

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Kombucha merupakan minuman fermentasi teh manis dengan pelibatan mikroba probiotik (bakteri dan khamir) yang terdiri dari *mat* / SCOBY (berupa lapisan berwarna putih hingga kecoklatan, *Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*) serta *soup* (cairan hasil fermentasi) (Bishop *et al.*, 2022). Kombucha terkenal akan khasiat kesehatannya (Júnior *et al.*, 2022), khasiat kesehatan ini dikarenakan adanya berbagai macam metabolit hasil fermentasi kombucha, yang dihasilkan oleh simbiosis bakteri dan khamir probiotik (Angela *et al.*, 2020; Chakravorty *et al.*, 2019).

Jenis mikroba dari bakteri yang terdapat di kombucha antara lain adalah spesies *Gluconobacter*, *Acetobacter xylinoides*, *Acetobacter pasteurianus*, *Acetobacter xylinum*, *Acetobacter aceti*, *Bacterium gluconicum*, dan lain sebagainya. Adapun dari khamir adalah diantaranya *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomycodes ludwigii*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces bailii*, *Brettanomyces bruttanomyces*, *Brettanomyces bruxellensis*, *Brettanomyces lambicus*, *Brettanomyces custersii* dan lain sebagainya (Angela *et al.*, 2020; Chakravorty *et al.*, 2016; Fu *et al.*, 2014.).

Metabolit yang dihasilkan oleh kombucha cukup beragam dikarenakan oleh beragamnya jenis mikroorganisme dalam kombucha ini, yang merubah substrat gula dan larutan teh menjadi berbagai senyawa lain yang berkhasiat kesehatan yaitu beragam jenis asam organik (asam asetat, asam glukoronat, asam laktat, asam karbonat, asam folat, asam glukonat, asam kondroitin sulfat, asam hyaluronic dan

asam usnat), vitamin (B1, B2, B3, B6, B12, B15, dan C) (Uțoiu *et al.*, 2018), asam amino (Zhao *et al.*, 2018), alkohol berkonsentrasi rendah, dan aktivitas yang bermanfaat bagi kesehatan termasuk aktivitas antioksidan, antimikroba, dan hepa-protektif (Jayabalan & Waisundara, 2019; Kapp & Sumner, 2019). Telah diketahui bahwa beberapa penelitian (Gaggia *et al.*, 2019; Gramza-Michalowska *et al.*, 2016; Jakubczyk, Kałduńska, Kochman, *et al.*, 2020) menunjukkan keragaman dinamika profil metabolit dan aktivitas antioksidan dari beragam jenis bahan dan waktu pada proses fermentasi kombucha. Namun, sampai saat ini profil metabolit kombucha dari teh hijau daun rami belum diteliti.

Daun rami disisi lain mengandung senyawa bioaktif yang memiliki berbagai macam khasiat kesehatan seperti flavonoid, polifenol, dan katekin serta aktifitas antikanker yang sangat tinggi (Wulandari *et al.*, 2021). Penelitian yang dilakukan oleh Agustina (2019) mengungkapkan bahwa teh hijau daun rami cenderung memiliki kandungan polifenol yang lebih tinggi dibandingkan dengan teh hijau *Camellia sinensis*, yang berpotensi menjadi alternatif bahan baku pembuatan kombucha teh hijau yang lebih efektif dan ramah lingkungan. Cara pembuatan teh hijau telah diteliti memiliki kandungan polifenol, flavonoid, dan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan jenis pembuatan teh lainnya (Chakravorty *et al.*, 2016; Liczbiński & Bukowska, 2022; Shannon *et al.*, 2018).

Berdasarkan penelitian di atas, maka penelitian terkait fermentasi kombucha menggunakan teh hijau rami (*B. nivea*) untuk meningkatkan dan mendapatkan kandungan metabolit dan aktivitas antioksidan yang optimal, dengan metode baru untuk mengekstraksi kandungan di dalam teh menggunakan residu pada proses fermentasi kombucha, penting untuk dilakukan.

1.2 Identifikasi masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang, identifikasi masalah yang dapat diperoleh adalah:

1. Adakah perubahan profil (jenis dan kadar) metabolit kombucha teh hijau rami berdasarkan lama waktu fermentasi.
2. Adakah peningkatan aktivitas antioksidan kombucha teh hijau rami berdasarkan lama waktu fermentasi.

1.3 Maksud dan tujuan penelitian

Maksud dari penelitian ini adalah untuk melakukan analisis profil metabolit dan aktivitas antioksidan dari kombucha teh hijau rami (*B. nivea* L. Gaud.) selama waktu fermentasi teh terhadap keduanya. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui profil (jenis dan kadar) metabolit serta peningkatan aktivitas antioksidan kombucha teh hijau rami berdasarkan lama waktu fermentasi.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini akan menjadi sumber ilmiah tentang pengaruh waktu fermentasi terhadap perubahan jenis metabolit, peningkatan kadar metabolit kombucha teh hijau rami, dan peningkatan aktivitas antioksidan. Hasil penelitian ini dapat diaplikasikan pada bidang kesehatan dari khasiat kesehatan kombucha teh hijau rami, serta dapat dijadikan acuan untuk metode waktu fermentasi terbaik yang dapat dikembangkan menjadi minuman fungsional.

1.5 Kerangka penelitian

Kombucha sebagai minuman fermentasi telah menjadi salah satu minuman fungsional memiliki berbagai khasiat kesehatan dari kandungan metabolit yang dihasilkan oleh beragam jenis bakteri dan khamir probiotik (Angela *et al.*, 2020). Kandungan yang berkhasiat ini meliputi asam-asam organik, gula, dan vitamin serta beragam jenis asam-asam amino. Asam-asam organik ini meliputi asam asetat, asam glukonik, asam glukoronat, asam sitrat, asam laktat, asam malat, asam tartarat, asam malonik, asam suksinat, asam piruvat, asam usnat. Adapun kombucha juga kaya akan vitamin-vitamin seperti B1, B2, B6, B12 dan vitamin C. Sukrosa, glukosa, dan fruktosa merupakan jenis gula yang umum ditemukan (de Oliveira *et al.*, 2022; Jayabalan *et al.*, 2014). Bakteri asam asetat pada kombucha juga diketahui dapat mengoksidasi gula sukrosa menjadi

Jakubczyk, Kałduńska, Kochman, *et al.*, (2020) pada penelitiannya menemukan bahwa tingkat pH mengalami dinamika kenaikan dan penurunan kandungan berdasarkan waktu fermentasi dengan umur fermentasi 0, 1, 7, dan 14 hari dengan pH akhir mencapai 2.32. Penelitian tersebut didukung oleh Coton *et al.*, (2017) yang juga menunjukkan hasil bahwa pH turun selama waktu fermentasi dengan umur fermentasi hingga 8 hari hingga 3.3, dengan pengujian interval setiap 2 hari dan kontrol. Kadar alkohol menurut Rahmani *et al.*, (2019) mengalami peningkatan pada minggu pertama, kemudian mengalami penurunan pada minggu kedua, yang disebabkan oleh alkohol yang diubah menjadi asam asetat oleh bakteri asam asetat (BAA).

Kadar alkohol juga ditemukan meningkat pada minggu pertama fermentasi (hari ke-1 dan ke-7) dan turun pada minggu kedua fermentasi (hari ke-14)

(Jakubczyk, Kałduńska, Kochman, *et al.*, 2020). Namun Tan *et al.*, (2020) mencatatkan hasil yang sedikit berbeda, teramati bahwa kadar alkohol terus mengalami peningkatan hingga akhir minggu kedua fermentasi (hari ke-14), dan turun di akhir minggu ketiga (hari ke-21). Adapun kandungan alkohol pada minggu ketiga fermentasi belum diuji secara detail pada awal minggu fermentasi.

Neffe-Skocińska *et al.*, (2017) melaporkan bahwa kandungan metabolit kombucha lainnya yaitu asam organik mengalami peningkatan, baik pada asam organik asam asetat dan glukoronat selama waktu fermentasi (hari ke-0, ke-3, 7, 10), hasil tersebut didukung oleh penelitian kadar asam organik kombucha yang juga dilakukan oleh Uțoiu *et al* (2018) yang melaporkan terjadinya peningkatan selama waktu fermentasi (hari ke-0, 5, 9, 13, dan 17) untuk kadar asam asetat dan glukoronat; Jakubczyk, Kałduńska, Kochman, *et al.*, (2020) yang melaporan kenaikan asam asetat 29-2933% selama waktu fermentasi; serta penelitian yang dilakukan oleh Gaggia *et al* (2019) yang melaporkan kenaikan kandungan asam asetat dan glukoronat pada minggu kedua fermentasi (hari ke-14) dibandingkan pada minggu pertama (hari ke-7), teramati terjadi peningkatan hingga 196% dan 137.5%. Adapun asam organik askorbat atau lebih dikenal sebagai vitamin C merupakan produk fermentasi dari BAA yang mengoksidasi alkohol ataupun karbohidrat (Taban & Saichana, 2017) terutama dari spesies *Gluconobacter oxidans* (Lynch *et al.*, 2019) yang ada di berbagai produk fermentasi, terutama kombucha dengan populasi yang dominan (Chakravorty *et al.*, 2016; Coton *et al.*, 2017; Harrison & Curtin, 2021; Kitwetcharoen *et al.*, 2023; Zhao *et al.*, 2018). Sampai saat ini, belum ada penelitian tentang kandungan asam askorbat atau vitamin C pada kombucha secara kuantitatif terutama dinamika kandungan pada

waktu fermentasi, namun telah dikonfirmasi kehadiran vitamin C pada kombucha (Jayabalan *et al.*, 2014; Neffe-Skocińska *et al.*, 2017).

Polifenol pada kombucha juga dilaporkan mengalami kenaikan selama waktu fermentasi pada kombucha berjalan, kenaikan teramati baik pada minggu pertama (hari ke-1 dan ke-7) hingga minggu kedua fermentasi (hari ke-14) (Jakubczyk, Kałduńska, Kochman, *et al.*, 2020). Penelitian serupa yang dilakukan oleh yang juga melaporkan terjadinya kenaikan kadar polifenol yang diikuti kenaikan kadar flavonoid selama waktu fermentasi (dimulai dari hari ke-0, 7, 14, dan 21) . Flavonoid juga teramati meningkat $\pm 28\%$ selama waktu 10 hari waktu fermentasi (Shi *et al.*, 2023).

Penelitian yang dilakukan oleh Chakravorty *et al.*, (2016) menunjukkan bahwa semakin lama waktu fermentasi pada kombucha, maka aktivitas antioksidan akan semakin tinggi. Pengujian antioksidan dilakukan dengan 4 metode pengujian, yaitu DPPH, TEAC, Hidroksil, dan Nitrogen Oksida yang diukur menggunakan kalkulasi konsentrasi antioksidan minimal yang dibutuhkan untuk mengurangi kadar antioksidan 50% (IC50), menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan meningkat selama waktu fermentasi, dengan peningkatan masing-masing 39.7%, 38.36%, 45.8%, dan 43.8% pada hari fermentasi ke-21 dibandingkan kontrol (teh yang tidak difermentasi). Hasil penelitian tersebut sejalan dengan hasil penelitian lain yang melakukan penelitian kombucha dengan waktu fermentasi 0, 4, 8, 12, dan 16 dengan metode pengujian DPPH (Shahbazi *et al.*, 2018). Penelitian tersebut sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Uțoiu *et al.*, (2018) bahwa kandungan antioksidan secara umum cenderung meningkat selama dengan bertambahnya durasi waktu fermentasi selama 1-10 hari.

Berbagai penelitian telah menunjukkan daun rami mengandung senyawa bioaktif yang memiliki berbagai macam khasiat kesehatan seperti flavonoid, polifenol, katekin yang bernilai antioksidan dan antikanker yang tinggi, yang menjadi potensi bahan baku baru dalam pembuatan teh hijau (H. Wang *et al.*, 2019; Wulandari *et al.*, 2021). Terlebih, daun rami ini merupakan biomassa industri agro-tekstil yang menyusun 40% dari berat total tanaman yang belum dimanfaatkan secara optimal (Wulandari, 2017), yang berpotensi menjadi alternatif bahan baku teh hijau *Camellia sinensis* karena memiliki nilai polifenol yang lebih tinggi (Agustina, 2019).

1.6 Hipotesis

Berdasarkan kerangka pemikiran tersebut, maka hipotesis yang dapat diambil adalah sebagai berikut:

1. Ada perubahan profil (jenis dan kadar) metabolit kombucha teh hijau rami berdasarkan lama waktu fermentasi.
2. Ada peningkatan aktivitas antioksidan kombucha teh hijau rami berdasarkan lama waktu fermentasi.

1.7 Metodologi penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tiga tahap, yaitu: tahap persiapan yaitu pembuatan kombucha dengan mengikuti metode Zhou *et al.*, (2022) yang melibatkan residu teh pada tahap fermentasi kombucha; tahap analisis parameter kadar dan jenis gula, etanol (alkohol), dan asam asetat menggunakan *high performace liquid chromatography* (HPLC); total polifenol (folin-ciocalteu), flavonoid, serta aktivitas antioksidan (DPPH, FRAP, dan TEAC) menggunakan spektrofotometer dengan menggunakan sampel dalam masing-masing waktu

fermentasi yaitu hari ke-0, 5, 10, 15 (serta teh sebagai kontrol), dengan pengulangan uji masing-masing perlakuan sebanyak tiga kali (triplo). Tahap akhir adalah dengan menyajikan data dalam bentuk grafik dan dianalisa secara deskriptif.

1.8 Lokasi dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Pusat Studi Bioprospeksi Serat Alam dan Sumber Daya Hayati FMIPA UNPAD, Jl. Singaperbangsa No.2 Kota Bandung, 40132; Laboratorium I-LaB *Integrated Laboratory of Bioproducts* (i-LaB), Pusat Riset Biomassa dan Bioproduk, Badan Riset Inovasi Nasional (BRIN) KST Ir. Soekarno, Jl. Raya Jakarta-Bogor KM 46, Bogor 16911; dan Pusat Riset Kimia Maju, KST BJ. Habibie, Jl. Raya Serpong, Kota Tangerang Selatan 15314. Penelitian dilakukan dari Maret hingga Juni 2023.