

KARAKTERISTIK pH KULTUR KOMBUCHA TEH HITAM DENGAN JENIS GULA BERBEDA PADA FERMENTASI *BACTH-CULTURE*

Anggita Rahmi Hafsa^{1*}, Ghanez Asriana A¹., Wilda Nur Farida¹, Mohammad Agus S.¹

¹ Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Sunan Gunung Djati Bandung

*e-mail korespondensi:
anggitarahmi@uinsgd.ac.id

Abstrak. *Kombucha merupakan teh fermentasi yang memanfaatkan hubungan simbiosis antara bakteri dan khamir yang menghasilkan zat asam. Selama proses fermentasi kombucha menghasilkan zat asam yang terus terakumulasi sehingga terjadi perubahan nilai pH. Salah satu zat asam utama yang dihasilkan dalam proses fermentasi ini adalah asam asetat. Asam asetat diproduksi oleh bakteri asam asetat dengan mengoksidasi etanol. Etanol ini didapat dari proses perombakan gula yang dilakukan oleh khamir dalam kombucha. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui nilai pH kombucha selama 15 hari masa fermentasi pada kombucha yang diberi tambahan gula yang berbeda. Penelitian ini dilakukan dengan mengamati kombucha dan uji pH setiap 3 hari sekali selama 15 hari. Hasil menunjukkan bahwa nilai pH kombucha selama 15 hari mengalami perubahan nilai yaitu H0(3,47), H3(3,43), H6(3,37), H9(3,24), H12(3,09), dan H15(3,08). Penurunan pH diakibatkan oleh aktivitas mikroba dalam kombucha yang menghasilkan akumulasi zat asam. Disimpulkan jika nilai pH kombucha selama 15 hari pengamatan terus menurun dengan nilai terendah pada hari ke-15 (3,08). Penurunan nilai pH dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba, kadar asam, dan rasa pada kombucha.*

Kata Kunci: asam, asetat, fermentasi, kombucha, dan pH.

Abstract *Kombucha is a fermented tea that utilizes the symbiotic relationship between bacteria and yeast that produces acid. The kombucha fermentation process will produce acid that continues to accumulate causes in changes in the pH value. One of the essential acids produced in this fermentation process is acetic acid. Acetic acid is produced by the bacteria in kombucha through ethanol oxidation. Ethanol is obtained from the sugar breakdown process carried out by yeast in kombucha. This study aims to determine the pH value of kombucha during the 15-day fermentation period in kombucha that was given different sugar additions. This research was conducted by observing kombucha and testing the pH every 3 days for 15 days. The results showed that the pH value of kombucha for 15 days changed values, namely H0(3.47), H3(3.43), H6(3.37), H9(3.24), H12(3.09), and H15 (3.08). The decrease in pH is caused by microbial activity in kombucha which results in the accumulation of acidic substances. It was concluded that the pH value of kombucha for 15 days of observation continued to decrease with the lowest value on the 15th day (3.08). Decreasing the pH value can affect microbial growth, acidity, and taste in kombucha.*

Keywords: acid, acetic, fermented, kombucha and pH.

PENDAHULUAN

Fermentasi telah dilakukan dari jaman kuno hingga saat ini dalam upaya untuk mengawetkan makanan. Fermentasi juga merupakan sebuah metode konversi suatu senyawa kompleks menjadi senyawa sederhana. Perubahan biokimia yang terjadi selama masa fermentasi, yang mengarah ke berubahnya rasio komponen nutrisi dan anti nutrisi yang nantinya dapat mempengaruhi sifat produk seperti bioaktivitas dan daya cerna (Hur *et al.*, 2014).

Kombucha merupakan the fermentasi yang memanfaatkan hubungan simbiosis antara bakteri dan khamir dalam proses fermentasinya. Pada hasil penelitiannya, Soto *et al.* (2018) menunjukkan mikrobiota yang terlibat dalam proses fermentasi kombucha antara lain berasal dari genus *Acetobacter* sp., *Gluconacetobacter* sp., *Rhizobium* spp., *Agrobacterium tumefaciens*, dan *Sarcina ventriculli*. Sedangkan jenis khamir pada kombucha diketahui antara lain: *Zygosaccharomyces*, *Candida*, *Kloeckera* /*Hanseniaspora*, *Brettanomyces Dekkera*, *Lachancea*, *Kluyveromyces*, *Torulasporea*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Saccharomycoides*, dan *Schizosaccharomyces*. Jayabalan *et al.* (2014) menyebutkan manfaat kombucha bagi kesehatan diantaranya dapat menurunkan tingkat kolesterol, mengurangi obesitas, mencegah diabetes, menurunkan risiko kanker, dapat meningkatkan fungsi hati, mengurangi stres dan insomnia, serta mengurangi gangguan menstruasi.

Fermentasi kombucha umumnya berlangsung antara 7-60 hari dengan aktivitas biologi yang akan meningkat selama proses fermentasi; akan tetapi hasil terbaik yang telah didapat rata-rata yaitu dalam waktu 15 hari (Soto *et al.*, 2018). Khamir berfungsi untuk memfermentasi sukrosa glukosa dan fruktosa yang akan dikonversi menjadi etanol. Kemudian bakteri asam asetat akan memfermentasi glukosa menjadi asam

glukonat dan fruktosa untuk produksi asam asetat (Susilowati, 2013).

Fermentasi menggunakan sistem *Batch Culture* merupakan metode fermentasi dalam membuat the kombucha. Pada sistem fermentasi ini, substrat dimasukkan pada awal proses dan tidak menambahkan ataupun mengambil apapun saat proses fermentasi berlangsung. Sistem ini dapat mengakibatkan rendahnya kadar dan produktivitas etanol karena terhambat substrat yang terbatas (Hadiyanto *et al.*, 2013). Prinsip dari sistem ini adalah fermentasi tertutup dimana tidak akan ada penambahan nutrisi selama proses fermentasi berlangsung sehingga semakin lama waktu fermentasi maka nutrisi dalam medium akan semakin berkurang dan terjadi penumpukan metabolit sekunder yang bersifat racun sehingga menghentikan laju pertumbuhan mikroba (Rahman, 1992).

Asam asetat diproduksi oleh bakteri *Acetobacter* dari etanol melalui proses yang dilakukan oleh enzim alkohol dehidrogenase dan aldehid dehidrogenase. Sukrosa yang merupakan sumber karbon membantu bakteri asam asetat dalam memproduksi jaringan selulosa. Simbiotik antara bakteri dan khamir akan menjadi biofilm berbentuk membran jelly (zooglea biofilm) yang mengapung pada permukaan mediumnya. Perkembangan simbiotik atau konsorsium keduanya akan membuat membran tebal baru yang mengikuti bentuk wadahnya (Leal *et al.*, 2018).

Asam organik lain yang hadir dalam teh kombucha adalah asam sitrat, malat, tartarat, oksalat, dan suksinat. Asam asetat, glukonik, glukoronik, L-laktat, malonik, piruvat, dan usnic yang ada dalam teh kombucha diproduksi oleh mikroba pada waktu fermentasi. Karena peningkatan konsentrasi produksi asam organik yang dihasilkan oleh bakteri dan khamir, nilai pH dapat menurun dari 5,0 menjadi 3,0 (Jayabalan & Malba, 2016).

pH adalah salah satu parameter lingkungan terpenting yang mempengaruhi fermentasi kombucha yang diakibatkan terbentuknya beberapa asam yang terbentuk seperti asam asetat dan glukonik. Hal ini juga berkaitan erat dengan pertumbuhan mikroba dan perubahan struktur senyawa fitokimia yang dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan (Hur *et al.*, 2014).

Tingkat pH kombucha saat menyeduh harus pada atau di bawah 4,5. Saat kombucha berfermentasi, pH akan turun, sementara bakteri yang berbeda menghasilkan asam asetat dan glukonat dan menurunkan pH. Kombucha dapat dibedakan berdasarkan rasa dengan kisaran pH antara 2,5 dan 3,5. Untuk mendapatkan rasa manis, pH kombucha dapat dijaga agar lebih tinggi pada 3,5. Untuk mendapatkan kombucha dengan rasa yang lebih getir maka pH dijaga agar tetap di atas 2,5. Penelitian yang membandingkan pH kombucha dalam rentang waktu 15 hari dan pada jenis gula yang berbeda belum dilakukan dan umumnya penelitian dilakukan pada rentang 10 hari. Oleh karena itu, penelitian dengan bertujuan untuk membandingkan nilai pH kombucha yang diberi jenis gula yang berbeda pada fermentasi kombucha perlu dilakukan.

BAHAN DAN METODE

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah gelas kimia 500 ml, hot plate, kain steril, pH meter, neraca analitik, gelas ukur 250 ml, erlenmeyer 500 ml, batang pengaduk, magnetic stirrer, autoklaf, oven, dan spatula. Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah teh kantung hitam, gula pasir putih, tissue, akuades, alkohol 70%, label, dan starter kombucha.

Pembuatan media kultur kombucha dilakukan di Laboratorium Biologi Gen dan Molekuler dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Sunan Gunung Djati Bandung.

disiapkan dengan merebus 200 ml air dalam erlenmeyer 500 ml kemudian dicelupkan teh kantung hitam. Teh lalu disterilisasi dalam autoklaf selama 30 menit dengan tekanan 1 atm dan suhu 121°C. Setelah itu, dimasukkan 50 gram gula pasir putih lalu didiamkan dalam suhu ruang. Saat suhu teh menurun, dimasukkan cairan starter kombucha 50 ml lalu ditutup dengan tissue dan karet. Kemudian disimpan untuk memasuki masa fermentasi selama 15 hari (Simanjuntak *et al.*, 2016).

Sebelum pH meter digunakan, dilakukan standarisasi dengan membilas elektroda menggunakan aquades, kemudian dikeringkan. pH meter yang telah dikalibrasi kemudian dicelupkan kedalam kultur. Pembacaan pH meter didapatkan beberapa saat setelah pH meter dicelupkan dan nilai stabil. Uji pH dilakukan setiap 3 hari sekali selama 15 hari.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengukuran pH penting dilakukan sebagai salah satu ciri telah terjadinya fermentasi dan untuk menentukan akhir dari fermentasi (Malbaša *et al.*, 2008). Terdapat dua proses fermentasi pada pembuatan kombucha, yaitu fermentasi alkohol dan fermentasi asam asetat. Fermentasi alkohol dilakukan oleh khamir dengan merombak gula menjadi alkohol sedangkan fermentasi asam asetat dilakukan oleh bakteri dengan mengoksidasi alkohol menjadi asam asetat. Proses diawali dengan sukrosa atau gula yang dihidrolisis oleh enzim invertase menjadi glukosa dan fruktosa. Glukosa kemudian diubah oleh khamir menjadi alkohol dan memasuki tahap pembentukan asam asetat.

Terdapat dua tahap oksidasi saat pembentukan asam asetat oleh bakteri, yaitu tahap pertama pengubahan alkohol menjadi asetaldehid yang dikatalis oleh enzim alkohol dehidrogenase. Selanjutnya, tahap kedua, senyawa asetaldehid membentuk asam asetat

dengan bantuan asetaldehid dehidrogenase (Ardheniati *et al.*, 2009).

Sukrosa dikonversi menjadi glukosa dan fruktosa yang memiliki bentuk lebih sederhana sehingga mudah digunakan oleh mikroorganisme (Rahayu & Rohaeti, 2014). Selain itu, glukosa juga dikonversi menjadi

asam glukonat pada aktivitas biokimia sekunder *Acetobacter* sedangkan fruktosa tetap menjadi bagian larutan kombucha dan sedikit digunakan oleh mikroorganisme. Sehingga produk utama yang dihasilkan bakteri adalah asam asetat, asam glukonat, dan selulosa (Greenwalt *et al.*, 2000).

Table 1. Perubahan nilai pH kombucha teh hitam selama 15 hari masa pengamatan.

Hari ke -	pH	
	Gula Pasir	Gula Sintetis
0	3,31	3,47
3	3,27	3,43
6	2,96	3,37
9	2,90	3,24
12	2,87	3,09
15	2,73	3,08

Dari Tabel 1. dapat terlihat perubahan nilai pH kombucha selama 15 hari yaitu H0(3,47), H3(3,43), H6(3,37), H9(3,24), H12(3,09), dan H15(3,08). Nilai pH hari ke-6 hingga hari ke-12 mengalami penurunan yang cukup signifikan yaitu dari 3,37 menjadi 3,09. Sedangkan nilai pH hari ke-0 hingga hari ke-3 dan hari ke-12 hingga hari ke-15 mengalami penurunan tidak signifikan. Penurunan pH yang lambat pada awal fermentasi dapat disebabkan karena pada masa ini khamir masih dalam fase adaptasi dan log dimana khamir masih dalam tahap memecah gula menjadi monomernya untuk pertumbuhan selnya dan bakteri. Sehingga zat asam yang merupakan alasan utama penurunan nilai pH belum terbentuk dan terakumulasi didalam medium.

Dari hasil pengamatan selama 15 hari dari hari ke-0 hingga hari ke-15 pada dua perlakuan, keduanya mengalami penurunan pH jika dibandingkan dengan pH ketika awal fermentasi. Hasil ini sama dengan hasil yang didapat dari penelitian (Neffe-Skocińska *et al.*, 2017), namun besarnya nilai pH pada penelitian tersebut dengan perlakuan menggunakan gula pasir dan gula sintetis

nilainya lebih tinggi walaupun lama fermentasi lebih lama yaitu 15 hari.

Penurunan pH yang signifikan yang terjadi kemungkinan dikarenakan mikroba kombucha yang sedang mengalami fase stationer dimana pada fase ini khamir memproduksi etanol dan bakteri simbiotiknya menggunakan etanol untuk memproduksi asam asetat sehingga terjadi penumpukan metabolit yang dapat menurunkan nilai pH kombucha. Penurunan pH ini kemudian dapat mengganggu pertumbuhan bakteri karena lingkungan yang tidak sesuai untuk bertahan hidup. Sehingga pada hari ke-15, penurunan pH tidak signifikan karena mikroba memasuki fase kematian akibat produk etanol yang dihasilkan khamir dan asam asetat yang dihasilkan bakteri mulai menurun karena makanan dan nutrisi yang habis. Hal ini lalu berdampak penurunan produksi zat asam karena berkurangnya kadar etanol.

Menurut Sreeramulu *et al.*, (2000), penurunan nilai pH dapat terjadi karena adanya proses sintesis gula yang dilakukan khamir menjadi etanol lalu dirombak oleh bakteri asam asetat menjadi asam organik seperti asam glukonat dan asam asetat yang

akan mengakibatkan penurunan pH kombucha. Asam asetat berperan atas aroma asam dan rasa seperti cuka yang dimiliki kombucha. Konsentrasi asam yang terbentuk akan cenderung meningkat seiring dengan semakin lamanya waktu fermentasi, namun pada suatu waktu konsentrasi asam dapat mengalami penurunan jika sumber gula dan etanol telah habis karena bakteri akan menggunakannya sebagai sumber karbon (Khamidah & Antarlina, 2020).

Secara umum, pH yang rendah dalam kombucha dapat menyeleksi mikroba yang toleran asam, sementara mikroba yang berpotensi sebagai kompetitor dan mikroba penyusup/asing dihambat. Khamir dengan toleransi asam yang tinggi akan mampu bertahan hidup bahkan berkembang dalam kondisi asam yang merusak genus khamir lainnya. Demikian pula bagi bakteri kombucha yang sangat toleran terhadap asam, sedangkan bakteri lain yang kurang toleran maka tidak dapat bertahan hidup dalam kondisi asam yang tinggi. Kemampuan komunitas kombucha untuk menghasilkan dan mentolerir kondisi asam ini dapat melindungi sistem dari invasi mikroba pesaing. Etanol yang dihasilkan khamir dalam jumlah berlebih juga dapat membahayakan mikroorganisme kombucha namun risiko ini berkurang karena bakteri menggunakannya sebagai nutrisi untuk pembentukan asam asetat (May *et al.*, 2019).

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan dapat disimpulkan bahwa penurunan nilai pH kombucha terus terjadi selama 15 hari masa fermentasi. Nilai pH terendah didapat pada hari ke-15 (3,08). Penurunan nilai pH diakibatkan oleh aktivitas mikroba kombucha selama proses fermentasi yang kemudian dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba, kadar asam, dan rasa pada kombucha.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih peneliti ucapkan kepada seluruh pihak yang telah membantu dalam proses penelitian ini sehingga penelitian ini berjalan dengan lancar .

DAFTAR PUSTAKA

- Ardheniati, M., Andriani, M. A. M., & Amanto, B. S. (2009). Fermentation Kinetics in Kombucha Tea With Tea Kind Variation Based on Its Processing. *Biofarmasi Journal of Natural Product Biochemistry*, 7(1), 48–55.
- Greenwalt, C. J., Steinkraus, K. H., & Ledford, R. A. (2000). Kombucha, The Fermented Tea: Microbiology, Composition, and Claimed Health Effects. In *Journal of Food Protection* (Vol. 63, Issue 7, pp. 976–981). IAMFES.
- Hadiyanto, H., Ariyanti, D., Aini, A. P., & Pinundi, D. S. (2013). Batch and Fed-Batch Fermentation System on Ethanol Production From Whey Using *Kluyveromyces marxianus*. *International Journal of Renewable Energy Development*, 2(3), 127–131.
- Hur, S. J., Lee, S. Y., Kim, Y.-C., Choi, I., & Kim, G.-B. (2014). Effect of Fermentation on The Antioxidant Activity in Plant-Based Foods. *Food Chemistry*, 160, 346–356.
- Jayabalan, R., & Malba, R. V. (2016). Kombucha Tea: Metabolites. In *Fungal Metabolites* (pp. 1–14). Springer, Cham.
- Jayabalan, R., Malbaša, R. V., Lončar, E. S., Vitas, J. S., & Sathishkumar, M. (2014). A Review on Kombucha Tea-Microbiology, Composition, Fermentation, Beneficial Effects, Toxicity, and Tea Fungus. In *Comprehensive Reviews in Food*

- Science and Food Safety* (Vol. 13, Issue 4, pp. 538–550). Blackwell Publishing Inc.
- Khamidah, A., & Antarlina, S. S. (2020). Peluang Minuman Kombucha Sebagai Pangan Fungsional. *Agrika: Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*, 14(2), 184–200.
- Malbaša, R., Lončar, E., Djurić, M., & Došenović, I. (2008). Effect of Sucrose Concentration on The Products of Kombucha Fermentation on Molasses. *Food Chemistry*, 108(3), 926–932. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.11.069>
- Martínez Leal, J., Valenzuela Suárez, L., Jayabalan, R., Huerta Oros, J., & Escalante-Aburto, A. (2018). A Review on Health Benefits of Kombucha Nutritional Compounds and Metabolites. *CyTA - Journal of Food*, 16(1), 390–399.
- May, A., Narayanan, S., Alcock, J., Varsani, A., Maley, C., & Aktipis, A. (2019). Kombucha: A Novel Model System For Cooperation and Conflict In A Complex Multi-Species Microbial Ecosystem. *PeerJ*, 7.
- Neffe-Skocińska, K., Sionek, B., Ścibisz, I., & Kołożyn-Krajewska, D. (2017). Acid Contents and The Effect of Fermentation Condition of Kombucha Tea Beverages on Physicochemical, Microbiological and Sensory Properties. *CyTA - Journal of Food*, 15(4).
- Rahayu, T., & Rohaeti, E. (2014). Sifat Mekanik Selulosa Bakteri Dari Air Kelapa Dengan Penambahan Kitosan. *Jurnal Penelitian Saintek*, 19 (2).
- Rahman, A. (1992). *Teknologi Fermentasi*. Jakarta: Arcan publisher.
- Simanjuntak, D., Herpandi, H., & Lestari, S. (2016). Karakteristik Kimia dan Aktivitas Antioksidan Kombucha Dari Tumbuhan Apu-apu (*Pistia stratiotes*) Selama Fermentasi. *Jurnal Fishtech*, 5(2), 123–133.
- Soto, S. A. V., Beaufort, S., Bouajila, J., Souchard, J.-P., & Taillandier, P. (2018). Understanding Kombucha Tea Fermentation: A Review. *Journal of Food Science*, 83(3), 580–588.
- Sreeramulu, G., Zhu, Y., & Knol, W. (2000). Kombucha Fermentation and Its Antimicrobial Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6), 2589–2594.
- Susilowati, A. (2013). Perbedaan Waktu Fermentasi Dalam Pembuatan Teh Kombucha Dari Ekstrak Teh Hijau Lokal *Arraca kiara*, *Arraca yabukita*, Pekoe dan Dewata Sebagai Minuman Fungsional Untuk Anti Oksidan. *Prosiding SNST Ke-4*, 29.