

No. Reg : 191140000020385

## LAPORAN PENELITIAN



### ANALISIS MUTU MIKROBIOLOGIS TEH FERMENTASI KOMBUCHA *(Analysis Microbiologys Quality of Fermented Kombucha Tea)*

Ketua Peneliti

**Diannita Harahap**

NIDN: 2022038701

ID Peneliti: 202203870110000

Anggota

**Febby Yolanda**

Kategori Penelitian	Penelitian Pembinaan Kapasitas
Bidang Ilmu Kajian	Sains dan Teknologi
Sumber Dana	DIPA UIN Ar-Raniry Tahun 2019

PUSAT PENELITIAN DAN PENERBITAN  
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI AR-RANIRY BANDA ACEH  
OKTOBER 2019

**LEMBARAN IDENTITAS DAN PENGESAHAN LAPORAN PENELITIAN  
PUSAT PENELITIAN DAN PENERBITAN LP2M UIN AR-RANIRY TAHUN 2019**

1. a. Judul Penelitian : Analisis Mutu Mikrobiologis Teh Fermentasi Kombucha
- b. Kategori Penelitian : Penelitian Pembinaan Kapasitas
- c. No. Registrasi : 191140000020385
- d. Bidang Ilmu yang diteliti : Sains dan Teknologi
  
2. Peneliti/Ketua Peneliti
  - a. Nama Lengkap : Diannita Harahap
  - b. Jenis Kelamin : Wanita
  - c. NIP<sup>(Kosongkan bagi Non PNS)</sup> : 198703222015032004
  - d. NIDN : 2022038701
  - e. NIPN (ID Peneliti) : 202203870110000
  - f. Pangkat/Gol. : Penata Muda Tk. I/ III (b)
  - g. Jabatan Fungsional : Asisten Ahli
  - h. Fakultas/Prodi : Sains dan Teknologi/Biologi
  
  - i. Anggota Peneliti 1
    - Nama Lengkap : Febby Yolanda
    - Jenis Kelamin : Wanita
    - Fakultas/Prodi : Sains dan Teknologi/Biologi
3. Lokasi Penelitian : Banda Aceh
4. Jangka Waktu Penelitian : 7 (Tujuh) Bulan
5. Th Pelaksanaan Penelitian : 2019
6. Jumlah Biaya Penelitian : Rp. 15.000.000,-
7. Sumber Dana : DIPA UIN Ar-Raniry Banda Aceh Tahun 2019
8. *Output* dan *outcome* Penelitian : a. Laporan Penelitian; b. Publikasi Ilmiah; c. HKI

Mengetahui, Banda Aceh, Oktober 2019  
Kepala Pusat Penelitian dan Penerbitan Peneliti,  
LP2M UIN Ar-Raniry Banda Aceh,

**Dr. Muhammad Maulana, M. Ag.**                      **Diannita Harahap, M.Si.**  
NIP. 197204261997031002                              NIDN. 2022038701

Menyetujui:  
Rektor UIN Ar-Raniry Banda Aceh,

**Prof. Dr. H. Warul Walidin, AK., MA.**  
NIP. 195811121985031007

## PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah Ini:

Nama : **Diannita Harahap**  
NIDN : 2022038701  
Jenis Kelamin : Wanita  
Tempat/ Tgl. Lahir : Jayapura/22 Maret 1987  
Alamat : Jl. Laksamana Malahayati Ds.  
Lampeurada Kel.Kajhu Kec.  
Baitussalam Kab. Aceh Besar  
Fakultas/Prodi : Sains dan Teknologi/Biologi

Dengan ini menyatakan dengan sesungguhnya bahwa penelitian yang berjudul: **“Analisis Mutu Mikrobiologis Teh Fermentasi Kombucha”** adalah benar-benar Karya asli saya yang dihasilkan melalui kegiatan yang memenuhi kaidah dan metode ilmiah secara sistematis sesuai otonomi keilmuan dan budaya akademik serta diperoleh dari pelaksanaan penelitian yang dibiayai sepenuhnya dari DIPA UIN Ar-Raniry Banda Aceh Tahun Anggaran 2019. Apabila terdapat kesalahan dan kekeliruan di dalamnya, sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Banda Aceh, 30 Oktober 2019  
Saya yang membuat pernyataan,  
Ketua Peneliti,

**Diannita Harahap**  
NIDN. 2022038701

## ANALISIS MUTU MIKROBIOLOGIS TEH FERMENTASI KOMBUCHA

### **Ketua Peneliti:**

Diannita Harahap

### **Anggota Peneliti:**

Febby Yolanda

### **Abstrak**

Teh fermentasi kombucha merupakan minuman fermentasi yang telah dikembangkan oleh Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry Banda Aceh. Pada prosesnya melibatkan konsorsium mikroorganisme (bakteri dan khamir). Mutu mikrobiologis menjadi salah satu syarat keamanan pangan yang harus diujikan berkelanjutan. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui mutu mikrobiologis dan kesesuaian dengan baku mutu yang ditetapkan. Adapun parameter yang diujikan yaitu total mikroba, total kapang khamir, total koliform dan total Bakteri Asam Laktat. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif. Metode yang digunakan untuk menghitung total mikroba yaitu Angka Lempeng Total (ALT), menghitung Angka Kapang Khamir (AKK), Most Probable Number (MPN) untuk menghitung total koliform dan ALT Bakteri Asam laktat (BAL) untuk menghitung total Bakteri Asam laktat. Pengujian terhadap empat parameter dilakukan setiap waktu fermentasi 0, 8, 11 dan 14 hari selama empat kali masa produksi berulang. Hasil penelitian menunjukkan total mikroba tertinggi pada hari ke-14 yaitu  $3.8 \times 10^6$  koloni/ml, total kapang khamir tertinggi pada hari ke-14 yaitu  $1.91 \times 10^2$  koloni/ml, total koliform keseluruhan waktu fermentasi  $< 3$  APM/ml, total BAL sebesar  $3.4 \times 10^6$  koloni/ml. Teh kombucha yang diujikan memenuhi standar baku mutu SNI 2009 untuk total koliform  $< 3$  APM/ml dan memenuhi syarat menjadi minuman probiotik dengan syarat total BAL  $> 10^6$  koloni/ml.

**Kata Kunci:** *Keamanan pangan; Mutu mikrobiologis; Probiotik; Kombucha*

## KATA PENGANTAR



Syukur Alhamdulillah kepada Allah SWT dan salawat beriring salam penulis persembahkan kepengkuan alam Nabi Muhammad SAW, karena dengan rahmat dan hidayah-Nya penulis telah dapat menyelesaikan laporan penelitian dengan judul **“Analisis Mutu Mikrobiologis Teh Fermentasi Kombucha”**.

Dalam proses penelitian dan penulisan laporan ini tentu banyak pihak yang ikut memberikan motivasi, bimbingan dan arahan. Oleh karena itu penulis tidak lupa menyampaikan ucapan terima kasih kepada yang terhormat:

1. Bapak Rektor Universitas Islam Negeri Ar-Raniry Banda Aceh;
2. Ibu Ketua LP2M UIN Ar-Raniry Banda Aceh;
3. Bapak Kepala Pusat Penelitian dan Penerbitan UIN Ar-Raniry Banda Aceh;
4. Bapak Dekan Fakultas Sains dan Teknologi;
5. Ibu Ketua Program Studi Biologi;
6. Rekan sejawat pada Program Studi Biologi;
7. Mahasiswa anggota peneliti;
8. Keluarga penulis tercinta.

Akhirnya hanya Allah SWT yang dapat membalas amalan mereka, semoga menjadikannya sebagai amal yang baik.

Harapan penulis, semoga hasil penelitian ini bermanfaat dan menjadi salah satu amalan penulis yang diperhitungkan sebagai ilmu yang bermanfaat di dunia dan akhirat. *Amin ya Rabbal 'Alamin.*

Banda Aceh, 28 Oktober 2019  
Ketua Peneliti,

**Diannita Harahap**

## DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	
HALAMAN PENGESAHAN	
HALAMAN PERNYATAAN	
ABSTRAK.....	<i>iv</i>
KATA PENGANTAR.....	<i>v</i>
DAFTAR ISI .....	<i>vii</i>
DAFTAR TABEL.....	<i>ix</i>
DAFTAR GAMBAR.....	<i>x</i>
DAFTAR LAMPIRAN.....	<i>xi</i>
<b>BAB I : PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Ruang Lingkup.....	4
1.3 Rumusan Masalah.....	4
1.4 Tujuan.....	4
1.5 Manfaat.....	5
<b>BAB II : LANDASAN TEORI</b>	
2.1 Teh Kombucha.....	6
2.2 Fermentasi Teh Kombucha.....	9
2.3 Manfaat Teh Kombucha.....	11
2.4 Mikroorganisme dalam Teh Kombucha.....	14
2.5 Mutu Mikrobiologis Bahan Pangan.....	17
2.6 Standar Keamanan Pangan.....	19
2.7 Bakteri Asam Laktat.....	25
2.8 Bakteri Asam Laktat.....	31
<b>BAB III : METODE PENELITIAN</b>	
3.1 Pelaksanaan Penelitian.....	35
3.2 Alat dan Bahan.....	35
3.3 Prosedur Penelitian.....	35
3.4 Analisis Data.....	39

<b>BAB IV : HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Total Mikroba.....	40
4.2 Total Koliform.....	43
4.3 Total Kapang Khamir.....	46
4.4 Total Bakteri Asam Laktat.....	48
<b>BAB V : PENUTUP</b>	
5.1 Kesimpulan.....	52
5.2 Saran-saran.....	52
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>54</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>61</b>



## DAFTAR TABEL

Tabel 2.3 Perbandingan Kandungan kimia teh hitam dan Teh kombucha.....	13
Tabel 2.4 Populasi mikroba pada teh kombucha.....	15
Tabel 2.6 Standar Mutu Minuman Fermentasi.....	24
Tabel 4.2 Nilai MPN Teh Kombucha.....	42
Tabel 4.3 Total Kapang Khamir Teh Kombucha.....	47

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Inokulum Teh Kombucha.....	9
Gambar 2.2 Reaksi Fermentasi khamir dan bakteri.....	11
Gambar 2.4 Sel batang <i>Acetobacter</i> bersimbiosis dengan <i>Saccharomyces</i> pada matriks selulosa.....	17
Gambar 2.5 Uji negatif Koliform.....	19
Gambar 2.6 Interaksi yeast dan Bakteri Asam Laktat.....	27
Gambar 2.7 Jalur fermentasi dengan bahan utama glukosa....	27
Gambar 4.1 Grafik total mikroba teh kombucha.....	40
Gambar 4.4 Grafik total Bakteri asam laktat teh kombucha ....	49

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Diagram Alur Penelitian.....	61
Lampiran 2 Proses Pembuatan Teh Kombucha.....	62
Lampiran 3 Proses Fermentasi Teh Kombucha.....	63
Lampiran 4 Perhitungan Koloni dengan colony counter.....	64
Lampiran 5 Tabel nilai total mikroba teh kombucha.....	65
Lampiran 6 Nilai Total Bakteri Asam Laktat.....	66
Lampiran 7 Daftar tabel MPN untuk total Koliform.....	67
Lampiran 8 Surat Tugas.....	68
Lampiran 9 Jadwal Penelitian.....	69
Lampiran 10 Rencana Target Capaian.....	71
Lampiran 11 Biodata Peneliti.....	72

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Teh kombucha merupakan salah satu produk minuman fermentasi menyehatkan yang mengandung konsorsium bakteri dan khamir (*yeast*). Minuman ini masuk dalam kategori minuman probiotik yang telah banyak diujikan mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen di saluran pencernaan. Mengingat manfaat yang terkandung dalam minuman fermentasi ini disarankan untuk dikonsumsi rutin setiap hari dengan memperhatikan dosis yang ditentukan. Cita rasa khas minuman fermentasi teh kombucha yaitu asam (banyak orang menyebut cuka) dan manis dengan sensasi menyegarkan tubuh. Namun untuk masyarakat Aceh sendiri minuman ini belum terlalu dikenal.

Manusia sebagai khalifah di dunia diharapkan bernilai manfaat bagi sesamanya maupun makhluk hidup lain di lingkungan sekitar. Pada hakikatnya Allah Swt telah menjanjikan kesejahteraan makhluk hidup tidak terkecuali manusia. Kewajiban utama manusia adalah menjaga alam semesta beserta kekayaan alam sehingga tetap dalam keseimbangan. Mengutip sebuah hadist Al-Najar (2006) yaitu sebaik-baiknya lauk adalah cuka. Ya Allah, berkahilah cuka. Sesungguhnya ia adalah lauk dari para Nabi sebelumku dan tidak akan kekurangan sebuah rumah di dalamnya. Cuka

dalam hadist ini menyangkut semua jenisnya, tidak berbeda satu cuka dengan lainnya.

Teh fermentasi ini merupakan salah satu produk yang telah dikembangkan oleh Program Studi (Prodi) Biologi Fakultas Sains dan Teknologi (FST) yang digagas melalui praktikum Mata Kuliah Mikrobiologi Pangan dan Industri, pernah diikuti dalam pameran pada stan Prodi Biologi pada acara Pionir VIII bulan April 2017 UIN Ar-Raniry Banda Aceh, acara Piyasan Raya bulan April 2018 dalam memperingati Milad Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry Banda Aceh serta pameran produk dalam kegiatan Pengabdian Kepada Masyarakat (PKM) Prodi Biologi bulan Agustus 2018 di ruangan terbuka publik Lapangan Blang Padang Banda Aceh. Namun pengujian mutu mikrobiologi di laboratorium belum pernah dilakukan. Menurut Syah (2012) mutu bahan pangan meliputi kualitas fisik, sensori, kimia, nilai gizi serta mikrobiologis Dalam Jay (2006) disebutkan bahwa standar mutu mikrobiologis merupakan hal yang menentukan keamanan dan daya tahan bahan pangan.

Mutu mikrobiologis yang dimaksudkan yaitu jumlah mikroorganisme (mikroba) yang sesuai standar yang telah ditetapkan. Pemerintah melalui lembaga Badan Standardisasi Nasional (BSN) dan Balai Pengkajian Obat dan Makanan (BPOM) telah memberikan persyaratan terhadap mutu mikrobiologis bahan pangan. Beberapa produk dengan persyaratan mutu mikrobiologis antara lain produk segar, produk olahan siap konsumsi dan produk setengah jadi dan

bahan tambahan pangan (BPOM, 2008). Keberadaan bakteri probiotik juga merupakan salah satu perhatian dan pertimbangan tambahan terhadap mutu produk yang baik dalam hal ini pemeriksaan total Bakteri Asam Laktat (BAL).

Penyimpangan mutu dari standar baku yang ditentukan dapat mengakibatkan produk tidak layak dikonsumsi dan beredar dalam masyarakat. Produk pangan dengan nilai mutu mikrobiologis yang tidak sesuai standar dapat menyebabkan berbagai gejala keracunan pangan seperti pusing, mual, muntah, demam dan diare. Di sisi lain kecenderungan produk dengan mutu mikrobiologis yang tidak sesuai standar akan mengalami kerusakan lebih cepat selama masa penyimpanan. Mutu Mikrobiologi juga dijadikan standar higienitas dalam proses produksi (Shewfelt, 2014). Karyanthina & Nanik (2008) dalam penelitiannya memeriksa mutu mikrobiologi teh kombucha dengan hasil total khamir mikroba sebesar  $7.00 \times 10^4$  koloni/ml. Pada penelitian lainnya Wistiana & Elok (2015) melakukan analisis mutu mikrobiologi teh kombucha dengan hasil total mikroba sebesar  $4.40 \times 10^6$  koloni/ml dan total BAL sebesar  $7.00 \times 10^5$  koloni/ml.

Berdasarkan uraian diatas maka penting untuk dilakukan pengujian lengkap mutu mikrobiologi terhadap produk pangan teh kombucha yang diproduksi oleh Prodi Biologi sehingga produk fermentasi ini dapat dipergunakan sebagai media pembelajaran di Perguruan Tinggi serta layak diperkenalkan luas kepada masyarakat Aceh dan

meningkatkan perekonomian masyarakat dengan terbukanya peluang lapangan pekerjaan baru.

## **1.2 Ruang Lingkup**

Dalam penelitian ini kajian dibatasi pada sampel teh kombucha produksi Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi dan parameter uji mikrobiologis meliputi analisis total mikroba, total koliform, total kapang khamir dan total bakteri asam laktat.

## **1.3 Rumusan Masalah**

Adapun masalah yang tergambar dirumuskan sebagai berikut :

1. Bagaimana mutu mikrobiologis teh fermentasi kombucha yang meliputi total mikroba, total kapang khamir, total coliform dan total bakteri asam laktat ?
2. Apakah mutu mikrobiologis teh fermentasi kombucha sudah sesuai dengan standar baku mutu yang berlaku ?

## **1.4 Tujuan**

Adapun tujuan penelitian ini yaitu mengetahui status kelayakan mutu mikrobiologis teh kombucha yang diproduksi oleh Prodi Biologi dengan :

1. Mengetahui mutu mikrobiologis teh fermentasi kombucha

2. Mengetahui kesesuaian mutu mikrobiologis teh fermentasi kombucha dengan standar baku mutu yang berlaku

### **1.5 Manfaat**

Adapun manfaat yang diperoleh dengan melakukan penelitian ini sebagai berikut :

1. Memberikan gambaran bagi peneliti di lapangan mengenai kelayakan produk untuk dikonsumsi dan diedarkan,
2. memberikan rekomendasi pada Prodi Biologi untuk dapat melakukan sertifikasi produk teh kombucha oleh lembaga terkait,
3. memberikan informasi kepada Universitas dan masyarakat luas mengenai mutu mikrobiologis produk teh kombucha yang diproduksi oleh Prodi Biologi.



## **BAB II**

### **KAJIAN PUSTAKA**

#### **2.1 Teh Kombucha**

Pangan menyumbangkan energi bagi tubuh ketika selesai mengkonsumsinya. Hal tersebut menandakan makanan dan minuman tersebut fungsional dalam menyediakan nutrisi bagi kelangsungan hidup manusia. Pangan fungsional juga diketahui secara ilmiah memiliki efek menguntungkan bagi kesehatan dan kesejahteraan. Menurut Crowe & Fransis (2013) pangan ini memberikan pasokan bahan mikrobiota usus, penyerapan nutrisi dan mengurangi penyakit kronis tidak menular. Namun adakalanya pada pangan fungsional tersebut terdapat komponen non nutrisi yang dapat memberikan efek menyehatkan badan (Kaur & Sing 2017; Tur & Bibiloni 2016; Crowe & Fransis 2013; Shimizu 2012). Telah dilaporkan bahwa bakteri asam laktat, oligosakarida, polifenol, merupakan beberapa bahan yang direkomendasikan sebagai pangan fungsional di masa depan (Shimizu, 2012).

Pangan dapat berupa sediaan segar maupun bahan yang telah melalui pengolahan. Salah satu proses pengolahan yang telah dikenal yaitu fermentasi. Proses ini melibatkan kehadiran mikroorganisme (mikroba) baik yang spontan muncul karena kondisi lingkungan mendukung dan mikroba yang dengan sengaja ditambahkan selama proses berlangsung. Mikroba yang ditambahkan membantu menguraikan bahan

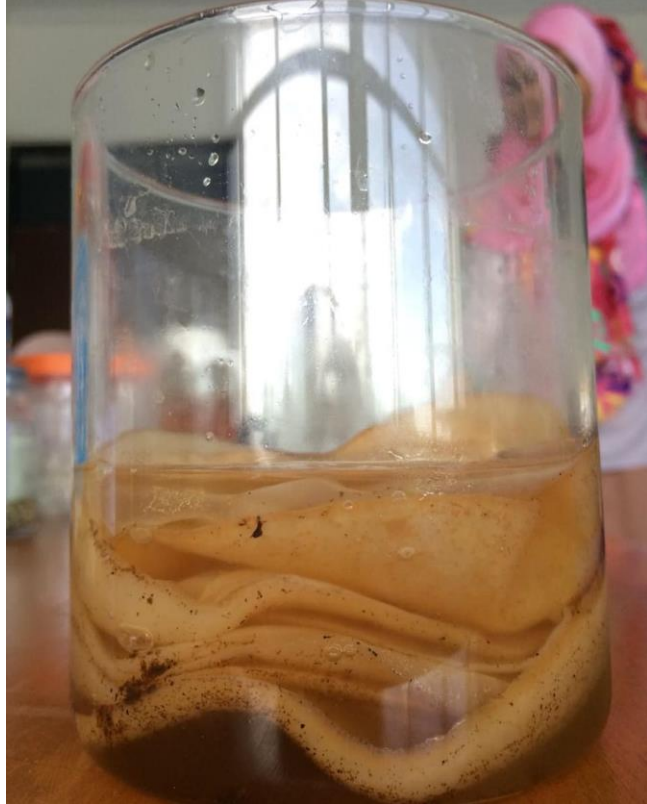
pangan kompleks sehingga menjadi produk baru dengan cita rasa khas.

Teh kombucha merupakan teh fermentasi yang telah dikenal di seluruh dunia. Kombinasi rasa yang dimunculkan dalam produk akhirnya yaitu asam dan manis serta memberikan sensasi menyegarkan tubuh. Teh ini dapat dibuat dengan bahan dasar daun teh hijau maupun teh hitam. Selain itu juga dapat dibuat dari bahan dasar bunga, buah, kulit buah, rempah, kopi dan sebagainya.

Kombucha berasal dari timur laut Cina (Manchuaria) dan sangat dikenal pada Dinasti Tsin (Ling Chi) berkisar antara 220 SM. Kombucha memiliki kemampuan detoksifikasi dan menghasilkan energi maka minuman ini sering dijadikan ramuan penyembuh penyakit pencernaan Kaisar Inkyo. Pada tahun 414 SM tabib tersohor bernama Kombu menawarkan jamur teh ini untuk penyembuhan masalah 'sembelit' sang kaisar. Setelah meminum ramuan ini, kaisar sembuh dari sakitnya. Maka kemudian ramuan ini diberi nama Kombucha berdasarkan nama tabib tersebut. Berita semakin tersebar sehingga ramuan ini juga sering diminum oleh rakyat. Rute perdagangan semakin meluas ramuan kombucha semakin dikenal melalui akses perdagangan hingga ke Rusia (Cainiigrib, Cainii kvass, Japonskigrib, Kambucha, Jsakvasska) dan menyebar ke wilayah Eropa Timur lainnya hingga ke Jerman sekitar abad 20. Selama Perang Dunia II minuman ini dikenalkan kembali di Jerman, pada tahun 1950 sampai ke Perancis dan juga di Afrika Utara. Pada tahun 1960 peneliti

Swiss menemukan bahwa manfaat kombucha setara dengan minuman yogurt dan probiotik lainnya yang terlebih dahulu dikenal (Hartmann *et al.* 2000).

Teh ini merupakan hasil akhir dari proses asosiasi bakteri dan khamir (*yeast*) dengan bahan dasar larutan teh dan gula. Secara fisik teh kombucha dapat diamati dengan dua bentuk, yang pertama lapisan selulosa yang menebal di permukaan seperti *jelly-pancake* (pelikel) dan cairan teh kombucha. Bakteri yang ada dalam minuman ini sebagian besar terdapat pada cairan teh sedangkan khamir tersebar juga pada bentuk *jelly-pancake* yang akan muncul di permukaan selama proses berlangsung. Bentuk ini merupakan pelikel selulosa sebagai hasil dari metabolisme mikroorganisme. Proses yang dilalui adalah perubahan glukosa menjadi etil alkohol (etanol) dan CO<sub>2</sub>. Selanjutnya etanol akan dimetabolisme kembali menjadi sebagian besar asam-asam organik, vitamin dan lain sebagainya. Menurut Jayalaban *et al.* (2014) banyak masyarakat yang salah kaprah menyebutkan istilah jamur kombucha, namun sebenarnya yang dimaksud adalah konsorsium bakteri dan khamir dalam pelikel/selulosa yang terbentuk selama proses fermentasi. Bakteri memiliki kemampuan mensintesis jaringan selulosa mengambang yang nampak seperti jamur di permukaan. Selama prosesnya selulosa yang sedikit demi sedikit terbentuk tidak boleh terguncang oleh karena getaran. Hal ini akan mengakibatkan rajutan selulosa menjadi rusak dan menyatu kembali dengan cairan teh.



**Gambar 2.1.** Inokulum teh kombucha yang terdiri dari pelikel dan cuka (Sumber : Dokumentasi pribadi)

## **2.2 Fermentasi Teh Kombucha**

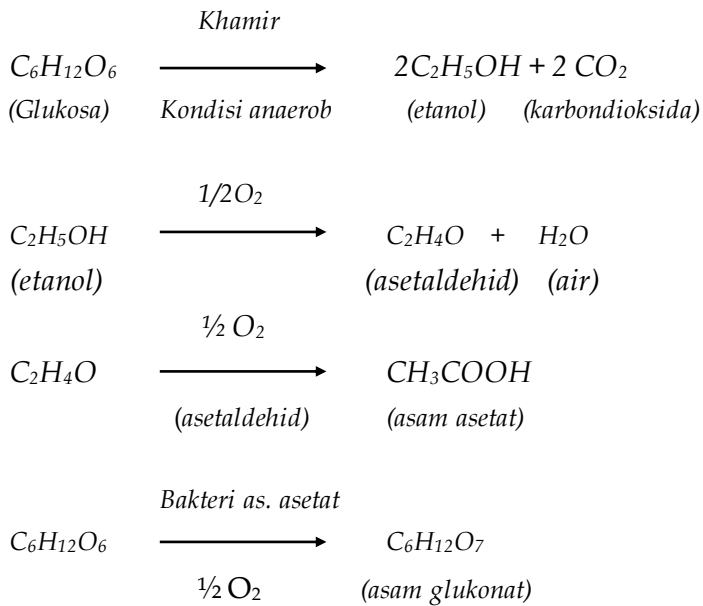
Menurut Ganjar & Syamsurizal (2006), proses fermentasi didukung oleh beberapa faktor yaitu :

1. Inokulum, merupakan bahan yang sengaja ditambahkan kedalam produk sebelum proses berlangsung berupa

- spora, konidia atau sel khamir yang terkandung dalam cairan cuka maupun bentukan pelikel/selulosa,
2. Substrat, merupakan bahan yang akan dirombak oleh inokulum bakteri dan fungi yang ditambahkan,
  3. Bioreaktor, merupakan tempat berlangsungnya proses fermentasi.

Waktu fermentasi yang optimum sangat mempengaruhi kualitas hasil akhir teh kombucha. Fermentasi teh dengan waktu yang lebih lama akan meningkatkan kadar asam mengarah kepada cita rasa cuka dan akan mempengaruhi tingkat kesukaan (Sreeramulu *et al.* 2000). Mikroba yang ditambahkan sebagai inokulum membutuhkan kondisi yang sesuai agar jumlahnya dapat meningkat dan memberikan kontribusi positif terhadap mutu produk yang dihasilkan. Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba yaitu pH, suhu, nutrisi, oksigen, waktu (Fardiaz, 1992). Menurut Buckle (1987) waktu generasi untuk setiap spesies bervariasi. Sedangkan menurut Fardiaz (1992) perbedaan mekanisme pertumbuhan pada tiap setiap spesies dipengaruhi oleh kompleksitas mikroorganisme tersebut. Semakin kompleks mikroorganisme maka semakin lama waktu yang dibutuhkan untuk bertumbuh. Glukosa yang tersedia sebagai substrat dirombak oleh bakteri asam asetat menjadi etanol hingga larutan teh kombucha habis (Wood, 1998). Kemudian etanol dirombak menjadi asetaldehid kemudian berlanjut perombakan

menjadi asam asetat (Prescott & Dunn, 1958). Berikut ini disajikan bagan reaksi sebagai berikut.



**Gambar 2.2** Reaksi fermentasi oleh khamir dan bakteri

### 2.3 Manfaat Teh Kombucha

Manfaat yang akan diperoleh dengan rutin mengonsumsi minuman ini yaitu suplai beragam asam organik, bakteri probiotik, vitamin B dan C, asam amino, enzim, anti oksidan, anti mikroba, perlindungan organ terhadap berbagai penyakit dan sebagainya. Adapun manfaat lain yang telah dilaporkan oleh Dufresne and Farnworth (2000) manfaat lain kombucha yaitu :

1. Mendetoksifikasi darah
2. Menurunkan kadar kolesterol
3. Mengurangi atherosclerosis dengan meregenerasi dinding sel
4. Mengurangi peradangan
5. Mengurangi arthritis dan rematik
6. Memperbaiki fungsi hati
7. Menyeimbangkan fungsi penyerapan usus
8. Menyeimbangkan mikroflora usus
9. Menyembuhkan hemoroid
10. Menyeimbangkan berat badan
11. Mengurangi obesitas dan mengatur nafsu makan
12. Mengurangi infeksi ginjal
13. Mengobati diabetes
14. Mengatur nafsu makan
15. Meningkatkan daya tahan tubuh terhadap kanker
16. Memiliki efek antibiotik terhadap serangan patogen
17. Meningkatkan sistem kekebalan tubuh
18. Menstimulasi produksi interferon
19. Mengurangi gangguan menstruasi
20. Memperbaiki kerusakan kulit, rambut dan kuku
21. Memperbaiki metabolisme secara umum.

Fementasi teh kombucha memiliki kandungan kimia lebih baik jika dibandingkan dengan teh hitam (Tabel 2.3). Kandungan kimia diatas biasanya merupakan senyawa-senyawa yang efektif untuk menjaga kesehatan manusia seperti

antioksidan dalam menangkal radikal bebas penyebab penyakit kanker, polifenol, flavonoid dan asam galat digunakan sebagai bahan antimikroba. Seperti diketahui bahwa teh hitam sendiri merupakan daun teh yang telah mengalami fermentasi terlebih dahulu.

**Tabel 2.3** Perbandingan kandungan kimia teh hitam dan kombucha

Sample	Black tea	Kombucha
Total antioxidants (mg/dl)	589.4±4.6	600.0±2.6 <sup>NS</sup>
Total polyphenols (mg/dl)	64.0±0.7	67.0±0.5 <sup>NS</sup>
Total flavonoids (mg/dl)	143.592±1.2	156.92±1.3*
Gallic acid (mg/dl)	221.579±1.9	422.785±1.8****

Sumber : Lobo *et al.* 2017

Teh kombucha telah diketahui memiliki aktivitas penghambatan terhadap mikroorganisme patogen. Teh yang mengandung 4.36 g teh kering dan 10% sukrosa dan difermentasi dengan jamur teh tidak menunjukkan aktivitas antibiotik dalam minuman selain yang disebabkan oleh asam asetat (Steinkraus *et al.* 1996). Namun, teh kombucha yang mengandung 33 g/L total asam setara dengan 7 g/L asam asetat memiliki khasiat antimikroba terhadap *Agrobacterium tumefaciens*, *Bacillus cereus*, *Salmonella*



*choler-aesuis serotype Typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichiacoli* (Greenwalt *et al.* 1998). Kombucha juga diketahui mampu menghambat *Entamoeba cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *B. cereus*, *E. coli*, *Aeromonas hydrophila*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus epidermis*, *Leuconostoc monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *S. aureus*, *Campylobacter jejuni*, *Helicobacter pylori*, dan *C. albicans*. Teh kombucha digolongkan sebagai ramuan dengan spektrum penghambatan luas terhadap mikroba, artinya memiliki efek bakteriostatik dan bakteriodisidal pada bakteri Gram positif maupun kelompok bakteri Gram negatif (Sreeramulu *et al.* 2000).

#### **2.4 Mikroorganisme (Mikroba) dalam Teh Kombucha**

*Acetobacter xylinum* dan *Saccharomyces cerevisiae* bekerja dalam merombak dengan memecah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa (Loncar *et al.*, 2003), selanjutnya terjadi pemecahan glukosa dan asam organik menjadi etil alkohol (etanol) dan karbondioksida kemudian berlanjut pembentukan asam-asam organik terus menerus hingga gula yang pada larutan kombucha habis. Asam organik yang dihasilkan akan memberikan sensasi asam yang terus meningkat jika fermentasi berlanjut dengan waktu yang lebih lama (Aditiwati & Kusnadi, 2003).

Bakteri asam asetat yang telah teridentifikasi pada teh kombucha antara lain *Komagataeibacter saccharivorans* dan yeast *Zygosaccharomyces bailli* (Mukadam *et al.*, 2016). Pada laporan

lainnya oleh Marsh *et al.* (2014) menyatakan bakteri asam laktat juga terdapat dalam teh kombucha seperti *Lactobacillus kefiranofaciens* subsp. *kefirgranum*.

**Tabel 2.4** Populasi mikroba pada teh kombucha

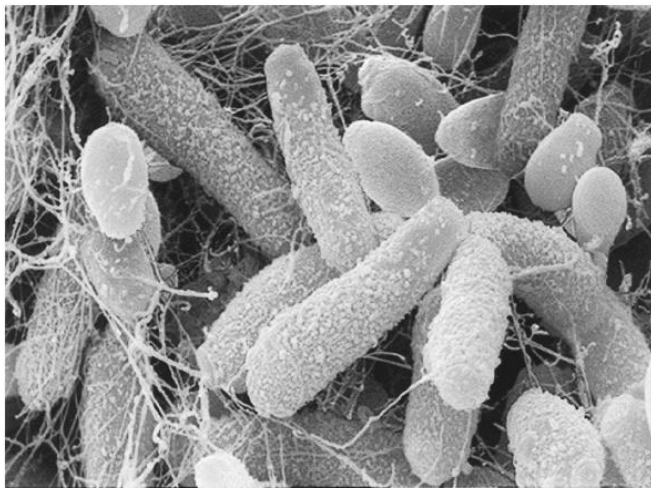
<b>Mikroba</b>	<b>Referensi</b>
<b>Bakteri Asam Asetat</b>	-
<i>Acetobacter xylinum</i>	Greenwalt <i>et al.</i> 2000
<i>Acetobacter xylinoides</i>	Reiss, 1996
<i>Acetobacter aceti</i>	Ayed <i>et al.</i> 2017
<i>Acetobacter pasteurianus</i>	Roos & Vuyst, 2018
<i>Bacterium gluconicum</i>	Reiss, 1996
<i>Gluconobacter</i> sp.	Roos & Vuyst, 2018
<i>Gluconobacter oxydan</i>	Ayed <i>et al.</i> 2017
<i>Komagataebacter</i> sp.	Roos & Vuyst, 2018
<i>Kemogataebacter xylinus</i>	Ayed <i>et al.</i> 2017
<b>Bakteri Asam Laktat</b>	-
<i>Lactobacillus</i> sp.	Marsh <i>et al.</i> 2014
<i>Lactococcus</i> sp.	Marsh <i>et al.</i> 2014
<i>Leuconostoc</i> sp.	Chakravorty <i>et al.</i> , 2016
<b>Yeast</b>	-
<i>Brettanomyces</i>	Ayed <i>et al.</i> 2017
<i>Brettanomyces bruxelensis</i>	Cotton <i>et al.</i> 2017

---

<i>Brettanomyces intermedius</i>	Herrera & Calderon, 1989
<i>Candida</i>	Ayed et al. 2017
<i>Candida fumata</i>	Herrera & Calderon, 1989
<i>Kloeckera apiculata</i>	Cotton <i>et al.</i> 2017
<i>Mycoderma</i>	Ayed et al. 2017
<i>Mycotorula</i>	Ayed et al. 2017
<i>Pichia</i>	Jankovic & Stojanovic, 1994
<i>Pichia membranaefaciens</i>	Herrera & Calderon, 1989
<i>Saccharomyces</i>	Ayed et al. 2017
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> subsp. <i>Aceti</i>	Herrera & Calderon, 1989
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> subsp. <i>Cerevisiae</i>	Cotton <i>et al.</i> 2017
<i>Schizosaccharomyces</i>	Ayed et al. 2017
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	Cotton <i>et al.</i> 2017
<i>Schizosaccharomyces ludwigii</i>	Cotton <i>et al.</i> 2017
<i>Torula</i>	Jankovic & Stojanovic, 1994
<i>Torulasporea delbrueckii</i>	Cotton <i>et al.</i> 2017
<i>Torulopsis</i>	Jankovic & Stojanovic, 1994
<i>Zygosaccharomyces</i>	Ayed et al. 2017
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	Mukadam <i>et al.</i> 2016
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	Herrera & Calderon, 1989

---

Kelompok lain yang juga mengambil peran dalam proses fermentasi adalah bakteri asam laktat. Beberapa genus telah diketahui hadir dalam proses fermentasi kombucha yaitu *Lactobacillus*, *Lactococcus* dan *Leuconostoc* (Marsh *et al.*, 2014; Chakravorty *et al.*, 2016).



**Gambar 2.4** Sel batang *Acetobacter* bersimbiosis dengan *Saccharomyces* pada matriks selulosa kombucha pengamatan dengan *scanning electron micrograph* x 6875 (Greenwalt *et al.*, 2000)

## 2.5 Mutu Mikrobiologis Bahan Pangan

Produk bahan pangan terjamin mutu dan kualitasnya dapat dihasilkan jika produsen memperhatikan aspek keamanan pangan. Adapun hal-hal yang dilakukan yaitu analisis terhadap bahan baku, proses produksi dan produk

yang telah dihasilkan. Analisis yang umum dilakukan terhadap ketiganya adalah analisis mikrobiologi. Selain keamanan bahan pangan, dengan melakukan analisis ini dengan rutin maka jaminan tingkat daya tahan dan daya simpan produk tersebut juga selalu terpantau. Analisis kualitatif, kuantitatif dan uji mikroba indikator sanitasi dilakukan agar memberikan jaminan mutu terhadap konsumen.

Uji kualitatif dilakukan sebagai langkah mengetahui kehadiran mikroba-mikroba yang dapat memberikan akibat negatif pada kesehatan manusia. Uji kuantitatif dilakukan dalam upaya mempertahankan daya simpan suatu produk. Apabila jumlah mikroba melebihi standar yang ditentukan maka indikasinya adalah produk tersebut tidak dapat bertahan lama dikarenakan adanya aktivitas pertumbuhan mikroba dan dihasilkannya produk ekstraseluler mikroba yang dapat merusak bahan pangan.

Menurut Fardiaz (1992) uji kuantitatif terhadap mikroorganisme diantaranya dilakukan dengan menghitung total mikroba yang tumbuh pada media setelah sampel diencerkan. Teknik yang sering digunakan adalah *Standart Plate Counts* (SPC) dengan menggunakan media *Plate Count Agar* (PCA). Prinsip dalam penghitungan metode ini adalah dengan menghitung koloni gabungan yang berderet atau berdekatan dalam cawan sebagai 30-300 koloni. Hasil dilaporkan dalam satuan CFU/ml. Fardiaz juga menuliskan bahwa metode kedua dalam perhitungan mikroba yaitu metode *Most Probable Number* (MPN). Berbeda dengan perhitungan cawan, pada metode ini

biasanya diterapkan pada sampel cair. Jika harus dilakukan pada sampel padat maka sampel tersebut harus diencerkan 1 : 10 terlebih dahulu. Media yang dipergunakan juga berbeda dengan cawan tuang, pada metode ini digunakan media cair. Pada metode ini dilihat kemampuan mikroba dalam sampel dalam memfermentasi laktosa media. Pada umumnya dalam metode MPN digunakan media LB dan BGLB untuk memeriksa cemaran bakteri koliform.



**Gambar 2.5** Uji negatif Koliform pada media LB (tabung durham tidak terangkat dan media tidak berubah keruh)

## **2.6 Standar Keamanan Pangan**

Dalam Martoyo *et al.* (2014) standar dan pengujian merupakan bagian dari sistem manajemen mutu dan keamanan pangan yang dapat mencakup standar untuk parameter mutu dan keamanan. Standar disusun berdasarkan konsensus semua

pihak yang terkait dengan memperhatikan syarat-syarat diantaranya perkembangan ilmu dan teknologi serta pengalaman dan produsen diharapkan menghasilkan produk dengan standar tertentu. Standar mikrobiologi misalnya, merupakan kriteria keamanan mikrobiologi pangan.

Meskipun pengujian pangan tidak dapat menjamin mutu dan keamanan pangan, pengujian dapat meningkatkan keyakinan akan keamanan, pangan terutama apabila GMP dan HACCP telah diaplikasi. Akan tetapi, mikroba umumnya tidak terdistribusi secara homogen dalam pangan, sehingga pengambilan sampel yang tidak acak atau terlalu kecil dapat mengakibatkan kesalahan positif maupun negatif. Berdasarkan hal tersebut, diperlukan rencana sampling dan prosedur analisis yang tepat untuk memperoleh kinerja yang baik. Pada tahun 1997 Codex menerbitkan *Principles for The Establishment and Application of Microbiological Criteria for Foods* (CAC/GL 21-1997) yang sedang direvisi dan pada tahun 2012 pada langkah 5/8. Pedoman tersebut menyatakan bahwa kriteria mikrobiologi harus memenuhi kaidah yang mencakup jenis pangan, proses atau sistem pengawasan keamanan pangan dimana kriteria mikrobiologi ditetapkan; titik dalam rantai pangan tempat kriteria diaplikasikan; mikroba dan alasan penetapannya; batas maksimum mikroba atau batas maksimum lainnya (batas risiko); rencana sampling yang menjelaskan jumlah sampel yang akan diambil, ukuran unit sampel analisis atau yang diperlukan dan jumlah keberterimaan; tindakan yang harus diambil jika tidak memenuhi kriteria; serta metode

analisis. Pada draft revisi, Codex menambahkan komponen tujuan dan indikator kinerja statistik. Format standar mikrobiologi sesuai Codex yang menetapkan rencana sampling menjadi layak diikuti.

Persyaratan cemaran mikroba umumnya tercantum dalam unsur persyaratan SNI (BSN, 2007). Metode uji cemaran mikroba yang dipersyaratkan dalam unsur persyaratan tercantum dalam unsur metode uji. Metode uji mikroba dapat mengacu pada SNI metode uji mikroba jika telah tersedia atau dengan memaparkan ketentuan umum metode uji, pereaksi, peralatan, metode uji alternatif, pemilihan metode uji berdasarkan ketelitian, dan pencegahan duplikasi dan deviasi yang tidak perlu.

Kriteria mikrobiologi pada pangan adalah suatu metrik manajemen risiko yang menunjukkan keterimaan suatu pangan atau kinerja suatu pengendalian proses atau sistem keamanan pangan yang merupakan hasil dari suatu pengambilan contoh dan pengujian mikroba, toksin/metabolitnya atau penanda yang berhubungan dengan kepatogenan atau sifat lainnya, pada titik tertentu dalam suatu rantai pangan (Codex, 2012). Umumnya, kriteria mikrobiologi diaplikasikan untuk penerimaan atau penolakan bahan baku, bahan tambahan, produk dan lot oleh pemerintah atau industri. Kriteria mikrobiologi dapat digunakan pula untuk menentukan proses produksi telah sesuai dengan prinsip umum *higiyene* pangan (CAC/RCP 1-1960). Bagi pemerintah, kriteria mikrobiologi diberlakukan wajib dalam bentuk peraturan dan digunakan



untuk menetapkan atau memeriksa kesesuaian dengan persyaratan mikrobiologi. Sedangkan bagi industri, selain untuk memeriksa kesesuaian dengan peraturan, juga digunakan untuk memformulasi persyaratan desain dan menguji produk akhir sebagai bagian dari verifikasi dan validasi pelaksanaan HACCP.

Kriteria mikrobiologi dapat berupa standar, pedoman dan spesifikasi (ICMSF, 2011). Standar mikroba bersifat mandatori dalam bentuk undang-undang atau peraturan. Kriteria mikrobiologi dalam bentuk pedoman digunakan untuk menunjukkan praktek (penanganan pangan) yang benar. Sedangkan dalam spesifikasi mikrobiologi, kriteria mikrobiologi digunakan sebagai persyaratan yang diminta oleh pembeli terhadap vendor atas bahan baku pangan yang dipesannya. Komponen dalam suatu standar cemaran mikroba dalam pangan menurut *Principles for The Establishment and Application of Microbiological Criteria for Foods* (CAC/GL 211997) adalah: (1) pangan; (2) titik dalam rantai pangan tempat kriteria diaplikasikan; (3) mikroba; (4) batas maksimum mikroba (m dan M); (5) rencana sampling yang menjelaskan jumlah sampel yang akan diambil (n); ukuran unit sampel analisis atau yang diperlukan dan jumlah keberterimaan (c); (7) tindakan yang harus diambil jika tidak memenuhi kriteria; serta (8) metode analisis (Codex, 2012). Pada tahun 2012, Codex melakukan revisi terhadap pedoman tersebut dan menerbitkan draft *Principles for The Establishment and Application of Microbiological Criteria for Foods* (CAC/GL 211997) step 5/8 (Codex, 2013).

Pedoman revisi tersebut menyempurnakan komponen kriteria mikrobiologi yang harus dipenuhi. Komponen baru yang perlu ada adalah tujuan penetapan kriteria mikrobiologi dan indikasi kinerja statistik rencana pengambilan sampel. JEMRA (2013) menyatakan bahwa komponen kriteria mebatas maksimum yang dapat diimplementasikan, metode uji yang digunakan, rencana sampling (ukuran dan jumlah contoh yang akan diperiksa), dan tindakan yang harus dilakukan pada saat batas maksimum mikroba terlampaui.

Komponen tujuan tidak ditetapkan dalam pedoman CAC/GL 21-1997 tetapi tercantum dalam draft pedoman CAC/GL 21-1997 step 5/8 tahun 2012 (Codex, 2013). Tujuan merupakan salah satu komponen yang penting karena merupakan komponen pertama yang harus ditetapkan dalam menyusun kriteria mikrobiologi pangan. Codex menetapkan tujuan penetapan kriteria mikrobiologi pangan diantaranya adalah (1) mengevaluasi lot pangan tertentu untuk menentukan penerimaan atau penolakannya, terutama jika sejarah lot tidak diketahui; (2) memverifikasi kinerja pengawasan sistem keamanan pangan atau unsur-unsurnya di sepanjang rantai makanan, misalnya pada program prasyarat (*prerequisite programs*) dan/atau sistem HACCP; (3) memverifikasi status mikroba dari pangan dalam kaitannya dengan kriteria penerimaan yang ditetapkan antara industri pangan; (4) memverifikasi bahwa tindakan pengendalian yang dipilih sesuai dengan PO (*Performance Objectives*) dan / atau FSO (*Food Safety Objectives* atau sasaran keamanan pangan); atau (5)

memberikan informasi kepada industri pangan, tingkat mikroba yang harus dicapai ketika praktik yang baik diterapkan (Codex, 2013).

**Tabel 2.6** Standar mutu minuman fermentasi

1  
yarat mutu yogurt

No.	Kriteria Uji	Satuan	Yogurt tanpa perlakuan panas setelah fermentasi			Yogurt dengan perlakuan panas setelah fermentasi		
			Yogurt	Yogurt rendah lemak	Yogurt tanpa lemak	Yogurt	Yogurt rendah lemak	Yogurt tanpa lemak
1	Keadaan							
1.1	Penampakan	-	cairan kental - padat			cairan kental - padat		
1.2	Bau	-	normal/khas			normal/khas		
1.3	Rasa	-	asam/khas			asam/khas		
1.4	Konsistensi	-	homogen			homogen		
2	Kadar lemak (b/b)	%	min. 3,0	0,6 - 2,9	maks. 0,5	min. 3,0	0,6 - 2,9	maks. 0,5
3	Total padatan susu bukan lemak (b/b)	%	min. 8,2			min. 8,2		
4	Protein (Nx6,38) (b/b)	%	min. 2,7			min. 2,7		
5	Kadar abu (b/b)	%	maks. 1,0			maks. 1,0		
6	Keasaman (dihitung sebagai asam laktat) (b/b)	%	0,5-2,0			0,5-2,0		
7	Cemaran logam							
7.1	Timbal (Pb)	mg/kg	maks. 0,3			maks. 0,3		
7.2	Tembaga (Cu)	mg/kg	maks. 20,0			maks. 20,0		
7.3	Timah (Sn)	mg/kg	maks. 40,0			maks. 40,0		
7.4	Raksa (Hg)	mg/kg	maks. 0,03			maks. 0,03		
8	Arsen	mg/kg	maks. 0,1			maks. 0,1		
9	Cemaran mikroba							
9.1	Bakteri <i>coliform</i>	APM/g atau koloni/g	maks. 10			maks. 10		
9.2	<i>Salmonella</i>	-	negatif/25 g			negatif/25 g		
9.3	<i>Listeria monocytogenes</i>	-	negatif/25 g			negatif/25 g		
10	Jumlah bakteri starter*	koloni/g	min. 10 <sup>7</sup>			-		

\* sesuai dengan Pasal 2 (istilah dan definisi)

\*Baku mutu disesuaikan dengan minuman yogurt karena belum ada SNI khusus yang mengatur standar cemaran mikrobiologis kombucha

## 2.7 Bakteri Asam Laktat

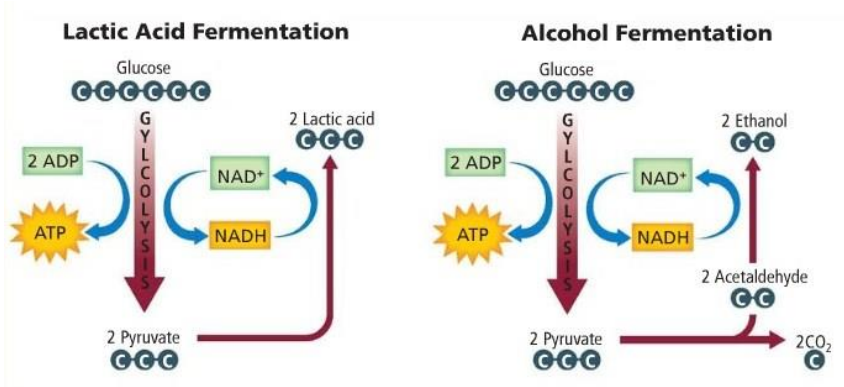
Bakteri asam laktat merupakan kelompok bakteri Gram positif dapat berbentuk batang dan kokus, tidak berspora, Kelompok bakteri ini bersifat anaerob maupun fakultatif anaerob. Bakteri asam laktat sering ditemukan pada proses fermentasi, baik pada makanan maupun di lingkungan. Beberapa diantaranya merupakan mikroflora normal dalam tubuh manusia seperti mengkolonisasi rongga mulut (*Streptococcus*), saluran pencernaan (*Bifidobacter*, *Enterococcus* dan *Lactobacillus*), mukosa vagina (*Lactobacillus*). Di lingkungan kelompok bakteri ini tidak tergolong patogen, sangat bermanfaat dan banyak diaplikasikan dalam kehidupan manusia. Hanya sebagian kelompok hemolitik *Streptococcus* dan sedikit anggota *Enterococcus* yang dilaporkan patogen penyebab endocarditis atau infeksi saluran kemih (Teuber, 2008).

Bakteri asam laktat telah diakui sebagai probiotik mendunia yang dapat meningkatkan penyerapan nutrisi, gangguan usus, meningkatkan kekebalan tubuh dan mengoptimalkan ekologi usus (Moreanu *et al.* 2014). Probiotik Bakteri asam laktat yang dimaksud tergolong dalam genus *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus* dan *Leuconostoc*. Dengan kelompok genus *Lactobacillus* sebagai kelompok yang paling sering digunakan, kelompok bakteri ini dinilai memberikan manfaat sebagai probiotik (Pundir *et al.* 2013). Menurut Kozyrovska *et al.* (2012) kombucha telah dibuktikan sebagai sumber bakteri asam laktat yang dapat digunakan sebagai probiotik yang

bermanfaat bagi kesehatan manusia. Kehidupan konsorsium bakteri asam laktat dalam minuman kombucha terlihat dalam ilustrasi dibawah ini.



**Gambar 2.7** Interaksi antara khamir (yeast) dengan Bakteri asam laktat *Lactobacillus* dan *Lactococcus* (Teuber, 2008)



**Gambar 2.7.1** Jalur fermentasi dengan bahan utama glukosa  
(<http://agroteknologi.id>)

Fermentasi glukosa dibedakan dalam dua jalur utama yaitu glikolisis (*Embden-Meyer Pathway*) yang menghasilkan produk akhir asam laktat secara keseluruhan (homofermentatif) dan jalur *6-phosphogluconat/ phosphoketolase* yang juga menghasilkan sejumlah besar produk akhir lainnya, seperti etanol, asam asetat dan CO<sub>2</sub>. Beberapa genus penting yang tergolong dalam bakteri asam laktat antara lain *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Paralactobacillus*, *Pediococcus*, *Streptococcus* dan *Weissella* (Leistner, 2000). Genus *Leuconostoc* dan beberapa spesies anggota genus *Lactobacillus* dikategorikan dalam jenis heterofermentatif obligat (Caplice & Fitzgerald, 1999), bakteri genus ini mendegradasi heksosa menjadi asam laktat dan produk sampingan lainnya seperti asam asetat, etanol, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan bakteriosin serta mendegradasi pentosa menjadi asam laktat dan asam asetat (Lyhs *et al.* 2002).

Pengelompokan BAL didasarkan pada reaksi Gram dan produksi asam laktat dari berbagai jenis karbohidrat terfermentasi. *Lactobacillus* termasuk bakteri gram positif, sel tidak berspora, berbentuk batang panjang serta bersifat anaerob fakultatif dan katalase negatif (Prescott *et al.*, 2002). Media selektif untuk pertumbuhan spesies bakteri asam laktat adalah deMan-Rogosa-Sharpe Agar (MRS Agar) (Holt *et al.*, 2000).

BAL mampu memproduksi substansi antimikroba yang dapat menekan pertumbuhan bakteri patogen. Selain itu BAL memiliki kemampuan untuk menempel pada sel epitel usus, serta akan terjadi peningkatan sel lempengan peyer sebagai indikasi tersekresinya immunoglobulin (IgA) yaitu suatu reaksi terbentuknya kekebalan terhadap infeksi bakteri (Ouweland & Vesterlund dalam Salminen *et al.* 2004).

BAL dikenal merupakan mikroorganisme yang *Generally Recognized as Safe* (GRAS) yaitu mikroorganisme yang tidak menimbulkan resiko kesehatan dan juga menguntungkan bagi kesehatan. Maka dari itu dalam aplikasinya BAL sering diberi label *Food Grade Microorganism* (Seppo *et al.* 2004). Bakteri asam laktat digolongkan dalam dua kategori yaitu:

- 1). Bakteri homofermentatif: glukosa difermentasi menghasilkan asam laktat sebagai satu-satunya produk. Bakteri dalam kelompok ini akan mengubah heksosa menjadi asam laktat dalam jalur Embden-Meyerhof (EM) dan tidak dapat memfermentasikan pentosa atau glukonat, asam laktat menjadi satu-satunya produk. Contoh: *Streptococcus*, *Pediococcus*, dan beberapa *Lactobacillus* (Kusuma, 2009).

2). Bakteri heterofermentatif: glukosa difermentasikan selain menghasilkan asam laktat juga memproduksi senyawa-senyawa lainnya yaitu etanol, asam asetat dan CO<sub>2</sub>. Heksosa difermentasikan menjadi asam laktat, karbon dioksida, dan etanol (atau asam asetat sebagai akseptor elektron alternatif). Pentosa lalu diubah menjadi laktat dan asam asetat. Contoh: *Leuconostoc* dan beberapa spesies *Lactobacillus* (Kusuma, 2009).

Kemampuan dalam menghasilkan eksopolisakarida banyak dimiliki oleh mikroba. Tidak terkecuali dimiliki oleh jenis bakteri. Mikroba dapat menyusun polisakarida yang disimpan pada sitoplasma, yaitu dinding sel dari polisakarida struktural seperti peptidoglikan dan asam lipotekoit pada bakteri Gram positif. Sedangkan pada bakteri Gram negatif, polisakarida ini disimpan sebagai lipopolisakarida pada membran terluar. Disisi lain beberapa bakteri juga mampu mensekresikan lapisan polisakarida pada permukaan sel yang bergabung dengan glikoprotein dan biasa disebut glikokaliks. Polisakarida ini tidak digunakan sebagai sumber karbon dan sumber energi (Harrah, 2006). Eksopolisakarida ini digunakan oleh bakteri untuk melindungi diri dari cekaman lingkungan. (Santi, 2008).

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi proses fermentasi diantaranya :

a. Suhu

Suhu merupakan faktor yang terpenting yang mempengaruhi dan menentukan mikroba yang dominan dalam fermentasi. Suhu optimal mikroba berkisar antara 37 - 42 °C.



Suhu yang terlalu tinggi mengakibatkan kematian bagi mikroba. Sedangkan suhu yang terlalu rendah mengakibatkan mikroba tidak aktif.

b. Oksigen

Setiap mikroba membutuhkan oksigen yang berbeda jumlahnya. Oleh sebab itu, kadar oksigen dalam fermentasi harus diatur.

c. pH

pH substrat atau media fermentasi merupakan salah satu faktor yang menentukan kehidupan *Lactobacillus*. Salah satu sifat *Lactobacillus* adalah bahwa pertumbuhan dapat berlangsung dengan baik pada kondisi pH 5,5 - 6,5.

d. Substrat dan komposisi

Mikroba membutuhkan substrat untuk tumbuh. Oleh sebab itu kadar substrat mempengaruhi jalannya fermentasi. Kadar substrat berhubungan erat dengan komposisi kimianya (Oyon & Yusti, 1988). Medium pertumbuhan harus mengandung nutrisi yang cukup agar bakteri dapat berkembang dengan baik. Kekurangan nutrisi dapat menyebabkan kematian bagi bakteri, sehingga fermentasi tidak optimal.

e. kondisi aseptik

Aseptis merupakan kondisi yang bebas dari kontaminan. Apabila terdapat kontaminan, maka proses fermentasi tidak dapat berjalan optimal.

f. Inokulum

Inokulum bakteri yang disiapkan harus dalam keadaan aktif sehingga dapat mempersingkat fase adaptasi pada saat fermentasi.

## 2.8 Perhitungan Mikroba

Mikroba dapat diketahui kuantitas tumbuh pada sebuah media dengan beberapa metode yaitu secara langsung dan tidak langsung, diantaranya :

a. Metode Petroff-Hauser

Penghitungan secara langsung dapat dilakukan dengan cara mikroskopis, yaitu dengan menghitung jumlah bakteri dalam satuan isi yang sangat kecil. Alat yang digunakan adalah Petroff-Hauser Chamber atau *Haemocytometer*. Jumlah cairan yang terdapat antara *cover glass* dan alat ini mempunyai volume tertentu sehingga satuan isi yang terdapat dalam satu bujur sangat juga tertentu. Ruang hitung terdiri dari 9 kotak besar dengan luas 1 mm<sup>2</sup>. Satu kotak besar di tengah, dibagi menjadi 25 kotak sedang panjang 0,2 mm. satu kotak dibagi lagi menjadi 16 kotak kecil. Dengan demikian satu kotak besar tersebut berisi 400 kotak kecil. Tebal dari ruang hitung ini adalah 0,1 mm. tinggi contoh yang terletak antara gelas objek dengan gelas penutup adalah 0,02 mm (Fardiaz, 1992).

b. Metode Plate Count

Ada dua metode *plate count* yang sering digunakan, yaitu metode sebaran dan metode tuang. Asumsi

digunakannya metode ini adalah bahwa setiap satu sel mikroba dapat tumbuh dan akhirnya membentuk satu koloni yang dapat dilihat dengan kasat mata. Pada metode sebaran, volume yang dibutuhkan adalah 0,1 ml agar sampel tersebut dapat tersebar, terendam, dan teresap. Hal ini karena jika lebih, maka sampel akan mengendap dan mengumpul, sehingga menyulitkan dalam perhitungan (Alimuddin, 2008).

c. Penentuan volume total

Cara ini adalah semacam modifikasi penentuan *hematocrit* pada pengukuran volume total butir-butir darah, misalnya 10 mL biakan dimasukkan ke dalam tabung reaksi khusus (tabung *Hopklins*) yang bagian bawahnya berupa silinder dan bergaris ukuran (Hadieotomo, 1990).

d. Metode Turbidimetri

Teknik ini sudah dipakai sebagai cara mengukur *kekerhan suspense* atas dasar penyerapan dan pemencaran cahaya yang dilintaskan, sehingga yang mengandung lebih dari  $10^7$  -  $10^8$  sel/mL, tampak lebih keruh terlihat oleh mata telanjang. Suatu volume biakan yang telah ditakar ditempatkan dalam tabung khusus yang jernih dengan diameter tertentu (Hadieotomo, 1990).

e. Metode Most Probable Number (MPN)

*Most Probable Number* dalam bidang kesehatan masyarakat dari mikrobiologi pangan dipergunakan secara luas untuk menghitung jumlah bakteri yang ada dalam bahan pangan. Media ini banyak digunakan untuk menghitung bakteri patogenik dalam jumlah sedikit yang terdapat dalam

bahan pangan. Metode ini berdasarkan atas pengenceran. Apabila suatu larutan yang mengandung sel-sel mikroorganisme diencerkan terus menerus, akhirnya akan diperoleh suatu larutan dimana tidak dijumpai sel lagi, yaitu dikatakan steril (Buckle *et al.* 1985).

Metode MPN digunakan medium cair di dalam tabung reaksi, dimana perhitungan dilakukan berdasarkan pada jumlah tabung yang positif, yaitu yang ditumbuhi oleh jasad renik setelah inkubasi pada suhu dan waktu tertentu. Pengamatan tabung yang positif dapat dilihat dengan mengamati timbulnya kekeruhan, atau timbulnya gas di dalam tabung kecil (tabung Durham) yang diletakkan pada posisi terbalik, yaitu untuk jasad renik pembentukan gas. Untuk setiap pengenceran pada umumnya digunakan tiga atau lima seri tabung. Lebih banyak tabung yang digunakan menunjukkan ketelitian yang lebih tinggi, tetapi alat gelas yang digunakan juga lebih banyak (Fardiaz, 1992).

#### f. Metode Hitung Cawan

Metode perhitungan cawan didasarkan pada anggapan bahwa setiap sel yang hidup dapat berkembang menjadi koloni. Jadi jumlah koloni yang muncul pada cawan adalah indeks bagi jumlah mikroorganisme yang terkandung dalam sampel. Teknik yang harus dikuasai dari metode ini adalah mengencerkan sampel dan memindahkan ke dalam cawan hasil pengenceran tersebut. Setelah inkubasi, jumlah semua koloni diamati untuk memenuhi persyaratan statistik. Cawan yang dipilih untuk menghitung koloni adalah cawan yang

mengandung antara 30 - 200 koloni. Organisme yang terdapat dalam sampel asal ditentukan dengan mengalikan jumlah koloni yang terbentuk dengan faktor pengenceran pada cawan yang bersangkutan (Waluyo, 2007).

g. Berdasarkan kekeruhan

Salah satu metode cepat yang digunakan untuk menghitung massa sel adalah melalui perhitungan kekeruhan (*turbidity*). Kekeruhan dapat diukur dengan menggunakan fotometer atau spektrofotometer. Pengukuran kekeruhan ini didasarkan atas partikel-partikel kecil yang menyebarkan cahaya langsung secara proposional (sampai batas-batas tertentu) dengan konsentrasinya. Cahaya yang melewati tabung yang berisi suspensi mikroba, sehingga cahaya akan dihamburkan (Pelczar, 1989).

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Pelaksanaan Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry dan laboratorium Mikrobiologi Balai Standardisasi (Baristand) Industri Banda Aceh. Pelaksanaan penelitian dari bulan Mei - September 2019.

#### **3.2 Alat dan Bahan**

Bahan yang digunakan antara lain teh kombucha dengan waktu fermentasi 0, 8, 11 dan 14 hari yang diproduksi oleh Prodi Biologi. Bahan lainnya seperti akuades, Plate Count Agar (PCA), potato dextrose agar (PDA), Lactose Broth (LB), Brilliant Green Lactose Bile Broth (BGLB), de Man Rogosa Sharpe Agar (MRSA), buffer posfat dan pepton water dan alkohol 70%. Alat yang digunakan antara lain refrigerator, waterbath, cawan petri, Erlenmeyer, gelas ukur, tabung reaksi, kertas saring, inkubator, *colony counter*, blender, autoklaf, oven, neraca analitik, pipet volum, termometer, spatula dan batang pengaduk.

#### **3.3 Prosedur Penelitian**

##### **3.3.1 Pembuatan Teh Kombucha**

Mendidihkan air minum dalam kemasan  $\frac{1}{4}$  dari total volume air sebanyak 500 mL yang digunakan. Setelah air

mendidih maka api kompor dimatikan. Masukkan 2-3 sdm daun teh kedalam air mendidih tadi, kemudian tutup rapat panci agar mengurangi penguapan bahan aktif. Kemudian air seduhan daun teh disaring untuk memisahkan daun dengan air teh. Kemudian ditambahkan gula 10% (b/v) sebanyak 200 gram dan dilarutkan. Disaring agar air teh bersih. Kemudian air teh dimasukkan stoples yang terbuat dari kaca. Setelah itu masukkan sisa air minum dalam kemasan  $\frac{3}{4}$  bagian sebanyak 1500 ml. Starter kombucha cair 200 mL. Tuangkan cairan teh yang telah ditambahkan starter kombucha cair kedalam 4 stoples kaca dengan ukuran yang lebih kecil dan seragam. Tambahkan scoby diameter 9 cm yang sebelumnya telah dipotong menjadi 4 bagian. Stoples diberi label masing-masing 0, 8, 11, 14 hari. Tutup dengan tisu dan dikat dengan karet. Fermentasi dilakukan pada suhu ruang ( $28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) dan tidak terlindung dari cahaya dan sinar matahari. Kemudian pengujian terhadap mutu mikrobiologis dilakukan terhadap waktu fermentasi yang ditentukan. (Wistiana & Elok, 2015).

### **3.3.2 Preparasi Sampel**

Tahapan persiapan dan pengenceran sampel teh kombucha waktu fermentasi 0, 8, 11 dan 14 hari dilakukan dengan memasukkan masing-masing sebanyak 15 ml sampel dalam botol pengencer yang telah berisi 125 ml larutan buffer pepton, lalu diaduk hingga homogen. Pengenceran dilakukan berseri hingga  $10^{-6}$ . Pengenceran dilakukan dengan mencampurkan 1 mL teh kombucha dalam 9 mL buffer pepton

kemudian dihomogenkan dengan vorteks selama 1 menit. Pengenceran berikutnya dilakukan dengan mencampurkan 1 mL teh kombucha dari pengenceran sebelumnya ke dalam 9 mL buffer pepton kemudian dihomogenkan kembali. Demikian seterusnya secara berseri hingga diperoleh faktor pengenceran yang dikehendaki.

### **3.3.3 Analisis Total Mikroba**

Total mikroba dihitung dengan metode total plate count dengan mengambil 1 mL sampel pengenceran dan masing-masing dituangkan dalam cawan petri dari dua faktor pengenceran berturut. Selanjutnya media PCA cair dituangkan ke dalam cawan petri sebanyak 15-20 mL. Cawan petri perlahan diputar dan digerakkan dengan hati-hati membentuk angka delapan hingga sampel dan media tercampur merata. Tahap selanjutnya adalah inkubasi semua cawan petri pada posisi terbalik pada suhu 28 °C selama 24-48 jam. Penghitungan pertumbuhan koloni dilakukan dengan menandai koloni yang tumbuh hingga memenuhi 30-300 koloni. Total mikroba dihitung dengan mengalikan jumlah koloni yang tumbuh dengan faktor pengenceran dalam satuan CFU/mL (Maturin & Peeler, 2001).

### **3.3.4 Analisis Total Koliform**

Total koliform dapat diamati dengan menerapkan metode Angka Paling Mungkin (APM). Langkah-langkah dalam pengujian meliputi uji pendugaan dan uji penegasan.



Sebanyak 1 mL sampel hasil pengenceran dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 9 mL Lactose Broth (LB). Didalam tabung reaksi telah sebelumnya dimasukkan tabung durham posisi terbalik. Analisis menggunakan seri 3 tabung. Masing-masing seri terdiri atas 3 tabung. Kemudian dilakukan inkubasi pada suhu  $36 \pm 1$  °C selama 24-48 jam. Tabung positif ditandai dengan perubahan warna media menjadi keruh dan adanya gas pada tabung durham terbalik sehingga tabung terangkat naik. Tabung yang dinyatakan positif akan dilanjutkan pada uji penegasan. Sebanyak 1 ose pada tabung positif sebelumnya dipindahkan pada tabung berisi 10 mL media BGLB 2% yang telah sebelumnya diletakkan tabung durham terbalik. Tabung positif ditandai dengan adanya kekeruhan dan adanya gas pada tabung durham. Adanya tabung keruh dan gas menegaskan keberadaan koliform. Jumlah tabung yang keruh dan terdapat gas kemudian kombinasi angka yang diperoleh akan dicocokkan dengan tabel Angka Paling Mungkin (APM). Nilai total koliform memiliki satuan APM/mL (Faridah *et al.* 2013).

### **3.3.5 Analisis Total Kapang Khamir**

Total kapang khamir dihitung dengan menumbuhkan sampel pada media PDA. Sebanyak 1 mL sampel disebar dalam cawan petri yang berisi media PDA dalam cawan dengan bantuan batang penyebar. Inkubasi dilakukan pada suhu 25 °C selama 3-5 hari. Hasil pengamatan terhadap koloni yang

tumbuh dihitung jumlah kapang khamir (Maturin & Peeler, 2001). Adapun rumus total kapang khamir.

$$ALT = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0.1 \times n_2) \times d]}$$

Keterangan :

C = jumlah koloni tiap cawan petri

n<sub>1</sub> = jumlah petri dari pengenceran pertama yang dihitung

n<sub>2</sub> = jumlah petri dari pengenceran kedua

d = pengenceran pertama yang dihitung

### **3.3.6 Analisis Bakteri Asam Laktat (BAL)**

Total BAL dihitung dengan metode hitung cawan dengan mengikuti metode yang dilakukan Fardiaz (1993). Pengenceran bertingkat dilakukan hingga tingkat pengenceran 10<sup>-8</sup>. Sebanyak 1 mL sampel pengenceran 10<sup>-6</sup> - 10<sup>-8</sup> masing-masing ditanam pada media deMan Rogosa Sharpe Agar (MRSA). Kemudian, cawan petri digerakkan perlahan vertical atau horizontal membentuk angka delapan agar homogen. Setelah padat, cawan tersebut diinkubasi dengan posisi terbalik pada suhu 37 °C selama 48 jam. Koloni yang tumbuh dihitung dan jumlah dikalikan faktor pengenceran untuk memperoleh jumlah total BAL.

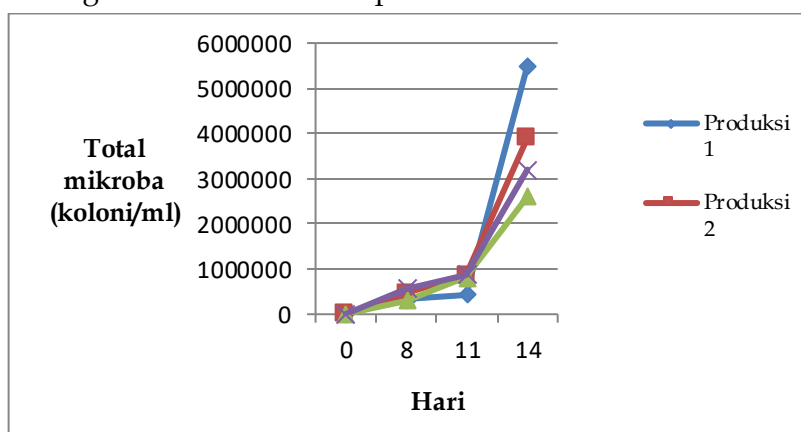
## **3.4 Analisis Data**

Data yang diperoleh dari hasil pengujian di laboratorium mengenai total mikroba, kapang khamir, Coliform dan BAL dianalisis secara deskriptif.

## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1. Total Mikroba

Berdasarkan pengujian yang telah dilakukan terhadap empat kali produksi teh kombucha, data penelitian disajikan dalam grafik total mikroba seperti di bawah ini.



Gambar 4.1. Grafik total mikroba teh kombucha

Gambar diatas menjelaskan mengenai total mikroba pada waktu fermentasi 0, 8, 11 dan 14 hari pada empat kali produksi. Total mikroba menunjukkan kecenderungan peningkatan nilai dari hari ke-0 hingga hari ke-14 pada setiap masa produksi. Pada produksi pertama teh kombucha hari ke-0 terhitung total mikroba sebesar  $2.9 \times 10^3$  koloni/ml. Fermentasi berlanjut pada hari ke-8 kemudian dihitung total mikroba sebesar  $3.2 \times 10^5$  koloni/ml. Pada hari ke-11 dan ke-14 setelah fermentasi dihitung kembali total mikroba pada teh kombucha

didapati angka sebesar  $4.4 \times 10^5$  koloni/ml dan  $5.5 \times 10^6$  koloni/ml. Pada produksi pertama teh kombucha peningkatan bertahap terjadi terhadap total mikroba dalam prosesnya. Pada produksi kedua teh fermentasi kombucha hari ke-0 terhitung total mikroba sebesar  $3.8 \times 10^3$  koloni/ml. Fermentasi hari ke-8 terhitung total mikroba sebesar  $4.5 \times 10^5$  koloni/ml. Fermentasi hari ke-11 dan ke-14 terhitung total mikroba sebesar  $8.5 \times 10^5$  koloni/ml dan  $3.9 \times 10^6$  koloni/ml. Pada produksi ketiga teh kombucha dihitung total mikroba pada hari ke-0 sebesar  $8.5 \times 10^3$  koloni/ml. Fermentasi hari ke-8 terhitung total mikroba sebesar  $3.0 \times 10^5$  koloni/ml. Fermentasi hari ke-11 dan ke-14 terhitung total mikroba sebesar  $8.2 \times 10^5$  koloni/ml dan  $2.6 \times 10^6$  koloni/ml. Pada produksi keempat teh kombucha diperoleh hasil pengujian pada hari ke-0 terhadap total mikroba sebesar  $5.5 \times 10^3$  koloni/ml. Fermentasi dilanjutkan pada hari ke-8 diperoleh hasil total mikroba sebesar  $5.8 \times 10^5$  koloni/ml. Pada fermentasi hari ke-11 dan 14 diperoleh hasil perhitungan total mikroba sebesar  $8.9 \times 10^5$  koloni/ml dan  $3.2 \times 10^6$  koloni/ml.

Kecenderungan hasil perhitungan total mikroba pada setiap masa produksi mengalami peningkatan total mikroba pada ke-0 menuju hari ke-8 fermentasi dengan rerata peningkatan 2 log. Pada hari ke-11 menuju hari 14 terjadi peningkatan total mikroba sebesar 1 log. Angka total mikroba dapat diartikan sebagai keberadaan mikroba aerob mesofilik yang terhitung per gram atau per mililiter sampel. Nutrisi pada media teh dan gula ini mencukupi kebutuhan mikroba untuk tumbuh dan menghasilkan berbagai produk metabolit selama

proses fermentasi berlangsung. Faktor lingkungan seperti suhu inkubasi 28 °C- 30 °C yang terjaga juga mendukung pertumbuhan mikroba dalam proses fermentasi.

Hasil penelitian ini sejalan dengan temuan Wistiana & Elok (2015) yang menemukan hasil total mikroba pada teh kombucha fermentasi 14 hari sebesar  $4.4 \times 10^6$  koloni/ml. Namun hasil dalam penelitian ini masih lebih rendah dibanding temuan Zubaidah *et al.* (2018) terhadap total mikroba pada fermentasi teh kombucha buah apel terhitung sebesar  $4.0 \times 10^8$  koloni/ml. Perbedaan ini dapat diasumsikan karena suplai nutrisi dari bahan baku apel lebih baik dibanding dengan daun teh. Namun pada penelitian tersebut pada fermentasi hari ke-7 hingga ke-14 telah memasuki fase kesetimbangan (stasioner) hingga memasuki fase kematian dibuktikan dengan terjadi penurunan jumlah sel mikroba hingga hari ke-14 sedangkan pada penelitian ini belum mengalami fase kematian terlihat dari jumlah sel yang masih meningkat. Nilai pH teh kombucha berkisar 3.0-3.5 memungkinkan mikroba yang bersifat asidofilik bertahan hingga akhir masa fermentasi pada hari ke-14. Bakteri asam asetat dan bakteri asam laktat merupakan golongan bakteri yang resisten terhadap kondisi asam dengan kisaran pH ekstrim dengan viabilitas yang baik (Wang *et al.* 2015; Tudor & Zamfir 2012). Pada penelitian Watawana *et al.* (2016) mendapati 85.6 % kehadiran *Gluconacetobacter* dan sisanya merupakan *Acetobacter*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* dan *Bifidobacterium* dengan sumber fermentasi air kelapa dengan starter *tea fungus*.

Pada penelitian lainnya menjelaskan bahwa empat genus bakteri asam asetat terlibat dalam produksi cuka vinegar yaitu *Acetobacter*, *Gluconobacter*, *Gluconacetobacter* dan *Kemogataeibacter* karena tingginya kapasitas untuk mengoksidasi etanol menjadi asam asetat dan resistensi yang tinggi terhadap asam asetat dalam medium fermentasi (Barrao *et al.* 2013; Nakano & Fukaya, 2008).

#### 4.2. Total Koliform

Berdasarkan pengujian yang telah dilakukan terhadap empat kali produksi teh kombucha, data penelitian disajikan dalam grafik total koliform seperti di bawah ini.

**Tabel 4.2.** Nilai MPN teh kombucha

Produksi	Waktu fermentasi (hari)			
	0 (APM/ml)	8 (APM/ml)	11 (APM/ml)	14 (APM/ml)
<b>1</b>	< 3	< 3	< 3	< 3
<b>2</b>	< 3	< 3	< 3	< 3
<b>3</b>	< 3	< 3	< 3	< 3
<b>4</b>	< 3	< 3	< 3	< 3
<b>Rerata</b>	< 3	< 3	< 3	< 3

\*APM = angka paling mungkin

Pada seluruh sampel yang diujikan diperoleh nilai Most Probable Number (MPN) < 3 APM/ml. Hal ini menunjukkan bahwa keseluruhan sampel teh kombucha pada rentang hari

fermentasi 0, 8, 11 dan 14 tidak tercemar dengan bakteri dalam kelompok Koliform. Nilai APM  $< 3$  diperoleh dengan mencocokkan kombinasi tabung yang positif/negatif terhadap reaksi fermentasi pada media *Lactose Broth* (LB) pada uji praduga. Dalam hal ini dalam uji penegasan kombinasi tabung 0-0-0 artinya tidak terdapat satupun tabung yang menunjukkan reaksi positif dengan menunjukkan perubahan warna media terfermentasi menjadi keruh dan atau menimbulkan gas CO<sub>2</sub> yang terperangkap pada tabung durham.

Pada semua sampel pengujian teh kombucha hanya dilakukan uji praduga saja, hal ini dikarenakan pada tahapan ini tidak terdapat tabung dengan sampel terindikasi positif. Media LB memberikan cukup nutrisi bagi kelompok bakteri koliform untuk tumbuh dan bermetabolisme. Kekeruhan media menunjukkan adanya peningkatan jumlah sel yang memanfaatkan nutrisi sedangkan timbulnya gas CO<sub>2</sub> menunjukkan bahwa metabolisme dalam merombak karbohidrat kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana sedang berlangsung. Kusuma (2009) fermentasi laktosa pada media LB dipengaruhi oleh kehadiran koliform fekal. Fermentasi gula menjadi asam piruvat dan asam asetat, juga akan muncul CO<sub>2</sub> dalam media dan mendesak tabung durham naik. Pendapat ini dikuatkan oleh penelitian Wandrivel (2012) produksi gas pada tabung reaksi menunjukkan adanya pertumbuhan koloni bakteri koliform pada medium yang digunakan sehingga dapat dimasukkan dalam tabel perkiraan untuk mendapatkan total bakteri coliform yang terkandung

dalam 100 ml sampel. Hasil dari jumlah tabung yang positif dibandingkan dengan tabel MPN (Most Probable Number). Metode ini merupakan metode perhitungan sel bakteri coliform berdasarkan jumlah perkiraan terdekat. Perkiraan terdekat yaitu perhitungan dalam range tertentu. Dihitung sebagai nilai duga dekat secara statistik dengan merujuk pada tabel MPN (Hartanti, 2015).

Standar baku mengatur nilai maksimal cemaran koliform yang dapat diterima maksimal 10 APM/g. Standar yang digunakan merujuk kepada minuman fermentasi yogurt yaitu SNI 2009 karena standar untuk teh kombucha belum diatur secara khusus. Berdasarkan hasil uji dengan pembandingan baku mutu tersebut maka produk teh kombucha pada semua waktu fermentasi dapat dikategorikan di bawah ambang batas cemaran, sehingga dapat diterima untuk dikonsumsi masyarakat. Nilai MPN < 3 menunjukkan bahan baku berasal dari bahan yang terjaga ke higienisannya dan telah terstandar SNI seperti gula pasir dan teh yang digunakan. Demikian juga dengan proses pembuatan produk telah menggunakan ruangan yang terjaga kondisi dengan baik, segala peralatan dan tenaga pembuat kombucha juga telah dibekali kesadaran sanitasi dan higienitas *personal hygiene* seperti mencuci tangan sebelum bekerja, menjaga pakaian agar tetap bersih sebelum bekerja/menggunakan pakaian khusus, menggunakan sarung tangan, membilas wadah fermentasi dengan air bersih sebelum digunakan kembali sesuai standar operasional. Kurniasih *et al.* (2015) menyatakan bahwa *personal*



*hygiene* sangat menentukan kualitas produk makanan yang diproduksi. Tangan pekerja yang tidak bersih merupakan salah satu akses masuknya mikroba pencemar ke dalam makanan/minuman.

Sumber-sumber cemaran bakteri koliform dapat berasal dari cemaran fekal dan non fekal. Cemaran koliform fekal berasal dari saluran pencernaan hewan berdarah panas, biasanya berupa kotoran unggas (burung, bebek, ayam, dan sebagainya), kotoran ternak dan kotoran manusia. Koliform sering dijadikan indikator keberadaan mikroba patogen lainnya dalam produk. Semakin tinggi tingkat kontaminasi bakteri koliform, semakin tinggi pula risiko kehadiran bakteri-bakteri patogen lain yang biasa hidup dalam kotoran manusia dan hewan. Salah satu contoh bakteri patogen yang kemungkinan terdapat dalam air terkontaminasi kotoran manusia atau hewan berdarah panas ialah bakteri *Escherichia coli*, yaitu mikroba penyebab gejala diare, demam, kram perut, dan muntah-muntah (Entjang, 2003). Sedangkan cemaran koliform non fekal dapat berasal dari tanah, udara, terpartikulasi dengan debu, tanaman yang sudah melapuk dan menyatu dengan tanah dan serasah. Dalam hal ini tempat produksi teh kombucha Prodi Biologi tidak kontak secara langsung maupun tidak langsung dengan sumber cemaran.

#### **4.3. Total Kapang Khamir**

Berdasarkan pengujian yang telah dilakukan terhadap empat kali produksi teh kombucha, data penelitian disajikan dalam grafik total Kapang khamir sebagai berikut.

**Tabel 4.3.** Total Kapang khamir teh kombucha

Produksi	Waktu fermentasi (hari)			
	0 (koloni/ml)	8 (koloni/ml)	11 (koloni/ml)	14 (koloni/ml)
1	TSUD	TSUD	$5.3 \times 10^1$	$8.5 \times 10^1$
2	TSUD	$3.2 \times 10^1$	$1.2 \times 10^2$	$5.3 \times 10^2$
3	TSUD	TSUD	$5.0 \times 10^1$	$8.2 \times 10^1$
4	TSUD	TSUD	$3.0 \times 10^1$	$6.8 \times 10^1$
<b>Rerata</b>	TSUD	TSUD	<b><math>6.3 \times 10^1</math></b>	<b><math>1.91 \times 10^2</math></b>

\*TSUD = terlalu sedikit untuk dihitung

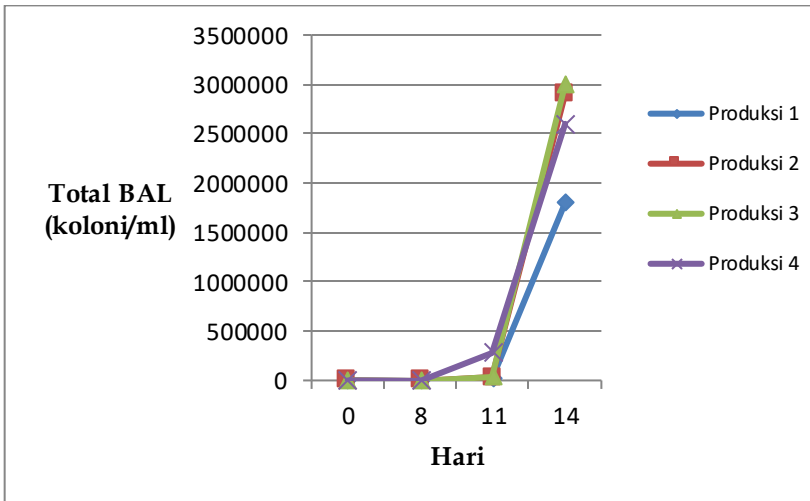
Tabel 4.3 menjelaskan mengenai total kapang khamir pada empat masa produksi dan pada rentang 14 hari fermentasi. Pada tiga masa produksi yang diujikan pertumbuhan kapang/khamir yang terhitung mulai dari fermentasi teh kombucha hari ke-11. Namun pada produksi kedua ketika diujikan pada hari fermentasi ke-8 sudah terhitung jumlah total kapang khamir yaitu 32 koloni/ml. Hal ini dapat diasumsikan proses penguraian nutrisi dalam teh berlangsung dengan cepat dipengaruhi oleh suhu fermentasi yang fluktuatif sehingga mempercepat pertumbuhan sel. Seperti diketahui untuk kapang memiliki suhu optimum 25-30 °C. Loncar & Spasenija (2014) menyatakan bahwa suhu 28 °C merupakan suhu optimal untuk fermentasi kombucha. Menurut Artur & Watson (1979) khamir tumbuh dengan baik

pada pH netral maupun asam dan waktu pertumbuhan optimum 5-14 hari bervariasi tergantung spesiesnya.

Rerata total kapang khamir pada fermentasi hari ke-11 dan hari ke-14 adalah  $6.3 \times 10^1$  koloni/ml dan  $1.91 \times 10^2$  koloni/ml. Khamir tumbuh dengan merombak substrat yang mengandung gula menjadi etanol. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Nurhilasyakbandini (2018) yang menghitung total khamir pada teh kombucha nenas dengan nilai total khamir sebesar  $1.16 \log$  koloni/ml pada hari fermentasi ke-8. Aditiwati (2003) menyatakan setelah hari kedua proses fermentasi berlangsung sel-sel khamir mulai bertumbuh dengan cepat karena sudah mulai memasuki awal fase log. Pengenalan terhadap pH rendah medium pertumbuhan. Kondisi ini dinilai sebagai kondisi terbaik bagi sel khamir untuk merombak glukosa menjadi etanol dan asam-asam organik.

#### **4.4 Total Bakteri Asam Laktat**

Berdasarkan pengujian yang telah dilakukan terhadap empat kali produksi teh kombucha, data penelitian disajikan dalam grafik total Bakteri Asam Laktat sebagai berikut.



**Gambar 4.4** Grafik total bakteri asam laktat teh kombucha

Gambar diatas menunjukkan total bakteri asam laktat (BAL) pada tiap rentang waktu fermentasi yaitu 0, 8, 11 dan 14 hari. Pada pengujian total BAL pada setiap rentang waktu fermentasi diperoleh kenaikan jumlah sel yang terhitung. Kenaikan dimulai pada pengujian hari ke-8. Kenaikan nilai hingga hari ke-14 fermentasi berkisar 6 log. Bakteri asam laktat merupakan salah satu bakteri yang telah diketahui hadir dalam proses fermentasi kombucha. Sel mulai meningkat jumlahnya setelah hari ke-11 fermentasi.

Pada produksi pertama teh kombucha diperoleh total BAL pada hari ke-0 <30 koloni/ml sehingga masuk dalam kategori terlalu sedikit untuk dihitung (TSUD). Pada hari fermentasi ke-8 yaitu  $3.6 \times 10^3$  koloni/ml. Pada hari ke-8 sudah terbentuk pelikel kombucha di permukaan wadah fermentasi.

Marsh *et al.* (2014) dalam penelitiannya menemukan bahwa kelompok BAL seperti *Lactobacillus* sp., *Lactococcus* sp., dan atau *Leuconostoc* sp. tumbuh di pelikel kombucha. Pada hari fermentasi ke-11 dan 14 jumlah total BAL yang terhitung sebesar  $2.2 \times 10^4$  koloni/ml dan  $1.8 \times 10^6$  koloni/ml. Temuan ini sejalan dengan penelitian Wistiana & Elok (2014) yang menghitung total BAL pada sebesar  $7.0 \times 10^5$  koloni/ml pada hari ke-14 fermentasi. Hal ini seiring dengan penurunan pH media oleh produksi metabolit sekunder berupa asam organik namun demikian viabilitas sel masih dapat dipertahankan karena pada dasarnya karakteristik sel BAL tahan terhadap kondisi asam yang tinggi.

Pada produksi teh kombucha kedua, ketiga dan keempat diperoleh gambaran total BAL yang serupa dengan produksi pertama. Hal ini diasumsikan karena bahan berkualitas yang sama juga digunakan, prosedur pembuatan produk, pekerja memperhatikan *personal hygiene* yang menjadi standar. Starter kombucha yang digunakan juga tidak lupa dirawat. Perawatan starter kombucha dengan meletakkannya dalam 'hotel scoby' berisi kumpulan pelikel yang dapat kembali digunakan sebagai starter. Juga cuka kombucha yang tidak dikonsumsi dipisahkan untuk dirawat menjadi cuka starter pada fermentasi berikutnya. Setelah beberapa kali digunakan. Pelikel/scoby kombucha dapat dibilas dengan air matang bersih untuk membersihkan dari material daun teh yang ikut menempel.

Berdasarkan pengujian total BAL kombucha pada waktu fermentasi ke-14 sudah mencukupi syarat disarankan untuk dikonsumsi, mengingat dari segi kuantitas sudah memenuhi minimal total sel BAL hidup yang terkandung sebesar rata-rata  $3.4 \times 10^6$  koloni/ml untuk empat kali masa produksi kombucha Prodi Biologi. Menurut ketentuan dalam Standar Nasional Indonesia SNI 7552: 2009 menyatakan bahwa syarat minimal total sel BAL yang masih hidup dan direkomendasikan sebesar  $10^6$  koloni/ml untuk dapat menimbulkan efek kesehatan (BSN, 2009). Namun, beberapa negara yang berbeda menerapkan standar yang berbeda pula mengenai jumlah minimal sel probiotik hidup. Spanyol dan Perancis menerapkan standar tinggi, yaitu  $> 5 \times 10^8$  koloni/ml. Diikuti oleh Portugal yang menerapkan standar  $> 10^8$  cfu/ml. Kemudian Jepang menerapkan  $> 10^7$  koloni/ml. Adapun Italia dan Swiss cenderung lebih fleksibel dengan menerapkan standar  $> 10^6$  koloni/ml (Birolo *et al.* 2000).

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **5.1 Kesimpulan**

Adapun kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian yang telah dilakukan antara lain sebagai berikut :

1. Mutu mikrobiologis teh kombucha produksi Prodi Biologi meliputi total mikroba sebesar  $3.8 \times 10^6$  koloni/ml; total kapang khamir sebesar  $1.91 \times 10^2$  koloni/ml; total coliform  $< 3$  APM/ml dan total bakteri asam laktat sebesar  $3.4 \times 10^6$  koloni/ml hingga fermentasi hari ke-14.
2. Mutu mikrobiologis teh kombucha produksi Prodi Biologi tidak melampaui ambang batas baku mutu yang berlaku yang ditetapkan SNI untuk total mikroba dan koliform, artinya mutu dapat diterima dan tidak membahayakan kesehatan konsumen.

#### **5.2 Saran**

Adapun saran yang dapat diberikan dari penelitian yang telah dilakukan antara lain sebagai berikut :

1. Dapat dipertahankan pemilihan bahan baku yang berkualitas seperti daun teh, starter dan air agar produk akhir yang dihasilkan bermutu, dapat diterima masyarakat dengan angka cemaran mikroba di bawah ambang batas.

2. Dapat dilakukan pengujian kontiniu untuk setiap masa produksi teh kombucha agar dapat terpantau mutu produk.



## DAFTAR PUSTAKA

- Aditiwati dan Kusnadi. (2003). Kultur Campuran dan Faktor Lingkungan Mikroorganismen yang Berperan dalam Fermentasi *Tea Cider*. *Jurnal Sains dan Teknologi ITB*. Vol. 35 (2) : 147-162.
- Alimuddin. (2008). *Analisis Power Spektrum Data Gaya Berat untuk Memperkirakan Kedalaman Bidang Batas Anomali Lokal Regional*. Hasil penelitian dan pengabdian kepada masyarakat. Lampung: Program Studi Geofisika, Unila.
- Arthur H & Watson K. (1976). "Thermal adaptation in yeast: growth temperatures, membrane lipid, and cytochrome composition of psychrophilic, mesophilic, and thermophilic yeasts". *Journal of Bacteriology*. 128 (1): 56-68.
- An-Najar, Z. (2006). *Pembuktian Sains dalam Sunnah* Buku 2. Penj M. Lukman. Jakarta : Amzah.
- Ayed L, Abid SB, Hamdi M. (2017). Development of a beverage from red grape juice fermented with the kombucha consortium. *Ann Microbiol*. 67(1): 111-21.
- Caplice, E. and Fitzgerald, G. F.. (1999), Food fermentation: role of microorganisms in food production and preservation. *Int. J. Food Microbiol.*, 50 : 131-149.
- Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM). (2008). *Pengujian Mikrobiologi Pangan*. Infopom, vol 9 (2): 1-11.
- Badan Standarisasi Nasional. SNI 7552:2009. *Minuman Susu Fermentasi Berperisa*, Jakarta: Badan Standarisasi Nasional, 2009.

- Barrao AC, Benagli C, Chappuis M, Ortega Pérez R, Tonolla M, Barja F. (2013). Rapid identification of acetic acid bacteria using MALDI-TOF mass spectrometry fingerprinting. *Syst Appl Microbiol.* 36(2):75–81.
- Buckle KA., RA Edward, GH Fleet & M. Wootton. (1985). Ilmu Pangan. Penj Hari Purnomo dan Adiono. Jakarta : UI Press.
- Chakravorty, S. Bhattacharya, S. Chatzinotas, A. Chakraborty, W. Bhattacharya, D. Gachhui, R. (2016). Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. *International Journal Food Microbiology.* 2 (220) : 63-72.
- Crowe, K. M., & Francis, C. (2013). Position of the academy of nutrition and dietetics: Functional foods. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 113, 1096–1103
- Codex Alimentarius Commission. (2012). Principles for The Establishment and Application of Microbiological Criteria for Foods, CAC/GL 21-1997. Rome: CAC.
- Entjang, I. (2003). Mikrobiologi dan Parasitologi untuk Akademi Keperawatan dan Sekolah Tenaga Kesehatan yang Sederajat. Bandung: Citra Aditya Bakti.
- Fardiaz, S. (1992). Mikrobiologi Pangan 1. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Fardiaz, S. (1993). Analisis Mikrobiologi Pangan Edisi Pertama. Cetakan Pertama. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Faridah ND, Yasni S, Suswantinah A, Aryani GW. (2013). Pencirian Mutu Kimiawi dan Mikrobiologis Produk

- Bandrek Instan dan Sirup Buah Pala (*Myristica fragrans*).  
 Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia. 18 (1):43-48.
- International Commission on Microbiological Specification.  
 (2011). Micro-organisms In Foods 8. Use of Data for  
 Assessing Process Control and Product Acceptance.  
 London. Springer.
- Jankovic, I., and M. Stojanovic. (1994). Microbial and chemical  
 composition, growth, therapeutical and anti-microbial  
 characteristics of tea fungus. *Microbiologija*. 31(1):35-43.
- Jay, JM. Loessner, MJ. Golden, DA. (2006). Modern Food  
 Microbiology. 7th edition. Springer, USA.
- Hadioetomo. (1990). *Mikrobiologi Dasar Jilid I*. Jakarta: Erlangga.
- Hartanti, A.S. (2015). Mikrobiologi kesehatan. Ed. I.  
 Yogyakarta: CV. Andi Offset.
- Hartmann, AM, Burleson LE, Holmes AK, Geist  
 CR. (2000). Effects of chronic kombucha ingestion on  
 open-field behaviors, longevity, appetitive behaviors,  
 and organs in C57-BL/6 mice: a pilot  
 study. *Nutrition*. 16: 755- 61.
- Herrera, T., and A. Calderon-Villagomez. (1989). Species of  
 yeasts isolated in Mexico from the tea fungus. *Rev. Mex.  
 Micol*. 5:205-210.
- Holt, J.G., N.R. Krieg, P. Sneath, J.T. Staley & S.T. Williams.  
 (2000). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9<sup>th</sup>  
 edition. Philadelphia: Williams & Wilkins.
- Karyantina, M. dan Nanik, S. (2008). Kombucha dengan Variasi  
 Kadar Gula sebagai Sumber Karbon. *Jurnal Teknologi  
 dan Industri Pangan*. 19(2):165-169.

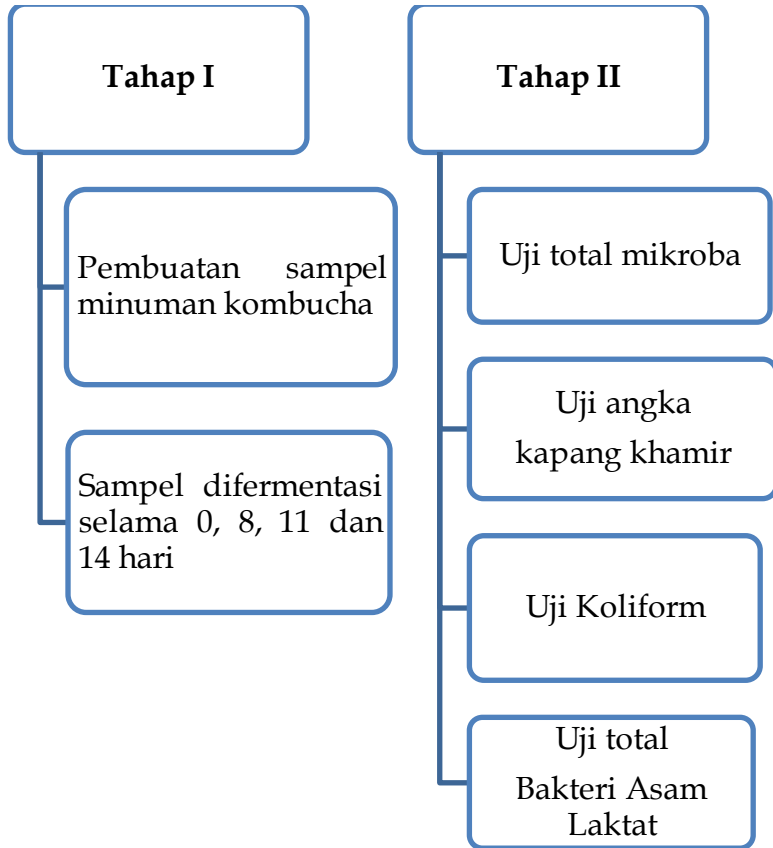
- Kaur, N., & Singh, P. D. (2017). Deciphering the consumer behaviour facets of functional foods: A literature review. *Appetite*, 112, 167-187.
- Kozyrovska, N.O., Reva, O.M., Goginyan, V.B., Vera J.D. (2012). Kombucha microbiome as a probiotic : a view from the perspective of post-genomics and synthetic ecology. *Biopolymers and Cell*, 28, 103-113.
- Kurniasih RP., Nurjazuli and Yusniar HD. (2015). Hubungan Higien dan Sanitasi Makanan dengan Kontaminasi Bakteri *Escherichia coli* Dalam Makanan di Warung Makan Sekitar Terminal Borobudur, Magelang. *J. Kesehatan Masyarakat*. 3 (1) : 549-558.
- Kusuma, S.A.F. (2009). Uji biokimia bakteri. (Karya ilmiah). Bandung: Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran.
- Kwanashie, H. O., G. J. Amabeoku, S. A. Nkim, and H. O. Usman. (1990). Screening of Kargasok Tea II: some central effects. *Eur. J. Pharmacol.* 183:1479-1479.
- Leistner L., (2000). Hurdle technology in the design of minimally processed foods. *J. Int. Food Microbiol.* 55: 181-186.
- Lobo, RO., Dias, FO., Shenoy, CK. (2017). Kombucha for Healthy Living : Evaluation of Antioxidant Potensial and Bioaktif Compound. *Int. Food Research J.* 24(2) : 541-546.
- Loncar, E. Djuric, M. Malbasa, LJ. Kolarov, M. Klasnja. (2006). Influence of working conditions upon kombucha conducted fermentation of black tea. *Journal of Food and Bioproducts Processing.* 84(C3): 186-192.

- Lončar, E.S., and Spasenija D.M. (2014). Kinetics of Saccharose Fermentation By Kombucha. *Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly*. Vol.20.No. 3. Hal: 345-352.
- Lyhs, U., Korkeala H., and Bjoorkroth J., (2002). Characterization of Lactic Acid Bacteria from spoiled, vacuum packed gravid rainbow trout using ribo typing. *Int. J. Food Microbiol.* 72: 147-153.
- Marsh, JAA. Sullivan, OO. Hill, C. Ross RP. Cotter, PD. (2014). Sequence-Based Analysis of The Bacterial and Fungal Compositions of Multiple Kombucha Tea (tea fungus) samples. *Journal of Food Microbiology*. Vol. 38 : 171-178.
- Martoyo, PY. Ratih DH. Winiati PR. (2014). Kajian Standar Cemaran Mikroba Dalam Pangan di Indonesia. *Jurnal Standardisasi*. 16(2) : 113-124.
- Maturin and Peeler. (2001). Chapter 3 Aerobic Plate Count, In: Food and Drug Administration (FDA), *Bacteriological Analytical Manual Online*, 8th Edition, Silver Spring, Berlin.
- Moroceanu, VI., Vamanu, E., Paun, G., Neagu, E., Ungureanu, OR., Eremia, SAV., Radu, GL., Ionescu, R., Pelinescu, DR. (2015). Probiotic strains influence on infant microbiota in the in vitro colonic fermentation model GIS1. *Indian journal of microbiology*, 55 (4), 423-429.
- Mukadam, TA. Kapil, P. Sunita, DD. Shashikant, PV. Abhay SC. (2016). Isolation and Characterization of Bacteria and Yeast from Kombucha Tea. *International Journal Current Microbiology and Applied Science*. 5(6): 32-41.

- Nakano S, Fukaya M. (2008). Analysis of proteins responsive to acetic acid in *Acetobacter*: Molecular mechanisms conferring acetic acid resistance in acetic acid bacteria. *Int J Food Microbiol.* 125(1):54-9.
- Oyon Suwaryono & Yusti Ismeini. (1998). *Fermentasi Bahan Pangan Tradisional*. Yogyakarta: PAU Pangan dan Gizi UGM.
- Pelczar, J. Michael & E.C.S Chan. (1988). *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Diterjemahkan oleh Ratna Siri H, dkk. Jakarta: UI-Press.
- Prescott, L.M. & Harley, J.P. (2002). *Laboratory Exercises in Microbiology*. 5 edition. Mc Graw-Hill Company.
- Reiss J. (1994). Influence of different sugars on the metabolism of the tea fungus. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 198, 258-261.
- Roos, J.D., & Vuyst, L.D. (2018). Acetic acid bacteria fermented foods and beverages. *Current Opinion in Biotechnology*, 49, 115-119.
- Shewfelt, RL. (2014). *Pengantar Ilmu Pangan*. Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta.
- Shimizu, M. (2012). Functional food in Japan: Current status and future of gut-modulating food. *Journal Food Drug Analysis*, 20, 213-216.
- Syah, D. (2012). *Pengantar Teknologi Pangan*. IPB Press, Bogor.
- Teuber, M. (2008). *Lactic Acid Bacteria*. Zurich Press. pp. 326-366.
- Tudor GS and Zamfir M. (2012). Probiotic potential of some potential lactic acid bacteria isolated from Romanian

- fermented vegetables. *Annals of RSCB* 2012, 17(1): 234-239.
- Tur, J. A., & Bibiloni, M. M. (2016). Functional foods. Reference module in food science. *Encyclopedia of food and health*. Kidlington, Oxford: Elsevier B.V.
- Waluyo, L. (2008). *Teknik dan Metode Dasar dalam Mikrobiologi*. Malang: UMM-Press.
- Wandrivel, R., Suharti, N., & Lestari, Y. (2012). Kualitas air minum yang diproduksi depot air minum isi ulang di Kecamatan Bungus Padang berdasarkan persyaratan mikrobiologi. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 1(3), 129-133.
- Watawana, M. I., Jayawardena, N., Gunawardhana, C. B., & Waisundara, V. Y. (2016). Enhancement of the antioxidant and starch hydrolase inhibitory activities of king coconut water (*Cocos nucifera* var. *aurantiaca*) by fermentation with Kombucha "tea fungus." *International Journal of Food Science & Technology*, 51(2), 490-498.
- Wang B, Shao Y, Chen F. (2015). Overview on mechanisms of acetic acid resistance in acetic acid bacteria. *World J Microbiol Biotechnol*. 31(2):255-63.
- Wistiana, D. & Elok, W. (2015). Karakteristik Kimiawi dan Mikrobiologis Kombucha Dari Berbagai Daun Tinggi Fenol Selama Fermentasi. *J. Pangan dan Agroindustri*. 3(4) : 1446-1457.

**Lampiran 1. Diagram Alir Penelitian**





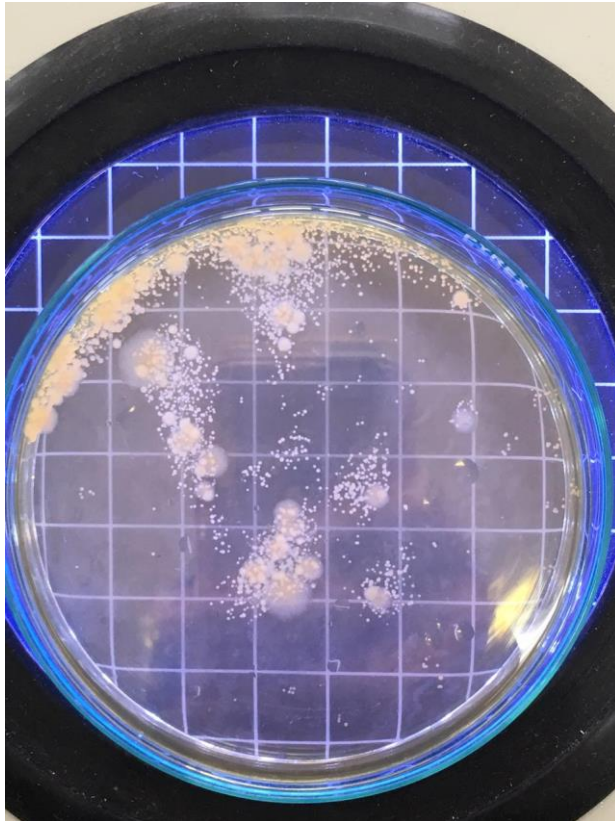
**Lampiran 2. Proses pembuatan teh kombucha**



**Lampiran 3.** Proses fermentasi teh kombucha pada suhu ruang



**Lampiran 4.** Penghitungan total bakteri dengan colony counter



**Lampiran 5.** Tabel nilai total mikroba teh kombucha

<b>Produksi</b>	<b>Waktu fermentasi (hari)</b>			
	<b>0</b>	<b>8</b>	<b>11</b>	<b>14</b>
	<b>(koloni/ml)</b>	<b>(koloni/ml)</b>	<b>(koloni/ml)</b>	<b>(koloni/ml)</b>
<b>1</b>	$2.9 \times 10^3$	$3.2 \times 10^5$	$4.4 \times 10^5$	$5.5 \times 10^6$
<b>2</b>	$3.8 \times 10^3$	$4.5 \times 10^5$	$8.5 \times 10^5$	$3.9 \times 10^6$
<b>3</b>	$8.5 \times 10^3$	$3.0 \times 10^5$	$8.2 \times 10^5$	$2.6 \times 10^6$
<b>4</b>	$5.5 \times 10^3$	$5.8 \times 10^5$	$8.9 \times 10^5$	$3.2 \times 10^6$
<b>Rerata</b>	<b><math>5.2 \times 10^3</math></b>	<b><math>4.1 \times 10^5</math></b>	<b><math>7.5 \times 10^5</math></b>	<b><math>3.8 \times 10^6</math></b>

Lampiran 6. Tabel Nilai Total BAL


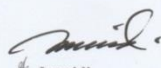
Produksi	Waktu fermentasi (hari)			
	0 (koloni/ml)	8 (koloni/ml)	11 (koloni/ml)	14 (koloni/ml)
1	TSUD	$3.6 \times 10^3$	$2.2 \times 10^4$	$1.8 \times 10^6$
2	TSUD	$2.8 \times 10^3$	$2.8 \times 10^4$	$2.9 \times 10^6$
3	TSUD	$3.5 \times 10^3$	$3.8 \times 10^4$	$3.0 \times 10^6$
4	TSUD	$2.2 \times 10^3$	$2.8 \times 10^5$	$2.6 \times 10^6$
<b>Rerata</b>	<b>TSUD</b>	<b><math>3.0 \times 10^3</math></b>	<b><math>9.2 \times 10^4</math></b>	<b><math>3.4 \times 10^6</math></b>

**Lampiran 7. Daftar tabel MPN untuk total koliform**

**Daftar MPN coliform (menggunakan 3 tabung)**

Kombinasi/Jumlah tabung yang positif			MPN per gram/ml
1 : 10	1 : 100	1 : 1000	
0	0	0	< 3
0	0	1	3
0	1	0	3
1	0	0	4
1	0	1	7
1	1	0	7
1	1	1	11
1	2	0	11
2	0	0	9
2	0	1	14
2	1	0	15
2	1	1	20
2	2	0	21
2	2	1	28
3	0	0	23
3	0	1	39
3	0	2	64
3	1	0	43
3	1	1	75
3	1	2	120
3	2	0	93
3	2	1	150
3	2	2	210

## Lampiran 8. Surat Tugas Penelitian

	<b>KEMENTERIAN AGAMA REPUBLIK INDONESIA</b> <b>UNIVERSITAS ISLAM NEGERI</b> <b>AR-RANIRY BANDA ACEH</b> Jl. Syekh Abdur Rauf Kopelma Darussalam Banda Aceh Telp. 0651-7552921, 7551857 Fax. 0651-7552922 Situs : <a href="http://www.ar-raniry.ac.id">www.ar-raniry.ac.id</a> E-mail : <a href="mailto:uin@ar-raniry.ac.id">uin@ar-raniry.ac.id</a>												
<b>SURAT TUGAS</b>													
Nomor : 1339/Un.08/B-I/Kp.01.2/07/2019													
Menimbang :	a. Bahwa dalam rangka pengumpulan data lapangan pelaksanaan Pembinaan/Peningkatan Kapasitas bagi Dosen UIN Ar-Raniry tahun 2019, maka perlu adanya penugasan untuk kegiatan tersebut. b. bahwa berdasarkan hasil penilaian proposal dan pertimbangan yang dimaksud dalam huruf a maka nama tercantum dalam surat tugas mampu dan cakap untuk melaksanakan tugas penelitian dimaksud.												
Dasar :	1. Peraturan Menteri Agama RI Nomor 12 Tahun 2014, tentang Organisasi dan Tata Kerja UIN Ar-Raniry Banda Aceh; 2. Peraturan Menteri Agama RI Nomor 21 Tahun 2015, tentang Statuta UIN Ar-Raniry Banda Aceh; 3. PMK Nomor 113 Tahun 2012 tentang Perjalanan Dinas 4. DIPA UIN Ar-Raniry Nomor : SP DIPA 025.04.2.423925/2018, tanggal 05 Desember 2018 .												
<b>Memberi Tugas</b>													
Kepada :													
	<table border="1"><thead><tr><th>No.</th><th>Nama/Nip.</th><th>Pangkat</th><th>Jabatan</th></tr></thead><tbody><tr><td>1.</td><td>Diannita Harahap 198703222015032004</td><td>III/b</td><td>Ketua Peneliti</td></tr><tr><td>2.</td><td>Febby Yolanda</td><td></td><td></td></tr></tbody></table>	No.	Nama/Nip.	Pangkat	Jabatan	1.	Diannita Harahap 198703222015032004	III/b	Ketua Peneliti	2.	Febby Yolanda		
No.	Nama/Nip.	Pangkat	Jabatan										
1.	Diannita Harahap 198703222015032004	III/b	Ketua Peneliti										
2.	Febby Yolanda												
Tujuan :	Ke Banda Aceh pada tanggal, 15 s/d 19 Juli 2019												
Untuk :	dalam rangka Pengumpulan data Penelitian dengan judul "Analisis Mutu Mikrobiologis Teh Fermentasi Kombucha"												
Selesai melaksanakan tugas segera menyampaikan laporan kepada pemberi tugas sesuai ketentuan.													
Banda Aceh, 11 Juli 2019 an. Rektor. Kepala Biro AAKK,   # Junaidi													
Tembusan : 1. Kabag. Keuangan dan Akuntansi UIN Ar-Raniry Banda Aceh. 2. Kabag. Organisasi Kepegawaian UIN Ar-Raniry Banda Aceh.													

## Lampiran 9

### JADWAL KEGIATAN PENELITIAN

Judul Penelitian : Analisis Mutu  
Mikrobiologis Teh  
Fermentasi Kombucha

Kategori penelitian : Penelitian  
Pembinaan/kapasitas

Bidang Ilmu yang diteliti : Mikrobiologi

Prodi : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Jumlah tim peneliti : 2 (orang)

No.	Kegiatan	Bulan															
		I				II				III				IV			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1.	Pembuatan proposal	■	■														
2.	Seminar			■													
3.	Perbaikan proposal dan adm				■	■											
4.	Pembuatan teh kombucha						■	■									





## Lampiran 10

### RENCANA TARGET CAPAIAN LUARAN (OUTCOME)

Judul Penelitian : Analisis Mutu Mikrobiologis Teh Fermentasi Kombucha

Kategori Penelitian : Peningkatan Kapasitas

Bidang Ilmu yang diteliti : Mikrobiologi

Prodi : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Jumlah Tim Peneliti : 2 orang

No.	Capaian Luaran Penelitian			
	Jenis Luaran	Sub Kategori	Wajib	Tambahan
1.	Laporan Komprehensif	Laporan Penelitian Dummy Buku	√	-
2.	Artikel ilmiah dimuat di jurnal ( <i>wajib sesuai kategori penelitian</i> )	Internasional Bereputasi		
		Internasional		
		Nasional Terakreditasi		
3.	Artikel ilmiah dimuat diprosiding	Nasional BerISSN, OJS dan Terindeks sesuai Kategori Penelitian	√	
		Internasional Terindeks		
		Internasional		
4.	Hak Kekayaan Intelektual (HKI)	Nasional		
		Paten		
		Paten sederhana Hak Cipta	√	
5.	Kerjasama Kemitraan Penelitian	MoU dan/ MoA		
6.	Buku Ajar (Ber-ISBN)			

Catatan: Beri tanda (√) pada capaian yang dingin dicapai dan sesuaikan dengan kategori penelitian.

## Lampiran 11



**BIODATA PENELITI**  
**PUSAT PENELITIAN DAN PENERBITAN LP2M**  
**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI AR-RANIRY BANDA ACEH**  
**TAHUN 2019**

### A. Identitas Diri

1.	Nama Lengkap <i>(dengan gelar)</i>	<b>Diannita Harahap, M.Si.</b>
2.	Jenis Kelamin L/P	P
3.	Jabatan Fungsional	Asisten Ahli
4.	NIP	198703222015032004
5.	NIDN	2022038701
6.	NIPN <i>(ID Peneliti)</i>	<b>191140000020385</b>
7.	Tempat dan Tanggal Lahir	Jayapura, 22 Maret 1987
8.	E-mail	diannitaharahap@ar-raniry.ac.id
9.	Nomor Telepon/HP	08217220956
10.	Alamat Kantor	Jl. Syeikh Abdur Rauf Kopelma Darussalam- Kota Banda Aceh
11.	Nomor Telepon/Faks	
12.	Bidang Ilmu	Sains dan Teknologi
13.	Program Studi	Biologi
14.	Fakultas	Sains dan Teknologi

### **B. Riwayat Pendidikan**

<b>No.</b>	<b>Uraian</b>	<b>S1</b>	<b>S2</b>	<b>S3</b>
1.	Nama Perguruan Tinggi	Universitas Negeri Medan	Universitas Sumatera Utara	
2.	Kota dan Negara PT	Medan, Indonesia	Medan, Indonesia	
3.	Bidang Ilmu/ Program Studi	Biologi	Biologi	
4.	Tahun Lulus	2009	2013	

### **C. Pengalaman Penelitian dalam 3 Tahun Terakhir**

<b>No.</b>	<b>Tahun</b>	<b>Judul Penelitian</b>	<b>Sumber Dana</b>
1.	2018	Uji Potensi Bakteri Pengikat Nitrogen Teramobilisasi Sebagai Bioremediator Senyawa Fosfat	DIPA UIN Ar-Raniry
2.	2019	Anialisis Mutu Mikrobiologis Teh Fermentasi Kombucha	DIPA UIN Ar-Raniry

### **D. Pengalaman Pengabdian Kepada Masyarakat dalam 3 Tahun Terakhir**

<b>No.</b>	<b>Tahun</b>	<b>Judul Pengabdian</b>	<b>Sumber Dana</b>
1.	2017	Kampanye Penggunaan Masker “Lindungi Diri, Sayangi Jaringan Ikut Darah”	Prodi
2.	2018	Pemberdayaan Ibu-Ibu PKK Gampong Lamgugop dengan	Mandiri

		Pelatihan Pembuatan Minuman Yogurt	
3.	2018	Bakti Sosial Kenali “Mikroba Baik” Melalui Minuman Probiotik	Prodi
4.	2019	Pengenalan Dasar Pertanian Kota Pada Anak Usia Dini	Mandiri
5.	2019	Bakti Sosial Bersih Pantai di Kawasan Wisata Goa Sarang	Prodi

**E. Publikasi Artikel Ilmiah dalam Jurnal dalam 5 Tahun Terakhir**

No .	Judul Artikel Ilmiah	Nama Jurnal	Volume/Nomor/Tahun/Url
1.	Viabilitas Asam Laktat Kombucha Terenkapsulasi : Review	Jurnal Bioleuser	<a href="http://www.jurnal.unsyiah.ac.id/bioleuser/article/view/12005">http://www.jurnal.unsyiah.ac.id/bioleuser/article/view/12005</a>
2.	The Effect of Giving White Pure Ethanol	Jurnal Medik a Veterinaria	<a href="http://www.jurnal.unsyiah.ac.id/JMV/article/view/12356/10758">http://www.jurnal.unsyiah.ac.id/JMV/article/view/12356/10758</a>

	Extract ( <i>Allium sativum</i> ) On The Growth of Aeromonas hydrophila Bacteria in Goldfish ( <i>Cyprinus carpio</i> ) cultivation		
dst.			

**F. Karya Buku dalam 5 Tahun Terakhir**

No.	Judul Buku	Tahun	Tebal Halaman	Penerbit
1.				
2.				
dst.				

**G. Perolehan HKI dalam 10 Tahun Terakhir**

<b>No.</b>	<b>Judul/Tema HKI</b>	<b>Tahun</b>	<b>Jenis</b>	<b>Nomor P/ID</b>
1.	Uji Potensi Bakteri Pengikat Nitrogen Teramobilisasi Sebagai Bioremediator Senyawa Fosfat	2018	Laporan Penelitian	000123013
2.				
dst.				

Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya.

Banda Aceh, 30 Oktober 2019

Ketua/Anggota Peneliti,



**Diannita Harahap, M.Si.**

NIDN. 2022038701