanin juga berfungsi memperlancar pencernaan dan melarutkan lemak. Dari beberapa penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa daun belimbing wuluh memiliki potensi digunakan sebagai bahan baku dalam pembuatan teh kombucha.

Pada saat pembuatan kombucha salah satu faktor yang dapat berpengaruh yaitu waktu fermentasi kombucha dan konsentrasi gula yang diberikan. Umumnya waktu fermentasi kombucha yaitu 6-12 hari. Penelitian tentang pengaruh lama fermentasi dan konsentrasi gula pada kombucha telah banyak dilaporkan. Pada penelitian yang dilakukan oleh Goh dkk (2012) yang telah melakukan penelitian tentang proses fermentasi teh kombucha dengan bahan dasar teh hitam diketahui bahwa perlakuan terbaik yaitu pada waktu fermentasi selama 8 hari dengan konsentrasi gula sebanyak 90 g/l dikarenakan menghasilkan endapan selulosa tertinggi yaitu 66,9%.

Nurhayati dkk (2020) juga telah melakukan penelitian tentang karakteristik fisikokimia dan sensori kombucha cascara (kulit kopi ranum) diketahui bahwa konsentrasi cascara dan lama fermentasi berpengaruh nyata terhadap karakteristik fisik, kimia dan sensori. Perlakuan terbaik yaitu pada konsentrasi 1% cascara dan waktu fermentasi 8 hari dikarenakan memiliki kadar total total fenolik tertinggi dengan pH dan total asam masih dalam batas kadar yang aman untuk dikonsumsi. Penelitian yang telah dilaporkan Arfa dkk (2020) tentang pembuatan kombucha daun sirih melakukan fermentasi selama 12 hari diketahui bahwa perlakuan paling baik didapatkan pada kombucha dengan konsentrasi gula 20% karena memiliki aktivitas antibakteri tertinggi dengan daya hambat terhadap *Escherichia coli* sebesar 16,28 mm dan *Staphylococcus aureus* sebesar 17,08 mm.

Lama fermentasi dan konsentrasi gula pada pembuatan kombucha juga terbukti dapat berpengaruh terhadap karakteristik kimia dan aktivitas antioksidan pada kombucha. Menurut Hassmy (2017) peningkatan aktivitas

antioksidan pada kombucha disebabkan oleh hasil metabolisme mikroorganisme selama masa fermentasi, peningkatan senyawa fenol pada saat fermentasi dapat terjadi karena adanya biotransformasi yang memanfaatkan yang memanfaatkan enzim suatu sel tanaman untuk meningkatkan aktivitas biologis tertentu dan adanya fenolik bebas yang dihasilkan selama proses fermentasi. Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Nurikasari dkk (2017) menunjukkan bahwa pembuatan kombucha menggunakan teh hijau memiliki aktivitas antioksidan optimum sebesar (93,79%) pada perlakuan 7 hari fermentasi dibandingkan dengan aktivitas antioksidan pada hari pertama fermentasi yaitu sebesar 88,88%. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan pada kombucha mengalami peningkatan sebesar 4,91% selama masa fermentasi berlangsung. Aritonang (2019) melakukan penelitian mengenai karakteristik kombucha daun sirsak diketahui bahwa perlakuan terbaik diperoleh pada fermentasi kombucha selama 14 hari dengan konsentrasi daun sirsak sebanyak 6% karena diperoleh kadar tertinggi dari kadar total asam tertitrasi 8,56%, kadar vitamin C 505,00 mg/100 ml, kadar fenolik 24,00 mg/g dan aktivitas antioksidan IC_{50} sebesar 0,192%.

Peningkatan senyawa kimia selama masa fermentasi juga akan berpengaruh terhadap karakteristik fisik dari kombucha seperti rasa, warna dan aroma (Falahuddin dkk, 2017). Pada penelitian yang telah dilakukan Febriella dkk (2021) tentang pembuatan minuman herbal yang difermentasi dengan starter kombucha selama 3 hari, 6 hari dan 9 hari diketahui bahwa perlakuan terbaik yaitu pada fermentasi kombucha selama 3 hari karena menghasilkan nilai

preferensi warna 3,24 pada skala suka dan nilai preferensi rasa 3,56 pada skala suka dengan nilai pH sebesar 3,91 dan kadar antioksidan sebesar 76,92%.

Penelitian mengenai pengaruh lama fermentasi dan konsentrasi starter pada pembuatan kombucha buah belimbing wuluh (*Avverhoa bilimbi* Linn) untuk mengetahui kualitas kombucha dengan menggunakan parameter uji yaitu total gula tereduksi, total alkohol dan total asam sudah pernah dilakukan. Diketahui pada penelitian tersebut perlakuan terbaik yaitu pada lama fermentasi 8 hari dan konsentrasi starter 12% dengan menghasilkan kadar gula total yaitu 1,811%, Kadar alkohol 0,575% dan kadar asam total 2,28% (Sugiarti, 2010). Akan tetapi, pengaruh lama waktu fermentasi dan konsentrasi gula pada kombucha menggunakan daun belimbing wuluh (*Avverhoa bilimbi* Linn) untuk mengetahui karakteristik fisika, kimia dan aktivitas antioksidannya masih belum pernah dilakukan. Sehingga, perlu dilakukan penelitian mengenai interaksi variasi perlakuan lama waktu fermentasi dan konsentrasi gula pada kombucha daun belimbing wuluh (*Avverhoa bilimbi* Linn).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah :

1. Bagaimana pengaruh waktu fermentasi dan konsentrasi gula terhadap karakteristik fisika pada teh kombucha daun belimbing wuluh (*Avverhoa bilimbi* Linn)?
2. Bagaimana pengaruh waktu fermentasi dan konsentrasi gula terhadap karakteristik kimia pada teh kombucha daun belimbing wuluh (*Avverhoa bilimbi* Linn)?

3. Bagaimana pengaruh waktu fermentasi dan konsentrasi gula terhadap karakteristik aktivitas antioksidan pada teh kombucha daun belimbing wuluh (*Avverhoa bilimbi* Linn)?

1.3 Tujuan

1. Untuk mengetahui pengaruh kombinasi waktu fermentasi dan konsentrasi gula terhadap karakteristik fisika pada teh kombucha daun belimbing wuluh (*Avverhoa bilimbi* Linn)
2. Untuk mengetahui pengaruh kombinasi waktu fermentasi dan konsentrasi gula terhadap karakteristik kimia pada teh kombucha daun belimbing wuluh (*Avverhoa bilimbi* Linn)
3. Untuk mengetahui pengaruh kombinasi waktu fermentasi dan konsentrasi gula terhadap karakteristik aktivitas antioksidan pada teh kombucha daun belimbing wuluh (*Avverhoa bilimbi* Linn)

1.4 Manfaat

1. Penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi mengenai pengaruh lama waktu fermentasi dan konsentrasi gula pada aktivitas antioksidan kombucha daun belimbing wuluh
2. Penelitian ini juga diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat mengenai pengolahan daun belimbing wuluh menjadi bahan baku kombucha untuk mengoptimalkan senyawa antioksidan didalamnya.

1.5 Batasan Masalah

Untuk dapat mempermudah peneliti dalam memahami masalah yang ingin diteliti maka peneliti membatasi masalah sebagai berikut :

1. Subjek dalam penelitian ini yaitu kombucha daun belimbing wuluh. Bagian tanaman yang digunakan yaitu bagian daun yang muda yang telah melalui proses pengeringan.
2. Perlakuan yang diterapkan dalam penelitian ini yaitu lama waktu fermentasi yakni 4 hari, 8 hari dan 12 hari serta konsentrasi gula yakni 10%, 15%, 20%.
3. Jenis gula yang digunakan pada penelitian ini adalah sukrosa
4. Parameter yang digunakan dalam pengambilan data yaitu total asam, pH, total fenolik, alkohol, aktivitas antioksidan dan uji organoleptik

1.6 Hipotesis Penelitian

Dalam penelitian ini dapat disusun hipotesis yaitu terdapat pengaruh kombinasi waktu fermentasi dan konsentrasi gula terhadap karakteristik fisika, kimia dan aktivitas antioksidan kombucha daun belimbing wuluh (*Avverhoa bilimbi* Liin.).

UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kombucha

2.1.1 Deskripsi Kombucha

Nama kombucha berasal dari kata Bahasa Jepang yaitu “kombu” adalah nama rumput laut coklat (*Laminaria japonica*) yang umumnya digunakan masyarakat Jepang sebagai bahan makanan dan “cha” yang memiliki arti teh. Teh kombucha pada beberapa daerah memiliki nama yang berbeda seperti di daerah Rusia memiliki nama “tea kvass” (Frank, 1994). Kombucha merupakan hasil fermentasi dari cairan teh manis dengan bantuan mikroorganisme yaitu kelompok bakteri dan khamir. Mikroorganisme tersebut adalah simbiosis dari *Acetobacter xylinum* dan khamir yaitu *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces ludwigii*, *Saccharomyces bisporus*, *Zyghosaccharomyces* sp. dan beberapa macam dari jenis khamir lain yaitu *Torulopsis* sp. (Nurikasari dkk, 2017). Menurut Goh dkk (2012) hubungan simbiosis mikroba pada kombucha antara bakteri asam asetat yang meliputi: *Acetobacter xylinum*, *A. xylinoides*, *A. aceti*, *A. pausterianus* dan bakteri glukonium dengan khamir yang meliputi: *Candida* sp., *Kloeckera* sp., *Schizosaccharomyces bailii* dan *Pichia species*.

Asia timur merupakan negara yang pertama kali menggunakan Kombucha sebagai manfaat penyembuhan. Kombucha berasal dari daerah timur Laut Cina (Manchuria). Pada tahun 220 SM kombucha merupakan minuman yang sangat berharga untuk detoksifikasi dan memiliki beberapa

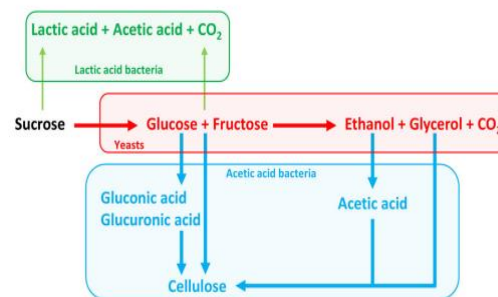
kandungan kimia yang sangat bermanfaat. Pada tahun 414 M seorang tabib bernama Kombu membawa jamur teh ke Jepang dengan tujuan untuk menyembuhkan masalah pencernaan yang dialami oleh Kaisar Inkyo. Pengenalan minuman kombucha sebagai minuman Kesehatan dilakukan melalui jalur perdagangan, awalnya kombucha memiliki nama dagang “*Mo-Gu*” dan mulai dilakukan perdagangan ke Rusia sehingga kombucha memiliki beberapa nama lain yaitu *Cainiigrib*, *Cainii kvass*, *Japonskigrib*, *Kombucha*, *Jakvasska*. Kemudian perdagangan tersebut dilanjutkan hingga Eropa bagian timur hingga Jerman pada sekitar pergantian abad ke 20 dan kombucha dikenal dengan nama *Heldenpilz*, *Kombuchaschwamm*. Pada masa perang dunia ke-2 kombucha kembali diperkenalkan di Jerman. Pada tahun 1950-an kombucha menjadi minuman yang cukup populer di Afrika Utara dan Prancis. Sejak saat itu tradisi minum teh fermentasi menjadi diterima diseluruh Eropa hingga perang dunia II yang mana pada saat itu mengalami kekurangan daun teh dan gula (Jayabalan dkk, 2014).

2.1.2 Fermentasi Kombucha

Fermentasi kombucha merupakan fermentasi alami dikarenakan proses fermentasi dimulai dengan menambahkan sejumlah fermentasi kombucha sebelumnya. Teknik ini disebut dengan *backslopping* yang juga sering digunakan pada banyak produksi fermentasi makanan alami lainnya seperti sereal dan daging yang difermentasi serta kefir susu (Laureys dkk, 2020).

Kombucha dibuat dengan cara menambahkan teh kedalam, air mendidih dan dibiarkan selama 10 menit kemudian dilakukan penyaringan dan melarutkan sukrosa kedalam teh panas. Setelah itu dibiarkan hingga

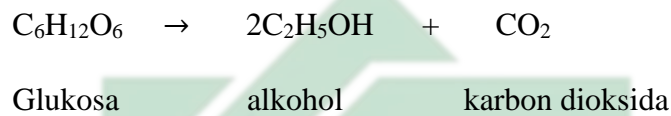
dingin. Teh dituangkan kedalam wadah bersih dan diasamkan dengan penambahan cuka atau kombucha yang telah disiapkan, Jamur teh diletakkan dipermukaan teh. Tutup toples dengan kain bersih pada suhu kamar selama 1-8 minggu. Selama proses fermentasi akan terbentuk jamur teh baru dipermukaan teh (Dufresne dan Farnworth, 2000).



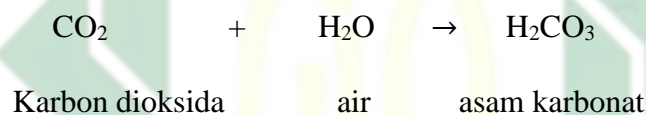
Gambar 2. 1 Aktivitas metabolit utama dari khamir, bakteri asam asetat dan asam laktat selama fermentasi kombucha (Laureys dkk, 2020)

Pada Gambar 2.1 menggambarkan tentang hubungan simbiosis mikroba pada kombucha. Dimana substrat untuk fermentasi kombucha umumnya sukrosa yang dihirolisis menjadi glukosa dan fruktosa oleh enzim invertase di periplasma sel khamir, dimana konsentrasi glukosa dan fruktosa akan meningkat (Laureys dkk, 2020). Menurut Frank (1994) Rangkaian proses metabolisme biologi dan kimia yang berlangsung dalam substrat teh selama proses fermentasi dilakukan secara berurutan maupun bersamaan. Kultur kombucha dapat digambarkan sebagai pabrik kimia kecil dan selama proses fermentasi berlangsung menghasilkan sejumlah kecil alkohol, karbon dioksida, vitamin B dan vitamin C, serta berbagai asam organik yang sangat peting untuk metabolisme manusia seperti: asam asetat, asam glukonat, asam glukoronat, asam laktat, asam oksalat dan beberapa senyawa asam organik lainnya. Proses ini disebut dengan inversi disakarida dimana

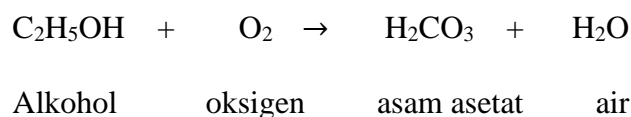
komponen gula seperti gula bit atau gula tebu mengawali proses pembentukan asam. Hal ini berarti komponen gula akan mengalami pemecahan menjadi monosakarida (gula sederhana seperti glukosa, fruktosa, galaktosa) yang disebabkan oleh enzim dan asam. Proses fermentasi diawali dengan khamir mengubah gula menjadi alkohol. Proses tersebut memiliki reaksi kimia sebagai berikut :



Karbon dioksida (CO₂) bereaksi dengan uap air Dalam teh untuk membentuk asam karbonat :

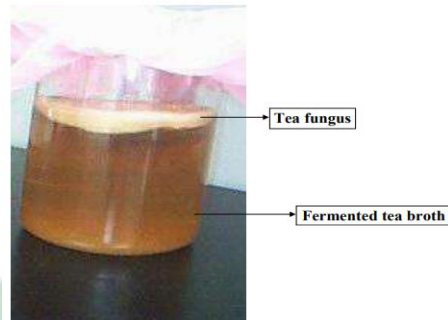


Pada waktu yang bersamaan, bakteri asam asetat menyusun pembentukan *mucilaginous* (lendir) disekitar kultur kombucha. Hal ini akan mengubah gula menjadi selulosa dan menyebabkan membran yang menutupi kultur kombucha akan berkembang secara bertahap. Pada saat yang sama juga akan menfermentasi alkohol yang dihasilkan oleh khamir menjadi asam asetat dan asam organik lainnya. Proses oksidasi memiliki reaksi kimia sebagai berikut :



Proses fermentasi pada kombucha diawali dengan medium bersifat aerob, tinggi sukrosa, dan sedikit asam dikarenakan penambahan inokulum. Selama fermentasi secara bertahap oksigen pada larutan akan menurun

dikarenakan perkembangan lapisan selulosa diatas cairan fermentasi dan konsumsi oksigen oleh mikroorganisme yaitu *Zoogleal mat* (SCOBY) dan cairannya (Laureys dkk, 2020).



Gambar 2. 2 Kombucha yang difermentasi jamur teh (Jayabalan dkk, 2014)

Menurut Villarreal-Soto dkk (2018) terdapat faktor-faktor yang dapat mempengaruhi fermentasi kombucha seperti suhu, pH, Jumlah oksigen, CO₂ terlarut, sistem operasi, persediaan precursor, kecepatan dalam fermentor, serta sifat dan komposisi medium. Setiap variasi dalam faktor-faktor tersebut dapat mempengaruhi laju fermentasi, spektrum, hasil. Sifat organoleptik, kualitas nutrisi, dan sifat fisikokimia produk. Varietas tanaman yang berbeda, konsentrasi gula, waktu fermentasi, dan komposisi jamur teh juga dapat berpengaruh terhadap fermentasi kombucha.

Allah SWT telah menerangkan istilah fermentasi yaitu sebagaimana yang tertulis pada surat An-Nahl ayat 67 sebagai berikut:

وَمِنْ ثَمَرَاتِ النَّخِيلِ وَآلِ عِنَابٍ تَتَّخِذُونَ مِنْهُ سَكَرًا وَرِزْقًا حَسَنًا ۗ إِنَّ فِي ذَٰلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَعْقِلُونَ

Artinya: Dan dari buah korma dan anggur, kamu buat minuman yang memabukkan dan rezeki yang baik. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang memikirkan.

Menurut Tafsir Al-Azhar pada ayat ini dijelaskan bahwa kurma dan anggur yang diberi ragi serta didiamkan dalam waktu yang lama dapat menjadi minuman yang memabukkan. Dalam Tafsir Ibnu Abbas dijelaskan bahwa yang dimaksud minuman memabukkan dan rezeki baik adalah berupa cuka, manisan, minuman anggur dan hal yang serupa dengan itu, maka Allah SWT mengakuinya dan menjadikannya halal untuk kaum muslim (Thalhah, 2000).

Menurut Naland (2008) kombucha memiliki kandungan alkohol sekitar 0.5-1% serta kadar pH yang dapat diterima dan aman dikonsumsi yaitu antara 3-5,5. Jika kombucha memiliki pH dibawah nilai tersebut maka perlu diencerkan terlebih dahulu sebelum dikonsumsi. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Pratiwi dkk (2011) kadar alkohol pada kombucha akan mengalami peningkatan hingga fermentasi hari ke-12 dari kadar alkohol 0,2973% menjadi 0,6209%. Akan tetapi, setelah hari ke hari ke-16 kadar alkohol akan mengalami penurunan kembali yaitu 0,4240%.

2.1.3 Kandungan Kimia Kombucha

Proses fermentasi pada kombucha akan menghasilkan beberapa senyawa biokimia yang memiliki khasiat bagi Kesehatan tubuh. Menurut Eric dan Jessica Child (2013) terdapat beberapa kandungan kimia diantaranya yaitu sebagai berikut :

1. Asam asetat

Asam asetat merupakan agen antibakteri yang kuat. Kadar asam asetat akan meningkat selama fermentasi berlangsung, sehingga mikroba patogen tidak dapat mencemari kombucha. Asam asetat

juga bertanggung jawab menciptakan rasa asam seperti cuka pada saat mengonsumsi kombucha. Penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa asam asetat dapat memiliki efek menurunkan gula darah dengan pemecahan pati dan gula. Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Greenwalt dkk (1998) kombucha memiliki kandungan asam asetat sebanyak 0,7% setelah fermentasi selama 9 hari.

2. Asam amino

Asam amino merupakan penyusun dari protein. Selain air, asam amino dari pembentukan protein merupakan komponen terbesar dari tubuh manusia. Selain diperlukan untuk penyusunan protein baru, asam amino juga merupakan komponen yang sangat penting dalam berbagai jalur dalam tubuh. Seperti neurotransmisi hingga metabolisme.

3. Vitamin B1(Tiamin)

Vitamin B1 sangat penting untuk semua makhluk hidup. Vitamin B1 hanya dapat diperoleh dari tumbuhan, bakteri dan jamur. Kekurangan vitamin B1 dapat menyebabkan gangguan pada mata, neurologis, kardiovaskular, dan penyakit lainnya.

4. Vitamin B2 (Riboflavin)

Vitamin B2 bermanfaat dalam mengatasi sakit kepala migrain dan anemia. Riboflavin juga merupakan komponen penting dalam pemecahan lemak, karbohidrat dan protein serta memproduksi energi di dalam tubuh.

5. Vitamin B3 (Niasin)

Vitamin ini secara signifikan dapat menurunkan resiko penyakit jantung. Niasin juga membantu dalam mengatur hormone-hormon regular. Menurut Naland (2008) Peranan vitamin B3 membantu metabolisme untuk menghasilkan energi dan menurunkan kadar kolesterol jahat dalam tubuh dikarenakan kehadiran LDL (Low density lipoprotein) dan triglyserida sebagai kolesterol yang merugikan akan digantikan oleh HDL (*high density lipoprotein*) hingga dapat mengurangi resiko terkena penyakit pembuluh darah dan jantung koroner.

6. Vitamin B5 (Asam pantotenat)

Vitamin B5 berguna dalam mengontrol rasio kolesterol baik dan jahat sehingga berpotensi mencegah serangan jantung. Bentuk lain dari molekul vitamin B5 yaitu panthethine, dapat menurunkan kadar trigliserida dalam aliran darah yang dapat meningkatkan resiko penyakit jantung.

7. Vitamin B12 (*Cyanocobalamin*)

Vitamin ini berperan dalam pelengkap dalam pemeliharaan sel yang tepat. Terutama pada sistem darah dan syaraf. Sehingga, vitamin B12 dapat membantu dalam meredakan kelelahan, penyakit Alzheimer, kanker payudara dan anemia.

Vitamin B12 bersama-sama dengan asam folat memiliki peran penting dalam metabolisme antar sel di dalam tubuh. Kekurangan

vitamin B12 dapat membuat perkembangan tubuh menjadi lambat dalam waktu yang cukup lama (Naland, 2008).

8. Asam butirat

Asam butirat dibuat dari glukosa dengan bantuan beberapa strain bakteri yang ditemukan dikombucha dan usus manusia. Asam butirat ini terbukti aman untuk menyehatkan sel-sel usus serta dapat menghancurkan sel kanker usus besar serta peradangan.

9. Asam kaprilat

Asam kaprilat atau dapat disebut juga asam oktanoat telah dikaitkan dengan penurunan tekanan darah tinggi dan dalam pengobatan penyakit chron. Asam kaprilat juga merupakan senyawa antimikroba kuat yang digunakan untuk mengobati vagina dan infeksi jamur seperti sariawan.

10. Katekin dan polifenol lainnya

Katekin dan polifenol ditemukan pada konsentrasi tinggi pada tanaman, terutama bagian daun. Senyawa kimia ini dapat berkerja sebagai antioksidan. Antioksidan memiliki masa hidup yang pendek dalam tubuh. Oleh karena itu, dianjurkan untuk meminum setiap beberapa jam sekali. Manfaat lain dari senyawa polifenol yaitu dapat mengurangi lemak tubuh.

11. Asam sitrat

Asam sitrat secara alami dapat ditemukan dalam konsentrasi tinggi didalam buah jeruk. Asam sitrat berperan sebagai agen alkalizing yaitu mengembalikan keseimbangan cairan tubuh yang

terlalu asam pada darah. Asam sitrat ini merupakan senyawa antioksidan kuat dan dapat melindungi ginjal dengan mengikat dan melepaskan kelebihan mineral yang dapat menumpuk didalamnya seperti kalsium.

12. Asam dekonat

Asam dekonat atau juga dapat disebut dengan asam kaprat ditemukan dalam minyak kelapa murni. Asam dekonat ini terbukti membentuk memperbaiki rasio kolesterol baik (HDL) daripada kolesterol jahat (LDL).

13. Enzim

Enzim merupakan molekul protein yang terbuat dari asam amino dan berfungsi sebagai katalis untuk mempercepat reaksi kimia dalam tubuh.

14. Asam glukonat

Asam glukonat dapat diperoleh secara alami dalam berbagai buah-buahan, sayuran, kacang-kacangan dan tubuh juga memproduksinya dalam jumlah kecil. Asam glukonat terbukti dapat mempercepat detoksifikasi zat karsinogen, kelebihan hormon, dan racun lainnya dalam hati. Menurut Greenwalt dkk (2000) waktu fermentasi selama 10 hari dengan konsentrasi sukrosa sebanyak 70 g/l menghasilkan asam glukonat sebanyak 2,8 %.

15. Asam glukoronat

Asam glukoronat merupakan produk pemecahan glukosa oleh strain bakteri *Gluconobacter* yang dapat ditemukan pada usus. Pada

kombucha diperkirakan asam glukonat akan berinteraksi dengan asam butirat untuk meningkatkan Kesehatan sistem gastrointestinal

16. Asam laktat

Asam laktat dihasilkan oleh otot selama melakukan Latihan yang cukup berlebihan. Mitokondria alih-alih menjadi tanda-tanda otot yang kelelahan, energi yang dimiliki oleh mitokondria dapat meningkatkan aktivitas kerja pada waktu yang lama.

17. Niacinamide

Niacinamide terbukti memiliki sifat anti kecemasan dan anti inflamasi serta bentuk lain dari senyawa ini dapat mengobati penyakit *alzheimer*.

18. Phenethyl alcohol

Senyawa ini merupakan senyawa alami yang berperan dalam bahan pemberi rasa dan bukan termasuk bahan yang berbahaya di parfum karena memiliki aroma bau yang manis.

19. Asam propanoate

Asam propanoate merupakan agen antijamur yang kuat dan digunakan secara komersial untuk melindungi makanan.

20. Asam succinic

Asam suksinat terbukti dapat meningkatkan pemulihan sistem saraf dan mengurangi efek mabuk dengan mempercepat dekomposisi asetildehid. Asam suksinat termasuk antibiotik kuat dan merupakan bagian penting dari energi tubuh.

2.1.4 Mikrobiologi Kombucha

Kultur yang digunakan dalam fermentasi kombucha memiliki komposisi mikrobiologi yang bervariasi sesuai dengan asal, cuaca, lokasi geografis dan media yang digunakan untuk proses fermentasi kombucha (Leal dkk, 2018). Jamur teh atau SCOBY merupakan nama yang umum diberikan pada simbiosis bakteri asam asetat dan spesies ragi osmofilik dalam lapisan *zooglear* (Biofilm) (Jayabalan dkk, 2014). Bakteri asam asetat dalam kombucha merupakan mikroba yang memiliki sifat obligat aerob yaitu bakteri tersebut hanya akan tumbuh apabila terdapat oksigen. Sedangkan khamir memiliki sifat fakultatif aerob dimana tersedia atau tidaknya oksigen, khamir akan tetap dapat tumbuh (Ardheniati dkk, 2009). Menurut Leal dkk (2018) terdapat beberapa spesies bakteri dan ragi yang dalam kombucha antara lain:

Tabel 2.1 Spesies Bakteri dan khamir pada kombucha

Bakteri	Khamir
<i>Acetobacter xylinum</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Acetobacter xylinoides</i>	<i>Zygosaccharomyces bailii</i>
<i>Bacterium gluconicum</i>	<i>Schizosaccharomyces pombe</i>
<i>Acetobacter aceti</i>	<i>Saccharomyces ludwigii</i>
<i>Acetobacter pasteurianus</i>	<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>
<i>Gluconobacter oxydans</i>	<i>Torulaspota delbrueckii</i>
<i>Lactobacillus</i> sp.	<i>Brettanomyces bruxellensis</i>
<i>Lactococcus</i> sp.	<i>Brettanomyces lambicus</i>
<i>Leuconostoc</i> sp.	<i>Brettanomyces custerii</i>
<i>Bifidobacterium</i> sp.	<i>Candida</i> sp.
<i>Termus</i> sp.	<i>Pichia membranaefaciens</i>
<i>Allobaculum</i> sp.	<i>Kloeccera apiculate</i>
<i>Ruminococcaceae incerate sedis</i>	<i>Torulopsis</i> sp.
<i>Propionibacterium</i> sp.	
<i>Enterokokus</i> sp.	

(Sumber : Leal dkk, 2018)

Pemanfaatan bakteri dan khamir pada proses fermentasi kombucha menunjukkan bahwa Allah SWT menciptakan segala sesuatu yang ada di alam semesta telah diperhitungkan dengan teliti sekali. Seperti halnya bakteri yang tidak kasat mata seiring dengan penelitian yang telah dilakukan

diketahui bahwa bakteri memiliki peran cukup penting walaupun makhluk tersebut berukuran kecil dan sehinia apapun (Hamka, 2001). Seperti firman Allah pada surat Al-Baqarah ayat 26 berikut ini:

إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا ۗ فَأَمَّا الَّذِينَ آمَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ الْحَقُّ

مِّن رَّبِّهِمْ ۗ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَا ذَا آرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا ۗ يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا ۗ وَمَا

يُضِلُّ بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ

Artinya: Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari itu. Adapun orang-orang yang beriman, maka mereka yakin bahwa perumpamaan itu benar dari Tuhan mereka, tetapi mereka yang kafir mengatakan: "Apakah maksud Allah menjadikan ini untuk perumpamaan?. Dengan perumpamaan itu banyak orang yang disesatkan Allah, dan dengan perumpamaan itu (pula) banyak orang yang diberi-Nya petunjuk. Dan tidak ada yang disesatkan Allah kecuali orang-orang yang fasik.

2.2 Belimbing Wuluh

2.2.1 Klasifikasi

Belimbing wuluh merupakan tanaman yang berasal dari Negara yang beriklim tropis yaitu Amerika. Belimbing wuluh juga dibudidayakan disejumlah negara seperti Malaysia, Argentina, Australia, Brazil, India, Philippines, Singapore, Thailand, dan Venezuela (Pendit dkk, 2016).

Belimbing wuluh merupakan tanaman jenis buah dan obat tradisional. Belimbing wuluh disebut dengan belimbing asam dan diperkirakan berasal dari kepulauan riau (Hasim dkk, 2019). Belimbing wuluh memiliki beberapa nama daerah diantaranya yaitu limeng, selemeng, beliembieng, blimbing buloh, limbi, libi, tukurela dan malibi. Nama lokal *Bilimbi*, *cucumber tree* dan *kamias* juga merupakan nama asing dari belimbing

wuluh (Yanti dan Yulia, 2019). Tanaman belimbing wuluh umumnya tumbuh di tempat yang terpapar sinar matahari langsung dan memiliki kelembapan yang cukup, dengan ketinggian hingga 500 Meter diatas permukaan laut. Tanaman ini dapat berkembang biak dengan cara melakukan penyemaian biji atau pencakokkan (Yulianingtas dan Kusmartono, 2016). Menurut Staples dan Herbst (2005) klasifikasi dari tanaman belimbing wuluh adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Dicotyledonae
Ordo : Oxalidales
Famili : Oxalidaceae
Genus : *Averrhoa*
Spesies : *Averrhoa bilimbi* L.

2.2.2 Morfologi



Gambar 2. 3 Daun Belimbing Wuluh
(Hidjrawan, 2018)

Belimbing wuluh memiliki ciri-ciri pohon memiliki tinggi sekitar 10 meter dengan diameter pangkal batang mencapai 30 cm. batang bergelombang dan tidak rata. Pada gambar 2.3 dapat diketahui bahwa daun belimbing wuluh memiliki daun majemuk sepanjang 30-60 cm dengan 11-45 pasang anak daun. Anak daun pada tanaman belimbing wuluh bewarna

hijau berbentuk bulat telur hingga jorong dengan ujung agak runcing, bertangkai pendek, memiliki pangkal yang membulat dengan tepi daun rata. Daun belimbing wuluh memiliki Panjang 2-10 cm dan lebar 1-3 cm (Reza, 2014).



Gambar 2. 4 Buah Belimbing Wuluh
(Insan dkk, 2019)

Belimbing wuluh memiliki bunga berbentuk majemuk dengan bentuk malai (bintang), berkelompok, keluar dari batang dan memiliki warna ungu. Bunga belimbing wuluh berada pada tonjolan batang dan cabang serta menggantung. Panjang 5-20 cm, kelopak bunga berukuran lebih kurang 6 mm. daun mahkota bergandengan berjumlah 5, bentuk lanset, jumlah benang sari dan putik 5. Akar pohon tunggang dan bewarna coklat kehitaman. Pada Gambar 2.4 dapat diketahui bahwa buah belimbing wuluh berbentuk buni, bulat dengan Panjang 4-6 cm, dan memiliki warna hijau kekuningan, kulit buah memiliki permukaan licin dan sangat tipis (Kurniawaty dan Lestari, 2016).

2.2.3 Manfaat dan Kandungan Fitokimia Daun Belimbing Wuluh

Daun belimbing wuluh dimanfaatkan sebagai obat tradisional seperti anti radang, anti batuk, antipertensi, mengobati lambung, memiliki efek dapat menurunkan panas (antipiretik) dan menurunkan gula darah (hipoglikemik) serta antiinfeksi. Daun belimbing wuluh memiliki beberapa

kandungan kimia yaitu flavonoid, saponin, tannin, sulfur, asam format, kalsium oksalat dan kalsium sitrat (Insan dkk, 2019).

Beberapa penelitian juga telah melaporkan tentang aktivitas antioksidan pada daun belimbing wuluh, pada penelitian yang telah dilakukan oleh Siregar dan Gracia (2021) diketahui bahwa ekstrak daun belimbing wuluh yang diekstraksi menggunakan etanol 96% mengandung aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai IC_{50} sebesar $123,49 \pm 4,52$ ppm. Hasim dkk (2019) juga melaporkan bahwa ekstrak etanol daun belimbing wuluh dengan kadar etanol 70% memiliki nilai IC_{50} sebesar $16,99 \pm 0,12$ $\mu\text{g/ml}$.

Tanaman belimbing wuluh secara tradisional dipercaya dapat mengobati hipertensi, diabetes melitus, demam, radang poros usus, batuk, encok, dan menghilangkan jerawat (Yulianingtas dan Kusmartono, 2016). Menurut Jala dan Bila (2018) daun belimbing wuluh dapat dimanfaatkan sebagai obat sakit perut, rematik, perotitis dan dapat meredakan batu. Selain itu, daun belimbing wuluh memiliki khasiat untuk mengurangi rasa sakit atau nyeri, melancarkan pengeluaran empedu, anti radang.

2.3 Aktivitas Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa kimia yang terdiri atas *monohidroksil* atau *polihidroksil fenol*. Antioksidan berfungsi menambahkan atau menghilangkan satu elektron untuk menetralkan ROS, sehingga radikal bebas menjadi stabil dan menghambat proses oksidasi (Adriana dan Djauhari, 2019) Menurut Lung dan Destiani (2017) antioksidan adalah zat

yang dapat mencegah reaksi radikal bebas (peroksida) dalam oksidasi lipid.

Antioksidan alami didalam makanan dapat berasal dari:

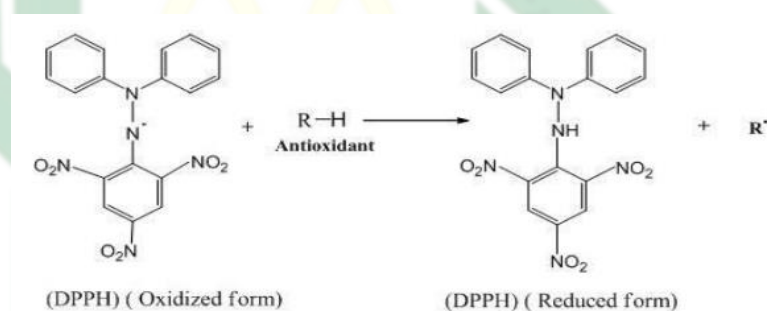
1. Senyawa antioksidan yang telah ada dari satu atau dua komponen makanan
2. Senyawa antioksidan yang terbentuk dari reaksi-reaksi selama proses pengolahan
3. Senyawa antioksidan yang dilakukan isolasi dari sumber alami dan ditambahkan sebagai bahan tambahan pangan.

Antioksidan alami pada tumbuhan pada umumnya merupakan senyawa fenolik atau polifenolik dari golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol dan asam-asam organik polifungsional (Simanjutak, 2012).

Radikal bebas merupakan suatu kelompok bahan kimia baik berupa atom maupun molekul yang mempunyai elektron tidak berpasangan pada lapisan luarnya atau kehilangan elektron, sehingga apabila radikal bebas bertemu, mereka dapat memakai elektron tidak berpasangan secara bersamaan membentuk ikatan kovalen. Molekul biologi pada dasarnya tidak memiliki sifat radikal. Akan tetapi, apabila molekul non radikal bertemu dengan radikal bebas, maka akan terbentuk suatu molekul radikal baru. Radikal bebas memiliki sifat yang tidak stabil dan selalu berusaha mengambil electron dari molekul sekitarnya, sehingga radikal bebas memiliki sifat toksik terhadap molekul biologi maupun sel. Radikal bebas dapat mengganggu produksi DNA, lapisan lipid pada dinding sel,

mempengaruhi pembuluh darah, produksi prostaglandin, dan protein lain seperti enzim yang terdapat dalam tubuh (Werddhasari, 2014).

Radikal bebas yang umumnya digunakan dalam mengukur daya penangkapan radikal bebas adalah *1,1-difenil-2-pikrihidrazil* (DPPH). DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil sehingga apabila digunakan sebagai pereaksi dalam uji penangkapan radikal bebas hanya perlu dilarutkan dan apabila ingin disimpan dalam keadaan kering dengan kondisi penyimpanan yang baik dan stabil dapat bertahan selama bertahun-tahun. Nilai absorbansi DPPH berkisar antara 515-520 nm (Tristantini dkk, 2016).



Gambar 2. 5 Reaksi antara DPPH dengan senyawa antioksidan

(Tristantini dkk, 2016)

Metode perendaman radikal bebas DPPH didasarkan pada reduksi dari larutan methanol bebas DPPH yang bewarna oleh penghambatan radikal bebas (Gambar 2.5). Ketika larutan DPPH yang bewarna ungu bertemu dengan bahan pendonor elektron maka DPPH akan tereduksi, menyebabkan warna ungu akan memudar dan digantikan warna kuning yang berasal dari gugus pikril (Tristantini dkk, 2016).

Menurut Apak dkk (2017) untuk mengukur kandungan total fenolik dan aktivitas antioksidan pada suatu sampel dapat juga menggunakan metode

Folin-Ciocalteu. Uji *Folin-Ciocalteu* ini merupakan uji yang reaksinya didasarkan pada reaksi elektron yang mengukur kapasitas reduktif antioksidan. Hasil uji *Folin-Ciocalteu* memiliki korelasi yang cukup baik dengan hasil pengukuran antioksidan dengan metode lain seperti ORAC, ABTS, dan DPPH. Reagen dari *Folin-Ciocalteu* merupakan campuran dari *phosphotungstic acid* ($H_3PW_{12}O_{40}$) dan *phosphomolybdic acid* ($H_3PMo_{12}O_{40}$) yang akan bereaksi dengan fenol dan zat pereduksi non-fenolik untuk membentuk senyawa kromogen yang menghasilkan warna biru sehingga dapat dideteksi secara spektrofotometri pada panjang gelombang sekitar 760 nm.



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Pada penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimental dengan Rancangan Acak lengkap (RAL) yang terdiri 12 perlakuan yaitu pemberian gula dengan konsentrasi 10%, 15% dan 20% dengan waktu fermentasi 0, 4, 8, 12 hari seperti yang dapat dilihat pada Tabel 3.1. Menurut Prihanti (2016) untuk menentukan pengulangan pada suatu penelitian digunakan rumus Federer yaitu $(t-1)(r-1) \geq 15$ dimana t adalah jumlah perlakuan dan r adalah jumlah pengulangan. Berikut merupakan rincian perhitungan pengulangan:

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

$$(12-1)(r-1) \geq 15$$

$$11r - 11 \geq 15$$

$$r \geq 2,36$$

Diketahui pada hasil perhitungan banyaknya pengulangan dalam penelitian ini adalah 3 kali ulangan.

Tabel 3.1 Tabel Perlakuan

Perlakuan	Ulangan		
	1	2	3
P1G1	P1G1U1	P1G1U2	P1G1U3
P1G2	P1G2U1	P1G2U2	P1G2U3
P1G3	P1G3U1	P1G3U2	P1G3U3
P2G1	P2G1U1	P2G1U2	P2G1U3
P2G2	P2G2U1	P2G2U2	P2G2U3
P2G3	P2G3U1	P2G3U2	P2G3U3
P3G1	P3G1U1	P3G1U2	P3G1U3
P3G2	P3G2U1	P3G2U2	P3G2U3
P3G3	P3G3U1	P3G3U2	P3G3U3
P4G1	P4G1U1	P4G1U2	P4G1U3
P4G2	P4G2U1	P4G2U2	P4G2U3
P4G3	P4G3U1	P4G3U2	P4G3U3

Keterangan :

P1G1 : perlakuan waktu fermentasi 0 hari dengan 10% gula

P1G2 : perlakuan waktu fermentasi 0 hari dengan 15% gula
 P1G3 : perlakuan waktu fermentasi 0 hari dengan 20% gula
 P2G1 : perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan 10% gula
 P2G2 : perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan 15% gula
 P2G3 : perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan 20% gula
 P3G1 : perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan 10% gula
 P3G2 : perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan 15% gula
 P3G3 : perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan 20% gula
 P4G1 : perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan 10% gula
 P4G2 : perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan 15% gula
 P4G3 : perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan 20% gula
 U1: Ulangan 1
 U2: Ulangan 2
 U3: Ulangan 3

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Integrasi Universitas Islam Negeri Sunan Ampel Surabaya. Waktu pelaksanaan penelitian dimulai pada bulan September 2021 hingga Agustus 2022. Berikut merupakan tabel jadwal pelaksanaan penelitian :

Tabel 3.2 Jadwal Pelaksanaan Penelitian

No	Kegiatan	Bulan											
		9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8
1.	Pembuatan Proposal	■	■	■	■	■							
2.	Seminar Proposal					■							
3.	Persiapan Alat dan Bahan						■						
4.	Pembuatan teh daun belimbing wuluh						■						
5.	Pembuatan starter kombucha						■						
6.	Proses fermentasi kombucha						■	■					
7.	Analisis uji karakteristik fisika, kimia dan senyawa antioksidan pada kombucha						■	■	■	■	■		
8.	Analisis data											■	
9.	Pembuatan draft skripsi												■
10.	Ujian skripsi												■

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah wadah kaca, karet gelang, kain bersih, pengaduk, sendok, timbangan analitik, kompor, mikropipet, pipet tetes, pipet volume, spektrofotometer,

gelas ukur, gelas beaker, Labu ukur, kamera, spidol, kertas label, oven, vortex, autoklaf, aluminium foil.

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun belimbing wuluh (*Avverhoa bilimbi* Linn) diperoleh dari rumah warga dusun Sariloyo Sambong Dukuh Jombang yang diidentifikasi dengan buku *Tropical Flowering Plants (A Guide to Identification and Cultivation)* (Llamas, 2003), teh, starter kultur kombucha yang dibeli di Puri Madu Surabaya, akuades, gula pasir, methanol, Na_2CO_3 , etanol 96%, asam galat, *Folin-ciocalteu*, DPPH, Indikator pp, NaOH.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel bebas

Variable bebas dalam penelitian ini adalah lama waktu fermentasi dan konsentrasi gula.

3.4.2 Variabel Terikat

Variable terikat dalam penelitian ini adalah karakteristik fisika teh kombucha belimbing wuluh (organoleptik aroma, warna dan rasa), karakteristik kimia (pH, total asam tertitrasi, kadar fenolik, kadar alkohol) dan aktivitas antioksidan

3.4.3 Variabel Kontrol

Variable kontrol dalam penelitian ini adalah konsentrasi kultur kombucha, suhu.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Tahap Sterilisasi Alat

Gelas kaca yang telah ditutupi dengan aluminium foil disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C pada tekanan 1 atm selama 15 menit. Gelas kaca yang telah disterilkan akan digunakan sebagai wadah dalam pembuatan kombucha daun belimbing wuluh (*Avverhoa bilimbi* Linn).

3.5.2 Tahap Identifikasi Tanaman Belimbing Wuluh

Identifikasi tanaman belimbing wuluh dilakukan dengan cara diambil bagian daun, batang, bunga dan buah pada tanaman belimbing wuluh kemudian dicocokkan dengan ciri-ciri tanaman belimbing wuluh yang berada pada buku *Tropical Flowering Plants (A Guide to Identification and Cultivation)* (Llamas, 2003).

3.5.3 Tahap Pembuatan Teh Daun Belimbing Wuluh

Melakukan pemisahan daun belimbing wuluh dengan rantingnya. Bagian daun belimbing wuluh diambil untuk pembuatan teh yaitu daun yang masih muda. Kemudian cuci daun dengan air mengalir hingga bersih. Setelah itu, daun dipotong kecil-kecil kemudian dilakukan proses pengeringan dengan cara dijemur atau dilayukan selama 30-60 menit, kemudian dilakukan pengeringan menggunakan oven pada suhu 55°C selama 120 menit kemudian didinginkan selama 5 menit.

3.5.3 Tahap Persiapan Starter Kombucha

Air sebanyak 2000 ml direbus hingga mendidih, kemudian ditambahkan gula sebanyak 200 gram (10% b/v) dari jumlah air yang digunakan. Setelah itu, ditambahkan teh 10 gram 0,5% (b/v). dilakukan penyaringan dan dituangkan pada wadah kaca yang telah steril. Tutup wadah kaca dengan alumunium foil kemudian diamankan hingga teh memiliki suhu sama dengan suhu ruang. Setelah itu, dilakukan penambahan starter kultur kombucha sebanyak 200 ml (10% b/v) kedalam seduhan teh lalu tutup wadah dengan kain bersih kemudian ikat dengan karet gelang. Perbanyak starter kultur kombucha difermentasi selama 14 hari.

3.5.4 Tahap Pembuatan Teh Kombucha Daun Belimbing Wuluh

Teh daun belimbing sebanyak 36 gram (0,5% b/v) diseduh menggunakan air mendidih sebanyak 7200 ml. Kemudian dituangkan kedalam wadah kaca masing-masing sebanyak 200 ml dan ditambahkan gula dengan konsentrasi 20 gram (10% b/v), 30 gram (15% b/v), 40 gram (20% b/v) pada masing-masing wadah. Tutup wadah kaca dengan alumunium foil kemudian diamankan hingga teh memiliki suhu sama dengan suhu ruang. Setelah itu, ditambahkan starter cair kombucha masing-masing sebanyak 20 ml lalu wadah kaca ditutup dengan kain bersih dan difermentasi selama 0, 4, 8 dan 12 hari.

3.5.5 Tahap Uji Analisis Teh Kombucha Daun Belimbing Wuluh

a. Uji Kadar Total Asam Titrasi

Pengukuran kadar total asam tertitrasi dilakukan dengan prinsip titrasi asam oleh basa. Pengujian dilakukan dengan cara dimasukkan 10 ml sampel ke dalam labu ukur 100 ml kemudian ditambahkan aquades hingga tanda batas kemudian disaring. Setelah itu diambil 10 ml filtrat dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer. Kemudian ditambahkan indikator pp 3 tetes. Setelah itu, dilakukan titrasi dengan larutan NaOH 0,1 N. Titrasi dilakukan hingga larutan sampel bewarna bening berubah menjadi merah muda. Perhitungan dilakukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Total Asam (\%)} = \frac{V_{\text{NaOH}} \times N_{\text{NaOH}} \times \text{BM} \times 100\%}{V_{\text{sampel}} \times 1000}$$

Keterangan :

V_{NaOH} : Volume NaOH yang digunakan untuk titrasi

N_{NaOH} : konsentrasi standar NaOH

V_{sampel} : Volume sampel yang digunakan untuk titrat

BM : Berat molekul asam asetat

b. Uji Kadar pH

Pengukuran pH pada sampel teh kombucha dilakukan dengan cara mengambil sekitar 100 ml larutan kombucha kemudian dimasukkan ke dalam beker gelas. Setelah itu, pH diukur menggunakan pH universal, ditunggu hingga kertas pH

berubah warna kemudian dicocokkan dengan warna standar yang tertera pada kemasan.

c. Uji Kadar Fenolik

1) Pembuatan larutan Na_2CO_3 7%

Larutan Na_2CO_3 7% dibuat dengan melarutkan 7 gram Na_2CO_3 ke dalam 100 ml aquades.

2) Pembuatan larutan standar asam galat

Larutan asam galat 1000 ppm dibuat dengan menimbang 10 mg asam galat dan dilarutkan menggunakan etanol 96% hingga volume 10 mL. dari larutan asam galat 1000 ppm dibuat 5 variasi konsentrasi yaitu 10 ppm (0,1 ml), 20 ppm (0,2 ml), 30 ppm (0,3 ml), 40 ppm (0,4 ml) dan 50 ppm (0,5 ml) yang dilarutkan dalam etanol 96% hingga volume 10 mL.

3) Pengukuran larutan standar asam galat

Variasi konsentrasi standar asam galat yang telah dibuat masing-masing diambil 1 ml dan dimasukkan kedalam tabung reaksi diberi 0,5 ml Folin-ciocalteu, kemudian didiamkan 8 menit sambil dikocok. Ditambahkan 4 ml larutan Na_2CO_3 7% lalu dihomogenkan menggunakan vortex selama 1 menit. Absorbansi dihitung dengan panjang gelombang 760 nm.

4) Pengukuran serapan sampel

Sampel diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan kedalam tabung reaksi diberi 0,5 ml Folin-ciocalteu, kemudian didiamkan 8 menit sambil dikocok. Ditambahkan 4 ml larutan Na₂CO₃ 7% lalu dihomogenkan menggunakan vortex selama 1 menit. Absorbansi dihitung dengan panjang gelombang 760 nm. Kandungan fenol dapat dihitung menggunakan persamaan regresi linier dan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{TPC} = \frac{c.v.fp}{g}$$

Keterangan :

TPC : kandungan fenolik total (mg/g GAE)

c : konsentrasi (nilai x) (ppm)

v : volume ekstrak (ml)

fp : faktor pengenceran

g : berat sampel (gram)

d. Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan pada teh kombucha daun belimbing wuluh dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (*α-diphenyl-β-picrylhydrazyl*). Pada pengujian aktivitas antioksidan ditambahkan 1,1 ml larutan DPPH (10 mg/L) dan 2 ml methanol. kemudian ditambahkan 4 ml larutan sampel kombucha dengan variasi konsentrasi 50 ppm (100 μl), 70 ppm (140 μl), 90 ppm (180 μl), 110 ppm (220 μl) yang diencerkan

dengan aquades hingga 10 ml. Setelah itu dilakukan inkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C dan diukur absorbasinya pada Panjang gelombang 516 nm.

Menurut Hamssy dkk (2017) Aktivitas antioksidan pada sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(A_0 - A_s)}{A_0} \times 100$$

Keterangan :

A_0 : Absorbansi kontrol (DPPH + Aquades)

A_s : Absorbansi sampel dan DPPH

Pengukuran absorbansi kontrol dilakukan dengan cara menambahkan 1 ml DPPH dan 4 ml aquades kemudian diukur pada Panjang gelombang 516 nm.

Penentuan IC_{50} (*Inhibition Concentration 50*) ditentukan dengan memplotkan presentase inhibisi yang diperoleh kedalam persamaan regresi $Y = ax + b$ dimana x adalah volume sampel dan y adalah nilai % inhibisi.

e. Uji Alkohol

Pengujian kadar alkohol dilakukan dengan metode Skoog (1985) dengan cara diambil larutan kombucha daun belimbing wuluh sebanyak 25 ml dan selanjutnya dinetralkan dengan NaOH 3 N. larutan ini dilanjutkan dengan proses penyulingan dengan cara destilasi dan hasilnya ditampung sebanyak 25 ml.

hasil penyulingan kemudian dimasukkan ke dalam alat piknometer 25 ml yang dilengkapi dengan termometer. Sebelum perlakuan alat piknometer dan termometer ditimbang terlebih dahulu. Piknometer dimasukkan kedalam air dingin hingga suhu mencapai 28°C. Kemudian permukaan luar piknometer dikeringkan dengan kertas tissue dan ditimbang beratnya. Perhitungan berat jenis dapat dilakukan dengan cara berikut:

$$\frac{(\text{Berat piknometer} + \text{destilat}) - \text{berat piknometer kosong}}{(\text{berat piknometer} + \text{aquades}) - \text{berat piknometer kosong}}$$

Dengan mengetahui berat jenis alkohol, kadar alkohol dapat dicari daftar spesifik gravitynya

f. Uji Organoleptik

Proses pengambilan data pada uji organoleptik dilakukan dengan menggunakan uji hedonik yang dilakukan oleh 15 panelis. Panelis terdiri dari mahasiswa UIN Sunan Ampel Surabaya baik laki-laki maupun perempuan dalam keadaan sehat dengan rentan usia 18-23 tahun. Skala hedonik yang digunakan berkisar antara 1-4 dimana angka 1 : tidak suka, angka 2 : agak suka, angka 3 : suka dan angka 4 : suka sekali.

Pengambilan data dilakukan dengan cara panelis diminta untuk mengisi kuisioner meliputi uji warna, aroma dan rasa pada kombucha daun belimbing wuluh. Sebelum pengujian dilakukan panelis diminta untuk meminum air mineral terlebih dahulu untuk menetralsir rasa. Pengujian ini dilakukan dengan menuangkan kombucha daun belimbing wuluh sebanyak 9

sampel pada wadah yang telah diberi kode untuk menandai identitas teh kombucha tersebut sesuai dengan lama fermentasi dan konsentrasi gula. Berikut merupakan rincian pemberian kode pada kombucha belimbing wuluh :

Kode A : waktu fermentasi 4 hari dan konsentrasi gula 10%

Kode B : waktu fermentasi 8 hari dan konsentrasi gula 10%

Kode C : waktu fermentasi 12 hari dan konsentrasi gula 10%

Kode D : waktu fermentasi 4 hari dan konsentrasi gula 15%

Kode E : waktu fermentasi 8 hari dan konsentrasi gula 15%

Kode F : waktu fermentasi 12 hari dan konsentrasi gula 15%

Kode G : waktu fermentasi 4 hari dan konsentrasi gula 20%

Kode H : waktu fermentasi 8 hari dan konsentrasi gula 20%

Kode I : waktu fermentasi 12 hari dan konsentrasi gula 20%

3.6 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini meliputi pH, kadar total asam tetritasi, kadar fenolik dan penilaian organoleptik dilakukan uji non parametrik *kruskal wallis*. Jika terdapat perbedaan dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Data kualitatif meliputi kadar alkohol dan aktivitas antioksidan dianalisis secara deskriptif.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Waktu Fermentasi dan Konsentrasi Gula Terhadap Karakteristik Fisika Teh Kombucha Daun Belimbing Wuluh (*Avverhoa bilimbi* Linn.)

Pada penelitian pengaruh waktu fermentasi dan konsentrasi gula pada teh kombucha daun belimbing wuluh dilakukan uji terhadap karakteristik fisika yaitu uji organoleptik. Menurut Cholidah dkk (2020) uji organoleptik dilakukan secara visual dengan melihat bentuk, warna, merasakan bau dan rasa. Pada penelitian ini uji organoleptik dilakukan pada 15 panelis yang telah diminta untuk melakukan uji kesukaan terhadap aroma, warna dan rasa teh kombucha daun belimbing wuluh (*Avverhoa bilimbi* Linn.). Pada penelitian ini skala hedonik yang digunakan adalah 1-4. Skala penilaian hedonik dapat dilihat pada tabel 4.1. Uji hedonik dilakukan untuk mengetahui apakah produk teh kombucha daun belimbing wuluh dapat diterima atau tidak oleh masyarakat sebagai minuman (Nainggolan, 2009). Uji organoleptik meliputi aroma, warna dan rasa dapat dilihat pada tabel 4.2

Tabel 4.1 skala hedonik uji organoleptik

Skala Hedonik	Keterangan
1	Tidak suka
2	Agak suka
3	Suka
4	Suka sekali

Tabel 4.2 Hasil Penelitian Karakteristik Fisika

Perlakuan	Uji Organoleptik (Rata-rata \pm Standar Deviasi)		
	Aroma	Warna	Rasa
A	1,87 \pm 0,834	2,47 \pm 0,834	2,33 \pm 0,816
B	2 \pm 0,926	2,73 \pm 1,033	1,60 \pm 0,828
C	2,47 \pm 0,743	2,73 \pm 0,704	2,20 \pm 0,676
D	2,20 \pm 1,014	2,67 \pm 0,976	3,07 \pm 1,033
E	2,13 \pm 0,915	2,87 \pm 1,125	2,60 \pm 1,056
F	2,27 \pm 0,884	2,60 \pm 0,986	1,60 \pm 0,632
G	2,27 \pm 1,100	2,60 \pm 0,986	3,13 \pm 0,990
H	2,33 \pm 0,900	2,67 \pm 0,976	3,00 \pm 1,00
I	2,27 \pm 0,884	2,67 \pm 0,976	2,93 \pm 0,884

Keterangan :

A : perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan 10% gula

B : perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan 15% gula

C : perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan 20% gula

D : perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan 10% gula

E : perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan 15% gula

F : perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan 20% gula

G : perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan 10% gula

H : perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan 15% gula

I : perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan 20% gula

Pada tabel 4.1 diketahui bahwa waktu fermentasi dan konsentrasi gula berpengaruh terhadap karakteristik fisika teh kombucha daun belimbing wuluh (*Avverhoa bilimbi* Linn.). Pada uji organoleptik teh kombucha belimbing wuluh diketahui perlakuan yang paling banyak disukai dari berbagai aspek aroma, warna dan rasa adalah sampel kombucha dengan kode G (Perlakuan fermentasi 12 hari dengan 10% gula). Lebih lanjut mengenai hasil uji organoleptik teh kombucha daun belimbing wuluh ialah sebagai berikut :

4.3.1. Aroma

Aroma adalah bau dan rasa subjektif dan sulit diukur. Setiap orang memiliki tingkat kepekaan dan prefensi yang berbeda-beda. Gas molekuler dapat merangsang bau sensitif di rongga hidung. Sehingga aroma akan terasa ketika gas telah melewati ujung-ujung olfaktorius (Indarto dkk, 2020). Teh kombucha daun belimbing wuluh memiliki aroma kuat dan menyengat. Menurut Mahadi dkk (2016) konsentrasi

gula yang ditambahkan dalam kombucha juga dapat berpengaruh terhadap aroma yang ditimbulkan dikarenakan khamir dan bakteri melakukan metabolisme terhadap sukrosa dan menghasilkan sejumlah asam organik seperti asam asetat, asam glukoronat dan asam glukonat. Aroma asam selama waktu fermentasi yang terbentuk akibat fermentasi alkohol dan asam asetat menyebabkan terbentuknya senyawa volatil yang dapat dicium oleh indra penciuman manusia. Aroma yang ditimbulkan tersebut dapat merangsang sensasi sehingga timbul keinginan untuk mencoba dan merasakan produk tersebut (Cahyaningtyas, 2018; Nurhidayah, 2018). Penilaian terhadap suatu makanan dan minuman tidak terlepas dari fungsi indra pembau. Pada umumnya bau yang diterima oleh hidung dan otak lebih banyak yaitu berbagai ramuan atau campuran empat bau utama meliputi harum, asam, tengik, dan hangus (Nur dkk, 2018). Data hasil rata-rata nilai hedonik aroma dapat dilihat pada tabel 4.3

4.3 Hasil Uji Hedonik Aroma

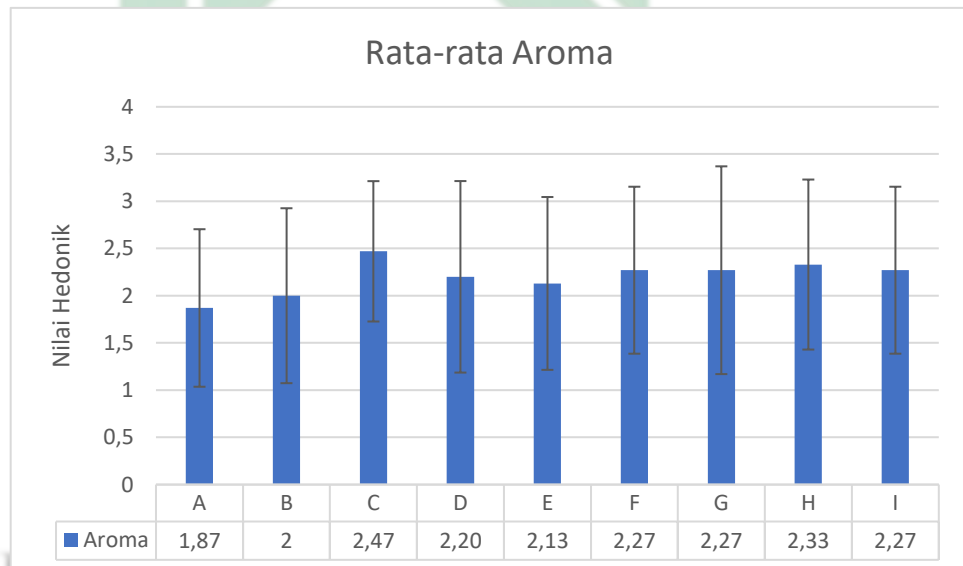
Perlakuan	Rata-Rata aroma ± Standar Deviasi	Nilai Uji Kruskal Wallis ($\alpha = 0,05$)
A	1,87±0,834	0,789
B	2±0,926	
C	2,47±0,743	
D	2,20±1,014	
E	2,13±0,915	
F	2,27±0,884	
G	2,27±1,100	
H	2,33±0,900	
I	2,27±0,884	

Keterangan :

- A : perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan 10% gula
- B : perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan 15% gula
- C : perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan 20% gula
- D : perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan 10% gula
- E : perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan 15% gula
- F : perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan 20% gula
- G : perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan 10% gula
- H : perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan 15% gula

I : perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan 20% gula

Data hasil uji hedonik aroma dilakukan uji statistik spss (Lampiran 4). Data uji hedonik aroma diketahui tidak terdistribusi normal dikarenakan terdapat data yang memiliki nilai signifikansi < 0,05. Karena uji normalitas memiliki nilai *p value* kurang dari 0,05 maka uji statistik dilakukan menggunakan uji *kruskal wallis*. Hasil uji *kruskal wallis* memiliki nilai *Asymp. Sig.* sebesar 0,789 yang berarti tidak terdapat perbedaan aroma teh kombucha daun belimbing wuluh.



Gambar 4.1 Grafik rata-rata uji hedonik aroma

Perbedaan hasil rata-rata pada uji hedonik aroma meskipun tidak signifikan. Namun, apabila dilihat pada gambar 4.1 terlihat terdapat perbedaan pada perlakuan variasi waktu fermentasi dan konsentrasi gula yang berbeda.

Pada Gambar 4.1 diketahui bahwa nilai hedonik aspek aroma teh kombucha daun belimbing wuluh tertinggi yaitu pada sampel kombucha dengan kode C (waktu fermentasi 4 hari dan konsentrasi

gula 20%) sebesar 2,47. Nilai hedonik terendah yaitu pada sampel kombucha dengan kode A (waktu fermentasi 4 hari dan konsentrasi gula 10%) sebesar 1,87. Jika diterapkan dalam sistem pembulatan teh kombucha dengan berbagai perlakuan memiliki nilai hedonik yang sama yaitu 2 dimana rata-rata panelis agak suka dengan aroma kombucha daun belimbing wuluh. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Cahyaningtyas (2018) bahwa pada teh kombucha serai dari setiap perlakuan waktu fermentasi 4, 8, 12 dan 18 hari memiliki bau seperti air lemon bercampur dengan asam dan sedikit alkohol sehingga memiliki nilai hedonik aroma yaitu 3 dari skala nilai hedonik 1-5 dimana aroma tersebut adalah aroma standar bau kombucha.

Pada gambar 4.1 juga diketahui bahwa semakin besar konsentrasi gula maka nilai hedonik aroma pada teh kombucha semakin tinggi. Menurut Simanjutak dan Natalina (2011) semakin tinggi konsentrasi gula maka nilai organoleptik aroma semakin meningkat hal ini disebabkan senyawa karbohidrat yang berasal dari gula mengalami perubahan selama proses fermentasi berlangsung terpecah-pecah menjadi senyawa asam. Sedangkan pada daun teh terdapat enzim-enzim yang berperan dalam mengoksidasi katekin dalam daun dengan bantuan asam. Hasil oksidasi pada larutan asam tersebut akan memperkaya aroma teh kombucha. Akan tetapi, semakin lama waktu fermentasi membuat nilai hedonik aroma pada teh kombucha daun belimbing wuluh semakin menurun pada hari ke-12 fermentasi setelah

mengalami kenaikan nilai hedonik aroma hingga fermentasi hari ke-8. Hal ini sebanding dengan penelitian Kuncoro (2019) tentang pengaruh waktu fermentasi terhadap teh kombucha ginseng jawa diketahui nilai hedonik aroma mencapai titik optimum pada lama fermentasi 8 hari dengan nilai hedonik sebesar 3,7 dan pada fermentasi hari ke 12 mengalami penurunan dengan nilai hedonik aroma sebesar 3,61.

4.3.2. Warna

Warna merupakan salah satu faktor penerimaan konsumen dalam suatu produk. Warna merupakan kesan pertama karena menggunakan indera penglihatan (Rosita dkk, 2021).Warna yang menarik dapat mempengaruhi panelis atau konsumen dalam mencicipi produk yang akan diuji, penampilan makanan juga menjadi nilai hedonik bagi panelis. Data hasil rata-rata nilai hedonik warna dapat dilihat pada tabel 4.3

4.4 Hasil Uji Hedonik Warna

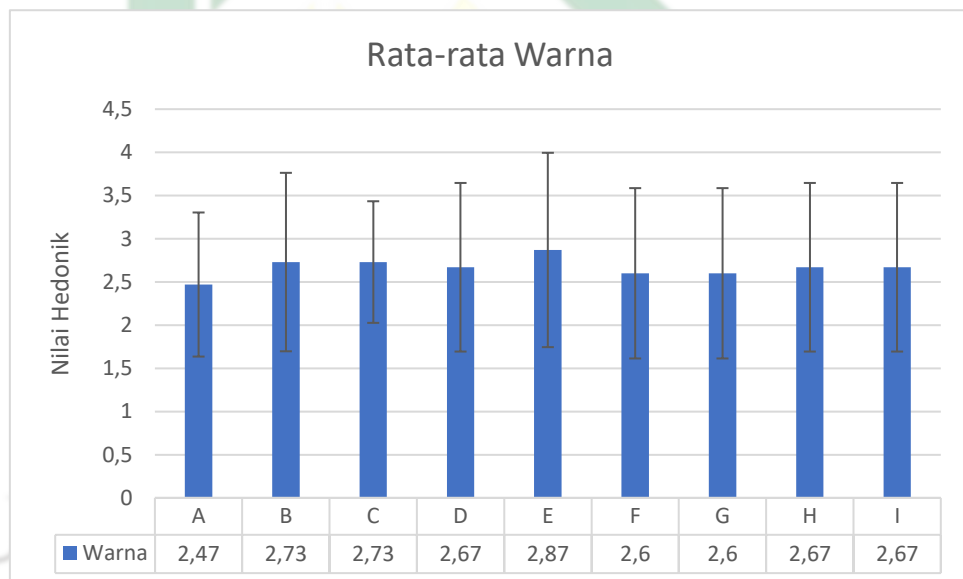
Perlakuan	Rata-Rata warna \pm Standar Deviasi	Nilai Uji Kruskal Wallis ($\alpha = 0,05$)
A	2,47 \pm 0,834	0,884
B	2,73 \pm 1,033	
C	2,73 \pm 0,704	
D	2,67 \pm 0,976	
E	2,87 \pm 1,125	
F	2,60 \pm 0,986	
G	2,60 \pm 0,986	
H	2,67 \pm 0,976	
I	2,67 \pm 0,976	

Keterangan :

- A : perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan 10% gula
- B : perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan 15% gula
- C : perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan 20% gula
- D : perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan 10% gula
- E : perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan 15% gula
- F : perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan 20% gula
- G : perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan 10% gula
- H : perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan 15% gula

I : perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan 20% gula
Nilai $\alpha < 0,05$ = terdapat perbedaan nilai signifikansi *Kruskal wallis*

Data hasil uji hedonik warna dilakukan uji statistik menggunakan spss (Lampiran 4). data hasil uji hedonik warna dinyatakan tidak terdistribusi normal dikarenakan terdapat data yang memiliki nilai signifikansi $< 0,05$. Sehingga uji statistik dilanjutkan dengan uji *kruskal wallis*. Hasil uji *kruskal wallis* memiliki nilai *Asymp. Sig* sebesar 0,844 yang berarti tidak terdapat perbedaan warna teh kombucha daun belimbing wuluh karena *p value* $> 0,05$.



Gambar 4.2 Grafik rata-rata uji hedonik warna

Perbedaan hasil rata-rata pada uji hedonik warna meskipun tidak signifikan. Namun, apabila dilihat pada gambar 4.2 terlihat terdapat perbedaan pada perlakuan variasi waktu fermentasi dan konsentrasi gula yang berbeda. Warna pada kombucha daun belimbing wuluh sebelum dilakukan fermentasi diketahui memiliki warna kuning kecoklatan namun seiring dengan bertambahnya waktu fermentasi

warna kombucha semakin memudar menjadi warna kuning cerah dan jernih. Hal ini terjadi diduga karena proses fermentasi mulai berlangsung sehingga terjadi proses-proses kimia yang menyebabkan warna dari teh kombucha daun belimbing wuluh. Menurut pratiwi dkk (2015) pemudaran warna pada teh kombucha disebabkan adanya perubahan pH menjadi asam sehingga semakin lama fermentasi mengakibatkan penguraian komponen-komponen dalam larutan seperti senyawa fenol yaitu tanin yang mengalami kerusakan karena adanya asam sehingga kepekatannya berkurang. Perubahan warna teh kombucha dari kuning kecoklatan menjadi kuning cerah dikarenakan kemampuan mikroba dalam melakukan degradasi warna. Pendegradasian warna terjadi karena mikroba pada teh kombucha daun belimbing wuluh memanfaatkan *total soluble solid* sebagai energi sehingga secara bertahap pelarut dalam media akan habis dan cairan menjadi sangat bening dan tak bewarna (Puspitasari dkk, 2017).

Pada gambar 4.2 diketahui bahwa semakin besar konsentrasi gula pada kombucha daun belimbing wuluh menyebabkan nilai hedonik warna mengalami kenaikan nilai hedonik pada konsentrasi gula 15% kemudian pada konsentrasi gula yang cukup tinggi yaitu 20% nilai hedonik warna mengalami penurunan. semakin lama waktu fermentasi kombucha daun belimbing wuluh mengalami peningkatan akan tetapi ketika mencapai nilai optimum nilai hedonik akan turun. Hal ini sebanding dengan pernyataan Febriella dkk (2021) diketahui kombucha yang memiliki nilai optimum pada fermentasi 6 hari

dengan nilai hedonik sebesar 3,24 dan mengalami penurunan pada hari ke 9 dengan nilai hedonik sebesar 2,46.

Pada gambar 4.2 juga diketahui bahwa warna yang paling disukai panelis adalah pada sampel kombucha dengan kode E (waktu fermentasi 8 hari dan konsentrasi gula 15%) sebesar 2,87. Nilai hedonik warna terendah yaitu sampel kombucha dengan kode A (waktu fermentasi 4 hari dan konsentrasi gula 10%). Sampel kombucha dengan kode E (fermentasi 8 hari dengan konsentrasi gula 15%) memiliki warna kuning yang tidak terlalu pekat dan jernih. Sehingga dapat disimpulkan bahwa panelis dalam pengujian hedonik warna kombucha teh belimbing wuluh lebih menyukai teh kombucha dengan warna yang tidak terlalu pekat dan jernih. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Cahyaningtyas (2018) tentang pengaruh waktu fermentasi terhadap kombucha serai diketahui bahwa uji nilai hedonik warna tertinggi oleh panelis adalah produk A dengan lama fermentasi 4 hari sebesar 4,8 yang memiliki warna keemasan. Pada penelitian Kurmiawan dkk (2017) tentang pengaruh penambahan gula dan starter terhadap karakteristik minuman teh kombucha daun gambir (*Uncaria gambir* Roxb) diketahui bahwa konsentrasi gula berbeda tidak nyata. Namun, diketahui bahwa semakin besar penambahan gula semakin menurun nilai hedoniknya.

4.3.3. Rasa

Senyawa yang terdapat pada rasa makanan atau minuman merupakan senyawa kimia yang dapat mempengaruhi indra tubuh seperti indra perasa (lidah). Lidah dapat mengenali rasa karena memiliki kuncup pengecap. Rambut mikroskopis sensitif atau mikrofil yang terdapat pada kuncup pengecap terdiri dari saraf sensoris yang menyampaikan pesan ke otak mengenai berbagai rasa seperti manis, asin, asam dan pahit (Indarto dkk, 2020). Data hasil rata-rata nilai hedonik warna dapat dilihat pada tabel 4.4

4.5 Hasil Uji Hedonik Rasa

Perlakuan	Rata-Rata Rasa±Standar Deviasi	Nilai Uji Kruskal Wallis ($\alpha = 0,05$)
A	2,33±0,816	0,0001
B	1,60±0,828	
C	2,20±0,676	
D	3,07±1,033	
E	2,60±1,056	
F	1,60±0,632	
G	3,13±0,990	
H	3,00±1,00	
I	2,93±0,884	

Keterangan :

A : perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan 10% gula

B : perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan 15% gula

C : perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan 20% gula

D : perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan 10% gula

E : perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan 15% gula

F : perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan 20% gula

G : perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan 10% gula

H : perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan 15% gula

I : perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan 20% gula

Data hasil uji hedonik rasa pada teh kombucha daun belimbing wuluh dilakukan uji statistik (Lampiran 4). Pada uji normalitas diketahui terdapat beberapa data yang memiliki nilai signifikansi $<0,05$ sehingga dapat dikatakan bahwa data tersebut tidak terdistribusi normal. Sehingga dilanjutkan dengan uji kruskal wallis karena *p value*

kurang dari taraf signifikansi ($\alpha=0,05$). Hasil uji kruskal wallis memiliki nilai *Asymp. Sig.* sebesar 0,0001 yang berarti terdapat perbedaan rasa pada teh kombucha daun belimbing wuluh karena *p value* < 0,05. Sehingga uji statistik dapat dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

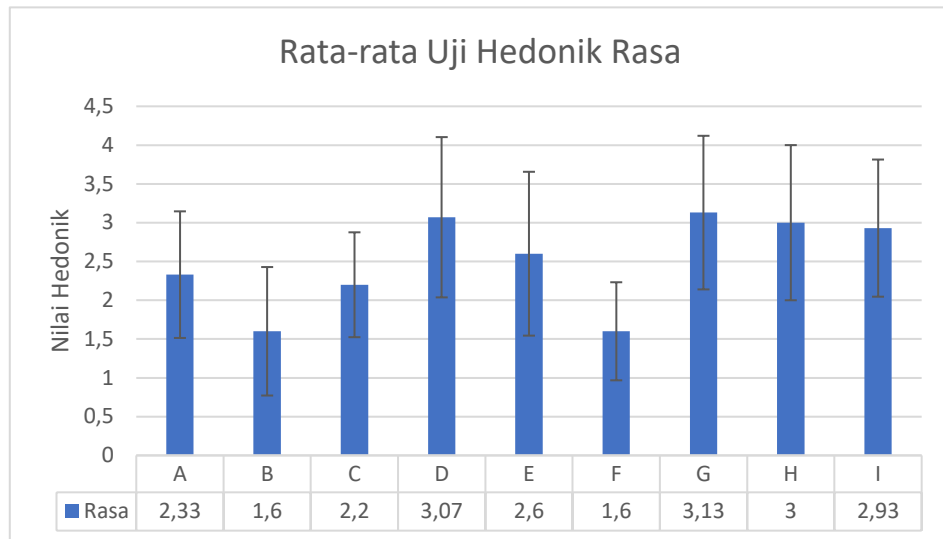
Hasil uji *Mann-Whitney* (Tabel 4.5) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan terhadap perlakuan waktu fermentasi dan konsentrasi gula pada teh kombucha daun belimbing wuluh.

Tabel 4.6 Hasil uji *Mann-Whitney* uji hedonik rasa

Perlakuan	A	B	C	D	E	F	G	H	I
A		0,021*	0,683	0,027*	0,396	0,013*	0,023*	0,037*	0,085*
B			0,34	0,001*	0,01*	0,782	0,0001*	0,001*	0,001*
C				0,009*	0,212	0,021*	0,008*	0,011*	0,031*
D					0,190	0,0001*	0,860	0,789	0,555
E						0,008*	0,153	0,263	0,436
F							0,0001*	0,0001*	0,001*
G								0,675	0,412
H									0,694
I									

Keterangan : A = 4 hari + 10% gula, B = 4 hari + 15% gula, C = 4 hari + 20% gula, D = 8 hari + 10%, E = 8 hari + 15%, F = 8 hari + 15%, G = 12 hari + 10% gula, H = 12 hari + 15%, I = 12 hari + 20%. *= perbedaan signifikasi pada uji Mann-Whitney (*p value* < 0,05)

Berdasarkan tabel 4.5 diketahui bahwa perlakuan A berbeda signifikan dengan perlakuan B, D, E, F, G, H dan I. Perlakuan B berbeda signifikan dengan perlakuan D, E, G, H dan I. Perlakuan C berbeda signifikan dengan perlakuan D, F, G, H dan I. Perlakuan D berbeda signifikan dengan perlakuan F. Perlakuan E berbeda signifikan dengan perlakuan F. Perlakuan F berbeda signifikan dengan perlakuan G, H dan I.



Gambar 4.3 Grafik rata-rata uji hedonik rasa

Pada gambar 4.3 diketahui nilai hedonik rasa tertinggi pada perlakuan G (waktu fermentasi 12 hari dengan konsentrasi gula 20%) sebesar 3,13 sedangkan nilai hedonik terendah pada perlakuan B (waktu fermentasi 4 hari dan konsentrasi gula 15%) dan F (waktu fermentasi 8 hari dan konsentrasi gula 20%) sebesar 1,6. pada perlakuan B agak disukai disebabkan karena rasa yang dihasilkan pada fermentasi selama 4 hari cenderung manis. Sedangkan pada perlakuan F cenderung memiliki rasa sangat asam dan alkohol sehingga kurang disukai oleh banyak panelis. Perlakuan G banyak disukai karena memiliki karakteristik rasa asam sedikit manis dan sedikit rasa alkohol. Sehingga memiliki rasa yang seimbang antara asam dan manis. Hal ini sesuai dengan penelitian Nainggolan (2009) bahwa interaksi antara kadar gula dan lama fermentasi terdapat perbedaan. Diketahui nilai yang paling disukai terdapat pada perlakuan K2L3 (waktu fermentasi 10 hari dan konsentrasi gula 10%)

sebesar 2,91 dan yang paling tidak disukai pada perlakuan K1L3 (waktu fermentasi 10 hari dan konsentrasi gula 8%) dengan nilai sebesar 2,13. Perbedaan tersebut dikarenakan semakin tinggi kadar gula membuat mikroba belum sepenuhnya merobak gula yang terkandung pada kombucha. Namun nilai hedonik rasa akan mengalami penurunan seiring dengan lama waktu fermentasi. Hal tersebut terjadi dikarenakan pada larutan kombucha terjadi peningkatan total asam serta kadar gula dan alkoholnya berkurang. Proses fermentasi yang terjadi akan meningkatkan rasa asam yang terdapat pada teh kombucha. Hal ini sesuai dengan pendapat Siregar dkk (2019) bahwa perubahan rasa dipengaruhi proses fermentasi dimana semakin tinggi konsentrasi gula menyebabkan rasa asam terutama rasa asam asetat semakin mengalami peningkatan. Semakin lama waktu fermentasi maka asam asetat yang dihasilkan juga akan semakin banyak. Sukrosa pada teh kombucha daun belimbing wuluh selain berperan sebagai sumber karbon dan energi juga merupakan sumber rasa manis pada minuman tersebut (Cahyaningtyas, 2018).

4.2 Pengaruh Waktu Fermentasi dan Konsentrasi Gula Terhadap Karakteristik Kimia Teh Kombucha Daun Belimbing Wuluh (*Avverhoa bilimbi* Linn.)

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh waktu fermentasi dan konsentrasi gula terhadap karakteristik kimia teh kombucha daun belimbing wuluh (*Avverhoa bilimbi* L.). teh kombucha yang telah dibuat dengan 3 variasi konsentrasi gula yaitu 10%, 15% dan 20% dan dilakukan

pengamatan parameter kimia meliputi kadar total asam tertitrasi, fenolik, pH, alkohol selama masa fermentasi yaitu 0 hari, 4 hari, 8 hari dan 12 hari. Karakteristik kimia meliputi kadar total asam tertitrasi, fenolik, pH, alkohol dan aktivitas antioksidan dapat dilihat pada tabel 4.7

Tabel 4.7 Hasil Penelitian Karakteristik Kimia Teh Kombucha

Perlakuan	pH±Standar Deviasi	Kadar Tat (%) ±Standar Deviasi	Kadar Fenolik (mg/ml GAE) ±Standar Deviasi	Alkohol (%)
P1G1	6	0,0081±0,0014	58,67±2,663	0,11
P1G2	6	0,014±0,0014	68,27±3,601	0,13
P1G3	6	0,013±0,0014	70,6±3,340	0,12
P2G1	4	0,018±0,025	61±4,52106	0,21
P2G2	3	0,016±0,14	61,6±2,227	0,30
P2G3	5	0,011±0,14	60,6±2,3065	0,38
P3G1	3	0,05±0,025	92,53±1,363	0,82
P3G2	2	0,074±0,005	91,87±8,105	0,98
P3G3	3,3±0,557	0,018±0,004	68,2±5,7166	1,10
P4G1	3	0,11±0,07	87,33±1,140	0,41
P4G2	2	0,12±0,0038	85,2±6,593	0,43
P4G3	3	0,038±0,014	82,27±1,311	0,46

Keterangan :

P1G1 : perlakuan waktu fermentasi 0 hari dengan 10% gula
P1G2 : perlakuan waktu fermentasi 0 hari dengan 15% gula
P1G3 : perlakuan waktu fermentasi 0 hari dengan 20% gula
P2G1 : perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan 10% gula
P2G2 : perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan 15% gula
P2G3 : perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan 20% gula
P3G1 : perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan 10% gula
P3G2 : perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan 15% gula
P3G3 : perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan 20% gula
P4G1 : perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan 10% gula
P4G2 : perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan 15% gula
P4G3 : perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan 20% gula

Pada tabel 4.7 diketahui bahwa waktu fermentasi dan konsentrasi gula berpengaruh terhadap karakteristik kimia teh kombucha daun belimbing wuluh. Berdasarkan karakteristik kimia teh kombucha yang memiliki karakteristik paling bagus yaitu pada perlakuan P4G1 (perlakuan waktu fermentasi 12 hari dan konsentrasi gula 10%) Lebih lanjut mengenai karakteristik kimia sebagai berikut:

4.1.1. Hasil Uji pH

pH atau derajat keasaman digunakan untuk menyatakan tingkat keasaman atau basa yang dimiliki oleh suatu zat, larutan atau benda. pH normal memiliki nilai 7 sementara bila nilai < 7 menunjukkan zat tersebut bersifat asam (Anggelia, 2017). Pengukuran pH pada penelitian ini menggunakan pH universal. Data hasil rata-rata pengukuran nilai pH dapat dilihat pada tabel 4.8

Tabel 4.8 Hasil Pengukuran pH

Perlakuan	pH	Nilai Uji Kruskal Wallis ($\alpha = 0,05$)
P1G1	6	0,0001
P1G2	6	
P1G3	6	
P2G1	4	
P2G2	3	
P2G3	5	
P3G1	3	
P3G2	2	
P3G3	3,3±0,557	
P4G1	3	
P4G2	2	
P4G3	3	

Keterangan :

P1G1 : perlakuan waktu fermentasi 0 hari dengan 10% gula
P1G2 : perlakuan waktu fermentasi 0 hari dengan 15% gula
P1G3 : perlakuan waktu fermentasi 0 hari dengan 20% gula
P2G1 : perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan 10% gula
P2G2 : perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan 15% gula
P2G3 : perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan 20% gula
P3G1 : perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan 10% gula
P3G2 : perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan 15% gula
P3G3 : perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan 20% gula
P4G1 : perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan 10% gula
P4G2 : perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan 15% gula
P4G3 : perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan 20% gula

Data hasil pengukuran pH dilakukan uji statistik spss (Lampiran 4).

Diketahui uji normalitas pada pengukuran pH teh kombucha daun belimbing wuluh memiliki nilai signifikansi $< 0,05$ sehingga dapat dinyatakan data pengukuran pH teh kombucha daun belimbing wuluh tidak terdistribusi normal. Karena *p value* kurang dari taraf signifikansi

($\alpha = 0,05$) sehingga uji statistik dilakukan menggunakan uji *kruskal wallis*. Hasil uji *kruskal wallis* memiliki nilai *Asymp. Sig.* $< 0,05$ diketahui bahwa terdapat perbedaan nilai pH pada teh kombucha belimbing wuluh karena *p value* $< 0,05$. Sehingga uji dapat dilanjutkan dengan *Mann Whitney*.

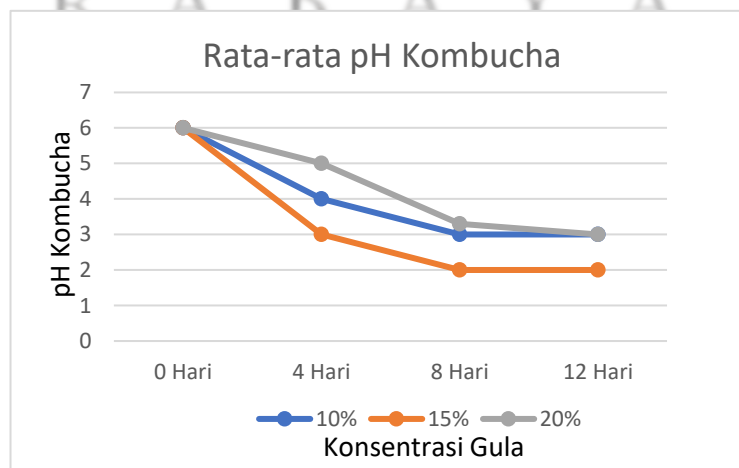
Hasil uji *Mann Whitney* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nilai pH pada teh kombucha daun belimbing wuluh pada beberapa perlakuan yang ditandai dengan nilai *Asymp. Sig.* $< 0,05$ yang dapat dilihat pada tabel 4.8.

4.9 Hasil Uji *Mann Whitney*

Perlakuan	P1 G1	P1 G2	P1 G3	P2 G1	P2 G2	P2 G3	P3 G1	P3 G2	P3 G3	P4 G1	P4 G2	P4 G3
P1G1		1,00	1,00	0,02 5*	0,02 5*	0,02 5*	0,02 5*	0,02 5*	0,03 4*	0,02 5*	0,02 5*	0,02 5*
P1G2			1,00	0,02 5*	0,02 5*	0,02 5*	0,02 5*	0,02 5*	0,03 4*	0,02 5*	0,02 5*	0,02 5*
P1G3				0,02 5*	0,02 5*	0,02 5*	0,02 5*	0,02 5*	0,03 4*	0,02 5*	0,02 5*	0,02 5*
P2G1					0,02 5*	0,02 5*	0,02 5*	0,02 5*	0,11 4	0,02 5*	0,02 5*	0,02 5*
P2G2						0,02 5*	1,00	0,02 5*	0,31 7	1,00	0,02 5*	0,00 01*
P2G3							0,02 5*	0,02 5*	0,03 4*	0,02 5*	0,02 5*	0,02 5*
P3G1								0,02 5*	0,31 7	1,00	0,02 5*	1,00
P3G2									0,03 4*	0,02 5*	1,00	0,02 5*
P3G3										0,31 7	0,03 4*	0,31 7
P4G1											0,02 5*	0,00 01*
P4G2												0,02 5*
P4G3												

Keterangan : P1G1= fermentasi 0 hari + 10% gula, P1G2= fermentasi 0 hari + 15% gula, P1G3= fermentasi 0 hari + 20% gula, P2G1= fermentasi 4 hari + 10% gula, P2G2 = fermentasi 4 hari + 15% gula, P2G3 = fermentasi 4 hari + 20% gula, P3G1 = fermentasi 8 hari + 10%, P3G1 = fermentasi 8 hari + 15%, P3G2 = fermentasi 8 hari + 15%, P3G3 = fermentasi 12 hari + 10% gula, P4G1 = fermentasi 12 hari + 15%, P4G2 = fermentasi 12 hari + 20%. *= perbedaan signifikasi pada uji *Mann-Whitney* (*p value* $< 0,05$)

Berdasarkan tabel 4.9 diketahui bahwa perlakuan P1G1 berbeda signifikan dengan perlakuan P2G1, P2G2, P2G3, P3G1, P3G2, P4G1, P4G2, P4G3 (P= 0,025) dan P3G3 (P= 0,034). Perlakuan P1G2 berbeda signifikan dengan perlakuan P2G1, P2G2, P2G3, P3G1, P3G2, P4G1, P4G2, P4G3 (P= 0,025) dan P3G3 (P= 0,034). Perlakuan P1G3 berbeda signifikan dengan perlakuan P2G1, P2G2, P2G3, P3G1, P3G2, P4G1, P4G2, P4G3 (P= 0,025) dan P3G3 (P=0,034). Perlakuan P2G1 berbeda signifikan dengan perlakuan P2G2, P2G3, P3G1, P3G2, P4G1, P4G2, DAN P4G2. Perlakuan P2G2 berbeda signifikan dengan perlakuan P2G3, P3G2, P4G2, dan P4G3. Perlakuan P2G3 berbeda signifikan dengan perlakuan P3G1, P3G2, P3G3, P4G1, P4G2, dan P4G3. Perlakuan P3G1 berbeda signifikan dengan perlakuan P3G2 dan P4G2. Perlakuan P3G2 berbeda signifikan dengan perlakuan P3G3, P4G1, P4G3. Perlakuan P3G3 berbeda signifikan dengan perlakuan P4G2. Perlakuan P4G1 berbeda signifikan dengan perlakuan P4G2 dan P4G3. Perlakuan P4G2 berbeda signifikan dengan perlakuan P4G3.



4.4 Grafik rata-rata nilai pH kombucha

Menurut Naland (2008) nilai pH kombucha yang dapat diterima dan aman dikonsumsi yaitu antara 3-5,5. Jika kombucha memiliki pH dibawah nilai tersebut maka perlu diencerkan terlebih dahulu. Pada Gambar 4.4 diketahui bahwa terjadi penurunan pH selama waktu fermentasi berlangsung hal ini juga menunjukkan bahwa nilai asam pada teh kombucha semakin meningkat. Diketahui Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Pratiwi dkk (2012) mengenai pembuatan kombucha dari rumput laut *Sargassum sp* penurunan nilai pH. Diketahui angka pH pada hari ke nol berangsur-angsur menurun pada hari ke-4, 8, 12 dan 16. Menurut Hassmy dkk (2017) peningkatan nilai asam kombucha dikarenakan selama proses fermentasi khamir dan bakteri *Acetobacter xylinum* yang terdapat di starter atau jamur kombucha melakukan metabolisme terhadap sukrosa atau gula dalam larutan seduhan teh dan menghasilkan sejumlah asam-asam organik, tingginya kadar gula dalam larutan teh menyebabkan peningkatan aktivitas mikroorganisme dan asam organik. Semakin tinggi asam organik yang terdapat dalam kombucha maka total asam yang dihasilkan semakin tinggi sehingga menurunkan pH pada larutan teh.

Pada Gambar 4.4 juga diketahui bahwa penambahan gula (sukrosa) yang berbeda pada teh kombucha daun belimbing wuluh yaitu 10% dan 15% menyebabkan pH semakin menurun. Namun pada teh kombucha dengan konsentrasi 20% penurunan pH terjadi cukup lambat. Penurunan nilai pH yang terjadi pada konsentrasi gula 10%

15% sebanding dengan penelitian Napitupulu dkk (2015) tentang pengaruh variasi konsentrasi gula sukrosa dan lama fermentasi terhadap kopi kombucha diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi gula dan semakin lama fermentasi maka pH semakin menurun. Penurunan pH yang terhambat pada konsentrasi gula 20% mungkin disebabkan karena konsentrasi gula yang tinggi mengakibatkan penurunan produksi selulosa bakteri sehingga menghambat proses pembentukan sejumlah asam organik (Goh dkk,2012).

4.1.2. Hasil Uji Kadar Total Asam Titrasi

Pengukuran Total asam titrasi (Tat) merupakan penentuan konsentrasi total asam. Total asam titrasi memiliki hubungan dengan pengukuran total asam yang terkandung dalam makanan. Tat merupakan penduga pengaruh keasaman terhadap rasa dan aroma yang lebih baik dibandingkan pH. Nilai Tat meliputi pengukuran total asam yang terdisosiasi dan tidak terdisosiasi, sedangkan pH hanya mengukur total asam dalam kondisi terdisosiasi (Anggelia, 2017).

Pada penelitian ini pengukuran kadar total asam titrasi menggunakan titrasi asam dan basa dengan melihat perubahan warna dari larutan kombucha tidak berwarna (bening) menjadi merah muda ketika dititrasi menggunakan basa kuat dengan menambahkan indikator fenolftalein. Fenolftalein merupakan senyawa asam lemah yang memiliki gugus fenol. Fenolftalein salah satu indikator yang umum digunakan dalam menentukan titik akhir titrasi asam kuat dengan basa kuat. Fenolftalein mempunyai trayek pH 8,3-10,0 dengan

perubahan warna dari tak bewarna ke merah Hudaya (2016). Data hasil rata-rata pengukuran kadar tat dapat dilihat pada tabel 4.10

Tabel 4.10 Hasil rata-rata Kadar Tat

Perlakuan	Kadar Tat (%) ±Standar Deviasi	Nilai Uji Kruskal Wallis
P1G1	0,0081±0,0014	0,001
P1G2	0,014±0,0014	
P1G3	0,013±0,0014	
P2G1	0,018±0,025	
P2G2	0,016±0,14	
P2G3	0,011±0,14	
P3G1	0,05±0,025	
P3G2	0,074±0,005	
P3G3	0,018±0,004	
P4G1	0,11±0,07	
P4G2	0,12±0,0038	
P4G3	0,038±0,014	

Keterangan :

P1G1 : perlakuan waktu fermentasi 0 hari dengan 10% gula

P1G2 : perlakuan waktu fermentasi 0 hari dengan 15% gula

P1G3 : perlakuan waktu fermentasi 0 hari dengan 20% gula

P2G1 : perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan 10% gula

P2G2 : perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan 15% gula

P2G3 : perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan 20% gula

P3G1 : perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan 10% gula

P3G2 : perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan 15% gula

P3G3 : perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan 20% gula

P4G1 : perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan 10% gula

P4G2 : perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan 15% gula

P4G3 : perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan 20% gula

Nilai $\alpha < 0,05$ = terdapat perbedaan nilai signifikansi *Kruskal wallis*

Data hasil uji kadar tat dilakukan uji statistik spss (Lampiran 4).

Diketahui pada uji normalitas kadar tat teh kombucha daun belimbing wuluh terdapat data yang memiliki nilai sig > 0,05 dan pada uji homogenitas nilai sig > 0,05 sehingga dapat dinyatakan bahwa data tersebut tidak normal dan homogen. Karena data tidak normal sehingga tidak memenuhi persyaratan dilakukan uji anova *one way* sehingga uji dilakukan dengan uji non parametrik menggunakan uji *Kruskall Wallis*. Hasil uji *Kruskal wallis* memiliki nilai *Asymp. Sig.* sebesar 0,0001 > 0,05. Sehingga dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan kadar tat pada teh kombucha daun

belimbing wuluh karena $p \text{ value} < 0,05$. Sehingga uji dapat dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*

Hasil uji *Mann Whitney* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kadar Tat pada teh kombucha daun belimbing wuluh pada beberapa perlakuan yang ditandai dengan nilai *Asymp. Sig* $< 0,05$ yang dapat dilihat pada tabel 4.10.

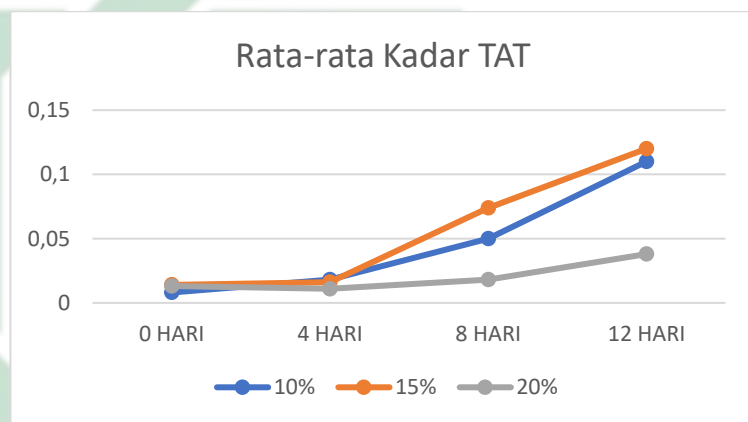
Tabel 4.11 Hasil Uji Mann Whitney Tat

Perlakuan	P1 G1	P1 G2	P1 G3	P2 G1	P2 G2	P2 G3	P3 G1	P3 G2	P3 G3	P4 G1	P4 G2	P4 G3
P1G1		0,04 3*	0,04 3*	0,04 3*	0,09 9	0,04 6*	0,04 6*	0,04 6*	0,04 3*	0,04 6*	0,04 6*	0,04 6*
P1G2			0,45 6	0,10 5	0,19 7	0,09 9	0,46 6*	0,46 6*	0,19 7	0,04 6*	0,04 6*	0,04 6*
P1G3				0,07 2	0,09 9	0,19 7	0,04 6*	0,04 6*	0,09 9	0,04 6*	0,04 6*	0,04 6*
P2G1					0,34 6	0,04 6*	0,18 4	0,05 0	0,81 7	0,05 0	0,05 0	0,05 0
P2G2						0,04 3*	0,07 2	0,04 6*	0,79 8	0,04 6*	0,04 6*	0,04 6*
P2G3							0,04 6*	0,04 6*	0,04 3*	0,04 6*	0,04 6*	0,04 6*
P3G1								0,27 5	0,12 1	0,27 5	0,50 0	0,82 7
P3G2									0,04 6*	0,65 8	0,05 0	0,05 0
P3G3										0,04 6*	0,04 6*	0,04 6*
P4G1											0,51 3	0,12 7
P4G2												0,05 0
P4G3												

Keterangan : P1G1= fermentasi 0 hari + 10% gula, P1G2= fermentasi 0 hari + 15% gula , P1G3= fermentasi 0 hari + 20% gula, P2G1= fermentasi 4 hari + 10% gula, P2G2 = fermentasi 4 hari + 15% gula, P2G3 = fermentasi 4 hari + 20% gula, P3G1 = fermentasi 8 hari + 10%, P3G1 = fermentasi 8 hari + 15%, P3G2 = fermentasi 8 hari + 15%, P3G3 = fermentasi 12 hari + 10% gula, P4G1 = fermentasi 12 hari + 15%, P4G2 = fermentasi 12 hari + 20%. *= perbedaan signifikasi pada uji *Mann-Whitney* ($p \text{ value} < 0,05$)

Berdasarkan tabel 4.11 diketahui perlakuan P1G1 berbeda nyata dengan perlakuan P1G2, P1G3, P2G1, P2G3, P3G1, P3G2, dan P3G3. Perlakuan P1G2 berbeda nyata dengan perlakuan P4G1, P4G2, dan P4G3. Perlakuan P1G3 berbeda nyata dengan perlakuan P3G1, P3G2, P4G1, P4G2, dan P4G3. Perlakuan P1G3 berbeda nyata dengan

perlakuan P3G1, P3G2, P4G1, P4G2, dan P4G3. Perlakuan P2G1 berbeda nyata dengan perlakuan P2G3. Perlakuan P2G2 berbeda nyata dengan perlakuan P2G3, P3G2, P4G1, P4G2, dan P4G3. Perlakuan P2G3 berbeda nyata dengan perlakuan P3G1, P3G2, P3G3, P4G1, P4G2, dan P4G3. Perlakuan P3G2 berbeda nyata dengan perlakuan P3G3. Perlakuan P3G3 berbeda nyata dengan perlakuan P4G1, P4G2, dan P4G3.



Gambar 4.5 Grafik rata-rata kadar TAT

Pada gambar 4.5 diketahui bahwa terjadi kenaikan total asam pada teh kombucha daun belimbing wuluh selama waktu fermentasi.

Kadar Tat teh kombucha daun belimbing wuluh tertinggi didapatkan pada perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan konsentrasi gula 15% yaitu sebesar 0,12% dan kadar total asam terendah didapatkan pada perlakuan waktu fermentasi hari ke-0 dengan konsentrasi gula 10% yaitu sebesar 0,0081%. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Pratiwi dkk (2012) bahwa terjadi peningkatan kadar total asam selama waktu fermentasi pada kombucha rumput laut *Saggarsum* sp. Peningkatan kadar total asam diduga terjadi akibat semakin lama waktu fermentasi maka gula yang terdapat dalam

kombucha akan dirombak oleh bakteri dan khamir menjadi asam organik. Produk kombucha mengandung khamir dan bakteri yang melakukan metabolisme terhadap sukrosa sehingga menghasilkan asam-asam organik seperti asam asetat dan asam glukonoat (Simanjutak dkk, 2016). Pada Gambar 4.5 juga diketahui semakin tinggi konsentrasi gula kadar Tat pada kombucha daun belimbing wuluh mengalami kenaikan. Namun, apabila konsentrasi gula terlalu tinggi menyebabkan sel bakteri rusak sehingga tidak dapat melakukan metabolisme yang dapat menghasilkan metabolit sekunder.

Tabel 4.12 Hubungan pH dan Kadar Tat

Perlakuan	pH \pm Standar Deviasi	Kadar Tat (%) \pm Standar Deviasi
P1G1	6	0,0081 \pm 0,0014
P1G2	6	0,014 \pm 0,0014
P1G3	6	0,013 \pm 0,0014
P2G1	4	0,018 \pm 0,025
P2G2	3	0,016 \pm 0,14
P2G3	5	0,011 \pm 0,14
P3G1	3	0,05 \pm 0,025
P3G2	2	0,074 \pm 0,005
P3G3	3,3 \pm 0,557	0,018 \pm 0,004
P4G1	3	0,11 \pm 0,07
P4G2	2	0,12 \pm 0,0038
P4G3	3	0,038 \pm 0,014

Keterangan :

P1G1 : perlakuan waktu fermentasi 0 hari dengan 10% gula
P1G2 : perlakuan waktu fermentasi 0 hari dengan 15% gula
P1G3 : perlakuan waktu fermentasi 0 hari dengan 20% gula
P2G1 : perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan 10% gula
P2G2 : perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan 15% gula
P2G3 : perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan 20% gula
P3G1 : perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan 10% gula
P3G2 : perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan 15% gula
P3G3 : perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan 20% gula
P4G1 : perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan 10% gula
P4G2 : perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan 15% gula
P4G3 : perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan 20% gula

Kadar tat pada teh kombucha memiliki hubungan dengan nilai pH. Pada Tabel 4.12 diketahui bahwa konsentrasi gula yang semakin tinggi menyebabkan nilai pH semakin turun kadar Tat semakin tinggi.

Namun pada konsentrasi gula 20% diketahui penurunan pH dan kenaikan kadar tat terjadi cukup lambat. Siregar dkk (2019) menyatakan bahwa semakin besar kandungan asam maka semakin rendah nilai pH dari bahan pangan dan sebaliknya semakin kecil kandungan asam maka semakin tinggi nilai pH dari bahan pangan.

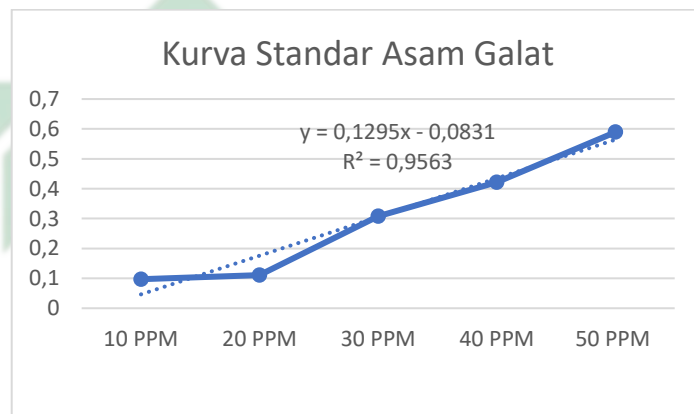
4.1.3. Hasil Uji Kadar Fenolik

Pada penelitian ini pengukuran kadar fenolik teh kombucha daun belimbing wuluh menggunakan metode folin ciocalteu. Menurut Nurmiati dan Wijayanti (2018) metode folin ciocalteu merupakan metode yang paling umum digunakan untuk menentukan kadar fenolik total dalam tanaman dengan pertimbangan bahwa teknik ini pengerjaannya lebih sederhana dan reagen folin ciocalteu digunakan karena senyawa fenolik dapat bereaksi dengan folin sehingga membentuk larutan yang dapat diukur absorbansinya.

Pada penentuan kadar fenolik digunakan asam galat untuk pembuatan larutan standar dengan berbagai deret konsentrasi yaitu 10, 20, 30, 40 dan 50 ppm. Menurut Rahayu dan Lucia (2015) asam galat digunakan sebagai standar karena asam galat merupakan salah satu antioksidan alami dan stabil serta relatif murah dibandingkan lainnya. Asam galat juga termasuk dalam senyawa fenolik dan memiliki aktivitas antioksidan yang kuat.

Larutan standar asam galat dengan deret konsentrasi akan diukur dengan spektrofotometer UV-vis sehingga didapatkan nilai absorbansi larutan standar asam galat pada masing-masing deret

konsentrasi. Dari hasil nilai tersebut dilakukan pembuatan kurva kalibrasi (Gambar 4.3). kurva kalibrasi merupakan grafik yang membentuk garis lurus (linier) yang menyatakan hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi sehingga diperoleh persamaan regresi $y = ax + b$ untuk mengetahui konsentrasi suatu senyawa dalam sampel (Supriningrum dkk, 2020).



Gambar 4.6 Grafik persamaan linier standar asam galat

Berdasarkan gambar 4.6 diketahui bahwa kurva kalibrasi pada gelombang 672 nm memiliki persamaan regresi untuk absorbansi asam galat pada deret konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50 ppm yaitu $y = 0,1295x - 0,0831$. Konsentrasi senyawa fenolik pada teh kombucha daun belimbing wuluh dapat diketahui melalui persamaan tersebut dengan memasukkan nilai absorbansi sampel pada variable y . sehingga didapatkan nilai x yang merupakan jumlah konsentrasi senyawa fenolik dalam teh kombucha daun belimbing wuluh.

Tabel 4.13 Hasil Rata-rata Kadar Fenolik

Perlakuan	Kadar Fenolik \pm Standar deviasi	Nilai Uji Kruskal Wallis
P1G1	58,67 \pm 2,663	0,002
P1G2	68,27 \pm 3,601	
P1G3	70,6 \pm 3,340	
P2G1	61 \pm 4,52106	
P2G2	61,6 \pm 2,227	
P2G3	60,6 \pm 2,3065	
P3G1	92,53 \pm 1,363	
P3G2	91,87 \pm 8,105	
P3G3	68,2 \pm 5,7166	
P4G1	87,33 \pm 1,140	
P4G2	85,2 \pm 6,593	
P4G3	82,27 \pm 1,311	

Keterangan :

P1G1 : perlakuan waktu fermentasi 0 hari dengan 10% gula

P1G2 : perlakuan waktu fermentasi 0 hari dengan 15% gula

P1G3 : perlakuan waktu fermentasi 0 hari dengan 20% gula

P2G1 : perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan 10% gula

P2G2 : perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan 15% gula

P2G3 : perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan 20% gula

P3G1 : perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan 10% gula

P3G2 : perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan 15% gula

P3G3 : perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan 20% gula

P4G1 : perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan 10% gula

P4G2 : perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan 15% gula

P4G3 : perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan 20% gula

Nilai $\alpha < 0,05$ = terdapat perbedaan nilai signifikansi *Kruskal wallis*

Data dari hasil uji kadar fenolik pada tabel 4.13 selanjutnya dilakukan uji statistik spss (Lampiran 4) untuk dilakukan beberapa uji.

Diketahui bahwa uji normalitas pada kadar fenolik teh kombucha daun belimbing wuluh memiliki nilai $sig < 0,05$ maka dapat dikatakan

bahwa data tersebut berdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas untuk melihat varian data sama atau tidak sama.

Berdasarkan table uji homogenitas dapat diketahui nilai $sig < 0,05$

sehingga dapat disimpulkan data tersebut tidak homogen. Sehingga,

analisis statistik dilanjutkan menggunakan uji kruskal wallis. Hasil

uji *kruskal wallis* memiliki nilai *Asymp. Sig* sebesar 0,002 yang berarti

terdapat perbedaan kadar fenolik teh kombucha daun belimbing wuluh. Sehingga uji dapat dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*.

Hasil uji *Mann Whitney* menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan kadar fenolik pada teh kombucha daun belimbing wuluh pada beberapa perlakuan yang ditandai dengan nilai *Asymp. Sig* > 0,05 yang dapat dilihat pada tabel 4.13

Tabel 4.14 Tabel Uji *Mann Whitney* Kadar Fenolik

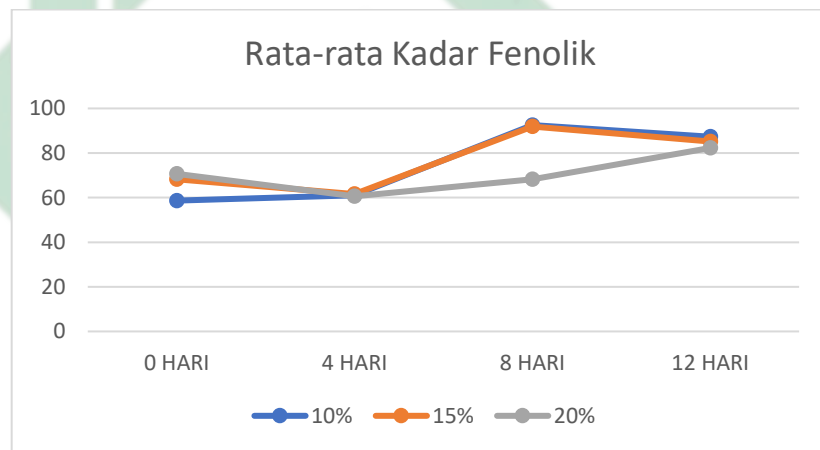
Perlakuan	P1 G1	P1 G2	P1 G3	P2 G1	P2 G2	P2 G3	P3 G1	P3 G2	P3 G3	P4 G1	P4 G2	P4 G3
P1G1		0,05 0*	0,05 0*	0,51 3	0,27 5	0,27 5	0,05 0*	0,05 0*	0,05 0*	0,05 0*	0,05 0*	0,05 0*
P1G2			0,27 5	0,05 0*	0,05 0*	0,05 0*	0,05 0*	0,05 0*	0,82 7	0,05 0*	0,05 0*	0,12 7
P1G3				0,05 0*	0,05 0*	0,05 0*	0,05 0*	0,05 0*	0,65 8	0,05 0*	0,05 0*	0,27 5
P2G1					1,00 3	0,51 3	0,50 3	0,50 7	0,27 5	0,05 0*	0,05 0*	0,05 0*
P2G2						0,51 3	0,50 3	0,50 7	0,12 7	0,50 7	0,05 0*	0,05 0*
P2G3							0,05 0*	0,05 0*	0,12 7	0,05 0*	0,05 0*	0,05 0*
P3G1								0,82 7	0,05 0*	0,82 7	0,27 5	0,51 3
P3G2									0,05 0*	0,82 7	0,65 8	0,27 5
P3G3										0,05 0*	0,05 0*	0,27 5
P4G1											0,51 3	0,51 3
P4G2												0,82 7
P4G3												

Keterangan : P1G1= fermentasi 0 hari + 10% gula, P1G2= fermentasi 0 hari + 15% gula, P1G3= fermentasi 0 hari + 20% gula, P2G1= fermentasi 4 hari + 10% gula, P2G2 = fermentasi 4 hari + 15% gula, P2G3 = fermentasi 4 hari + 20% gula, P3G1 = fermentasi 8 hari + 10%, P3G1 = fermentasi 8 hari + 15%, P3G2 = fermentasi 8 hari + 15%, P3G3 = fermentasi 12 hari + 10% gula, P4G1 = fermentasi 12 hari + 15%, P4G2 = fermentasi 12 hari + 20%. *= perbedaan signifikasi pada uji Mann-Whitney (p value <0,05)

Berdasarkan tabel 4.14 diketahui bahwa semua perlakuan yang dinyatakan berbeda nyata memiliki nilai signifikasi yaitu tepat 0,05.

Perlakuan P1G1 berbeda nyata dengan perlakuan P1G2, P1G3, P3G1, P3G2, P3G3, P4G1, P4G2, P4G3. Perlakuan P1G2 berbeda nyata

dengan perlakuan P2G1, P2G2, P2G3, P3G1, P3G2, P4G1, P4G2, P4G3. Perlakuan P1G3 berbeda nyata dengan perlakuan P2G1, P2G2, P2G3, P3G1, P3G2, P4G1, P4G2. Perlakuan P2G1 berbeda nyata dengan perlakuan P4G, P4G2, P4G3. Perlakuan P2G2 berbeda nyata dengan perlakuan P4G2 dan P4G3. Perlakuan P2G3 berbeda nyata dengan perlakuan P3G1, P3G2, P4G1, P4G2 dan P4G3. Perlakuan P3G1 berbeda nyata dengan perlakuan P3G3. Perlakuan P3G2 berbeda nyata dengan perlakuan P3G3. Perlakuan P3G3 berbeda nyata dengan perlakuan P4G1 dan P4G2.



Gambar 4.7 Grafik rata-rata kadar fenolik

Pada Gambar 4.7 pada konsentrasi gula yang semakin tinggi diketahui kadar fenolik semakin menurun dengan kadar fenolik yang optimum pada konsentrasi 10% dan kemudian mengalami penurunan kembali pada hari ke 12. Menurut Sekarini (2011) komponen polifenol pada teh terdiri dari 4 komponen senyawa penyusun meliputi senyawa flavanol, flavandiol, flavanoid dan asam folat. Dimana komponen senyawa flavanol teh terdiri dari quersentin, kaemferol, dan myricetin memiliki sifat mudah berikatan dengan

komponen gula. Sehingga semakin banyak komponen gula mengakibatkan pelarutan komponen polifenol teh terganggu. Penambahan gula yang semakin banyak selama waktu fermentasi berlangsung kadar fenolik pada teh kombucha mengalami penurunan pada fermentasi hari ke-4 dan hari ke-12. Menurut Hunandra (2016) penurunan senyawa fenolik diduga karena adanya degradasi senyawa fenolik, salah satunya katekin yang telah terdapat dalam seduhan teh pada awal fermentasi. Katekin yang hilang dan dipolimerasi lebih lanjut menjadi molekul dengan berat molekul lebih tinggi mengarah pada deteksi kandungan polifenol yang lebih rendah (Chu dan Chen, 2006). Menurut Ardheniati dkk (2009) proses fermentasi menyebabkan kandungan polifenol menurun dikarenakan terjadinya reaksi oksidasi. Kadar fenolik yang menurun juga berhubungan dengan jumlah sel mikrobial mengalami penurunan dikarenakan gula reduksi sebagai sumber energi pada mikroba juga mengalami penurunan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Rahmi dkk (2020) kenaikan total fenolik pada proses fermentasi terkait erat dengan aktivitas metabolisme dari mikroba selama fermentasi yang mampu memodifikasi komponen bioaktif seperti kelompok polifenol, tanin dan flavonoid.

Pada Gambar 4.7 juga diketahui bahwa Pada teh kombucha dengan konsentrasi gula 20% diketahui selama waktu fermentasi mengalami kenaikan semakin meningkat walaupun cukup lambat hal ini mungkin disebabkan karena kadar gula pada kombucha cukup

tinggi sehingga masih tersedianya jumlah karbon atau sumber energi bagi bakteri untuk bermetabolisme untuk menghasilkan metabolit sekunder. Menurut Malbasaa dkk (2008) kombucha mengubah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa, dan selanjutnya menjadi etanol, asam asetat, asam laktat dan sejumlah besar senyawa lainnya.

Kadar fenolik teh kombucha daun belimbing wuluh mengalami kenaikan pada fermentasi hari ke-8. Menurut Suhardini dan Zubaidah (2016) peningkatan senyawa fenol selama fermentasi diduga karena mikroba golongan bakteri dan khamir yang dapat bermetabolisme menghasilkan senyawa flavonoid melalui reaksi enzimatik, sehingga mempengaruhi jumlah total fenol pada teh kombucha.

4.1.4. Hasil Uji Alkohol

Proses fermentasi kombucha juga akan mengalami perubahan kimiawi secara oksidatif dari mikroorganisme dalam substrat dengan hasil pemecahannya berupa senyawa-senyawa yang lebih kompleks serta terjadi perubahan gula menjadi alkohol yang melibatkan kerja enzim (Herwin dkk, 2013). Menurut Fatwa MUI Nomor 10 Tahun 2018 tentang produk makanan dan minuman yang mengandung alkohol/etanol diketahui bahwa kadar alkohol pada minuman hasil fermentasi yang diperbolehkan untuk dikonsumsi yaitu minuman yang memiliki kandungan alkohol kurang dari 0,5%. Data hasil pengukuran kadar alkohol pada teh kombucha daun belimbing wuluh dapat dilihat pada tabel 4.10

Tabel 4.15 Hasil Uji Kadar Alkohol Teh Kombucha

Perlakuan	Alkohol (%)	Standar MUI No 10 Tahun 2018	Keterangan
P1G1	0,11	Kadar alkohol <0,5%	Memenuhi
P1G2	0,13		Memenuhi
P1G3	0,12		Memenuhi
P2G1	0,21		Memenuhi
P2G2	0,30		Memenuhi
P2G3	0,38		Memenuhi
P3G1	0,82		Tidak Memenuhi
P3G2	0,98		Tidak Memenuhi
P3G3	1,10		Tidak Memenuhi
P4G1	0,41		Memenuhi
P4G2	0,43		Memenuhi
P4G3	0,46		Memenuhi

Keterangan :

- P1G1 : perlakuan waktu fermentasi 0 hari dengan 10% gula
P1G2 : perlakuan waktu fermentasi 0 hari dengan 15% gula
P1G3 : perlakuan waktu fermentasi 0 hari dengan 20% gula
P2G1 : perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan 10% gula
P2G2 : perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan 15% gula
P2G3 : perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan 20% gula
P3G1 : perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan 10% gula
P3G2 : perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan 15% gula
P3G3 : perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan 20% gula
P4G1 : perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan 10% gula
P4G2 : perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan 15% gula
P4G3 : perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan 20% gula

Berdasarkan tabel 4.15 diketahui bahwa pada perlakuan P3G1, P3G2 dan P3G3 tidak memenuhi kadar alkohol yang diperbolehkan dikonsumsi karena kandungan alkoholnya lebih dari 0,5%. Dalam hukum islam minuman yang mengandung alkohol dalam kadar yang tinggi haram untuk dikonsumsi. Sehingga MUI menetapkan kadungan alkohol yang diperbolehkan pada minuman fermentasi yaitu kurang dari 0,5% jika secara medis tidak membahayakan. Hal tersebut telah dijelaskan dalam Al-Quran surat Al-Maidah ayat 88, yaitu:

وَكُلُوا مِمَّا رَزَقَكُمُ اللَّهُ حَلَالًا طَيِّبًا ۗ وَاتَّقُوا اللَّهَ الَّذِي أَنْتُمْ بِهِ مُؤْمِنُونَ

Artinya : Dan makanlah makanan yang halal lagi baik dari apa yang Allah telah rezezikkan kepadamu, dan bertakwalah kepada Allah yang kamu beriman kepada-Nya.

Menurut tafsir Al-Azhar terdapat makanan yang awalnya halal kemudian jadi haram, atau sekurang-kurangnya makruh. Oleh sebab itu, dalam memilih makanan yang halal dan baik selain ditentukan oleh Allah dalam Al-Quran dan diserahkan juga dalam ijtihad ketika memilih mana yang halal dan baik. Itu sebabnya maka ujung ayat berbunyi: “dan takwalah kepada Allah, dan kepadaNya lah kamu beriman”. Dari ayat tersebut ketentuan Allah tentang halal dan baik, lalu diserahkan kepada pertimbangan batin, yaitu takwa dan iman, bertambah pentingnya memilih makanan dan minuman yang layak didunia ini. Oleh karena itu, apabila hendak memakan suatu makanan, diharuskan membaca basmalah dan ketika sehabis makan membaca hamdalah (Hamka, 2001).

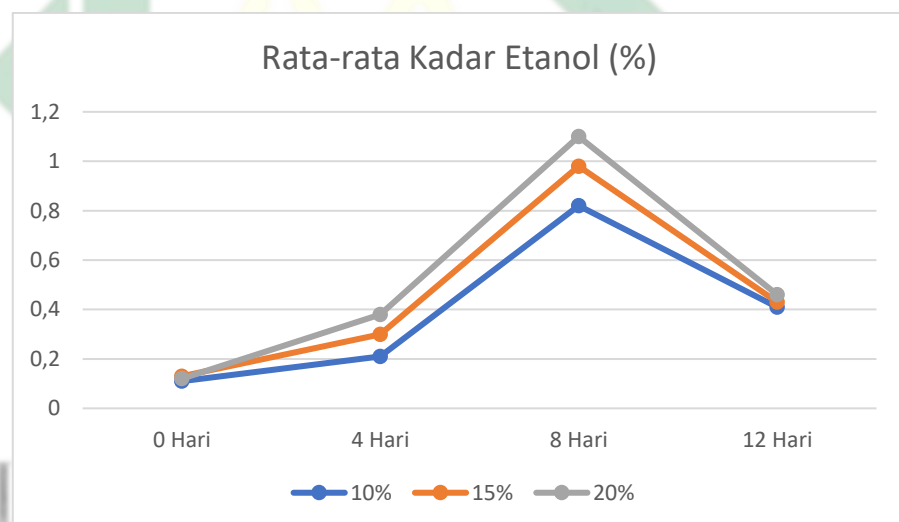
Menurut Priyono dkk (2021) Terdapat beberapa pendapat mengenai status kehalalan alkohol. Beberapa berpendapat bahwa alkohol yang terdapat dalam suatu berapapun kadarnya, maka tetap dihukumi haram. Terdapat pula syarat kadar alkohol dalam produk, misalnya menurut Jabatan kemajuan Islam Malaysia (JAKIM) yang membatasi halalnya produk jika mengandung alkohol maksimal 0,5% dan *Association Researches for the Inspection and Certification of Food and Supplies* (GIMDES) di Turki yang membatasi halalnya produk jika mengandung alkohol maksimal 0,3%. Pada tabel 4.10 diketahui bahwa pada waktu fermentasi hari ke-8 diketahui bahwa kadar alkohol teh kombucha belimbing wuluh tidak memenuhi

standar kehalalan minuman yang telah ditetapkan MUI. Dalam Al-Quran surat surat 'Abasa ayat 24 Allah SWT telah berfirman :

فَلْيَنْظُرِ الْإِنْسَانُ إِلَىٰ طَعَامِهِ

Artinya : Maka hendaklah manusia itu memperhatikan makanannya.

Menurut tafsir Al-Azhar ayat tersebut menjelaskan tentang perintah Allah kepada umatnya untuk memperhatikan dari mana datangnya makanan tersebut dan bagaimana prosesnya sehingga makan tersebut telah ada dalam piring (Hamka,2001).



Gambar 4.8 Grafik rata-rata kadar etanol

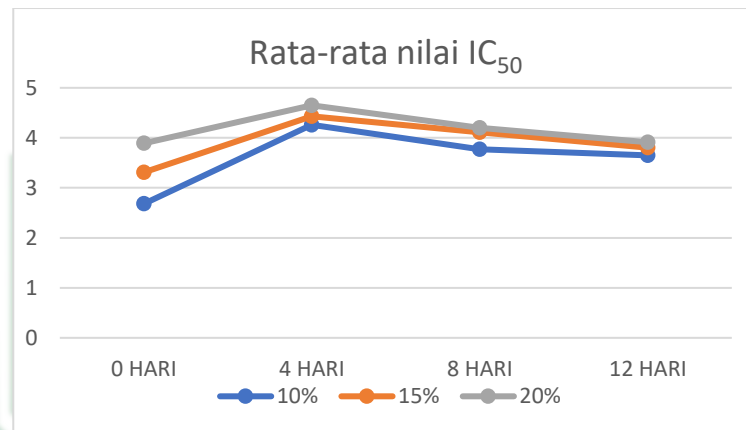
Berdasarkan Gambar 4.8 diketahui semakin tinggi konsentrasi gula semakin tinggi kadar alkoholnya dan semakin lama waktu fermentasi kombucha daun belimbing wuluh menyebabkan kadar alkohol meningkat. Namun apabila telah mencapai titik optimum akan mengalami penurunan kadar alkohol. Pada gambar 4.8 diketahui bahwa kadar etanol tertinggi pada teh kombucha yaitu pada perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan konsentrasi gula 20% sebesar 1,1%.

Sedangkan untuk kadar etanol terendah yaitu pada perlakuan waktu fermentasi ke-0 dengan konsentrasi gula 10 % sebesar 0,11%. Pada gambar juga diketahui bahwa pada waktu fermentasi ke-0 hingga 8 hari diketahui kadar etanol berangsur-angsur mengalami kenaikan sehingga mencapai titik optimum tetapi, pada waktu fermentasi ke-12 kadar etanol mengalami penurunan. Menurut Pratiwi dkk (2012) peningkatan kadar alkohol disebabkan selama proses fermentasi khamir *saccharomyces cerevisiae* memproduksi alkohol secara anaerob, kemudian alkohol menstimulasi pertumbuhan *Acetobacter xylinum* untuk memproduksi asam asetat secara aerob, sedangkan asam asetat akan mestimulasi pertumbuhan *saccharomyces cerevisiae*. Kemudian alkohol digunakan oleh bakteri *Acetobacter* untuk pembentukan asam asetat, sehingga menyebabkan kadar alkohol mengalami penurunan. Sehingga dapat disimpulkan semakin lama waktu fermentasi kadar etanol teh kombucha daun belimbing wuluh mencapai titik optimum kemudian mengalami penurunan kadar etanol dan semakin tinggi konsentrasi gula semakin tinggi juga kadar etanol pada kombucha daun belimbing wuluh.

4.3 Pengaruh Waktu Fermentasi dan Konsentrasi Gula Terhadap Aktivitas Antioksidan Teh Kombucha Daun Belimbing Wuluh (*Avverhoa bilimbi* Linn.)

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menunda, memperlambat, dan mencegah proses oksidasi (Simanjutak, 2012). Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan mencari nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀

merupakan konsentrasi efektif ekstrak yang dibutuhkan untuk meredam 50% dari total DPPH, sehingga nilai 50 disubstitusikan untuk nilai y, setelah nilai mensubstitusikan nilai 50 pada nilai y akan didapat nilai x sebagai nilai IC_{50} .



Gambar 4.9 Grafik rata-rata nilai IC_{50}

Pada gambar 4.9 diketahui bahwa aktivitas antioksidan pada teh kombucha daun belimbing wuluh memiliki nilai $IC_{50} < 50$ sehingga dapat dikatakan bahwa pada semua perlakuan merupakan antioksidan yang sangat kuat. Menurut Tristantini dkk (2016) suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50, kuat (50-100), dan lemah (151-200). Sehingga dapat disimpulkan bahwa semakin kecil nilai IC_{50} semakin tinggi aktivitas antioksidan. Pada uji aktivitas antioksidan teh kombucha daun belimbing wuluh tertinggi pada perlakuan waktu fermentasi hari ke-0 dengan konsentrasi gula 10% yang memiliki nilai IC_{50} sebesar 2,68.

Pada Gambar 4.9 dapat diketahui pada waktu fermentasi hari ke-4 diketahui terjadi penurunan aktivitas antioksidan ditandai dengan kenaikan nilai IC_{50} . Menurut Hunandar (2016) penurunan aktivitas antioksidan dapat

disebabkan karena selama proses fermentasi telah terbentuk senyawa fenol baru, akan tetapi senyawa fenol tersebut tidak memiliki kemampuan menghambat radikal bebas. Hal ini terjadi karena senyawa polifenol seperti katekin hilang dan dipolimerasi lebih lanjut menjadi molekul dengan berat molekul lebih tinggi mengarah pada deteksi kandungan polifenol yang lebih rendah. Pada waktu fermentasi hari ke-8 dan 12 diketahui aktivitas antioksidan beransur-angsur mengalami peningkatan kembali. Peningkatan aktivitas antioksidan disebabkan karena adanya proses biotransformasi dari beberapa senyawa fenol akibat adanya enzim yang dihasilkan selama proses fermentasi kombucha dan terjadi pelepasan katekin dari mikroorganisme yang sensitif terhadap asam (Hunandar, 2016). Sehingga dapat disimpulkan semakin tinggi konsentrasi gula semakin tinggi nilai IC₅₀ dan semakin lama fermentasi nilai IC₅₀ akan mencapai titik optimum kemudian mengalami penurunan.

Tabel 4.16 Hubungan Kadar fenolik dan Nilai IC₅₀

Perlakuan	Kadar Fenolik ±Standar deviasi	IC ₅₀
P1G1	58,67±2,663	2,68
P1G2	68,27±3,601	3,31
P1G3	70,6±3,340	3,89
P2G1	61±4,52106	4,26
P2G2	61,6±2,227	4,43
P2G3	60,6±2,3065	4,65
P3G1	92,53±1,363	3,77
P3G2	91,87±8,105	4,11
P3G3	68,2±5,7166	4,20
P4G1	87,33±1,140	3,65
P4G2	85,2±6,593	3,80
P4G3	82,27±1,311	3,91

Keterangan :

P1G1 : perlakuan waktu fermentasi 0 hari dengan 10% gula
P1G2 : perlakuan waktu fermentasi 0 hari dengan 15% gula
P1G3 : perlakuan waktu fermentasi 0 hari dengan 20% gula
P2G1 : perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan 10% gula
P2G2 : perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan 15% gula
P2G3 : perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan 20% gula

P3G1 : perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan 10% gula
P3G2 : perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan 15% gula
P3G3 : perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan 20% gula
P4G1 : perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan 10% gula
P4G2 : perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan 15% gula
P4G3 : perlakuan waktu fermentasi 12 hari dengan 20% gula

Pada penelitian ini juga diketahui bahwa terdapat hubungan antara kadar fenolik dengan aktivitas antioksidan (Tabel 4.16) diketahui bahwa beberapa perlakuan memiliki kadar fenolik tinggi akan tetapi nilai IC_{50} memiliki nilai yang tinggi daripada perlakuan yang memiliki kadar fenolik rendah walaupun semua nilai IC_{50} tergolong termasuk antioksidan kuat. Hal ini tidak sebanding dengan pernyataan Rumayati dkk (2014) semakin rendah nilai IC_{50} maka kandungan total fenol semakin tinggi. Menurut Chu & Chen (2006) hal ini mungkin disebabkan starter kombucha mengeluarkan beberapa enzim seperti protease, lipase, dan polifenol oksidase yang mampu mengkatalisis biodegradasi theaflavin dan hidrosilat yang merupakan antioksidan kuat. Namun, jumlah kandungan total fenol tidak selalu menentukan aktivitas antioksidan kombucha sedangkan jenis metabolit seperti asam asetat, asam glukoronat dan asam glukonat mungkin berpengaruh besar terhadap aktivitas antioksidan pada kombucha daun belimbing wuluh.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Waktu fermentasi dan konsentrasi gula berpengaruh terhadap karakteristik fisika yaitu uji organoleptik meliputi aroma, warna dan rasa. Pada uji organoleptik aroma, warna dan rasa yang paling disukai yaitu perlakuan G (fermentasi 12 hari dan konsentrasi gula 10%) karena memiliki nilai hedonik aroma sebesar 2,27, warna sebesar 2,60 dan Rasa sebesar 3,13.
2. Waktu fermentasi dan konsentrasi gula berpengaruh terhadap karakteristik kimia meliputi pH, total asam tertitrasi, kadar fenolik dan alkohol. Diketahui teh kombucha dengan perlakuan terbaik pada perlakuan P4G1 (fermentasi 12 hari dan konsentrasi gula 10%) karena memiliki nilai PH yaitu 3, kadar total asam 0,11%, kadar fenolik 87,33 mg/ml GAE, dan kadar alkohol 0,41%.
3. Waktu fermentasi dan konsentrasi gula berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan teh kombucha diketahui semua perlakuan menghasilkan antioksidan yang kuat. Pada penelitian ini juga diketahui antioksidan tertinggi yaitu pada perlakuan P4G1 dengan nilai IC_{50} sebesar 3,65.

5.2. Saran

Penelitian dapat dilanjutkan dengan melakukan penelitian mengenai pengaruh suhu dan wadah penyimpanan teh kombucha sehingga dapat mempertahankan kandungan senyawa kimia didalamnya. Selain itu diperlukan juga penelitian lebih lanjut mengenai kadar kandungan senyawa asam organik pada teh kombucha daun belimbing seperti asam asetat, asam laktat, dan lain-lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Adriani, Meysi., I Dewa Gde Mayun Permana., dan I Wayan Rai Widarta. 2019. Pengaruh suhu dan waktu ekstraksi daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap aktivitas antioksidan dengan metode ultrasonic assisted extraction (UAE) Method. *Jurnal teknologi pangan*. 8 (3): 330-340.
- Andarina, R., & Djauhari, T. 2017. Antioksidan dalam dermatologi. *JKK*. 4(1): 39-48.
- Anggelia, Ika Okhtora. 2017. Kandungan pH, Total Asam Tertitrasi Padatan Terlarut dan Vitamin C Pada Beberapa Komoditas Hortikultura. *Journal of Agritech*. 1 (2): 68-74.
- Apak, R., Capanoglu, E., & Shahidi, F. 2017. *Measurement of Antioxidant Activity and Capacity: Recent Trends and Applications* (1st ed.). John Wiley & Sons Ltd, Oxford.
- Ardheniati, M., Andriani, M. A. M., & Amanto, B. S. 2009. Fermentation kinetics in kombucha tea with tea kind variation based on its processing. *Biofarmasi Journal of Natural Product Biochemistry*. 7(1): 48-55. <https://doi.org/10.13057/biofar/f070106>
- Ardhiansyah, M. Reza. 2014. Pemanfaatan Ekstrak Daun belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) sebagai Bioinhibitor Korosi Pada Logam Baja Karbon. *Thesis*. Politeknik Negeri Sriwijaya, Palembang.
- Arfa Yanti, N., Ambardini, S., Ode Leni Marlina, W., & Dwi Cahyanti, K. 2020. Aktivitas Antibakteri Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Dengan Konsentrasi Gula Berbeda. *BERKALA SAINTEK*, 8(2): 35-40.
- Aritonang, Laisa Runggu Yerike. 2019. Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Daun Sirsak Terhadap Karakteristik Teh Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata*). *Skripsi*. Fakultas Teknologi Industri Pertanian, Universitas Padjadjaran, Jatinagor.
- Cahanar, P., & Suhandi, I. 2006. *Makan sehat hidup sehat*. Penerbit Buku Kompas, Jakarta.
- Cahyaningtyas, Yosephina Dwi Woro. 2018. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Total Asam Tertitrasi (TAT) dan Karakteristik Fisik (Uji Organoleptik) Pada Teh Kombucha Serai (*Cymbopogon citratus* (DC.)

stapf.). *Skripsi*. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.

Cholidah, Adinda Ismu., Dwi Danu., dan Iif Hanifa Nurrosyidah. 2020. Pengaruh Lama Waktu Fermentasi Kombucha Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) Terhadap Aktivitas Antibakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*. 2 (3). 186-210.

Chu, Sheng-Che., dan Chinshuh Chen. 2006. Effect of Origins and Fermentation time on the antioxidant activities of kombucha. *Food Chemistry*. 98 : 502-507.

Dufresne, C., & Farnworth, E. 2000. Tea, Kombucha, and health: a review. *Food Research International*. 33: 409-421. www.elsevier.com/locate/foodres

Eric dan Jessica Childs. 2013. *Kombucha! : The Amazing Probiotic Tea That Cleanses, Heals, Energizes, and Detoxifies*. The Penguin Group, New York.

Fajar, R. I., Putu Wrsiati, L., & Suhendra, L. 2018. The Content Of The Flavonoid Compound And Antioxidan Activity Of Green Tea Extract In The Treatment Temperature And Time Brewing. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*. 6(3): 196-202.

Falahuddin, I., Apriani, I., & Nurfadilah. 2017. Pengaruh Proses Fermentasi Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Kadar Vitamin C. *Jurnal Biota*, 3(2): 90-95.

Febriella, V., Alfilarari, N., & Azis, L. 2021. Inovasi Minuman Herbal yang Difermentasi dengan Starter Kombucha dan Pengaruhnya Terhadap Mutu Organoleptik, pH, dan Nilai Antioksidan. *Food and Agroindustry Journal*, 2(2): 33-40.

Felicia, N., Widarta, I. W. R., & Yusasrini, N. L. A. 2016. Pengaruh Ketuaan Daun dan Metode Pengolahan Terhadap Aktivitas Antioksidan Dan Karakteristik Sensoris Teh Herbal Bubuk Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal ITEPA*. 5(2): 85-95.

Frank, Günther W. 1994. *Kombucha Healty Beverage And Natural Remedy From The Far East*. Publishing House W. Ennsthaler, A-4402 STEYR, Austria.

Goh, W.N., Rosman A., Kaur, B., Fazilah, A., Karim A.A. dan Rajevv Bath. 2012. Fermentasi of Black tea broth (kombucha): Effect of Sucrose fermentation time on the yield of microbial cellulose. *International food research journal*. 19 (1): 109-117.

- Greenwalt, C. J., Ledford, R. A., & Steinkraus, K. H. 1998. Determination and Characterization of the Antimicrobial Activity of the Fermented TeaKombucha. *LWT - Food Science and Technology*. 31(3): 291–296. <https://doi.org/https://doi.org/10.1006/fstl.1997.0354>.
- Greenwalt, C. J., Steinkraus, K. H., & Ledford, R. A. 2000. Kombucha, the Fermented Tea: Microbiology, Composition, and Claimed Health Effects. In *Journal of Food Protection*. 63 (7): 976-981. http://meridian.allenpress.com/jfp/article-pdf/63/7/976/1671742/0362-028x-63_7_976.pdf.
- Hamka. 2001. Tafsir Al-Azhar : Volume 1. Pustaka Nasional Pte Ltd, Singapura.
- Hasim, H., Arifin, Y. Y., Andrianto, D., & Faridah, D. N. 2019. Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) sebagai Antioksidan dan Antiinflamasi. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 8(3): 86. <https://doi.org/10.17728/jatp.4201>
- Hassmy, N. P., Abidjulu, J., & Yudistira, A. 2017. Analisis Aktivitas Antioksidan Pada Teh Hijau Kombucha Berdasarkan Waktu Fermentasi Yang Optimal. *PHARMACONJurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT*. 6(4): 67–74.
- Herwin., Rahmat Kosman., dan Iswan Siami. 2013. Produksi Sediaan Kombucha dari Daun Permot (*Passiflora foetida* L.) secara Fermentasi. *As-Syifaa Jurnal Farmasi* . 5 (1): 20-27.
- Hidjrawan, Y. 2018. Identifikasi Senyawa Tanin Pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Jurnal Optimalisasi*. 4 (2): 78–82.
- Hudaya, Kamaludin Husna. 2016. Desain Titrator Otomatis untuk pengukuran Dua Titration Secara Simultan. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Jember. Jember.
- Hunandar, Valentina Sintya. 2016. Penetapan Daya Antioksidan dan kadar Total fenol Kombucha Dibandingkan The Hijau Secara Spektrofotometri. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*. 5 (2): 435-445.
- Insan, R. R., Faridah, A., Yulastri, A., & Holinesti, R. 2019. Using Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) As A Functional Food Processing Product. *Jurnal Pendidikan Tata Boga Dan Teknologi*. 1(1): 47–55. <https://doi.org/10.2403/80sr7.00>
- Indarto., Salima Duwi Astuti., Mahmud Rudini., dan Wisnu Pambudi. 2020. Increasing Antioxidant Activity and Organoleptic properties of Soursop Leaf Tea (*Annona muricata* Linn.) by Adding Cinnamon Powder (*Cinnamomun burmani*). *Biosfer Jurnal Tadris Biologi*. 11 (2). 101-110.

- Jala, Desi Advensia dan Subchan, Bilal. 2018. Skrining Fitokimia Infusa Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yang Dipanaskan dengan Variasi Suhu 50°C, 60°C, 65°C dengan metode KLT. *Diploma Thesis*. Akademi Farmasi Putera Indonesia, Malang.
- Jayabalan, R., Malbaša, R. v., Lončar, E. S., Vitas, J. S., & Sathishkumar, M. 2014. A review on kombucha tea-microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 13(4): 538–550. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12073>
- Khamidah, A., & Antarlina, S. S. 2020. Peluang Minuman Kombucha Sebagai Pangan Fungsional. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*. 14 (2): 184-200.
- Kristanti Ayuratri, M., & Kusnadi, J. 2017. Aktivitas Antibakteri Kombucha Jahe (*Zingiber officinale*) (Kajian Varietas Jahe Dan Konsentrasi Madu). *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*. 5 (3): 95–107.
- Kuncoro, Gardisa Citra Ayyuning. 2019. Pengaruh Lama Waktu Fermentasi Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Karakteristik Fisik Teh Kombucha Daun Gingseng Jawa (*Talinum paniculatum* Gaertn.). *Skripsi*. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan. Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
- Kurniawaty, E., & Lestari, E. E. 2016. Uji Efektivitas Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) sebagai Pengobatan Diabetes Melitus. *Majority*. 5(2): 32–36.
- Kurniawan, M. Bobby, Sentosa Ginting, dan Mimi Nurmiah. 2017. Pengaruh Penambahan Gula dan Starter Terhadap Karakteristik Minuman The Kombucha Daun Gambir (*Uncaria gambir* Roxb). *Jurnal Rekayasa Pangan dan Pertanian*. 5 (2): 251-257.
- Laureys, D., Britton, S. J., & de Clippeleer, J. 2020. Kombucha Tea Fermentation: A Review. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*. 78(3):165–174. <https://doi.org/10.1080/03610470.2020.1734150>
- Leal, J. M., Suárez, L. V., Jayabalan, R., Oros, J. H., & Escalante-Aburto, A. 2018. A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. *CYTA - Journal of Food*. 16(1): 390–399. <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1410499>
- Llamas, Kirsten Albercht. 2003. *Tropical Flowering Plants : A Guide to Identification and Cultivation/Text and photography*. Timber Press, Portland.
- Lung, J. K. S., & Destiani, D. P. 2017. Review Artikel Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin A, C, E dengan metode DPPH. *Farmaka Suplemen*. 15(1): 53–62.

- Mahadi, Imam., Sayuti., Irda., dan Irma Habibah. 2016. Pengaruh Variasi Jenis Pengolahan Teh (*Camellia sinensis* L kuntze) dan Konsentrasi Gula Terhadap Fermentasi Kombucha Sebagai Rancangan Lembar Kerja Peserta Didik (LKDP) Biologi SMA. *Jurnal Biogenesis*. 13 (1): 93-102.
- Misfadhila, S., Chandra, B., & Wahyuni, Y. 2020. Pengaruh Fraksi Air, Etil Asetat Dan N-Heksan Dari Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) Terhadap Kelarutan Kalsium Batu Ginjal Secara In Vitro. *Jurnal Farmasi Higea*. 12(2): 115–123.
- Muhalidin, B.J., Osman, F. A., Muhamad, R., Che Wan Sapawi, C. W. N. S., Anzian, A., Voon, W. W. Y. dan Meor Hussin, A. S. 2019. Effect of Sugar and fermentation time on the properties of tea (Kombucha) beverage. *International Food Research Journal*. 26 (2): 481-487.
- Malbasa, R., E. Loncar., M. djuric., dan Dosenovic. 2008. Effect Of Sucrose Concentration On The Products Of Kombucha Fermentation On Molasses. *Food Chemistry*. 106 (3) : 926-932.
- Nainggolan, Jusman. 2009. Kajian Pertumbuhan Bakteri *Acetobacter sp.* dalam Kombucha-Rosela Merah (*Hibiscus sabdariffa*) pada Kadar Gula dan Lama Fermentasi yang Berbeda. *Tesis*. Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Naland, Henry. 2008. *Kombucha: Teh dengan Seribu Khasiat*. PT Agromedia Pustaka, Jakarta Selatan. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 6 (1): 55-62.
- Napitupulu, M O W., Setyohadi, Lubis, L. M. 2015. Pengaruh Variasi Konsentrasi Gula Sukrosa dan Lama Fermentasi Terhadap pembuatan Kopi Kombucha. *Jurnal Rekayasa Pangan dan Pertanian*. 3 (3). 55-62.
- Nur, Yulia M., Sri Indrayati., Periadnadi., dan Nurmiati. 2018. Pengaruh Penggunaan Beberapa Jenis Ekstrak Tanaman Beralkaloid terhadap Produk Teh Kombucha. *Jurnal Biologi*. 6 (1):
- Nurhayati, N., Yuwanti, S., & Urbahillah, A. 2020. Karakteristik Fisikokimia Dan Sensori Kombucha Cascara (Kulit Kopi Ranum). *Jurnal Teknologi an Industri Pangan*. 31(1): 38–49. <https://doi.org/10.6066/jtip.2020.31.1.38>
- Nurhidayah. 2018. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Mutu Kombucha Sari Buah Nanas. *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pangan dan Agroindustri. Universitas Mataram, Mataram.
- Nurikasari, M., Puspitasari, Y., & Siwi, R. P. Y. 2017. Characterization And Analysis Kombucha Tea Antioxidant Activity Based On Long Fermentation As A Beverage Functional. *Journal of Global Research in Public Health*, 2(2): 90–96.

- Nurmiati., dan Eranin Dyah Wijayanti. 2018. Perbandingan Kadar Fenolik Total antara Seduhan Daun Gaharu dan Kombucha Daun Gaharu (*Aquailaria malaccensis*). *JC-T (Journal Cis-Trans)*. 2 (1): 6-11.
- Pendit, P. A. C. D., Zubaidah, E., & Heppy Sriherfyna, F. 2016. Karakteristik Fisik-Kimia Dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi L.*). *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*. 4(1): 400–409.
- Pratiwi, A., & Aryawati, R. 2012. Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Sifat Fisik dan Kimia pada Pembuatan Minuman Kombucha dari Rumput Laut *Sargassum sp.* *Maspuri Journal*. 4(1): 131–136. www.whfoods.com
- Prihanti, Gita Sekar. 2016. *Pengantar Biostatik*. Universitas Muhammadiyah Malang, Malang.
- Priyono., dan Dody Riswanto. 2021. Studi Kritis Minuman the Kombucha: Manfaat Bagi kesehatan, Kadar Alkohol dan Sertifikasi Halal. *IJMA*. 1 (1): 9-18.
- Purnami, K. I., Anom Jambe, A. A. G. N., & Wayan Wisaniyasa, N. 2018. Pengaruh Jenis Teh Terhadap Karakteristik Teh Kombucha. *Jurnal ITEPA*, 7(2): 1–10.
- Puspitasari, Yenny., Retno Palupi., dan Maulina Nurikasari. 2017 Analisis kandungan Vitamin C Teh Kombucha Berdasarkan Lama Fermentasi Sebagai Alternatif Minuman untuk Antioksidan. *Global Health Science*. 2 (3): 245-253.
- Rahayu, Manik Ponco., dan Lucia Vita Inanda. 2015. Penetapan Kadar fenol total Ekstrak Etil Asetat dan Fraksi Dichloromethan-etil asetat kulit batang mundu (*Garcinia dulcis*. Kurz). *Biomedika*. 8 (2): 37-44.
- Rahmi, Nazarni., Nadra Khairah., Rufida., Sri Hidayati., dan Anton Muis. 2020. Pengaruh Fermentasi Terhadap Total Fenolik, Aktivitas Penghambatan Radikal Dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tepung Biji Teratai (*Nymphaea pubescens* Willd). *BIOPROPAL Industri*. 11 (1): 9-18.
- Rizkhy Hanifah, I., & Saptarini, O. 2014. Pemanfaatan Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) dalam Bentuk Infusa dan Sediaan Celup terhadap Penurunan Berat Badan. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 11(2): 101–108. <http://farmasiindonesia.setiabudi.ac.id/>
- Rosida, D. F., Lailatus Sofiyah, D., & Putra, A. Y. T.. 2021. Aktivitas Antioksidan Minuman Serbuk Kombucha dari Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*), Kersen (*Muntingia calabura*), and Moringa (*Moringa oleifera*). *Jurnal Teknologi Pangan*. 15(1): 81–97.

- Rosita., Dody Hardito., dan Moegiratul Amaro. 2021. Pengaruh Konsentrasi Startet Scoby (Symbiotic Culture Of Bacteria And Yeast) Terhadap Mutu Kimia, Mikrobiologi Dan Organoleptik Kombucha Sari Apel. *Pro Food Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan*. 7 (2): 12-22
- Simanjutak, Rosnawya., dan Natalina Siahaan. 2011. Pengaruh Konsentrasi Gula dan Lama Fermentasi terhadap Mutu Teh Kombucha. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Tinggi*. 4 (2): 81-92.
- Simanjutak, K. 2012. Peran Antioksidan Flavonoid Dalam Meningkatkan Kesehatan. *Bina Widya*. 23(3): 135–140.
- Simanjutak, Desnilawati Hotmaria., Herpandi., dan Shanti Dwita Lestari. 2016. Karakteristik Kimia dan Aktivitas Antioksidan Kombucha dari Tumbuhan Apu-Apu (*Pistia statiotes*) selama Fermentasi. *Jurnal teknologi Hasil Perikanan*. 5 (2): 123-133.
- Siregar, Ira Rosalina., Linda masniary Lubis., dan Rona J Nainggolan. 2019. Pengaruh Konsentrasi Larutan Asam Asetat dan Konsentrasi Larutan Gula terhadap Mutu Pikel Buah Makala (*Phyllanthus emblica* Linn.). *Jurnal Rekayasa Pangan dan Pertanian*. 7 (2): 79-88.
- Siregar, T. M., & Amadea, G. 2021. Pengaruh Jenis Daun Dan Konsentrasi Etanol Terhadap Aktivitas Inhibisi A-Glukosidase Dan Antioksidan Ekstrak Daun Belimbing. *FaST-Jurnal Sains Dan Teknologi*, 5(1): 73–87.
- Staples, G. W, and D. R. Herbst. 2005. *A Tropical Garden Flora: Plants cultivated in the Hawaiian Islands and other tropical places*. Bishop Museum Press, Honolulu.
- Sugiarti, Wiwik. 2010. Pengaruh Konsentrasi Starter dan Lama Fermentasi Terhadap Kualitas Kombucha Belimbing Wuluh (*Avverhoa bilimbi* L.). *Thesis*. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Malang, Malang.
- Suhardini, P. N., & Zubaidah, E. 2016. Studi Aktivitas Antioksidan Kombucha Dari Berbagai Jenis Daun Selama Fermentasi. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*. 4 (1): 221–229.
- Supriningrum., Risa., Henny Nurhasnawati., dan Siti Faisah. 2020. Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Serunai (*Chromolaena odorata* L.) dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Al-Ulum Sains dan Teknologi*. 5 (2). 54-57.
- Thalhah, Ali Bin Abu. 2000. *Tafsir Ibnu Abbas*. Pustaka Azzam, Jakarta Selatan.

- Tristantini, D., Ismawati, A., Tegar Pradana, B., & Gabriel Jonathan, J. 2016. Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi* L). *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan" Pengembangan Teknologi Kimia Untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia*. UPN "Veteran" Yogyakarta.
- Villarreal-Soto, S. A., Beaufort, S., Bouajila, J., Souchard, J. P., & Taillandier, P. 2018. Understanding Kombucha Tea Fermentation: A Review. *Journal of Food Science*. 83(3): 580–588. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14068>
- Werdhasari, A.. 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Mediasana Indonesia*, 3(2): 59–68.
- Yanti, S., & Vera, Y.. 2019. Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi*). *Jurnal Kesehatan Ilmiah Indonesia*. 4(2): 41–46.
- Yulianingtyas, A., & Kusmartono, B. 2016. Optimasi Volume Pelarut Dan Waktu Maserasi Pengambilan Flavonoid Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* L.) Optimization Of Solvent Volume And Maceration Time On Extraction Of Flavonoids From Averrhoa Bilimbi Leaves. *Jurnal Teknik Kimia*. 10(2): 58–64.
- Zubaidah, E., Austin, & Sriherfyna. Feronika Heppy. 2015. Studi Aktivitas Antioksidan Cuka Salak Dari Berbagai Varietas Buah Salak (*Salacca zalacca*). *Jurnal Teknologi Pertanian*. 16(2): 89–96.

UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A