

PENGARUH VARIASI KONSENTRASI SUKROSA TERHADAP DERAJAT KEASAMAN DAN TOTAL BAKTERI ASAM LAKTAT KOMBUCHA DAUN SIRSAK (*Annona muricata L.*)

Rosita Sari, Yoni Rina Bintari, Dini Sri Damayanti*
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang (UNISMA)

ABSTRAK

Pendahuluan: Kombucha daun sirsak merupakan minuman probiotik yang berasal dari hasil fermentasi teh daun sirsak dan sukrosa oleh starter kombucha yaitu SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*). Daun sirsak dapat digunakan sebagai bahan dasar untuk pembuatan kombucha karena mengandung senyawa polifenol yang tinggi. Salah satu bakteri pada kombucha yang mempunyai peran sebagai probiotik adalah bakteri asam laktat, sedangkan yang mempengaruhi pertumbuhan dari bakteri asam laktat adalah sukrosa. Penelitian ini bertujuan untuk mengukur total bakteri asam laktat dan derajat keasaman pada kombucha daun sirsak dengan variasi konsentrasi sukrosa berbeda.

Metode: Kombucha daun sirsak dibuat dengan menambahkan sukrosa dengan konsentrasi 5%, 10%, 15% (b/v) serta SCOBY dan difermentasi selama 7 hari. Pengukuran derajat keasaman menggunakan pH meter yang telah dikalibrasi. Penghitungan total bakteri asam laktat dinyatakan dalam *Colony Forming Unit* (CFU)/ml. Hasil dianalisis secara statistik menggunakan uji *one way ANOVA* dengan taraf signifikansi $p \leq 0.05$.

Hasil: Tidak terdapat perbedaan secara signifikan variasi kadar sukrosa terhadap derajat keasaman dan total bakteri asam laktat kombucha daun sirsak. Kadar sukrosa 10% (b/v) pada kombucha daun sirsak mempunyai derajat keasaman $3,30 \pm 0,06$ dan total bakteri asam laktat sebanyak $9,03 \times 10^6 \pm 5,36 \times 10^6$ CFU/ml yang sesuai untuk dikonsumsi.

Kesimpulan: Kombucha daun sirsak konsentrasi gula 10% (b/v) mempunyai derajat keasaman dan total bakteri asam laktat lebih tinggi jika dibandingkan dengan kombucha daun teh sehingga lebih berpotensi sebagai probiotik.

Kata Kunci: *Kombucha, daun sirsak, probiotik, derajat keasaman, total bakteri asam laktat.*

*Korespondensi :

Dr. dr. Dini Sri Damayanti, M.Kes

Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

Alamat : Jl. MT Hayono 193, Malang, Jawa Timur, Indonesia,

65145 e-mail:dinisridamayanti@unisma.ac.id

EFFECT OF SUCROSE CONCENTRATION VARIATIONS ON ACIDITY DEGREE AND TOTAL LACTIC ACID BACTERIA OF SOURSOP LEAF KOMBUCHA (*Annona muricata L.*)

Rosita Sari, Yoni Rina Bintari, Dini Sri Damayanti *
Faculty of Medicine, University of Islam Malang (UNISMA)

ABSTRACT

Background: Soursop leaf kombucha is a probiotic derived from the fermentation of soursop leaf tea and sucrose by a kombucha starter, SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*). Soursop leaf can be used as a basic ingredient for making kombucha because they contain high polyphenol compounds. One of the bacteria in kombucha that acts as a probiotic is lactic acid bacteria, while the one that affects the growth of lactic acid bacteria is sucrose. This study aims to measure the degree of acidity and total lactic acid bacteria in soursop leaf kombucha with different sucrose concentrations.

Method: Soursop leaf kombucha was prepared by adding sucrose with concentrations of 5%, 10%, 15% (w/v) and SCOBY then fermented for 7 days. Measurement of degree of acidity using a calibrated pH meter. The total calculation of lactic acid bacteria is expressed in Colony Forming Units (CFU)/ml. The results were statistically analyzed using one way ANOVA test with a significance level of $p \leq 0.05$.

Results: There was no significant difference in the variation of sucrose concentration on acidity degree and total lactic acid bacteria in soursop leaf kombucha. The sucrose content of 10% (w/v) in soursop leaf kombucha has a degree of acidity of $3,30 \pm 0,06$ and a total lactic acid bacteria of $9,03 \times 10^6 \pm 5,36 \times 10^6$ CFU/ml which is suitable for consumption.

Conclusion: Soursop leaf kombucha with sugar concentration 10% (w/v) has a higher acidity degree and total lactic acid bacteria compared to tea leaf kombucha so it has more potential as a probiotic.

Keywords: *Kombucha, soursop leaf, probiotics, degree of acidity, total lactic acid bacteria.*

*Corresponding author:

Dr. dr. Dini Sri Damayanti, M.Kes

Faculty of Medicine, University of Islam Malang

Address : Jl. MT Haryono 193, Malang City, East Java, Indonesian,

65145 e-mail: dinisridamayanti@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Kombucha merupakan minuman kesehatan hasil fermentasi teh dan sukrosa oleh starter kombucha yaitu *Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast* (SCOBY) yang mengandung beberapa jenis bakteri dan yeast/khamir. Kombucha berkhasiat sebagai minuman yang dapat meningkatkan kekebalan tubuh, mencegah hiperkolesterolemia, mencegah diabetes, antioksidan, antiinflamasi, serta antimikroba. Kandungan asam yang tinggi pada kombucha membuat bakteri patogen tidak dapat bertahan di saluran intestinal. Kombucha juga dapat berfungsi sebagai probiotik karena dapat mencegah ketidakseimbangan mikrobiota intestinal sehingga mencegah terjadinya penyakit degeneratif. Salah satu bakteri pada kombucha yang mempunyai peran sebagai probiotik adalah Bakteri Asam Laktat (BAL)¹.

Kombucha yang telah beredar dipasaran kebanyakan berbasis daun teh (*Camellia sinensis*) karena kadar polifenol yang tinggi². Selain daun teh, kadar polifenol yang tinggi juga terdapat pada daun sirsak (*Annona muricata* Linn.). Sehingga daun sirsak juga bisa digunakan sebagai bahan dasar untuk pembuatan kombucha. Daun sirsak mengandung berbagai senyawa aktif beberapa diantaranya adalah flavonoid, tanin, annonaceous acetogenin, polifenol, dan saponin. Flavonoid dan polifenol merupakan senyawa yang mempunyai potensi sebagai antioksidan yang dapat menangkal dan meminimalisir radikal bebas. Radikal bebas yang berlebihan dalam tubuh dapat memberikan efek yang buruk seperti terjadinya penyakit degeneratif³. Bakteri dan khamir pada proses fermentasi kombucha akan meningkatkan senyawa polifenol⁴.

Fermentasi merupakan proses perubahan kimia yang terjadi pada suatu substrat organik oleh aktivitas enzim yang dihasilkan dari mikroorganisme⁵. Proses fermentasi pada kombucha menggunakan sukrosa dan starter kombucha. Sukrosa akan dipecah oleh khamir menjadi glukosa dan fruktosa. Glukosa dan fruktosa akan dipecah oleh bakteri menjadi etanol dan asam-asam organik seperti asam glukonat, asam asetat, dan asam laktat. Asam organik yang terbentuk tersebut akan menyebabkan kadar asam kombucha meningkat sehingga derajat keasaman kombucha menjadi rendah⁶. Sukrosa yang dirombak oleh khamir berfungsi sebagai energi bagi pertumbuhannya. Hal ini berlangsung sampai sukrosa yang telah ditambahkan pada kombucha berubah menjadi asam-asam organik seperti asam asetat dan asam laktat⁷. Sehingga harapannya kadar sukrosa yang turun selama proses fermentasi akan mengurangi terjadinya resiko peningkatan glukosa darah dalam tubuh ketika kombucha dikonsumsi.

Beberapa hal dapat berpengaruh terhadap proses pembuatan kombucha, salah satunya adalah perbedaan konsentrasi sukrosa. Perbedaan konsentrasi sukrosa berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroba pada kombucha dan

beberapa kandungan senyawa kimia seperti asam organik yang dihasilkan selama proses fermentasi⁸. Jenis substrat juga berpengaruh pada proses pembuatan kombucha. Hal ini disebabkan karena perbedaan kandungan jumlah senyawa katekin dan polifenol yang dapat mempengaruhi aktivitas mikroba dan yeast dalam menguraikan sukrosa⁹. Penelitian tentang kombucha daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) belum banyak dilakukan. Penelitian sebelumnya hanya meneliti aktivitas antibakteri kombucha daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) dengan konsentrasi sukrosa berbeda. Namun pengaruh variasi konsentrasi sukrosa terhadap derajat keasaman dan bakteri asam laktat yang dapat berpotensi sebagai probiotik pada kombucha daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) belum pernah dilakukan sebelumnya. Penelitian ini mengukur derajat keasaman dan total bakteri asam laktat pada kombucha daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) dengan variasi konsentrasi sukrosa berbeda.

METODE PENELITIAN

Desain, Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini tergolong eksperimental dengan menggunakan metode *in vitro*. Penelitian ini dilakukan dari bulan Juni sampai Juli tahun 2021 di Laboratorium Pusat Riset Kedokteran (LPRK) FK Universitas Islam Malang.

Sampel Penelitian

Sampel yang akan diuji adalah kombucha daun sirsak konsentrasi sukrosa 5%, 10%, 15% (b/v) dan kontrol kombucha daun teh. Serbuk daun sirsak telah dideterminasi oleh UPT Laboratorium Herbal Materia Medika Batu dengan nomor surat 074/391/102.7-A/2021. Kombucha daun teh menggunakan sukrosa sebanyak 10% (b/v) dengan lama fermentasi 10-12 hari.

Pembuatan Kombucha Daun Sirsak

Semua alat disterilkan terlebih dahulu sebelum proses pembuatan kombucha. Daun sirsak yang telah dimasukkan kantung teh sebanyak 5 gr disiapkan terlebih dahulu. Air sebanyak 1000 mL dengan variasi sukrosa 5%, 10%, 15% (b/v) direbus hingga mendidih sambil diaduk. Jika air sudah mendidih, kemasan serbuk daun sirsak dimasukkan ke dalam air yang sudah mendidih selama 5 menit, kemudian di saring. Kemudian rebusan daun sirsak dimasukkan ke dalam jar kaca lalu ditunggu hingga suhu mencapai suhu ruangan (20°C). Setelah itu, starter kombucha/SCOBY ditambahkan sebanyak 24 gr pada setiap jar. Jar kaca ditutup dengan tissue kertas dan diikat menggunakan karet. Rebusan daun sirsak tersebut difermentasi selama 7 hari menggunakan suhu ruang dan tidak terpapar sinar matahari secara langsung¹.

Pengukuran Derajat Keasaman

Pengukuran derajat keasaman/pH sampel kombucha daun sirsak dan daun teh dilakukan dengan melakukan kalibrasi pada pH meter terlebih dahulu. Selanjutnya masing-masing sampel diambil 25 ml untuk dimasukkan ke dalam gelas beker. Setekah itu, ujung elektroda dicelupkan ke dalam sampel dan dibiarkan selama beberapa saat sampai diperoleh angka yang stabil. Nilai pH diukur sebanyak 3 kali ulangan¹⁰. Kombucha mempunyai nilai pH sekitar kurang lebih 3,0 - 5,5¹¹.

Analisa Total Bakteri Asam Laktat (BAL)

Sebelum dilakukan analisa total bakteri asam laktat, sampel diencerkan terlebih dahulu. Pengenceran yang dilakukan adalah pengenceran desimal yaitu 10^{-1} sampai 10^{-5} . Pengenceran dilakukan dengan tujuan untuk memperkecil jumlah mikroorganisme yang tersuspensi pada media sehingga pengamatan koloni menjadi mudah. Sampel kombucha daun sirsak dan kombucha daun teh diambil masing-masing sebanyak 1 ml menggunakan pipet dan dimasukkan ke dalam 9 ml larutan NaCl 0,85% steril sehingga mendapatkan pengenceran 10^{-1} . Selanjutnya dihomogenisasi menggunakan vortex. Dilakukan pengenceran lagi sampai 10^{-5} . Kemudian 3 pengenceran terakhir diinokulasikan pada media MRSA (*de Man Rogosa Sharpe Agar*) steril menggunakan metode *spread plate* dan dilakukan inkubasi selama 48 jam dengan suhu 37°C. Pengujian ini dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan. Media MRSA yang digunakan yaitu merek oxoid. Media MRSA mengandung beberapa bahan yang mendukung pertumbuhan bakteri asam laktat diantaranya polysorbat, magnesium, dan mangan. Kandungan lain dari media MRSA yaitu sodium asetat yang dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri lain. Selanjutnya dilakukan pengamatan berdasarkan morfologi koloni yang tumbuh. Koloni yang tumbuh dihitung menggunakan *colony counter* dan dinyatakan dalam *Colony Forming Unit* (CFU)/ml¹². Rumus yang digunakan adalah:

$$\text{Jumlah koloni per ml} = \frac{\text{jumlah koloni}}{\text{tingkat pengenceran}}$$

Analisis data

Data mentah yang diperoleh dimasukkan ke dalam tabulasi data *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versi 22. Kemudian dilakukan uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk*, jika data normal maka dilanjutkan dengan uji homogenitas. Setelah itu dilakukan uji parametrik menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) atau analisa sidik ragam dan dianggap signifikan jika nilai probabilitas ($p \leq 0,05$). Apabila data penelitian tidak homogen dan atau tidak normal atau keduanya maka akan dilakukan uji non parametrik *Kruskall-Wallis*. Tahap selanjutnya yaitu uji *Post Hoc Least Significant Differences* (LSD) untuk mengetahui perbedaan signifikan pada tiap kelompok.

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

Hasil Pengukuran Derajat Keasaman

Hasil pengukuran derajat keasaman pada kombucha daun sirsak pada fermentasi hari ke-7 dengan variasi konsentrasi sukrosa 5%, 10 %, dan 15% (b/v) yang dibandingkan kontrol dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Derajat Keasaman Kombucha Daun Sirsak dan Kombucha Daun Teh

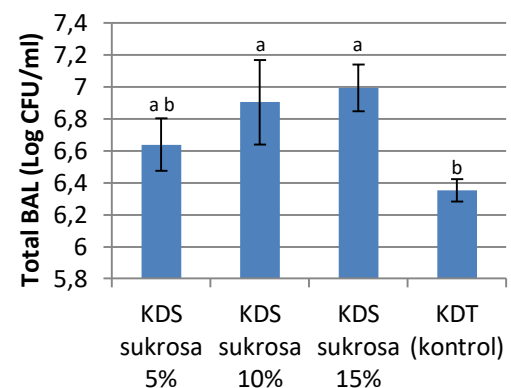
Sampel	Rata-rata \pm SD
Kombucha daun sirsak konsentrasi sukrosa 5 %	3,31 \pm 0,06 ^a
Kombucha daun sirsak konsentrasi sukrosa 10 %	3,30 \pm 0,06 ^a
Kombucha daun sirsak konsentrasi sukrosa 15 %	3,15 \pm 0,12 ^a
Kombucha daun teh (Kontrol)	2,54 \pm 0,09 ^b

Keterangan: Ulangan pengukuran pH dilakukan sebanyak 3 kali. Data yang ditampilkan merupakan hasil Mean \pm SD. Analisa statistik menggunakan uji *One Way ANOVA* kemudian dilanjutkan dengan *LSD* dengan taraf signifikansi $p \leq 0,05$. Tanda huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan.

Tabel 1 menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan secara signifikan variasi kadar sukrosa dalam proses pembuatan kombucha daun sirsak, namun lebih tinggi secara signifikan dibandingkan kontrol kombucha teh.

Hasil Analisa Total Bakteri Asam Laktat (BAL)

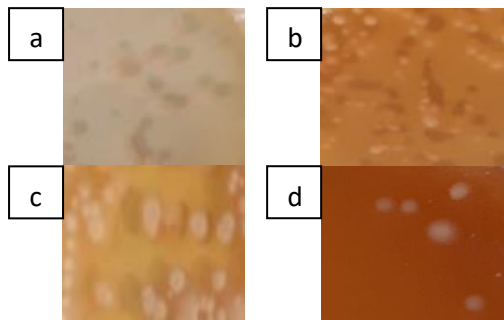
Hasil penghitungan jumlah total bakteri asam laktat kombucha daun sirsak dengan variasi kadar sukrosa 5%, 10 %, dan 15% (b/v) yang dibandingkan dengan kombucha daun teh dapat dilihat pada **Grafik 1**.



Keterangan: CFU adalah *Colony Forming Unit*. KDS adalah Kombucha Daun Sirsak. KDT adalah Kombucha Daun Teh. Ulangan analisa total bakteri asam laktat dilakukan sebanyak 3 kali. Data yang ditampilkan merupakan hasil Mean \pm SD. Analisa statistik menggunakan uji *One Way ANOVA* kemudian dilanjutkan dengan *LSD* dengan taraf signifikansi $p \leq 0,05$. Tanda huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan.

Grafik 1 menunjukkan bahwa kombucha daun sirsak dengan variasi konsentrasi sukrosa 5%, 10%, dan 15% (b/v) tidak berbeda secara signifikan. Kombucha daun sirsak dengan konsentrasi sukrosa 10% dan 15% mempunyai jumlah koloni bakteri asam laktat lebih banyak dibandingkan kontrol kombucha teh. Jumlah total bakteri asam laktat tertinggi didapatkan pada kombucha daun sirsak konsentrasi sukrosa 15% dan jumlah total bakteri asam laktat paling sedikit didapatkan pada kombucha daun teh.

Isolasi bakteri asam laktat yang berasal dari kombucha daun sirsak dan kombucha daun teh menggunakan media MRSA yang selektif terhadap bakteri asam laktat. **Gambar 1** menunjukkan koloni bakteri asam laktat yang tumbuh pada media MRSA.



Gambar 1. Koloni bakteri asam laktat yang tumbuh pada media MRSA

Keterangan : (a)Kombucha daun sirsak konsentrasi sukrosa 5% , (b)Kombucha daun sirsak konsentrasi sukrosa 10%, (c)Kombucha daun sirsak konsentrasi sukrosa 15%, (d)Kombucha daun teh

Tabel 1. Hasil Identifikasi Koloni Bakteri Asam Laktat

No.	Sampel	Morfologi Koloni			
		Bentuk	Elevasi	Tepian	Warna
1.	KDS sukrosa 5%	Bulat	Cembung	Rata	Krem
2.	KDS sukrosa 10%	Bulat	Cembung	Rata	Putih susu
3.	KDS sukrosa 15%	Bulat	Cembung, datar	Rata, irregular	Putih susu
4.	KDT	Bulat	Cembung	Rata	Putih susu

Keterangan: KDS adalah Kombucha Daun Sirsak, KDT adalah Kombucha Daun Teh

Tabel 1 merupakan hasil identifikasi pada koloni bakteri asam laktat. Koloni bakteri asam laktat yang tumbuh pada media dilakukan identifikasi secara makroskopis yaitu mengamati langsung morfologi dari koloni meliputi bentuk, elevasi, tepian, serta warna.

PEMBAHASAN

Derajat Keasaman pada Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.)

Derajat keasaman atau yang disebut pH (*power of hydrogen*) mempunyai arti ukuran kekuatan suatu asam. pH menyatakan tingkat asam atau basa suatu larutan. Pada proses fermentasi, pengukuran pH sangat penting untuk dilakukan karena pH yang optimum harus dipertahankan selama proses fermentasi. Pengukuran pH dapat dilakukan menggunakan alat pH meter¹³.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombucha daun sirsak konsentrasi sukrosa 5% mempunyai derajat keasaman yang tertinggi yaitu $3,31 \pm 0,06$ dan derajat keasaman terendah dimiliki oleh kontrol kombucha daun teh yaitu $2,54 \pm 0,09$. Urutan derajat keasaman kombucha daun sirsak dengan variasi konsentrasi sukrosa dari yang tertinggi sampai terendah yaitu kombucha daun sirsak konsentrasi sukrosa 5%, 10 %, 15% (b/v), namun berdasarkan hasil uji statistik menunjukkan bahwa derajat keasaman pada masing-masing perlakuan relatif sama. Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa pH yang rendah selama proses fermentasi kombucha disebabkan oleh adanya sukrosa yang dimanfaatkan oleh bakteri dan *yeast* sebagai sumber energi dan sebagian lagi akan dimetabolisir lebih lanjut menjadi asam organik. Asam organik tersebut yang akan menyebabkan kadar asam kombucha meningkat sehingga nilai pH menjadi rendah¹⁴. Penelitian yang lain juga menyatakan bahwa pH yang rendah pada proses fermentasi kombucha disebabkan oleh adanya glukosa yang dikonversi menjadi asam organik oleh aktifitas bakteri asam laktat, asam organik tersebut akan melepaskan ion hidrogen sehingga menurunkan pH¹⁵.

Hasil analisa ragam pada penelitian ini menunjukkan bahwa derajat keasaman kombucha daun sirsak dengan konsentrasi sukrosa 5%, 10%, 15% (b/v) memberikan perbedaan yang lebih tinggi secara signifikan dibandingkan kontrol kombucha daun teh. Hal tersebut disebabkan karena waktu proses fermentasi kombucha daun teh yang lebih lama yaitu 10-12 hari. Penelitian yang terdahulu menyatakan bahwa waktu fermentasi berpengaruh terhadap nilai pH, semakin lama waktu fermentasi maka semakin menurun pH yang dihasilkan oleh medium fermentasi¹⁶.

Derajat keasaman yang dimiliki oleh kombucha daun sirsak dengan konsentrasi sukrosa 5%, 10 %, 15% (b/v) secara berturut-turut $3,31 \pm 0,06$; $3,30 \pm 0,06$; $3,15 \pm 0,12$. Hal tersebut menunjukkan kombucha tersebut aman untuk dikonsumsi karena masih dalam batas nilai aman pH kombucha. pH kombucha yang aman untuk dikonsumsi yaitu tidak boleh kurang dari 3,0. pH kombucha dibawah nilai tersebut harus dilakukan pengenceran terlebih dahulu sebelum dikonsumsi¹⁷. Pada umumnya, kombucha mempunyai nilai pH sekitar kurang lebih 3,0 - 5,5¹¹. Konsumsi minuman kombucha dengan pH dibawah 3 akan

membahayakan saluran pencernaan¹⁸. Selain itu, pH minuman kombucha yang terlalu asam menyebabkan kerusakan pada sifat organoleptik kombucha itu sendiri¹⁹.

Total Bakteri Asam Laktat pada Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.)

Kombucha mengandung beberapa bakteri salah satunya adalah bakteri asam laktat yang dapat berpotensi sebagai probiotik²⁰. Koloni BAL didapatkan dengan cara menumbuhkan kombucha daun sirsak konsentrasi sukrosa 5%, 10%, 15% (b/v) dan kombucha daun teh pada media MRSA. Media MRSA merupakan media yang selektif untuk menumbuhkan bakteri asam laktat. Sebelum dilakukan penanaman kombucha pada media, sampel diencerkan terlebih dahulu menggunakan larutan NaCl 0,85 % agar mempermudah dalam proses penghitungan dan menjaga keseimbangan ion sel bakteri²¹. Penghitungan jumlah koloni BAL yang tumbuh pada media dilakukan menggunakan metode hitungan cawan atau *Total Plate Count* (TPC). Prinsip dari metode perhitungan ini adalah sampel ditanamkan pada media sehingga koloni bakteri yang ingin diperoleh dapat tumbuh dan dapat diamati secara langsung. Penghitungan koloni yang tumbuh pada media dinyatakan dalam CFU/ml²².

Hasil penelitian menunjukkan bahwa analisa statistik antar perlakuan tidak memberikan perbedaan yang signifikan, tetapi hasil rerata dari kombucha daun sirsak konsentrasi sukrosa 5%, 10%, dan 15% (b/v) terjadi peningkatan total BAL yaitu dari $4,57 \times 10^6 \pm 1,86 \times 10^6$ CFU/ml ($6,64 \log$ CFU/ml $\pm 0,16$); $9,03 \times 10^6 \pm 5,36 \times 10^6$ CFU/ml ($6,90 \log$ CFU/ml $\pm 0,26$) sampai $10,2 \times 10^6 \pm 3,05 \times 10^6$ CFU/ml ($6,99 \log$ CFU/ml $\pm 0,14$). Hal ini disebabkan karena adanya penambahan konsentrasi sukrosa pada kombucha daun sirsak yang memberikan nutrisi untuk perumbuhan BAL. Hasil penelitian yang telah dilakukan sebelumnya menunjukkan bahwa mikroba membutuhkan sukrosa untuk sumber karbon. Sukrosa tersebut berfungsi sebagai nutrisi mikroba yang selanjutnya akan diubah menjadi etanol, CO₂, serta asam organik²³. Sukrosa merupakan nutrisi yang penting untuk pertumbuhan bakteri asam laktat pada kombucha sebagai sumber energi. Adanya kadar sukrosa yang tinggi dapat memicu pertumbuhan koloni bakteri asam laktat dalam jumlah besar dan cepat²⁴.

Hasil analisa statistik menunjukkan total BAL kombucha daun sirsak konsentrasi 10%, dan 15% (b/v) lebih tinggi secara signifikan daripada kontrol kombucha daun teh yang mempunyai total BAL sebanyak $2,27 \times 10^6 \pm 0,35 \times 10^6$ CFU/ml ($6,35 \log$ CFU/ml $\pm 0,07$). Kombucha daun sirsak mengalami proses fermentasi selama 7 hari sedangkan kombucha daun teh dilakukan proses fermentasi lebih lama yaitu 10-12 hari. Waktu fermentasi memberikan pengaruh terhadap peningkatan total BAL, semakin lama waktu fermentasi maka jumlah total BAL akan semakin

menurun. Hal tersebut disebabkan oleh kandungan alkohol dan asam organik yang dihasilkan selama proses fermentasi akan menghambat pertumbuhan dari BAL. Total BAL akan mengalami peningkatan sampai hari ke-8 proses fermentasi dan akan menurun setelah hari ke-8¹⁵.

Bakteri asam laktat pada kombucha berhubungan dengan derajat keasamannya. Semakin tinggi total bakteri asam laktat maka asam laktat yang dihasilkan juga semakin meningkat sehingga derajat keasaman pada kombucha menjadi rendah¹⁵. Penelitian sebelumnya pada produk fermentasi yogurt menyatakan bahwa sumber karbon yang banyak akan dimetabolisir oleh BAL sehingga asam organik yang dihasilkan semakin banyak dan pH akan rendah²⁵. Kandungan asam yang tinggi pada kombucha membuat pH intestinal menjadi rendah ketika dikonsumsi. Sehingga menyebabkan enzim lipase pankreas dan amilase tidak bekerja. Hal tersebut menyebabkan glukosa dan lemak tidak diabsorpsi. Selain itu, pH intestinal yang menurun menyebabkan bakteri patogen tidak dapat bertahan di saluran intestinal sehingga terjadi peningkatan pemecahan SCFA (*short-chain fatty acid*)²⁶.

Kombucha daun sirsak dengan konsentrasi sukrosa 5%, 10%, 15% (b/v) dan kombucha daun teh telah memenuhi persyaratan total BAL untuk dikategorikan sebagai minuman yang bermanfaat sebagai probiotik. Syarat dari suatu produk dikatakan sebagai probiotik yaitu apabila produk tersebut mengandung total bakteri asam laktat sebanyak $10^6 - 10^9$ CFU/mL²⁷. Strain probiotik mempunyai beberapa manfaat diantaranya peningkatan mikroflora gastrointestinal, pengurangan serum kolesterol, peningkatan sistem kekebalan tubuh, peningkatan metabolisme laktosa, efek antihipertensi, serta pencegahan penyakit pada intestinal^{28,29}.

Hasil identifikasi koloni bakteri asam laktat yang tumbuh didapatkan koloni dengan bentuk bulat, elevasi cembung dan datar, tepian rata dan irregular. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yaitu isolasi BAL genus *Lactobacillus* didapatkan koloni yang bulat, tepian rata, elevasi cembung³⁰. Variasi warna krem dan putih susu pada koloni disebabkan pigmen karotenoid yang dihasilkan oleh bakteri. Penelitian terdahulu menyatakan bahwa koloni BAL yang tumbuh pada media MRSA berwarna krem, kuning, dan putih susu¹².

KESIMPULAN

1. Perbedaan kadar sukrosa 5%, 10%, 15% (b/v) tidak berpengaruh secara signifikan terhadap derajat keasaman dan total bakteri asam laktat kombucha daun sirsak.
2. Kadar sukrosa 10% (b/v) pada kombucha daun sirsak mempunyai derajat keasaman $3,30 \pm 0,06$ dan total bakteri asam laktat sebanyak $9,03 \times 10^6 \pm 5,36 \times 10^6$ CFU/ml yang sesuai

untuk dikonsumsi.

3. Kombucha daun sirsak 10% mempunyai derajat keasaman dan total bakteri asam laktat lebih tinggi jika dibandingkan dengan kombucha daun teh sehingga lebih berpotensi sebagai probiotik.

SARAN

Berdasarkan penelitian ini, beberapa saran untuk mengembangkan dan meningkatkan ilmu pengetahuan mendatang yaitu :

1. Melakukan penelitian lebih lanjut potensi probiotik kombucha daun sirsak dengan parameter lain seperti ketahanan bakteri yang terkandung pada kombucha terhadap asam dan garam empedu sehingga dapat memenuhi kriteria ideal probiotik.
2. Pengamatan derajat keasaman dan total bakteri asam laktat pada kombucha dilakukan per hari selama berlangsungnya proses fermentasi agar dapat dilihat fase pertumbuhan bakterinya dengan lama fermentasi yang sama.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti menyampaikan terima kasih kepada Ikatan Orang Tua Mahasiswa (IOM), Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang, serta kepada Rio Risandiansyah, S.Ked, M.P, Ph.D sebagai *peer reviewer*.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Jayabalan, R., Malbaša, R. V., Lončar, E. S., Vitas, J. S., & Sathishkumar, M. A review on kombucha tea microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. 2014; 13(4), 538–550.
- [2] Sari, P. A., & Irdawati, I. Kombucha Tea Production Using Different Tea Raw Materials. **Bioscience**. 2019; 3(2), 135.
- [3] Handayani, H., Sriherfyna, F. H., Yunianta. Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak Metode Ultrasonic Bath (Kajian Rasio: Pelarut dan Lama Ekstraksi). **Jurnal Pangan dan Agroindustri**. 2016; vol. 4 No. 1 p.262-272.
- [4] Jayabalan, R., Marimuthu, S., & Swaminathan, K. Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation. **Food Chemistry**. 2007; 102(1), 392–398.
- [5] Suryani, Y., Hernaman, I., & Ningsih, N. Pengaruh Penambahan Urea Dan Sulfur Pada Limbah Padat Bioetanol Yang Difermentasi Em-4 Terhadap Kandungan Protein Dan Serat Kasar. **Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu**. 2017; 5(1), 13.
- [6] Kusuma, G. S. P., & Fibrianto, K. Pengaruh Optimasi Lama Fermentasi Terhadap Karakteristik Kombucha Daun Tua Kopi Robusta Dampit Metode Oksidatif Dan Non-Oksidatif. **Jurnal Pangan Dan Agroindustri**. 2018; 6(4), 87–97.
- [7] Neffe-Skocińska, K., Sionek, B., Ścibisz, I., & Kołożyn-Krajewska, D. Contenido de ácido y efectos de las condiciones de fermentación en las propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales de bebidas de té de Kombucha. **CYTA - Journal of Food**. 2017; 15(4), 601–607.
- [8] Yanti, N. A., Ambardini, S., Ardiansyah, A., Marlina, W. O. L., & Cahyanti, K. D. Aktivitas Antibakteri Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Dengan Konsentrasi Gula Berbeda. **Berkala Sainstek**. 2020; 8(2), 35.
- [9] Primiani, C. N., Pujiati, Mumtahanah, M., & Ardhi, W. Kombucha fermentation test used for various types of herbal teas. **Journal of Physics: Conference Series**. 2018; 1025(1).
- [10] Pratama, N., Usman, P., dan Yusmarini. Kajian Pembuatan Teh Kombucha Dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). **Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Pertanian**. 2015; Vol. 2. No. 2.
- [11] Karyantina M, Suhartatik N. Kombucha dengan variasi kadar sukrosa kelapa sebagai sumber karbon. **Jurnal Teknologi dan Industri Pangan**. 2008; Vol 19(2) : 165-169.
- [12] Joni, L. S., Erina, & Abrar, M. Total Bakteri Asam Laktat (BAL) pada Feses Rusa Sambar (*Cervus unicolor*) di Taman Rusa Aceh Besar. **Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner**. 2018; 2(1), 77–85.
- [13] Zulus, A. Rancang Bangun Monitoring pH Air Menggunakan Soil Moisture Sensor di SMK N 1 Tebing Tinggi Kabupaten Empat Lawang. **Jurnal Sistem Komputer Musirawas**. 2017; 2(1), 37–43.
- [14] José Santos Júnior, R., Andrade Batista, R., Alves Rodrigues, S., Xavier Filho, L., & Silva Lima, Á. Antimicrobial Activity of Broth Fermented with Kombucha Colonies. **Journal of Microbial & Biochemical Technology**. 2009; 01(01), 072–078.
- [15] Wistiana, D., Dan Zubaidah, E. Chemical and Microbiological Characteristics of Kombucha from Various High Leaf Phenols During Fermentation. **Jurnal Pangan dan Agroindustri**. 2015; Vol. 3, No. 4: 1446-145.
- [16] Pratiwi, A., & Aryawati, R. Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Sifat Fisik dan Kimia pada Pembuatan Minuman Kombucha dari Rumput Laut *Sargassum*

- sp. **Maspari Journal**. 2012; 04, 131–136.
- [17] Nurhayati, N., Yuwanti, S., & Urbahillah, A. Karakteristik Fisikokimia Dan Sensori Kombucha Cascara (Kulit Kopi Ranum). **Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan**. 2020; 31(1), 38–49.
- [18] Villarreal, S. A., Beaufort, S., Bouajila, J., Souhard, J., & Taillandier, P. Understanding Kombucha Tea Fermentation : A Review. **Journal of Food Science**. 2018; 83 (3). 580-588. ISSN 0022-1147.
- [19] Coton, M., Pawtowski, A., Taminiau, B., Burgaud, G., Deniel, F., Coulloume-Labarthe, L., Fall, A., Daube, G., & Coton, E. Unraveling microbial ecology of industrial-scale Kombucha fermentations by metabarcoding and culture-based methods. **FEMS Microbiology Ecology**. 2017; 93(5), 1–16.
- [20] Bogdan, M., Justine, S., Filofteia, D. C., Petruta, C. C., Gabriela, L., Roxana, U. E., & Florentina, M. Lactic acid bacteria strains isolated from Kombucha with potential probiotic effect. **Romanian Biotechnological Letters**. 2018; 23(3), 13592–13598.
- [21] Papuangan, N., & Nurhasanah. Potensi Senyawa Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi Bakasang Ternate. **Seminar Nasional Riset Inovatif II**. 2014.
- [22] Riadi, S., Setiyawati, D., Situmeang, S. Isolasi Dan Uji Potensi Bakteri Asam Laktat Asal Kimchii Dan Teh Kombucha Dalam Menghambat Bakteri Patogen. **Jurnal Kesmas Prima Indonesia**. 2020; Vol 2 No 1, 25–29.
- [23] Purnami, K. I., Anom Jambe, A. A. G. N., & Wisaniyasa, N. W. Pengaruh Jenis Teh Terhadap Karakteristik Teh Kombucha. **Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)**. 2018; 7(2), 1.
- [24] Rizal, S., Erna, M., & Nurainy, F. Probiotic Characteristic of Lactic Fermentation Beverage of Pineapple Juice with Variation of Lactic Acid Bacteria (LAB) Types. **Indonesian Journal of Applied Chemistry**. 2016; 18(1), 63–71.
- [25] Setiarto, R. H. B., Widhyastuti, N., Fairuz, I. Pengaruh starter bakteri asam laktat dan penambahan tepung talas termodifikasi terhadap kualitas yogurt sinbiotik. **Jurnal Riset Teknologi Industri**. 2017; 18–30.
- [26] Dickmann, M., Schneider, R., Armando, S., Seehusen, K., Hager, P., Strauss, M. J., & Mann, F. M. Analysis of the role of acidity and tea substrate on the inhibition of α - amylase by Kombucha. **Journal of Nutrition, Food Research and Technology**. 2017; 0, 1–5.
- [27] Zommiti M, Feuilloley MGJ, Connil N. Update of Probiotics in Human World: A Nonstop Source of Benefactions till the End of Time. **Microorganisms**. 2020 Nov 30;8(12):1907.
- [28] Saarela M, Mogensen G, Fondén R, Mättö J, Mattila-Sandholm T. Probiotic bacteria: Safety, functional and technological properties. **Journal of Biotechnology**. 2000; 84(3):197–215.
- [29] Nagpal R, Kumar A, Kumar M, Behare PV, Jain S, Yadav H. Probiotics, their health benefits and applications for developing healthier foods: A review. **FEMS Microbiology Letters**. 2012; 334(1):1–15.
- [30] Wardinal, Safika, Ismail, Y., S. Identifikasi Lactobacillus sp pada Orangutan Sumatera (Pongo abelii) Liar Menggunakan Kit API 50 CHL di Stasiun Penelitian Suaq Belimbing Aceh Selatan. **Jurnal Biotik**. 2019; Vol. 7, No. 1, hal. 49-56.