



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

**PENGARUH BEBERAPA DAUN TANAMAN TERHADAP
PERKEMBANGAN MIKROFLORA DAN ORGANOLEPTIK
MINUMAN FERMENTASI KOMBUCHA**

SKRIPSI



**RIKA RAHMA YOLANDA
07133032**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN
ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG 2012**

KATA PENGANTAR

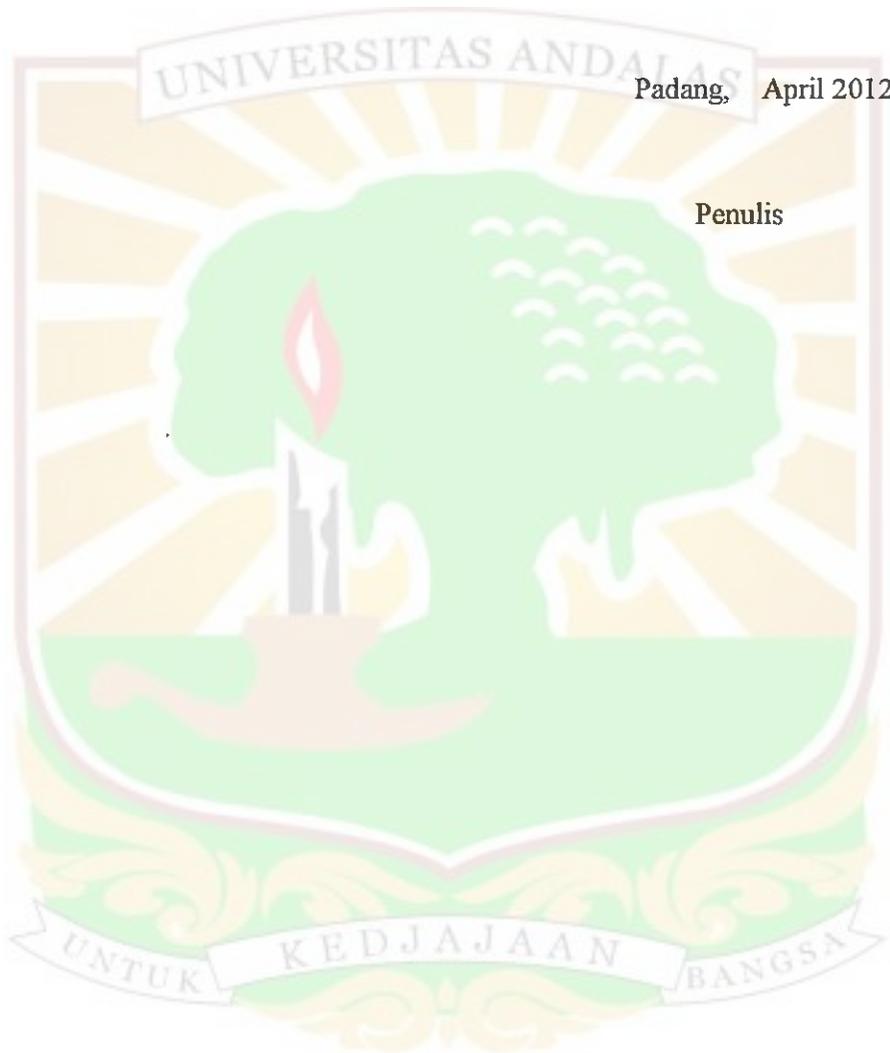
Segala puji dan syukur Kehadirat Allah SWT, atas izinNya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Beberapa Jenis Daun Tanaman terhadap Perkembangan Mikroflora dan Organoleptik Minuman fermentasi kombucha Kombucha”. Skripsi ini disusun berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas Padang yang merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan studi di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada Ibu Dr.phil.nat. Periadnadi dan Bapak Dr. Nasril Nasir, yang telah meluangkan waktu dan memberikan petunjuk serta bimbingan kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan skripsi ini. Ucapan terima kasih ini juga penulis tujukan kepada :

1. Bapak Ketua Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang.
2. Bapak Kepala Laboratorium beserta analis Laboratorium Mikrobiologi/Mikologi Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang yang telah membantu kelancaran pelaksanaan penelitian penulis.
3. Bapak Dr. Nasril Nasir selaku pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan dan motivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan studi ini.
4. Bapak dan Ibu staf pengajar Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang.

5. Semua pihak yang telah membantu dalam penelitian sampai selesainya penulisan skripsi ini.

Akhir kata penulis berharap semoga penelitian dan skripsi ini bermanfaat untuk perkembangan dan kemajuan ilmu pengetahuan, serta dapat digunakan sebagai bahan penunjang untuk penelitian di masa yang akan datang.



Padang, April 2012

Penulis

ABSTRAK

Penelitian mengenai “Pengaruh Beberapa Jenis Daun Tanaman terhadap Perkembangan Mikroflora dan Organoleptik Minuman Fermentasi Kombucha” telah dilakukan pada bulan Desember 2011 sampai Februari 2012 di Laboratorium Mikrobiologi/Mikologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas Padang. Penelitian ini dianalisis dengan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan analisis nilai organoleptik dengan Uji Jenjang Bertanda Wilcoxon dengan enam faktor perlakuan dan empat ulangan. Adapun perlakuannya adalah penggunaan media fermentasi yang berbeda seperti : A (teh hijau), B (daun kopi), C (daun kakao), D (daun jambu bol), E (daun jambu mete) dan F (daun mangga). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa media fermentasi yang berbeda memberikan pengaruh terhadap jumlah *Acetobacter xylinum*, jumlah sel khamir, nilai pH, kadar gula, kadar alkohol, berta sellulosa dan nilai organoleptik minuman fermentasi kombucha baik dari segi aroma maupun rasa. Jumlah sel bakteri tertinggi terdapat pada perlakuan B (daun kopi). Sedangkan jumlah sel khamir tertinggi juga terdapat pada perlakuan B (daun kopi). Penilaian organoleptik tertinggi baik aroma maupun rasa terdapat pada perlakuan D (daun jambu bol).



ABSTRACT

Research on "The Effect of Some Plant Leaves on the Development of Microflora and Organoleptic of Kombucha Fermented Drinks" was conducted in December 2011 to February 2012 at the Laboratory of Microbiology / Mycological Department of Biology Faculty of Mathematics and Natural Sciences University Andalas Padang. This study analyzed using Completely Randomized Design method (RAL) and organoleptic value analysis with Wilcoxon Signed Test Study by a factor of six treatments and four replications. The treatment is the use of different fermentation media such as: A (green tea), B (coffee leaf), C (cocoa leaf), D (bol guava leaf), E (cashew leaf) and F (mango leaf). These results indicate that different fermentation media influence on the number of *Acetobacter xylinum*, the number of yeast cells, the pH value, sugar, alcohol, cellulose and asked fermented drink of Kombucha organoleptic value in terms of both aroma and flavor. The highest number of bacterial cells present in treatment B (coffee leaf). While the highest number of yeast cells are also found in treatment B (coffee leaf). The highest organoleptic assessment of both aroma and flavor found in treatment D (bol guava leaf).



DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	i
ABSTRAK.....	iii
ABSTRACT.....	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Minuman Fermentasi Kombucha.....	4
2.2 Mikroflora Kombucha.....	7
2.3 Fermentasi Kombucha.....	12
2.4 Tanaman yang Digunakan sebagai Media fermentasi.....	16
2.4.1. Jambu mete (<i>Anacardium occidentale</i>).....	16
2.4.2. Jambu bol (<i>Syzygium malaccense</i>).....	17
2.4.3. Mangga (<i>Mangifera indica</i>).....	18
2.4.4. Kopi Arabica (<i>Coffea arabica</i>).....	19
2.4.5. Kakao (<i>Theobroma cacao</i>).....	20

III. PELAKSANAAN PENELITIAN.....	16
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	21
3.2 Metode Penelitian.....	21
3.3 Alat dan Bahan.....	21
3.4 Cara Kerja	22
3.5 Pengamatan.....	28
3.6 Analisis Data.....	29
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	31
4.1 Kondisi Awal	31
4.1.1 Starter.....	31
4.1.2 Media Fermentasi.....	33
4.2 Selama Fermentasi	35
4.2.1 Jumlah sel <i>A. xylinum</i>	35
4.2.2 Jumlah sel khamir	39
4.2.3 Nilai pH.....	43
4.2.4 Kadar Gula Sisa	44
4.3 Produk Fermentasi.....	46
4.3.1 Nilai pH.....	46
4.3.2 Kadar alkohol.....	48
4.3.3 Kadar Gula Sisa	49
4.3.4 Berat selulosa	51
4.3.5 Penilaian Organoleptik	55
4.3.5.1 Aroma	57
4.3.5.2 Rasa	59
4.3.5.3 Resume Produk Minuman fermentasi kombucha	60

V. KESIMPULAN DAN SARAN	62
5.1 Kesimpulan.....	62
5.2 Saran.....	62
DAFTAR PUSTAKA.....	63
LAMPIRAN.....	67



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komponen Minuman fermentasi kombucha	14
2. Jumlah sel bakteri <i>A. xylinum</i> , khamir, nilai pH dan kadar gula starter minuman fermentasi kombucha	32
3. Kadar gula dan nilai pH media fermentasi	34
4. Rata – rata jumlah sel bakteri <i>A. xylinum</i> pada media fermentasi yang berbeda minuman fermentasi kombucha setelah 14 hari fermentasi	38
5. Rata – rata jumlah sel khamir pada media fermentasi yang berbeda setelah 14 hari fermentasi	41
6. Rata – rata nilai pH minuman fermentasi kombucha pada media fermentasi yang berbeda setelah 14 hari fermentasi	46
7. Rata – rata kadar alkohol minuman fermentasi kombucha pada media fermentasi berbeda setelah 14 hari fermentasi	49
8. Rata – rata kadar gula sisa minuman fermentasi pada media fermentasi yang berbeda setelah 14 hari fermentasi	50
9. Rata – rata berat selulosa pada media fermentasi yang berbeda setelah 14 hari fermentasi	54
10. Rata – rata nilai organoleptik minuman fermentasi kombucha dari masing – masing perlakuan	56
11. Resume Produk akhir minuman fermentasi kombucha dari berbagai aspek	60

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Skema sintesis glukosa menjadi selulosa oleh <i>A. xylinum</i>	10
2. Starter teh hijau kombucha	23
3. Koloni mikroflora kombucha dalam medium <i>Acetobacter Gluconobacter</i>	31
4. Pertumbuhan sel bakteri <i>Acetobacter xylinum</i> setelah penambahan starter pada media fermentasi berbeda selama 14 hari fermentasi.....	35
5. Pertumbuhan jumlah sel khamir (<i>yeast</i>) setelah penambahan starter minuman fermentasi kombucha selama 14 hari fermentasi.....	40
6. Histogram nilai pH minuman fermentasi kombucha pada media fermentasi berbeda setelah 14 hari fermentasi.....	43
7. Histogram kadar gula sisa minuman fermentasi kombucha pada media fermentasi berbeda selama 14 hari fermentasi.....	45
8. Histogram kadar alkohol minuman fermentasi kombucha pada media fermentasi berbeda selama 14 hari fermentasi.....	48
9. Selulosa yang diproduksi oleh Minuman fermentasi kombucha pada media fermentasi berbeda berbeda setelah 14 hari fermentasi.....	51
10. Histogram berat selulosa minuman fermentasi kombucha pada media fermentasi yang berbeda setelah 14 hari fermentasi.....	52
11. Minuman fermentasi kombucha pada media fermentasi berbeda setelah 14 hari fermentasi.....	55
12. Histogram rata – rata nilai kesukaan terhadap aroma minuman fermentasi kombucha pada perlakuan media fermentasi berbeda selama 14 hari fermentasi.....	57
13. Histogram nilai kesukaan terhadap rasa minuman fermentasi kombucha pada media fermentasi berbeda selama 14 hari fermentasi.....	59

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema kerja	67
2. Skema kerja pembuatan minuman fermentasi kombucha	68
3. Analisa statistik total bakteri <i>A. xylinum</i> Minuman fermentasi kombucha pada hari ke-14 fermentasi	69
4. Analisa statistik jumlah sel khamir dalam minuman fermentasi kombucha setelah 14 fermentasi.....	74
5. Analisa statistik Nilai pH minuman fermentasi kombucha setelah 14 hari fermentasi.....	79
6. Analisa statistik kadar gula sisa minuman fermentasi kombucha setelah 14 hari fermentasi.....	84
7. Analisa statistik berat selulosa minuman fermentasi kombucha setelah 14 hari fermentasi.....	89
8. Analisa statistik kadar alkohol minuman fermentasi kombucha setelah 14 hari fermentasi.....	93
9. Blanko organoleptik.....	98
10. Tabel Nilai J untuk Wilcoxon Signed Rank Test	99
11. Analisa statistik nilai organoleptik rasa minuman fermentasi kombucha.....	100
12. Analisa statistik nilai organoleptik aroma minuman fermentasi kombucha ...	102

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Teh kombucha merupakan produk minuman tradisional hasil fermentasi larutan teh dan gula yang memiliki cita rasa dan aroma yang khas, yaitu rasa asam-manis, mengandung berbagai vitamin dan mineral serta asam-asam organik yang berasal dari daun teh setelah difermentasi (Naland, 2008). Khasiat utama teh kombucha berasal dari senyawa polifenol yang dikandungnya. Di dalam tubuh, senyawa ini dapat membantu kinerja enzim *superoxide dismutase* (SOD) yang berfungsi menangkal radikal bebas. Oleh sebab itulah teh kombucha juga bermanfaat sebagai antioksidan.

Kombucha merupakan hasil fermentasi larutan teh dan gula dengan menggunakan starter mikroba kombucha (simbiosis bakteri dengan khamir) dan difermentasi selama 8-12 hari. Jenis mikroba utama yang berperan adalah *Acetobacter xylinum* dan dua khamir yaitu *Zygosaccharomyces rouxii* dan *Candida* sp. (Blanc, 1996). Minuman teh yang telah difermentasi akan berubah menjadi sedikit asam dengan rasa yang menyegarkan. Fermentasi ini menghasilkan banyak asam organik seperti asam asetat, asam laktat, asam glukoronat, asam folat dan vitamin C yang sangat bermanfaat bagi kesehatan. Disamping itu, kombucha mempunyai potensi untuk digunakan sebagai antibiotik alami (Rofiq, 2002).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Kustyawati dan Ramli (2008) bunga tanaman Rosella mempunyai potensi sebagai minuman fungsional teh kombucha. Mikroba teh kombucha dapat tumbuh dan melakukan aktivitas dalam larutan teh Rosella dan mempengaruhi perubahan terhadap pH, asam total, dan konsentrasi alkohol, tetapi tidak terhadap biosintesa vitamin C perubahan nilai pH pada

fermentasi larutan teh Rosella tidak terlalu besar, dimana pH awalnya adalah 2,74 dan pH setelah fermentasi adalah 2,48. Larutan teh Rosella dengan gula dapat difermentasi menggunakan mikroba Kombucha untuk menghasilkan minuman kombucha teh Rosella. Fungsi minuman kombucha teh Rosella sebagai minuman kesehatan perlu diteliti lebih lanjut.

Berdasarkan survey di lapangan, tanaman yang biasa dimanfaatkan oleh masyarakat diantaranya adalah kopi, kakao, jambu bol, jambu mete, mangga dan teh. Daun kopi di beberapa daerah, khususnya Sumatera Barat sering digunakan untuk pembuatan "aia kawa" (air seduhan daun kopi). Daun jambu mete, daun jambu bol dan daun mangga sering dimanfaatkan sebagai lalapan karena rasanya yang asam dan aroma yang khas. Daun kakao memiliki kandungan flavonoid yang tinggi seperti halnya terdapat pada buah tanaman tersebut. Kemudian teh hijau merupakan bahan dasar pembuatan minuman penyegar.

Senyawa polifenol pada umumnya terdapat pada daun tanaman. Pada proses fermentasi senyawa ini menghasilkan antioksidan. Antioksidan ini memiliki manfaat bagi kesehatan manusia. Oleh sebab itu, dengan adanya kandungan senyawa yang bermanfaat pada beberapa jenis daun tanaman dapat dijadikan sebagai media fermentasi minuman fermentasi kombucha sebagai salah satu produk minuman kesehatan. Adapun media fermentasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kopi, daun jambu bol, daun mangga, daun jambu mete dan daun kakao. Selain itu, juga akan dilihat pengaruhnya terhadap perkembangan mikroflora dan organoleptik pada minuman fermentasi kombucha tersebut.

1.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, didapatkan beberapa permasalahan sebagai berikut :

- 1) Apakah beberapa jenis daun tanaman memiliki potensi sebagai media fermentasi minuman fermentasi Kombucha?
- 2) Bagaimana pengaruh media fermentasi terhadap perkembangan mikroflora dan organoleptik minuman fermentasi kombucha?

1.3. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

- 1) Untuk mengetahui potensi beberapa jenis daun tanaman sebagai media fermentasi minuman fermentasi Kombucha.
- 2) Untuk mengetahui pengaruh media fermentasi terhadap perkembangan mikroflora dan organoleptik minuman fermentasi Kombucha.

1.4. Manfaat penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah penting kepada masyarakat tentang proses pembuatan dan khasiat minuman fermentasi kombucha yang baik untuk kesehatan.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Minuman Fermentasi Kombucha

Komoditas teh dihasilkan dari pucuk tanaman teh (*Camellia sinensis*) melalui proses pengolahan tertentu. Secara umum, berdasarkan cara/proses pengolahannya, teh dapat diklasifikasikan menjadi tiga jenis, yaitu jenis teh hijau, teh oolong, dan teh hitam. Teh hijau dibuat dengan cara menginaktivasi enzim oksidase/fenolase yang ada dalam pucuk daun teh segar, dengan cara pemanasan atau penguapan menggunakan uap panas, sehingga oksidasi enzimatik terhadap katekin dapat dicegah. Teh hitam dibuat dengan cara memanfaatkan terjadinya oksidasi enzimatik terhadap kandungan katekin teh. Sementara itu, teh oolong dihasilkan melalui proses pemanasan yang dilakukan segera setelah proses rolling/penggulungan daun, dengan tujuan untuk menghentikan proses fermentasi. Oleh karena itu, teh oolong disebut sebagai teh semi-fermentasi, yang memiliki karakteristik khusus dibandingkan dengan teh hitam dan teh hijau (Hartoyo, 2003).

Bahan-bahan kimia dalam daun teh dapat digolongkan menjadi empat kelompok besar, yaitu substansi fenol, bukan fenol, substansi penyebab aroma dan enzim. Substansi fenol terdiri dari katekin (polifenol) dan flavanol. Substansi bukan fenol terdiri dari karbohidrat, pektin, alkaloid, klorofil dan zat warna lain, asam-asam amino, resin, vitamin dan mineral. Aroma teh digolongkan menjadi empat kelompok, yaitu fraksi karboksilat, fenolat, karbonil dan fraksi bebas karbonil. Enzim-enzim yang terdapat dalam teh diantaranya adalah enzim invertase, amilase, β -glukosidase, oximetilase, protease dan peroksidase (Syah, 2006). Sifat penyegar teh berasal dari bahan alkaloid yang menyusupnya. Terdapat 3%-4% dari berat kering daun. Alkaloid utama dalam daun teh adalah kafein, theobromin, dan theofilin (Sievers *et al*, 1995)

Zat bioaktif dalam teh yang bermanfaat bagi tubuh tidak hanya berupa katekin. Ada satu jenis asam amino bebas yang disebut dengan *L-theanin*, yang telah terbukti bermanfaat untuk mengurangi stres, menurunkan tekanan darah tinggi dan bahkan bermanfaat meningkatkan daya ingat seseorang. Di Jepang, theanin ini telah diproduksi secara komersial dalam bentuk suplemen kesehatan atau diaplikasikan dalam berbagai produk pangan (Hartoyo, 2003).

Teh hitam merupakan hasil pengolahan daun teh segar dengan mengusahkan agar senyawa polifenol yang terdapat pada pucuk daun teh mengalami proses fermentasi sempurna. Dalam hal ini fermentasi tidak menggunakan mikrobia sebagai sumber enzim, melainkan dilakukan oleh enzim polifenol oksidase yang terdapat di dalam daun teh itu sendiri. Pada proses ini, katekin (flavanol) mengalami oksidasi dan akan menghasilkan thearubigin. Selama proses fermentasi, warna daun menjadi gelap dan sarinya menjadi kurang pahit. Lamanya fermentasi sangat menentukan kualitas hasil akhir dan biasanya dilakukan selama 2-4 jam. Apabila proses fermentasi telah selesai, dilakukan pengeringan sampai kadar air teh kering mencapai 4-6% (Tuminah, 2004 *cit.* Ardheniati, 2008).

Teh hijau adalah jenis teh tanpa fermentasi yang sudah lama dikenal di Cina. Pada prinsipnya proses pengolahan teh hijau melalui beberapa tahapan yaitu pemanasan, penggulungan, pengeringan (Teranishi, 1995 *cit.* Sutarmi, 2005). Pemanasan disini dapat diartikan sebagai pelayuan daun dengan cara penguapan maupun penyangraian. Pucuk daun teh yang segar harus segera diolah. Katekin tidak boleh mengalami perubahan akibat terjadinya oksidasi enzimatik sebelum maupun selama proses pengolahan. Akibat oksidasi ini akan mengakibatkan warna air seduhan teh menjadi merah. Hal ini juga akan terjadi juga pada pucuk yang dimalamkan atau yang rusak dan terkena panas (Sutarmi, 2005).

Komposisi kimia teh hijau mengandung protein dan asam-asam amino sebagai sumber N, gula sebagai sumber C serta mineral dan air (Hui, 1990). Disamping itu, seduhan teh hijau banyak mengandung polifenol. Polifenol dalam daun teh dilaporkan mengandung senyawa seperti flavanol, flavandiol, dan flavanoid (Hertog, Hollman and Betty, 1992) dan asam-asam fenolat (Lin, Juan, Ling and Lin, 1996). Polifenol akan mengalami oksidasi dan kondensasi yang dalam jumlah tertentu akan memberi warna, aroma dan rasa teh. Perlakuan penggilingan dan penggulangan pada pucuk teh menyebabkan cairan sel ke permukaan sehingga senyawa polifenol mengalami oksidasi enzimatik (Ardheniati, 2008).

Teh kombucha merupakan air seduhan teh dan gula yang telah mengalami proses fermentasi oleh bakteri *Acetobacter xylinum* dan berbagai jenis khamir diantaranya *Saccharomyces cerevisiae* dan proses fermentasi dilakukan selama 8-12 hari. Bakteri *Acetobacter xylinum* mampu mengoksidasi etanol menjadi asam asetat secara bioteknologis sangat berarti (Drews, 1983 *cit.* Periadnadi, 2003), sedangkan *Saccharomyces* merupakan salah satu jenis khamir yang mempunyai keunggulan dalam produksi alkohol. Kualitas teh kombucha sangat dipengaruhi oleh jenis teh yang digunakan dan jumlah starter yang ditambahkan serta lama fermentasi (Cahyadi, 2004 *cit.* Elinda, 2008). Simbiosis bakteri dan khamir ini memproduksi berbagai enzim, asam asetat, asam karbonat, asam folat, asam glukonat, asam glukoronat, asam laktat, berbagai asam amino, fruktosa, CO₂, alkohol (0,5-1%), vitamin B1 (thiamin), vitamin B2 (riboflavin), vitamin B3 (niasin/niamide), vitamin B6 (pyridoxin), vitamin B12 (kobalamin, sianokobalamin) dan vitamin C (dari asam laktat) (Frank, 1999).

Selama proses fermentasi gula akan terurai oleh ragi, berubah menjadi gas (CO₂) dan berbagai asam organik dan enzim. Ini adalah kombinasi dari sejumlah proses yang memberikan rasa khas minuman kombucha. Pada awal fermentasi teh

masih terasa manis, namun kemudian hilang karena diuraikannya gula. Pada waktu bersamaan, rasa asam akan muncul sebagai hasil dari aktivitas bakteri, sehingga ada proses transisi dari rasa manis ke rasa asam (Sasanadi, 1999 *cit.* Afifah, 2010).

Bakteri asam asetat selain mampu merombak alkohol menjadi asam asetat, juga mampu membetuk selulosa dari glukosa yang terdapat dalam media. Selulosa yang terbentuk pada permukaan tersebut kemungkinan juga dapat menghalangi penetrasi oksigen kedalam media sehingga pada metode fermentasi yang diberi gula, oksidasi tidak terjadi secara aerob. Sedangkan kekeruhan menunjukkan pertumbuhan mikrobial yang menunjukkan adanya penambahan massa pada media (Lapaz, Galorda and Pale, 1967 *cit.* Ardheniati, 2008).

Kombucha mempunyai sifat-sifat yang spesifik, yaitu: hidup pada temperatur ideal 23°C-27°C, peka terhadap cahaya, peka terhadap guncangan, pH yang ideal 2,7-3,2, peka terhadap logam, peka terhadap polivinil chlorida (PVC) (Bazarewske, 1995 *cit.* Nainggolan, 2009).

2.2. Mikroflora Kombucha

Pertumbuhan mikroorganisme pada minuman kombucha juga dipengaruhi oleh zat aktif yang sudah ada pada medium. Mikroorganisme kombucha dapat tumbuh dengan optimal pada kadar medium 0,5%. Pada persentase ini, mikroorganisme kombucha dapat melakukan metabolisme dengan baik karena zat aktif yang terkandung didalam medium tidak mempunyai pengaruh antimikroba yang signifikan terhadap pertumbuhan dan metabolisme bakteri kombucha. Sedangkan pada persentase yang lebih tinggi, zat antimikroba yang terdapat pada medium dapat menghambat pertumbuhan dan metabolisme mikroorganisme kombucha (Yuliani, 2007 *cit.* Afifah, 2010).

Kultur kombucha adalah sekumpulan bakteri dan khamir yang hidup bersama secara simbiotik membentuk matriks miselium seperti benang (Baggs, 2001 *cit.* Afifah, 2010). Kultur kombucha ini biasa disebut SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast). Bakteri utama berasal dari genus *Acetobacter*, khususnya (*Acetobacter xylinum*, *Acetobacter xylinoides* dan *Bacterium gluconium*) dan komponen khamir (*Saccharomyces pombe*, *Saccharomyces ludwigii*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia fermentant* dan sebagainya) (Wong, 2001 *cit.* Afifah, 2010). Secara umum pada proses fermentasi kombucha terjadi simbiosis antara bakteri *Acetobacter xylinum* dan khamir *Saccharomyces cerevisiae*. Simbiosis ini menghasilkan zat asam dan alkohol yang menghalangi pertumbuhan mikroorganisme asing yang tidak berasal dari jamur teh kombucha (Blanc, 1996).

Di dalam teh kombucha terdapat bakteri asam asetat (*Acetobacter xylinum*, *Acetobacter xylinoides*, *Bacterium gluconicum*, *Acetobacter aceti*, dan *Acetobacter pasteurianus*) dan strain ragi *osmophilic* (*Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces Ludwigii*, *Kloeckera apiculata*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces rouxii*, *Zygosaccharomyces bailii*, *Brettanomyces bruxellensis*, *Brettanomyces lambicus*, *Brettanomyces custersii*, *Pichia membranaefaciens*, *Torulopsis*, dan *Candida*) dalam tebal jelly membran (nata) yang harus dibudidayakan di teh manis (Jayabalan, 2010). Frank (1999) menyatakan kultur tersebut merupakan komunitas simbiotik antara ragi (*yeast*) dan bakteri yang non patogen. Adanya bentuk kehidupan simbiosis ini menyebabkan sulit masuk bakteri yang patogen mengkontaminasi kerja sama kedua jenis mikroba ini. Habitus (perawakan) kombucha seperti karet lunak yang berwarna putih (pucat) dan bertekstur kenyal seperti karet dan menyerupai gel yang tampak jelas pada kultur.

Bakteri *Acetobacter xylinum* termasuk genus *Acetobacter* (Ley dan Frajeur, 1974) *cit.* Nainggolan, 2009). Bakteri *Acetobacter* sp. bersifat Gram negatif, tidak

membentuk endospora, hidup bersifat aerob obligat, tidak melakukan fermentasi alkohol, berbentuk bulat lonjong sampai batang pendek, tumbuh baik pada pH 3,5 – 4,3 dan suhu 25 – 30 °C, dapat mengoksidasi etanol dan menghasilkan asam asetat. Metabolisme bakteri ini menghasilkan enzim katalase, 5 – ketogluconic acid dan D-glukosa, ketogenesis dari gliserol (Holt *et al*, Ley dan Frateur, 1974 *cit.* Nainggolan, 2009).

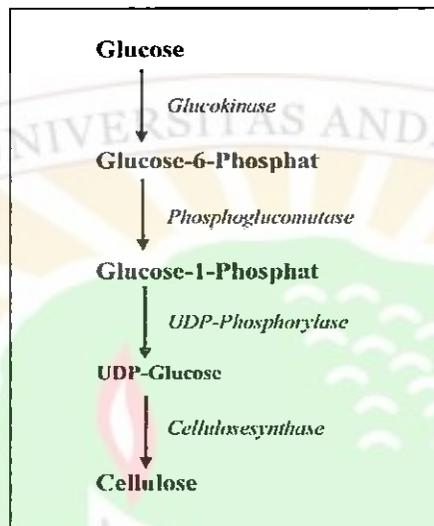
Acetobacter xylinum merupakan bakteri asam asetat yang tergolong familia *Pseudomonadaceae* dan termasuk genus *Acetobacter*, gram negatif dan tidak melakukan fotosintesis (Stanier *et al*, 1970 dan Porter, 1946 *cit.* Ardheniati, 2008). Anggota kelompok *Acetobacter* bersifat toleran terhadap asam dan kapasitas oksidasi yang terbatas, memiliki karakteristik yang sesuai dengan namanya, yaitu oksidasi etil alkohol atau akumulasi asam asetat dalam jumlah besar (Stanier *et al*, 1958 *cit.* Ardheniati, 2008), suhu optimum pertumbuhan 25-30°C (Holt *et. al*, 1994 *cit.* Ardheniati, 2008).

Acetobacter xylinum dikenal juga dengan nama *Gluconobacter xylinum* (Drews, 1983 *cit.* Sanita, 2006). Bakteri *Acetobacter xylinum* mampu mengoksidasi glukosa menjadi asam glukonat dan asam organik lain pada waktu yang sama. Selain itu dapat mensintesis glukosa menjadi polisakarida atau selulosa berupa serat-serat putih, yang terbentuk secara bertahap dari lapisan tipis pada awal fermentasi hingga mencapai ketebalan sekitar 12 mm pada akhir fermentasi, kemudian disebut sebagai “nata” (Aditiawati, 2003).

Untuk kelangsungan hidupnya mikroflora kombucha memerlukan substrat, misalnya larutan teh dan sumber karbonnya berupa gula. Setelah beberapa hari melakukan fermentasi pada substrat, terlihat lembaran mengapung di permukaan larutan atau substrat yang menunjukkan telah terjadi perbanyakan (reproduksi) dari individu/inang, dan akibat reproduksi ini terjadilah proses metabolisme yang dapat

mengubah sukrosa menjadi lapisan selulosa dan mengapung. Pembentukan selulosa ini akibat adanya kerja dari bakteri *Acetobacter* sp (BA) (Nainggolan, 2009).

Mekanisme sintesis glukosa menjadi selulosa dalam pembentukan Nata oleh bakteri *Acetobacter xylinum* (lihat mekanisme pada Gambar 1.).



Gambar 1. Skema Sintesis Glukosa menjadi Selulosa oleh *Acetobacter xylinum* (Periadnadi, 2003)

Acetobacter xylinum merupakan bakteri penghasil selulosa secara alami yang terbesar. Setiap *A. xylinum* memiliki kemampuan untuk mengubah 108 molekul glukosa setiap jam menjadi selulosa. Pada awal terbentuknya, selulosa akan dihasilkan pertama kali dalam medium dalam bentuk tidak berstruktur, sebagai material yang dilepaskan sel terdiri dari molekul – molekul yang terdistribusi secara acak (Gunsalus, 1962 cit. Ardheniati, 2008).

Faktor - faktor yang mempengaruhi *Acetobacter xylinum* mengalami pertumbuhan adalah nutrisi, sumber karbon, sumber nitrogen, serta tingkat keasaman media temperatur, dan udara (oksigen). Senyawa karbon yang dibutuhkan dalam fermentasi nata berasal dari monosakarida dan disakarida. Sumber dari karbon ini yang paling banyak digunakan adalah gula. Sumber nitrogen biasa berasal dari bahan organik seperti ZA, urea. Bakteri ini sangat memerlukan oksigen. Sehingga dalam

fermentasi tidak perlu ditutup rapat namun hanya ditutup untuk mencegah kotoran masuk kedalam media yang dapat mengakibatkan kontaminasi (Anonymous c, 2011).

Asam asetat dimanfaatkan oleh *Acetobacter* sp. sebagai substrat, agar tercipta kondisi yang optimum untuk pertumbuhannya dan untuk membentuk CO₂ dan H₂O (Holt *et al*, 1974 *cit.* Nainggolan, 2009). Bakteri *Acetobacter* memiliki kemampuan untuk memproduksi biofilm selulosa (nata). Terbentuknya biofilm selulosa (nata) ini merupakan hasil metabolisme *Acetobacter* sp yang prosesnya dikendalikan oleh plasmidnya. Nata ini banyak digunakan pada berbagai industri bahan – bahan biomedik dan untuk pembuatan kertas yang mempunyai mutu yang lebih bagus dibandingkan kertas yang diperoleh dari serat tumbuhan, dapat digunakan sebagai makanan ringan atau pencuci mulut, dapat juga digunakan untuk mengurangi sembelit, dan makanan bagi yang sedang menjalani diet (Nainggolan, 2009).

Lapisan nata terdiri dari sellulosa yang mengapung pada permukaan larutan. Nata merupakan sellulosa berbentuk padat dan berwarna putih transparan, berstuktur kenyal dengan kandungan air sekitar 98 %, umumnya dikonsumsi sebagai makanan ringan. Biomassa nata berasal dari pertumbuhan *Acetobacter* selama proses fermentasi pada media yang mengandung gula dan asam. Dalam prosesnya, komponen gula dalam medium dipecah oleh *A. xylinum* sehingga terbentuk polisakarida, yaitu sellulosa. Sellulosa tersebut membentuk benang – benang serat yang terus menebal membentuk jaringan kuat, yang disebut pelikel nata (Rifki, 2004).

Bakteri *Acetobacter xylinum* mampu mengoksidasi glukosa menjadi asam glukonat dan asam organik lain pada waktu yang bersamaan. Selain itu, *Acetobacter xilynum* juga dapat mensintesis glukosa menjadi polisakarida atau selulosa yang berupa serat-serat putih. Selulosa membentuk lapisan nata secara

bertahap hingga mencapai ketebalan sekitar 12 mm pada akhir fermentasi yang dapat digunakan sebagai inokulum pada proses fermentasi selanjutnya (Aditiwati dan Kusnadi, 2003).

Saccharomyces sp. termasuk salah satu spesies yang memiliki toleransi tinggi terhadap kadar alkohol. Namun, ada juga sebagian spesies yang mempunyai toleransi yang rendah terhadap alkohol. Selain alkohol, kadar asam asetat pada media fermentasi mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan yeast. Kregen-van Rij (1984) melakukan pengujian pada beberapa spesies yeast dan mendapatkan kemampuan tumbuh yeast secara umum masih toleran pada kadar asam asetat 1 % (v/v) (p) (Ardheniati, 2008).

Saccharomyces bersifat aerobik karena membutuhkan oksigen untuk pertumbuhannya. Saccharomyces akan tumbuh lambat atau tidak sama sekali pada keadaan kurang oksigen (Cook, 1958 cit. Sumandari, 2002 cit. Ardheniati, 2008). *Saccharomyces cerevisiae* termasuk khamir dalam kelompok *Ascomycetes*. *S.cerevisiae* adalah khamir atas, yaitu khamir murni yang cenderung memproduksi gas sangat cepat sewaktu fermentasi, sehingga khamir itu dibawa ke permukaan (Ardheniati, 2008).

Aditiwati dan Kusnadi (2003), menyatakan bahwa selama proses fermentasi berlangsung maka khamir *Saccharomyces cerevisiae* akan mengubah gula (sukrosa) dalam medium menjadi alkohol dan senyawa lain yang secara simultan dilanjutkan dengan oksidasi alkohol menjadi asam asetat oleh bakteri *Acetobacter xylinum*. Khamir akan menghasilkan enzim-enzim seperti invertase, zimase, karboksilase, heksokinase, dehidrogenase, dan bakteri menghasilkan enzim alkohol dehidrogenase.

2.4 Fermentasi Kombucha

Pembentukan kombucha pertama kali dimulai dari proses fermentasi dengan sedikit oksigen dari lingkungan. Saat terjadi proses ini, organisme menghasilkan enzim yang menguraikan senyawa glukosa menjadi alkohol (etanol) dan gas karbondioksida. Kemudian hasil ini bereaksi dengan air membentuk senyawa asam karbonat. Pada kondisi yang berkecukupan oksigen, reaksi yang terjadi bukan fermentasi. Proses ini bukan menghasilkan etanol, tetapi karbondioksida dan air. Ragi akan memulai aktifitasnya dengan memfermentasi sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa dengan hasil metabolit samping alkohol dan karbon dioksida (Hutagalung, 2010).

Fermentasi adalah suatu proses degradasi anaerobik dari molekul glukosa atau zat organik lain yang menghasilkan produk. Menurut Fardias (1992 *cit.* Anonymous c, 2011) mendefinisikan fermentasi sebagai proses pemecahan senyawa karbohidrat dan asam amino secara anaerobik, yaitu tanpa memerlukan oksigen. Senyawa yang dapat dipecah dalam proses fermentasi terutama karbohidrat, sedangkan asam amino hanya dapat difermentasi oleh beberapa jenis bakteri tertentu.

Fermentasi kombucha berlangsung selama 8-12 hari tergantung suhu dan siap diminum setelah pH nya berkisar 2,5 – 3,5 (Frank, 1995 *cit.* Sutarmi, 2005). Jika proses fermentasi terus berlangsung dalam jangka waktu yang cukup lama maka tingkat keasamannya akan terus meningkat sehingga dapat mengganggu kesehatan (Greenwalt, 1996 *cit.* Sutarmi 2005), sementara rasa manis berkurang karena gula yang ada terfermentasi (Suprptij, 2003 *cit.* Silaban, 2005). Menurut Hoffman (1999) *cit.* Naiggolan (2009) terdapat empat unsur utama yang mempengaruhi faktor tumbuh teh kombucha yaitu oksigen sebesar 65 %, karbon sebesar 18.5 %, hidrogen sebesar 9.5 % dan nitrogen sebesar 3.5 %.

Selama fermentasi dalam larutan teh dan gula, simbiosis bakteri dan khamir ini akan memproduksi berbagai enzim, asam asetat, asam karbonat, asam folat, asam



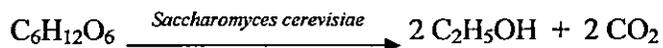
glukonat, asam glukoronat, L(+) Laktat, berbagai asam amino, fruktosa, karbon dioksida, dan sejumlah kecil alkohol (0.5-1%), Vitamin B1 (Thiamin), Vitamin B2 (Riboflavin), Vitamin B3 (Niacin, niacinamide), Vitamin B6 (Pyridoxine), Vitamin B12 (Cobalamin, cyanocobalamin), Vitamin C (dari asam laktat). Komposisi inokulum dalam kultur Kombucha menjadi sangat krusial karena khamir dan bakteri asam asetat yang tumbuh bersimbiosis mempunyai aktivitas sinergis dan saling melengkapi dalam fermentasi (Kustyawati, 2008).

Menurut Naland (2008), kombucha mengandung komponen – komponen pada Tabel 1.

Tabel 1. Komponen yang dimiliki oleh teh Kombucha

Komponen Kombucha	Manfaatnya bagi manusia
Asam laktat	Sangat penting dalam pencernaan manusia
Asam asetat	Menghambat bakteri berbahaya
Asama malat	Untuk detoksifikasi tubuh
Asam oksalat	Pengawet alami
Asam glukonat	Penginfeksi <i>yeast</i> seperti <i>Candida</i>
Asam butirrat	Melawan infeksi khamir
Asam nukleat	Untuk regenerasi sel
Asam amino	Pembentukan protein
Beberapa enzim	Glukokinase, sukrase
Vitamin B-1	Untuk metabolisme
Vitamin B-2	Memproses asam amino, lemak, dan karbohidrat
Vitamin B-3	Untuk menurunkan kadar kolesterol
Vitamin B-6	Untuk perbaikan saluran pencernaan
Vitamin B-12	Metabolisme antar sel pada tubuh
Vitamin B-15	Sebagai oksigenerator dalam tubuh
Vitamin C	Pembentukan substansi antar sel dan meningkatkan daya tubuh
Asam folat	Untuk memproduksi sel – sel darah
Asam glukoronat	Untuk mengkonjugasi toksin dan racun
Asam Hyaluronat	Untuk mengikat toksin dan membentuk ester
Asetaminophen	Untuk mengikat rasa nyeri pada tubuh (analgetik)
Antibiotik	Untuk membatasi pertumbuhan mikroba

Menurut Winarno (1980) fermentasi gula oleh ragi misalnya *Saccharomyces cerevisiae* dan *Saccharomyces ellipsoides* dapat menghasilkan etil alkohol (etanol) dan CO₂ melalui reaksi sebagai berikut :



Saccharomyces cerevisiae merupakan khamir “permukaan” (*top yeast*) dan selama fermentasi terbawa ke permukaan dari bir yang sedang fermentasi oleh gelembung – gelembung karbondioksida yang oleh karena memproduksi bagian atas yang mengandung khamir (*yeast head*) (Buckle, 1987). Di dalam proses fermentasi, kapasitas mikroba untuk mengoksidasi tergantung dari jumlah aseptor elektron terakhir yang dapat dipakai. Simbolon (2008) menambahkan sel – sel melakukan fermentasi menggunakan enzim – enzim yang akan mengubah hasil dari reaksi oksidasi, dalam hal ini yaitu asam menjadi senyawa yang memiliki muatan lebih positif, sehingga dapat menangkap elektron terakhir dan menghasilkan energi.

Pada fermentasi kombucha dihasilkan biofilm mikroba sebagai potensial biologis bahan untuk berbagai aplikasi di berbagai bidang. Pada fermentasi kombucha mengubah gula menjadi asam organik dan etanol. Fermentasi menggunakan gula sebagai sumber karbon dan membentuk membran jelly baru (nata) selama fermentasi. Bakteri asam asetat menghasilkan jaringan apung (selulosa) pada permukaan teh di mana massa sel bakteri dan ragi yang terpasang. Setelah beberapa hari substrat yang ditunjukkan telah terjadi perbanyakan (reproduksi) dari individu/inang, dan akibat reproduksi ini terjadilah proses metabolisme yang dapat mengubah sukrosa menjadi lapisan selulosa dan mengapung. Pembentukan selulosa ini akibat adanya kerja dari bakteri *Acetobacter* sp. Tingginya kadar asam asetat yang pada media kombucha sangat dipengaruhi oleh kelompok bakteri *Acetobacter* dan *Gluconobacter* (Jayabalan, 2010).

Hasil – hasil fermentasi terutama tergantung pada jenis bahan pangan (substrat), macam mikroba dan kondisi di sekelilingnya yang mempengaruhi pertumbuhan dan metabolisme mikroba tersebut. Mikroba yang bersifat fermentatif dapat mengubah karbohidrat dan turunan – turunannya terutama menjadi alkohol, asam dan CO₂ (Winarno dan Fardiaz, 1980).

Hutagalung (2010) menyatakan, ada berbagai faktor yang mempengaruhi proses fermentasi teh kombucha, diantaranya adalah ketersediaan nutrisi, pH medium sekitar 5,5 kelembaban udara, suhu fermentasi 23 °C – 27 °C dengan toleransi dalam kisaran 18 °C – 35 °C, ketersediaan udara namun tidak dalam bentuk aerasi aktif, tidak boleh ada guncangan atau getaran, dan tidak boleh terkena sinar matahari secara langsung. Koloni mikroba akan rusak bila terkena cahaya matahari (Nainggolan, 2009).

2.3. Tanaman yang Digunakan sebagai Media Fermentasi

Tumbuhan menghasilkan sejumlah senyawa kimia kompleks yang biasanya merupakan bagian dari sel yang disebut metabolit sekunder yang kandungannya bukan bahan dasar biokimia untuk hidup, tetapi sebagai bagian yang berinteraksi dengan lingkungan. Bahan kimia dari tumbuhan yang mempunyai efek biologi yang efektif sebagai antioksidan, diantaranya adalah golongan senyawa fenolat. Menurut Andayani (2008 *cit.* Marsetya, 2009) dari sejumlah penelitian pada tanaman obat dilaporkan bahwa banyak tanaman obat yang mengandung antioksidan dalam jumlah besar. Efek antioksidan tersebut terutama disebabkan karena adanya senyawa fenol seperti flavonoid dan asam fenolat.

2.3.1. Jambu Mete (*Anacardium occidentale L.*)

Jambu mete termasuk jenis dikotil atau tumbuhan yang berdaun lembaga dua. Jambu monyet termasuk tumbuhan yang berkeping biji dua atau juga disebut tumbuhan berbiji belah. Jambu monyet mempunyai batang pohon yang tidak rata dan berwarna coklat tua. Daunnya bertangkai pendek dan berbentuk lonjong (bulat telur) dengan tepian berlekuk-lekuk, dan guratan rangka daunnya terlihat jelas. Bunganya berwarna putih. Bagian buahnya yang membesar, berdaging lunak, berair, dan berwarna kuning kemerah-merahan adalah buah semu (Yuniarti, 2008 *cit.* Tampubolon, 2011).

Daun berbau aromatik, rasanya kelat, berkhasiat antiradang dan penurunan kadar glukosa darah (hipoglemik). Biji berkhasiat sebagai pelembut kulit dan penghilang nyeri (analgesik). Tangkai daun berfungsi sebagai pengelat dan akar berkhasiat sebagai pencahar (laksatif). Kulit kayu mengandung tanin yang cukup banyak, zat samak, asam galat, dan ginkgol katekin. Daun mengandung tanin-galat, flavonol, asam anakardiol, asam elagat, senyawa fenol, kardol dan metil kardol. Buah mengandung protein, lemak, vitamin (A,B dan C), kalsium, fosfor, besi dan belerang. Pericarp mengandung zat samak, asam anakardat dan asam elagat. Biji mengandung 40-45% minyak dan 21% protein. Minyaknya mengandung asam oleat, asam linoleat dan vitamin E. Getah mengandung furufural. Asam anakardat berkhasiat bakterisidal, fungisidal, mematikan cacing dan protozoa (Dalimartha, 2000).

2.3.2. Jambu bol (*Syzygium malaccense L.*)

Jambu bol banyak terdapat di Asia, terutama Malaysia dan Indonesia. Karena itu jambu bol sering disebut *Malay Apple*. Jambu ini berwarna merah tua, merah muda dan putih. Air seduhan kulit kayu pohon jambu bol dapat meredakan sariawan sedangkan bubuk dari daun keringnya bisa mengatasi luka di lidah. Akarnya

digunakan untuk mengobati gatal-gatal. Juga bersifat diuretik dan dapat mengatasi bengkak, meredakan disentri, peluruh haid dan bersifat abortif (penggugur). Di Kamboja air seduhan daun, buah dan bijinya dipakai untuk mengatasi demam. Jus daun mudanya digunakan sebagai pelembab kulit. Di Brazil, seluruh bagian pohon jambu digunakan untuk mengobati sembelit, diabetes, batuk, sakit kepala, dan radang selaput lendir pada saluran napas. Biji, kulit kayu, dan daunnya menunjukkan aktivitas antibiotika dan memiliki efek terhadap tekanan darah dan pernapasan. Jus daun jambu di Samoa digunakan untuk mengobati infeksi mulut. Ekstrak kulit kayunya digunakan untuk infeksi tenggorokan, sakit perut, dan gangguan lain pada pencernaan (Anonymous a, 2009).

2.3.3. Mangga (*Mangifera indica L.*)

Tumbuhan mangga (*Mangifera indica*) tergolong kelompok buah berdaging dengan bentuk, ukuran, warna dan citarasa yang beranekaragam. Bagian tumbuhan mangga yang paling penting dan berguna dalam kehidupan manusia sehari-hari, terutama bagi kesehatan adalah getah, kulit batang, buah muda dan buah masak. Di India mangga yang masih hijau digunakan sebagai obat gangguan darah, empedu dan pencernaan, membantu pembentukan sel-sel baru, mencegah pendarahan dan menyembuhkan sariawan (Rukmana, 1997).

Studi yang dilakukan oleh Sanchez (2000) menemukan bahwa ekstrak daun dan tunas mangga menggunakan air panas akan menghasilkan beberapa senyawa asam phenolic (*gallic acid*, *3,4 dihydroxy benzoic acid* dan *benzoic acid*), ester phenolic (*gallic acid methyl ester*, *gallic acid propyl ester* dan *benzoic acid propyl ester*), flavan-3-ols (*catechin* and *epicatechin*) dan xantone mangiferin yang menyusun sekitar 10% dari ekstrak. Mangiferin merupakan komponen penyusun

bunga, cabang, daun serta tunas dimana merupakan komponen penyusun terbanyak dalam tunas daun (Saleh dan El-Ansari, 1975 *cit.* Kusuma, 2010).

Kandungan kimia tumbuhan mangga antara lain : 2-Octane, Alanine, Alpha-phellandrene, Alpha-pinene, Ambolic-acid, Cembonic-acid, Arginie, Ascorbic-acid, Beta-carotene beta pinene, Carotenoids, Fulfural, Gaba, Gallic-acid, Mangiferic-acid, Mangiferine, Mangiferol, Mangiferlic-acid, Myristic-acid, Neo-beta-carotene-b, Neo-beta-carotene-u, Neoxantophyll, Nerol, Neryl-acetate, Oloic-acid, Oxalic-acid, P-coumaric-acid, Palmitic-acid, Palmitoleic-acid, Pantothenic-acid, Peroxidase, Phenylalanine, Phytin, Proline, Quercetin, Xanthophyll (Hegerman, 2000 *cit.* Wilujeng, 2009).

Para ahli meyakini mangga adalah sumber karotenoid yang disebut beta crytoxanthin, yaitu bahan penumpas kanker yang baik. Mangga juga kaya vitamin, antioksidan seperti vitamin C dan E. Satu buah mangga mengandung tujuh gram serat yang dapat membantu sistem pencernaan. Sebagian besar serat larut dalam air dan dapat menjaga kolesterol agar tetap normal. Mangga memiliki sifat kimia dan efek farmakologis tertentu, yaitu bersifat pengelat (astringent), peluruh urine, penyegar, penambah nafsu makan dan antioksidan. Kandungan asam galat pada mangga sangat baik untuk saluran pencernaan. Sedangkan kandungan riboflavinnya sangat baik untuk kesehatan mata, mulut, dan tenggorokan (Pasaribu, 2011).

2.3.4. Kopi Arabica (*Coffea arabica*)

Tanaman kopi dikenal dengan nama *Perpugenus coffea* termasuk dalam famili Rubiaceae, berasal dari benua Afrika. Saat ini terdapat sekitar 4.500 varietas kopi yang dapat dibagi ke dalam kelompok empat besar yaitu *Coffea canephora*, *Coffea arabica*, *Coffea excelsa* dan *Coffea liberika*. Kopi diolah dengan beberapa cara pengolahan dengan cara spesifik dan menyegarkan karena

adanya kandungan zat kafein. Kadar kafein yang terdapat pada kopi robusta sedikit lebih tinggi dibanding arabika (Manurung, 2010). Kopi arabika adalah kopi yang paling baik mutu cita rasanya, tanda-tandanya adalah biji picak dan daun hijau tua dan berombak-ombak (Botanical, 2008 *cit.* Manurung, 2010).

Tanaman kopi merupakan salah satu tanaman yang memiliki nilai ekonomis yang tinggi karena permintaan yang semakin meningkat sejalan dengan ditemukannya penelitian terbaru bahwa kopi dapat berfungsi meningkatkan kemampuan detoksifikasi, melindungi tubuh dari penyakit degeneratif karena mengandung senyawa fenolik dan flavonoid, asalkan dikonsumsi dalam jumlah yang tidak berlebihan (Slaga, 2003 *cit.* Panjaitan, 2005). Senyawa flavonoid tersebut terdapat pada semua bagian tanaman seperti daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, bunga, buah dan biji (Markham, 1988).

2.3.5. Kakao (*Theobroma cacao L.*)

Tanaman kakao termasuk dalam suku Sterculiaceae. Tanaman kakao kaya akan senyawa-senyawa kimia, antara lain : asam asetat, alanin, alkaloid, arginin, asam askorbat, asam askorbat oksidase, beta-karoten, kafein, katekin, katekol, selulosa, asam sitrat, kumarin, sianidin, epigalokatekin, glukosa, glikosida, epikatekin, leusin, lipase, nitrogen, asam hidroksifenil asetat, polifenol-oksida, polifenol, asam stearat, sukrosa, tanin (Tropical Plant Data Base, 1996 *cit.* Pusphita, 1996). Senyawa flavonoid seperti katekin dan senyawa lainnya tersebut terdapat pada semua bagian tanaman seperti daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, bunga, buah, dan biji.

Tanaman kakao bersifat antimikroba terhadap terhadap beberapa bakteri patogen dan kariogenik, juga berkhasiat sebagai antioksidan, mencegah penyakit-penyakit degeneratif utamanya penyakit kardiovaskuler, kanker, dan antivirus. Penelitian-penelitian mengarah kepada kakao makin banyak dilakukan saat ini

karena adanya kandungan flavour dan atau lemak kakao, juga karena aktivitas antioksidan dan antimikrobanya banyak memberikan efek menguntungkan bagi kesehatan (Fatima, 2008).



III. PELAKSANAAN PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan dari bulan Desember 2011 sampai Februari 2012 di Laboratorium Riset Mikrobiologi, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam Universitas Andalas Padang.

3.2 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan Metode eksperimen yang dianalisis dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dalam 7 faktor perlakuan dengan 4 ulangan, berikut ini penjabaran masing-masing perlakuan :

A : teh hijau

B : daun kopi

C : daun kakao

D : daun jambu bol

E : daun jambu mete

F : daun mangga

3.3 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah: gelas kaca, erlenmayer, kain kasa, cawan petri, tabung reaksi, lampu Bunsen, pipet mikrometer, vortex, *becker glass*, *test tube*, gelas ukur, batang pengaduk, haemocytometer, *colony counter*, refraktometer, kertas koran, karet gelang, botol kaca, timbangan, gelas kimia, hot

plate, kompor gas, kapas, autoklaf, pH meter, jarum ose, spidol permanen, kertas label, aluminium foil, tutup gelas, timbangan digital, korek api dan kamera digital. Sedangkan bahan yang digunakan adalah teh hitam, teh hijau, gula pasir, medium Acetobacter -Gluconobacter, alkohol 70 %, spritus, daun kakao, daun teh, daun kopi, daun jambu mete, daun jambu bol dan daun mangga.

3.4 Cara Kerja

3.4.1. Di Lapangan

Daun (kopi, kakao, jambu bol, jambu mete dan mangga) diambil dari lapangan. Daun yang diambil adalah daun pada bagian pucuk. Kemudian daun tersebut dicuci hingga bersih dan dipotong-potong hingga permukaannya kecil. Setelah itu, daun tersebut dikeringanginkan hingga kadar airnya benar-benar hilang dan dihaluskan seperti halnya pembuatan teh yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat.

3.4.2. Di Labaoratorium

3.4.2.1. Sterilisasi Alat dan Bahan.

Peralatan yang digunakan seperti cawan petri, erlenmayer, test tube, kertas koran, kain blacu dan medium sebelumnya disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C tekanan 15 lbs selama 20 menit. Sedangkan sterilisasi gelas dilakukan dengan mengukus gelas selama 30 menit dalam panci dengan posisi terbalik. Setelah itu, langsung ditutup dengan kertas koran steril dan diikat dengan karet gelang.

3.4.2.2. Pembuatan Medium Acetobacter – Gluconobacter

Medium Acetobacter – Gluconobacter digunakan untuk perhitungan total bakteri penghasil asam yang ditandai dengan adanya daerah bening yang terbentuk.

Dilarutkan sebanyak 10 g yeast extract, 20 g CaCO_3 , 100 g glukosa, 25 g agar dan dicukupkan volumenya dengan aquadest menjadi 1000 ml dan pHnya sampai 7,2. Setelah itu, medium dimasukkan ke dalam erlenmeyer untuk disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C pada tekanan 15 lbs selama 20 menit (Periadi, 2003).

3.4.2.3. Pembuatan Starter Teh Kombucha

Starter kombucha ditumbuhkan dengan membiakkan cairan induk kombucha ke dalam larutan teh manis yang telah didinginkan dalam toples kemudian ditutup dengan kain kasa steril dan diikat dengan karet gelang. Setelah lima hari bagian atas permukaan akan terbentuk serat nata dan cairan bibit ini juga bisa digunakan sebagai starter. Adapun cara pembuatan starter teh kombucha, yaitu direbus air sebanyak 1 liter, kemudian ditambahkan 12 g teh celup. Dibiarkan selama 15 menit dan ditambahkan 75 g gula pasir. Ditambahkan starter induk kombucha selama 25%. Lalu ditutup dengan kertas koran steril. Difermentasi selama 5 hari pada suhu ruang (23°C - 27°C). Setelah itu, starter siap untuk digunakan (Sanita, 2006).



Gambar 2. Starter Teh Hijau Kombucha (dok. Rika, 2012)

3.4.2.4. Pembuatan Media Fermentasi Teh Kombucha

Pembuatan minuman kombucha dimulai dengan pengambilan daun yang akan digunakan sebagai media fermentasi kombucha (kopi, kakao, jambu bol, jambu mete

dan mangga) dilapangan, dimana daun yang di ambil adalah bagian pucuknya, kemudian daun tersebut dikering anginkan sampai kadar airnya hilang. Setelah itu dilakukan penyeduhan teh sepereti biasa. Sebanyak 1000 ml air dididihkan, dimasukkan masing-masingnya 4,5 g daun yang sudah dikeringkan. Penyeduhan dibiarkan selama 10-15 menit, kemudian disaring. Ke dalam larutan teh ditambahkan 100 g (10% w/v) gula dan dilarutkan, dibiarkan hingga mencapai suhu ruang, selanjutnya dipindahkan ke dalam toples gelas yang telah disterilkan dengan alkohol. Bila larutan teh telah mencapai suhu ruang, diinokulasikan dengan 25 g (25%) kultur kombucha berikut 100 ml teh media tumbuhnya. Masing-masing toples ditutup dengan kain kassa dan diikat karet. Fermentasi dilakukan pada suhu ruang selama 15 hari pada suhu ruang (Kustyawati, 2008).

3.4.2.5. Pemberian perlakuan

Perlakuan yang diberikan adalah pembuatan teh kombucha dengan menggunakan beberapa jenis daun tanaman, yaitu daun kopi, daun kakao, daun mangga, daun jambu bol, daun jambu mete dan teh hijau digunakan sebagai kontrol. Masing-masing gelas kaca steril diisi dengan 150 ml media fermentasi, kemudian ditutup rapat dengan kain blancu steril, diikat dengan karet gelang dan diinkubasi dan ditempatkan pada suhu ruang. Masing-masing perlakuan diamati dan dicuplik dalam selang waktu 2 hari selama 14 hari pengamatan.

3.4.2.6. Perhitungan Jumlah Sel Bakteri *Acetobacter xylinum*

Perhitungan jumlah sel bakteri bakteri *Acetobacter xylinum* pada teh kombucha dilakukan secara *pourplate* dengan metode pengenceran sampai pengenceran 10^{-8} . Dipipet 1ml hasil pengenceran, kemudian dimasukkan kedalam cawan petri steril dan dituang medium *Acetobacter-Gluconobacter*, digoyang hingga rata dan dibiarkan

beku. Selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam. Setelah 48 jam diamati zona bening (*halozone*) yang terbentuk, dihitung jumlah koloninya dengan menggunakan *colony counter*. Jumlah yang dihitung dengan kisaran 30-300 koloni tiap cawan petri. Kemudian jumlah koloni yang didapat dikalikan dengan angka pengenceran dengan satuan koloni yang didapat dengan satuan colony forming unit (cfu) (Waluyo, 2007).

3.4.2.7. Perhitungan jumlah sel khamir (Yeast)

Perhitungan sel khamir dilakukan dengan mengambil satu tetes larutan hasil fermentasi diteteskan pada *counting chamber*, ditutup dengan *cover glass* kemudian diamati diamati dibawah mikroskop. Perhitungan populasi dilakukan selama fermentasi setiap 48 jam dengan cara menghitung jumlah sel ragi yang terdapat pada 5 petak kecil dengan menggunakan counting chamber, kemudian dicari populasi khamir yang terdapat pada 1 ml hasil fermentasi dengan menggunakan rumus:

$$a = b \times 50 \times 10^3 \times P$$

Keterangan : a = jumlah sel khamir yang terdapat dalam 1 ml teh kombucha

b = jumlah sel khamir yang dihitung pada 5 petak ruang kecil

P = pengenceran

Apabila jumlah sel khamir terlalu rapat maka dilakukan pengenceran terhadap sampel (Kusumawati, 1985 *cit.* Nuryennita, 2008).

3.4.2.8. Pengukuran pH

Pengukuran nilai pH dilakukan dengan menggunakan pH meter digital yang sebelumnya sudah distandarkan dengan larutan buffer (pH 4 dan pH 7). Kemudian elektrodanya dicuci dengan aquades steril, setelah itu dikeringkan dan dicelupkan

kedalam larutan sampel dapat dicatat dan diketahui dari angka yang tertara pada pH meter digital.

3.4.2.9. Pengukuran kadar gula

Pengukuran kadar gula dilakukan dengan memakai alat refraktometer. Cairan teh kombucha yang akan diukur kadar gulanya dimasukkan ke dalam tabung eppendorf dan disentrifus dengan kecepatan 10.000 rpm selama 5 menit sampai bagian natan dan super natan terpisah. Cara menghitung kadar gula dengan refraktometer adalah dengan meneteskan cairan sampel hasil sentrifus pada prisma refraktometer yang terlebih dahulu telah dibersihkan, kemudian ditutup. Lalu diatur pandangan hingga jelas batas gelap dan terang yang terlihat pada lensa okuler, dimana pada batas antara gelap dan terang akan terbaca kadar gula dari sampel (Haensch, 2006).

3.4.2.10. Kadar Alkohol

Pengujian kadar alkohol pada teh kombucha dilakukan dengan metode Skoog (1985) sebagai berikut: larutan teh kombucha diambil sebanyak 50 ml, kemudian dimasukkan ke dalam labu penyuling 250 ml dan selanjutnya denertralkan dengan NaOH 3 N. Larutan ini dilanjutkan dengan proses penyulingan dengan cara destilasi dan hasilnya ditampung sebanyak 50 ml. hasil penyulingan kemudian dimasukkan ke dalam piknometer yang dilengkapi dengan termometer. Sebelum perlakuan piknometer dan termometer ditimbang terlebih dahulu. piknometer dimasukkan ke dalam air dingin hingga suhu air mencapai 20°C (konstan). Kemudian permukaan luar piknometer dikeringkan dengan kertas tissue dan ditimbang beratnya. Perhitungan berat jenis dapat dilakukan dengan cara berikut:

$$\text{Berat jenis} = \frac{(\text{berat piknometer} + \text{destilat}) - \text{berat piknometer kosong}}{(\text{berat piknometer} + \text{akuades}) - \text{berat piknometer kosong}}$$

Dengan mengetahui berat jenis alkohol, kadar alkohol dapat dicari dari daftar specific gravity pada lampiran (Nainggolan, 2009).

3.4.2.11 Berat Basah Sellulosa (Nata)

Berat basah selulosa dihitung pada hari ke-14 fermentasi, dengan cara penyaringan terhadap nata yang terbentuk dengan menggunakan saringan, kemudian dicuci dengan air mengalir, setelah itu disaring kembali dan kemudian ditimbang berat natanya dengan menggunakan timbangan digital.

3.4.2.12. Penilaian Organoleptik

Penilaian organoleptik teh kombucha dilakukan pada akhir fermentasi yang meliputi aroma dan rasa dengan melibatkan 15 orang panelis yang diketahui menyukai kombucha. Pengujian dilakukan untuk menentukan tingkat kesukaan panelis dengan cara oreferance test, angka penilaian skala hedonic antara 1-4. Penilaian organoleptik dilakukan pada hari ke-14 fermentasi terhadap aroma dan rasa teh kombucha. Hasil penilaian organoleptik dianalisa secara statistik dengan uji jenjang bertanda Wilcoxon.

Angka 1 = tidak suka

Angka 2 = agak suka

Angka 3 = suka

Angka 4 = suka sekali (Djarwanto, 1983).

3.5 Pengamatan

3.5.1 Jumlah sel bakteri *Acetobacter xylinum*

Jumlah sel bakteri *Acetobacter xylinum* dihitung pada starter teh kombucha dan pada setiap pencuplikan cairan teh kombucha setiap 48 jam selama 14 hari fermentasi. Dihitung secara *pourplate* dengan metoda pengenceran sampai 10^{-8} dan inkubasi selama 48 jam.

3.5.2 Jumlah sel khamir (Yeast)

Perhitungan jumlah sel khamir dilakukan pada starter teh kombucha dan pada setiap pencuplikan cairan teh kombucha setiap 48 jam selama 14 hari fermentasi. Apabila jumlah sel khamir terlalu rapat, maka dilakukan pengenceran.

3.5.3 Nilai pH

Pengamatan nilai pH dilakukan pada starter teh kombucha, media fermentasi, dan pada cairan teh kombucha pada setiap kali pencuplikan (48 jam) selama 14 hari fermentasi dengan menggunakan pH meter digital yang sebelumnya distandarkan dengan larutan buffer (pH 4 dan pH 7).

3.5.4 Kadar gula

Pengamatan kadar gula dilakukan pada starter teh kombucha, media fermentasi dan pada cairan teh kombucha pada setiap pencuplikan (48 jam) selama 14 hari fermentasi. Dilakukan dengan menggunakan refraktometer.

3.5.5 Berat sellulosa

Berat basah sellulosa diamati pada hari ke 14 fermentasi dengan menggunakan timbangan digital.

3.5.6 Penilaian Organoleptik

Penilaian organoleptik dilakukan terhadap aroma dan rasa teh kombucha pada hari ke-14 fermentasi dengan melibatkan 15 orang panelis yang diketahui menyukai kombucha. Pengujian dilakukan untuk menentukan tingkat kesukaan panelis dengan cara *preference test* dan angka penilaian skala hedonik antara 1-4.

3.6 Analisis data

Data yang analisis dengan menggunakan rancangan acak lengkap adalah penghitungan jumlah sel bakteri *Acetobacter xylinum*, jumlah sel khamir/yeast, pengukuran pH, pengukuran kadar gula, pengukuran kadar alkohol dan penentuan berat sellulosa pada hari ke-14 fermentasi. Apabila dengan uji F dan taraf 5 % terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan maka analisis ragam dilanjutkan dengan uji DNMRT pada taraf 5 %. Sedangkan penilaian organoleptik dianalisis dengan menggunakan uji jenjang bertanda Wilcoxon.

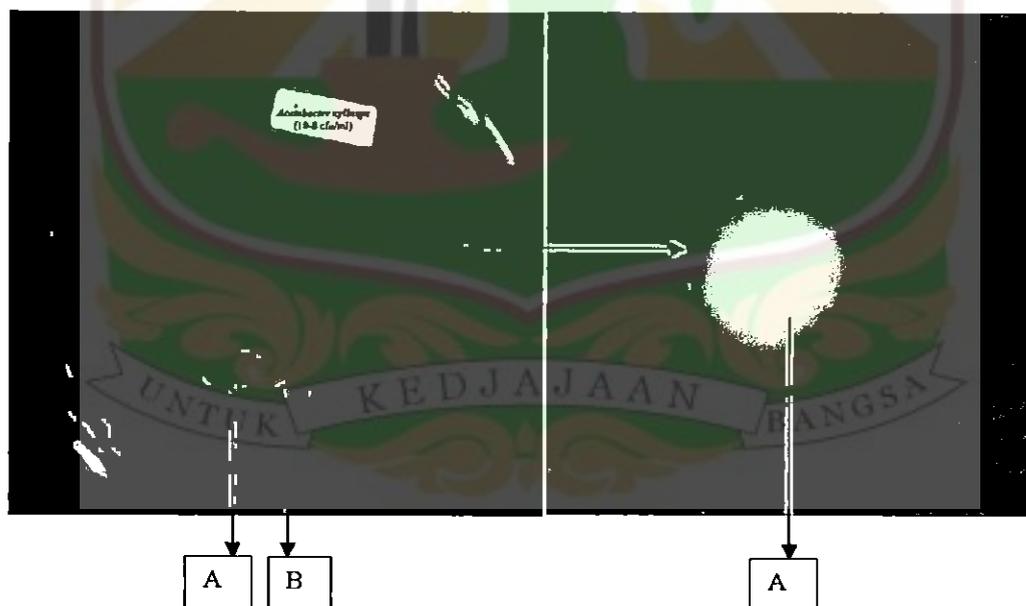
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari penelitian yang telah dilakukan tentang pengaruh beberapa jenis daun tanaman terhadap perkembangan mikroflora dan organoleptik minuman fermentasi kombucha, maka didapatkan hasil sebagai berikut :

4.1 Kondisi Awal

4.1.1 Starter

Sebelum proses fermentasi berlangsung dilakukan penghitungan terhadap total bakteri *A. xylinum*, jumlah selkhamir, nilai pH, dan kadar gula terhadap starter minuman fermentasi kombucha yang akan digunakan. Starter yang digunakan adalah starter minuman fermentasi kombucha yang telah berumur 7 hari. Berikut ini adalah Gambar bakteri *A. xylinum* yang terdapat pada starter minuman fermentasi kombucha.



Gambar 3. Koloni mikroflora kombucha dalam medium *Acetobacter Gluconobacter*
A. Koloni bakteri *A. xylinum*
B. Khamir

Tabel 2. Jumlah Sel Bakteri *A. xylinum*, Khamir, Nilai pH, dan Kadar Gula *Starter* Minuman Fermentasi Kombucha

No.	Parameter	Keterangan
1.	Total bakteri <i>A. xylinum</i>	95×10^8 CFU/ml
2.	Jumlah sel khamir	$13,7 \times 10^6$ sel/ml
3.	Nilai pH	2,40
4.	Kadar Gula	7,4 %

Dari Tabel diatas terlihat bahwa pada *starter* kombucha yang berumur 7 hari ditemukan total bakteri *A. xylinum* 95×10^8 cfu/ml cfu/ml, jumlah sel khamir $13,7 \times 10^6$ sel/ml, nilai pH 2,40, dan kadar gula 7,4 %. *Starter* ini akan dicampurkan ke dalam media fermentasi. Penambahan *starter* kedalam media fermentasi berperan dalam pembentukan mikroflora kombucha pada fermentasi minuman fermentasi kombucha. Hal ini didukung oleh Fardiaz (1989) menyatakan bahwa jumlah *starter* akan mempengaruhi keberadaan mikroba dalam media pertumbuhan. Keberadaan *starter* dalam keadaan aktif dapat mempersingkat waktu adaptasi pada waktu fermentasi. Hal senada juga dinyatakan oleh (Brock and Brock, 1978) *cit.* Ahmad (1996) bahwa *starter* berperan dalam memperbanyak jumlah sel sehingga enzim yang dihasilkan lebih banyak dan reaksi biokimia dapat berlangsung dengan lancar.

Starter Kombucha atau *Tea Fungus* yang bervariasi sumber dan komposisinya akan mempengaruhi komposisi metabolit dan antioksidan dalam minuman Kombucha (Chu and Chen, 2006 *cit.* Kustyawati dan Ramli, 2008). Kekayaan gizi dan kelebihan minuman Kombucha terletak pada sumber inokulum yang digunakannya dan faktor-faktor yang mendukung proses fermentasi. Komposisi inokulum dalam kultur *Kombucha* menjadi sangat krusial karena khamir dan bakteri asam asetat yang tumbuh bersimbiosis mempunyai aktivitas sinergis dan saling melengkapi dalam fermentasi. Oleh karena itu komposisi mikroflora dalam kultur sangat penting untuk diperhatikan dan dibakukan (Kustyawati dan Ramli, 2008).

Menurut Pambayun (2002), setelah diinokulasi, starter akan segera berkembang dan tumbuh dengan perkembangan sangat pesat hingga hari kelima. Pada puncak perkembangan ini, *Acetobacter xylinum* mengeluarkan enzim ekstraseluler yang mampu menyusun satuan gula (glukosa) menjadi senyawa selulosa hingga membentuk matriks menyerupai gel yang disebut nata. Fase ini sangat menentukan tingkat kecepatan suatu nata strain *Acetobacter xylinum* dalam membentuk nata. proses pembuatan nata tergantung pada aktivitas dari *Acetobacter xylinum* yang dipengaruhi oleh kondisi fermentasi yakni meliputi kandungan nutrisi serta umur biakan starter. Makin tua umur biakan starter makin menurun hasilnya (berat dan tebal). Media fermentasi yang mengandung starter tua sangat mudah mengalami kontaminasi sehingga menghasilkan nata yang tipis (Delima, 2003 *cit.* Hartati dan Palennari, 2010).

4.1.2 Media Fermentasi

Pada penelitian ini media fermentasi yang digunakan adalah beberapa jenis daun tanaman, yaitu: daun kopi, daun kakao, daun jambu bol, daun jambu mete, dan daun mangga. Selain daun-daun tersebut juga digunakan teh hijau sebagai kontrol dalam penelitian ini. Dosis gula yang digunakan adalah 10 %. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Nuryennita (2008) dosis gula 10 % dapat menghasilkan mikroflora kombucha tertinggi. Sebelum media fermentasi digunakan, terlebih dahulu dilakukan pengukuran terhadap kadar gula dan nilai pH.

Data hasil pengukuran kadar gula dan nilai pH media fermentasi dapat dilihat pada Tabel 3. berikut ini :

Tabel 3. Kadar Gula dan Nilai pH Media Fermentasi

No	Perlakuan	Kadar gula (% Brix)	Nilai pH
1.	Teh hijau	9,82	6,30
2.	Daun kopi	10,00	6,86
3.	Daun kakao	9,51	6,95
4.	Daun jambu bol	11,05	5,88
5.	Daun jambu mete	9,60	7,10
6.	Daun mangga	11,13	6,04

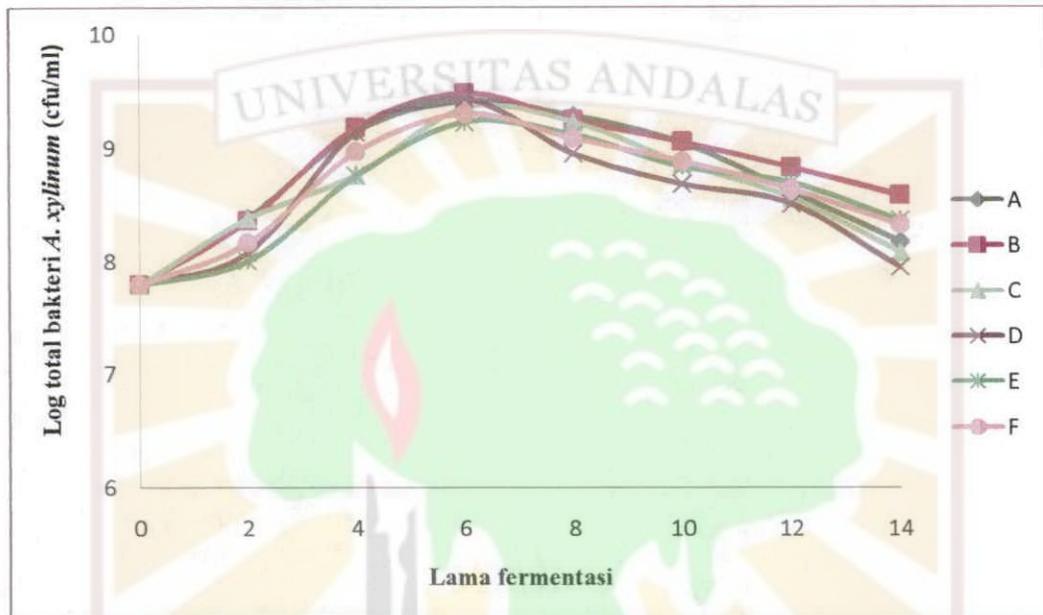
Ketersediaan kadar gula dan nilai pH yang tinggi merupakan kondisi baik terhadap perkembangan mikroflora kombucha. Gula akan dimanfaatkan oleh mikroflora sebagai sumber nutrisi dan energi dalam pertumbuhan dan perkembangannya. Hal ini sesuai dengan pernyataan Nainggolan (2009), media yang tersedia dengan nutrien yang komposisinya variatif, disesuaikan dengan kebutuhan mikroba dalam proporsi yang sebanding. Media sebaiknya diberi gula yang cukup sebagai sumber karbon bagi mikroba. Senada dengan itu Kustyawati dan Ramli, (2008) menyatakan bahwa fermentasi akan berlangsung dengan baik apabila pH dan konsentrasi gula dan suhu diperhatikan. Selanjutnya Frank (1991) *cit.* Afifah, (2010) menambahkan bahwa fermentasi kombucha dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan seperti jumlah inokulum (bibit), suhu inkubasi, pH, kadar sukrosa awal dan dibantu oleh kultur khamir dan bakteri asam asetat. Ardheniati (2008) menyatakan bahwa bakteri *Acetobacter aceti* sub spesies *xylinum* tumbuh pada pH antara 3,7 – 7 dengan pH optimum 5,0.

Nutrisi sebagai sumber karbon diperlukan untuk kelangsungan hidup mikroba kombucha. Ketersediaan nutrisi pada kombucha meliputi adanya unsur C, N, P dan K. Apabila nutrisi cukup pertumbuhan berlangsung dengan baik dan bila nutrisi habis, pertumbuhan terhenti tapi mikroba kombucha tetap tetap dalam keadaan hidup. Sebaliknya bila nutrisi terdapat banyak atau melimpah akan memperlambat pertumbuhan (Nainggolan, 2009).

4.2 Selama Fermentasi

4.2.1 Jumlah sel bakteri *Acetobacter xylinum*

Peninjauan pertumbuhan jumlah bakteri *Acetobacter xylinum* dilakukan setiap 2 hari selama 14 hari fermentasi. Pertumbuhan jumlah sel bakteri *A. xylinum* pada media fermentasi yang berbeda diilustrasikan dalam grafik pertumbuhan berikut ini :



Gambar 4. Pertumbuhan jumlah sel bakteri *Acetobacter xylinum* setelah penambahan starter minuman fermentasi kombucha pada media fermentasi berbeda : A; teh hijau, B; dain kopi, C; daun kakao, D; daun jambu bol, E; daun jambu mete, dan F; daun mangga.

Berdasarkan Gambar 4. di atas dapat dilihat pertumbuhan jumlah sel bakteri *A. xylinum* dari media fermentasi berbeda dari awal sampai akhir fermentasi. Pada media fermentasi yang berbeda terdapat perbedaan rata-rata total bakteri *A. xylinum*. Rata-rata total bakteri *A. xylinum* tertinggi pada media fermentasi yang berbeda adalah pada hari keenam fermentasi yaitu pada perlakuan B (kopi), kemudian dilanjutkan dengan perlakuan D (daun jambu bol), A (teh hijau), C (daun kakao), F (daun mangga), dan E (daun jambu mete). Pada hari 0-2 fermentasi merupakan fase lag (adaptasi) bagi bakteri *Acetobacter xylinum*, dimana masing-masing perlakuan

memiliki kemampuan yang berbeda untuk beradaptasi. Media fermentasi yang memiliki jumlah sel bakteri *A. xylinum* tertinggi pada fase ini adalah daun kopi (B). Hal ini menandakan bahwa nutrisi yang tersedia dan kondisi lingkungan pada daun kopi cocok untuk pertumbuhan sel bakteri. Sedangkan pada media fermentasi daun jambu mete (E) pertumbuhan sel bakteri lebih sedikit dibandingkan dengan media fermentasi yang lain. Hal ini menandakan bahwa sel bakteri tersebut memerlukan waktu adaptasi untuk meningkatkan aktivitas pertumbuhannya. Pada hari 2-6 fermentasi merupakan fase log (eksponensial), dimana jumlah sel tertinggi terdapat pada media fermentasi B (daun kopi). Pada fase ini kecepatan pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh media fermentasi seperti pH, kandungan nutrisi dan kondisi lingkungan. Asam organik yang dihasilkan dari metabolisme sel bakteri dijadikan sebagai substrat untuk pertumbuhannya. Pada hari ke-6 fermentasi adalah fase stasioner, dimana jumlah sel tetap karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati. Pada hari 8-14 fermentasi merupakan fase kematian, dimana nutrisi yang terdapat pada media fermentasi sudah mulai habis sehingga tidak lagi menyokong pertumbuhan sel bakteri. Akibatnya pada fase ini jumlah sel semakin berkurang karena adanya sel yang mati.

Pertumbuhan bakteri *Acetobacter xylinum* meningkat setelah hari ke-2, seiring dengan terbentuknya "nata" dengan ketebalan lebih kurang 1 mm (hari ke 2) sampai 12 mm (hari ke 14). Setelah hari ke 2, kondisi substrat (media fermentasi) sudah cocok bagi pertumbuhan sel-sel bakteri *Acetobacter xylinum*, karena dihasilkannya metabolit oleh aktivitas sel-sel khamir yang mengubah sukrosa dengan bantuan enzim invertase menjadi glukosa dan fruktosa. Senyawa ini merupakan prekursor bagi pertumbuhan bakteri *Acetobacter xylinum* (Shuterland, 1972 *cit.* Aditiwati & Kusnadi, 2003). Selain itu, pada media fermentasi terdapat perbedaan kandungan senyawa yang terkandung didalamnya. Senyawa tersebut ada yang

berperan sebagai penyokong pertumbuhan bakteri ada juga yang berperan sebagai penghambat pertumbuhan bakteri. Pada daun teh, kopi dan kakao terdapat senyawa alkaloid, yaitu kafein, theobromin dan theofilin. Menurut Sievers (1995), senyawa alkaloid dapat menyokong pertumbuhan *A. xylinum*. Oleh sebab itu, media fermentasi teh hijau, daun kopi dan daun kakao cocok untuk pertumbuhan sel bakteri.

Perubahan jumlah total bakteri selama fermentasi menggambarkan bahwa terdapat perbedaan aktivitas yang disebabkan oleh perbedaan keaktifan dan kemampuan masing – masing bakteri dalam perkembangan populasinya. Selain itu adanya peningkatan dan penurunan jumlah total bakteri selama fermentasi menunjukkan sejauh mana pertumbuhan bakteri dalam media fermentasi dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya adalah nutrisi dalam medium dan faktor lingkungan. Hal ini sesuai dengan pernyataan oleh Schlegel and Schmidt (1994) menyatakan bahwa jika bakteri ditumbuhkan pada suatu media dengan nutrisi yang cukup dan kondisi lingkungan yang cocok, maka bakteri akan terus tumbuh sampai salah satu faktor mencapai minimum dan pertumbuhan menjadi terbatas.

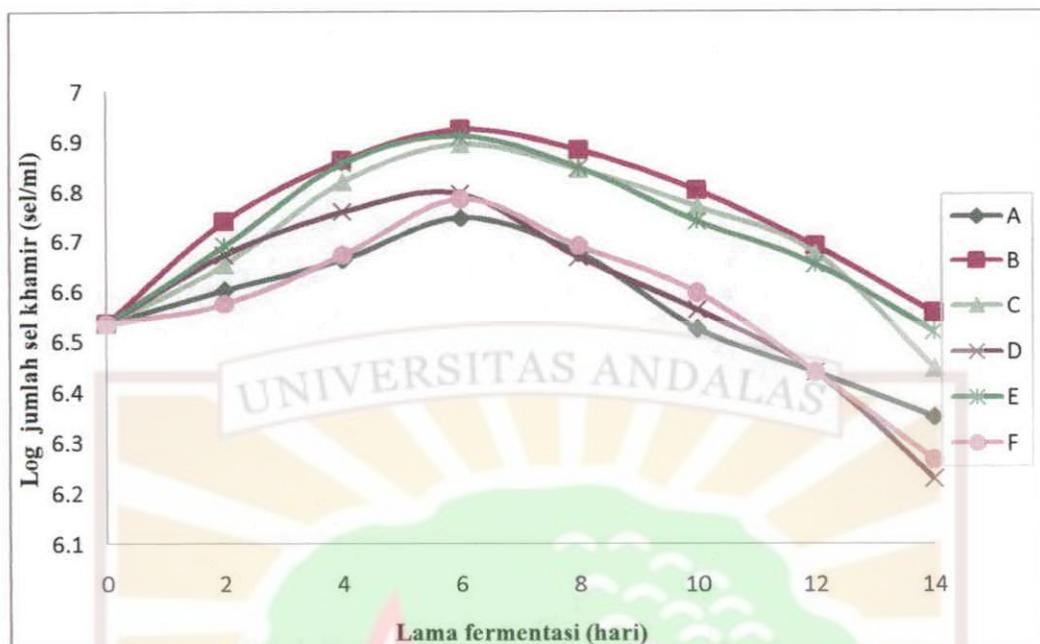
Selain itu, meningkatnya pertumbuhan bakteri asam asetat sesuai dengan kadar gula yang diberikan. Hanya saja pertumbuhan pada suatu media tidak selamanya berbanding lurus dengan penambahan kadar gula dalam proses fermentasi, karena pada proses fermentasi dihasilkan alkohol, asam – asam organik dan zat – zat lain. Kondisi ini dapat menjadi pembatas pertumbuhan mikroba, sehingga mikroba tidak berkembang secara terus menerus tapi menurun seiring dengan penurunan sumber karbon yang dimiliki dan asam – asam organik yang dihasilkan (Greenwalt *et al.*, 1999 *cit.* Naiggolan, 2009).

Pertumbuhan sel bakteri secara umum dipengaruhi oleh komponen kimiawi dan kondisi lingkungan (pH, suhu). Komponen kimiawi dalam medium dapat

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah sel *A. xylinum* tertinggi pada akhir fermentasi terdapat pada perlakuan B (daun kopi) yaitu 38×10^8 CFU/ml dan memiliki pengaruh yang berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Sedangkan perlakuan yang memiliki jumlah sel bakteri *A. xylinum* terendah adalah pada perlakuan D (daun jambu bol) yaitu $8,8 \times 10^8$ CFU/ml. Berkurangnya jumlah sel *A. xylinum* yang terdapat pada perlakuan D (daun jambu bol) disebabkan karena sumber nutrisi *A. xylinum* mulai habis dan tingginya kadar asam seiring dengan penurunan nilai pH, dimana semakin lama waktu fermentasi maka akan semakin tinggi produksi asam pada media fermentasi kombucha karena asam asetat dan asam organik lainnya merupakan hasil metabolit primer dari minuman fermentasi kombucha. Bakteri asam asetat selain mampu merombak alkohol menjadi asam asetat, juga mampu membentuk selulosa dari glukosa yang tersedia pada media (Hassid, 1970 *cit.* Ardheniati, 2008). Terbentuknya asam-asam organik karena oksidasi alkohol oleh bakteri asam asetat dengan bantuan enzim asetaldehid dehidrogenase (Stanier *et al*, 1970 *cit.* Ardheniati, 2008). Menurut Nainggolan (2009) bahwa nutrisi sebagai sumber karbon diperlukan untuk kelangsungan hidup mikroba kombucha. Ketersediaan nutrisi pada kombucha meliputi adanya unsur C, N, P dan K. Apabila nutrisi cukup pertumbuhan berlangsung dengan baik dan bila nutrisi habis, pertumbuhan terhenti tapi mikroba kombucha tetap tetap dalam keadaan hidup. Sebaliknya bila nutrisi terdapat banyak atau melimpah akan memperlambat pertumbuhan.

4.2.1 Jumlah sel khamir

Jumlah sel khamir selama fermentasi minuman fermentasi kombucha pada masing – masing perlakuan dapat dilihat pada Gambar berikut ini :



Gambar 5. Pertumbuhan jumlah sel khamir (*yeast*) setelah penambahan *starter* minuman fermentasi kombucha : A (teh hijau); B (daun kopi); C (daun kakao); D (daun jambu bol); E (daun jambu mete); F (daun mangga)

Pada Gambar 5. di atas terlihat bahwa jumlah sel khamir pada masing – masing perlakuan di awal fermentasi memperlihatkan jumlah yang sama. Setelah dua hari laju pertumbuhan dari sel-sel khamir meningkat, karena ketersediaan substrat serta pH medium cocok bagi pertumbuhan sel khamir untuk dapat mengubah glukosa menjadi alkohol dan asam-asam organik. Jumlah sel khamir masing-masing perlakuan mencapai puncak pada hari keenam fermentasi, dimana jumlah sel khamir tertinggi terdapat pada perlakuan B (daun kopi). Selanjutnya diikuti oleh perlakuan E (daun jambu mete), C (daun kakao), A (teh hijau), F (daun mangga) dan D (daun jambu bol). Setelah hari ke delapan fermentasi terjadi penurunan pH medium menjadi asam, sehingga aktivitas sel-sel khamir terhambat dan jumlah sel-sel khamir menurun. Pada akhir fermentasi jumlah sel khamir tertinggi terdapat pada perlakuan B (daun kopi), kemudian diikuti dengan perlakuan E (daun jambu mete), C (daun kakao), A (teh hijau), F (daun mangga), dan D (daun jambu bol).

Selama fermentasi terjadi peningkatan dan penurunan jumlah sel khamir, yang menunjukkan sejauh mana pertumbuhan ragi dalam medium dipengaruhi oleh beberapa faktor salah satunya adalah nutrisi dalam media fermentasi. Hal ini didukung oleh pendapat Filed (1979) *cit.* Salvia (2007), bahwa pertumbuhan populasi khamir sangat tergantung pada keadaan medium tempat khamir itu tumbuh. Dalam hal ini peningkatan populasi khamir berbanding lurus dengan kadar gula terpakai, karena semakin tinggi populasi khamir maka semakin tinggi kadar gula yang digunakan. Senada dengan itu menurut Moet *et al.*, (2002) *cit.* Afifah (2010) bahwa kemampuan sel khamir memfermentasikan gula ditentukan oleh sistem transport dan sistem enzim yang dapat menghidrolisis gula dengan akseptor alternatif selain oksigen, yakni pada kondisi anaerob fakultatif. Akita (1999) *cit.* Afifah (2010) menambahkan bahwa *Saccharomyces cerevisiae* dapat menghasilkan 70 % asam organik seperti asam asetat, asam malat, asam suksinat dan asam piruvat pada saat melakukan fermentasi.

Berdasarkan analisa statistik (Lampiran 4) terlihat bahwa media fermentasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang sangat nyata terhadap jumlah sel khamir/*yeast*, sehingga dilanjutkan dengan uji DNMRT pada taraf 5 % dan 1 %. Untuk melihat pengaruh media fermentasi terhadap jumlah sel khamir/*yeast* minuman fermentasi kombucha dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Rata – Rata Jumlah Sel Khamir/*Yeast* pada Media Fermentasi yang Berbeda Terhadap Minuman Fermentasi Kombucha Setelah 14 Hari Fermentasi

Perlakuan	Rata-rata jumlah sel khamir (10^5 sel/ml)
A	21,63 cd
B	30,13 b
C	25,13 bc
D	14,25 d
E	64,00 a
F	24,13 bc

Keterangan : Angka dalam kolom yang tidak diikuti huruf kecil yang sama berbeda nyata pada taraf DNMRT 5 % atau berbeda sangat nyata pada taraf 1 %

Berdasarkan analisis ragam (lampiran 4.) diperoleh hasil bahwa perlakuan yang memiliki pengaruh yang berbeda nyata terhadap perlakuan lainnya adalah perlakuan E (daun jambu mete) ($\alpha = 0,05$). Sedangkan perlakuan A (teh hijau) ($\alpha = 0,05$) tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap perlakuan C (daun kakao), perlakuan D (daun jambu bol) dan perlakuan F (daun mangga). Perlakuan B (daun kopi) ($\alpha = 0,05$) juga tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap perlakuan C (daun kakao) dan F (daun mangga).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah sel khamir tertinggi pada akhir fermentasi terdapat pada perlakuan E (daun jambu mete) yaitu 64×10^5 sel/ml dan memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap perlakuan lainnya. Sedangkan perlakuan yang memiliki jumlah sel bakteri *A. xylinum* terendah adalah pada perlakuan D (daun jambu bol) yaitu $14,25 \times 10^5$ sel/ml.

Setelah hari ke-6, jumlah sel mengalami penurunan sampai akhir fermentasi. Hal ini disebabkan karena jumlah nutrisi yang terdapat didalam larutan teh mengalami penurunan dan kandungan polifenol media fermentasi dapat menghambat ataupun meningkatkan pertumbuhan khamir. Keadaan ini juga berkaitan dengan kadar gula reduksi yang menurun sehingga mikrobia kekurangan makanan. Penghambatan oleh senyawa polifenol teh terhadap pertumbuhan khamir dilaporkan oleh Neujahr (Rose, 1987 *cit.* Ardheniati, 2008) yang menyatakan bahwa senyawa polifenol dapat menghambat pertumbuhan beberapa spesies khamir. Namun, pada beberapa spesies, senyawa polifenol ternyata dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi dan energi. Sifat sebagai nutrisi dan sebagai antimikrobia untuk beberapa spesies khamir tergantung pada konsentrasi senyawa tersebut (Ardheniati, 2008).

4.2.3 Nilai pH

Mikroorganisme yang berperan dalam proses fermentasi ini terutama dari golongan khamir/*yeast* dan bakteri. Fermentasi berbagai bahan makanan dan minuman dapat melibatkan satu macam atau beberapa mikroorganisme yang bekerja secara simbiotik. Hal ini dapat dilihat pada grafik nilai pH minuman fermentasi kombucha pada media fermentasi yang berbeda setelah 14 hari fermentasi yang terdapat pada Gambar 6. berikut ini :



Gambar 6. Nilai pH minuman fermentasi kombucha setelah 14 hari fermentasi pada perlakuan: A(teh hijau); B (daun kopi); C (daun kakao); D (daun jambu bol); E (daun jambu mete); F (daun mangga).

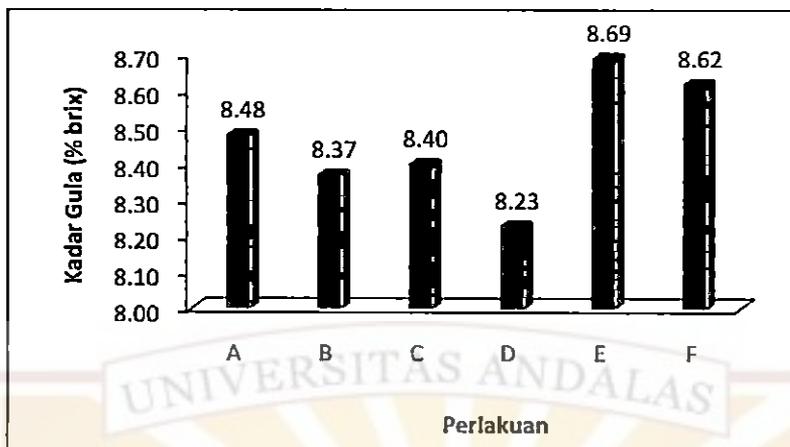
Berdasarkan Gambar 6. diatas dapat dilihat bahwa pada hari ke-14 fermentasi terjadi penurunan nilai pH minuman fermentasi kombucha pada masing-masing perlakuan. Perlakuan yang memiliki nilai pH tertinggi adalah perlakuan E (daun jambu bol), sedangkan perlakuan yang memiliki nilai pH terendah adalah pada perlakuan D (daun jambu bol). Besarnya penurunan nilai pH ini menyebabkan minuman fermentasi kombucha yang dihasilkan terasa asam. Selain itu penurunan nilai pH selama fermentasi ini disebabkan oleh aktivitas bakteri *A. xylinum* yang mampu menurunkan nilai pH, sehingga gula oleh *A. xylinum* diubah menjadi berbagai macam asam seperti asam glukonat. Hal ini sesuai dengan pendapat Naland

(2008) selama proses fermentasi, mikroorganisme yang ada dalam minuman fermentasi kombucha akan mengubah gula menjadi berbagai asam seperti asam glukonat, vitamin, dan alkohol.

Hal ini juga senada dengan pernyataan Kadir (2003) *cit.* Naiggolan (2009) penurunan pH medium merupakan salah satu disebabkan oleh terurainya gula menjadi etanol oleh *Saccharomyces cerevisiae* dan oleh *Acetobacter xylinum* diubah menjadi asam asetat. Blanc, (2000) *cit.* Sutarmi (2005) menambahkan bahwa nilai pH yang rendah dan kondisi lingkungan yang anaerob menyebabkan viabilitas khamir dan bakteri menjadi menurun selama fermentasi berlangsung. Selain itu, dalam proses pembuatan kombucha dihasilkan asam-asam organik seperti asam asetat yang berasal dari proses fermentasi bakteri *A. xylinum*. Selain asam asetat juga terdapat asam folat, glukoronat dan asam glukonat.

4.2.4 Kadar Gula Sisa

Gula sisa merupakan sisa perombakan oleh masing – masing mikroflora selama hingga selesainya proses fermentasi. Seberapa besar kadar gula sisa setelah proses fermentasi berlangsung dapat diukur langsung dengan menggunakan refraktometer, yang dapat dilihat pada Gambar 8. Pada gambar dapat dilihat penurunan kadar gula setelah 14 hari fermentasi pada masing – masing perlakuan.



Gambar 7. Kadar gula sisa minuman fermentasi kombucha setelah 14 hari fermentasi pada perlakuan A (teh hijau); B (daun kopi); C (daun kakao); D (daun jambu bol); E (daun jambu mete); F (daun mangga).

Dari Gambar 7, dapat dilihat bahwa masing-masing perlakuan memiliki nilai kadar gula yang berbeda setelah 14 hari fermentasi. Pada histogram dapat dilihat bahwa masing-masing perlakuan mengalami penurunan kadar gula yang berbeda, ada perlakuan yang mengalami penurunan yang drastis setelah fermentasi ada juga perlakuan yang hanya sedikit mengalami penurunan kadar gula. Perlakuan yang memiliki kadar gula tertinggi pada akhir fermentasi adalah E (daun jambu mete), sedangkan perlakuan yang memiliki kadar gula terendah pada akhir fermentasi adalah pada perlakuan D (daun jambu bol). Besarnya penurunan kadar gula ini akan berpengaruh terhadap nilai pH produk minuman fermentasi kombucha. Penurunan kadar gula ini disebabkan oleh aktivitas mikroflora yang terdapat di dalam minuman fermentasi kombucha, yakni bakteri *A. xylinum* dan khamir (*yeast*). Selain itu, besarnya penurunan kadar gula pada larutan menyebabkan tingginya aktivitas bakteri *Acetobacter* sehingga menghasilkan asam organik yang tinggi pula dan menurunkan nilai pH pada larutan.

Selanjutnya, semakin lama waktu yang digunakan untuk fermentasi minuman fermentasi kombucha akan mengakibatkan semakin banyak gula yang terpakai. Hal ini terjadi karena *A. xylinum* dan khamir (*yeast*) secara aktif terus menerus merombak

gula yang terdapat dalam media fermentasi selama proses fermentasi berlangsung. Penggunaan gula oleh khamir dapat melalui membran sel langsung atau dihidrolisis dahulu, baru kemudian hasil hidrolisis masuk ke dalam sel. Ayres *et. al.*, (1980) *cit.* Salvia (2007) menyatakan bahwa proses fermentasi akan tetap berlangsung selama unsur – unsur makanan masih ada serta faktor lingkungan yang baik dan fermentasi akan berhenti bila gula habis terpakai serta faktor – faktor lingkungan yang tidak cocok lagi.

4.3 Produk Minuman fermentasi kombucha

4.3.1 Nilai pH

Dari analisis statistik (Lampiran 5.) dapat diketahui bahwa media fermentasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang berbeda nyata, sehingga dilanjutkan uji DN MRT pada taraf 5 % dan 1 %. Untuk melihat pengaruh interaksi antara dosis gula dan penggoyangan pada minuman fermentasi kombucha dapat dilihat pada Tabel 6. berikut ini :

Tabel 6. Rata – Rata Nilai pH Minuman Fermentasi Kombucha Pada Media Fermentasi yang Berbeda Setelah 14 Hari Fermentasi

Perlakuan	Rata – rata nilai pH	
A	2,55	c
B	2,74	b
C	2,77	b
D	2,48	c
E	2,95	a
F	2,79	b

Keterangan: Angka pada kolom yang tidak diikuti huruf kecil sama berbeda nyata pada taraf 5 % atau berbeda sangat nyata pada taraf 1 %

Dari hasil analisis ragam (lampiran 6.) diperoleh bahwa media fermentasi yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda terhadap nilai pH masing-masing perlakuan. Adapun perlakuan yang memberikan pengaruh yang berbeda nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap perlakuan lainnya adalah perlakuan E (daun jambu mete). Perlakuan

A (teh hijau) ($\alpha = 0,05$) memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata terhadap perlakuan D (daun jambu bol). Sedangkan perlakuan B (daun kopi) ($\alpha = 0,05$) memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata terhadap perlakuan C (daun kakao) dan F (daun mangga).

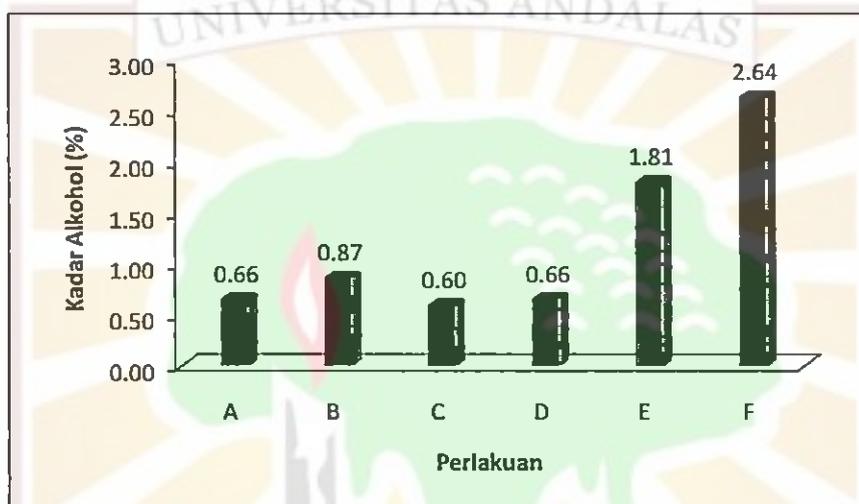
Berdasarkan Tabel 6. di atas terlihat bahwa perlakuan yang memiliki nilai pH tertinggi adalah pada perlakuan E (daun jambu mete) yaitu 2,95 sehingga memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap perlakuan lainnya, sedangkan perlakuan yang memiliki nilai pH terendah adalah perlakuan D (daun jambu bol) 2,48. Dapat disimpulkan bahwa rendahnya nilai pH pada perlakuan ini berkaitan dengan aktivitas bakteri dalam merombak gula pada media fermentasi dan jenis media fermentasi yang digunakan.

Tingginya kadar gula suatu larutan menyebabkan tingginya aktivitas *A. xylinum* dan menghasilkan asam organik yang tinggi pula dan menurunkan nilai pH pada larutan. Asam – asam organik yang dihasilkan adalah asam glukonat, asam glukoronat, asam laktat dan lain – lain (Naland, 2008). Hal ini sesuai dengan pendapat Periadnadi (2003), *A. xylinum* adalah salah satu jenis *Acetobacter* yang dapat menghasilkan asam glukonat yang tinggi dari gula, *A. xylinum* menghasilkan lebih dari 50 g/l asam glukonat dan dalam medium yang mengandung 100 g/l glukosa selama 30 hari fermentasi dan disamping asam glukonat juga dihasilkan asam 2-ketoglukonat. Menurut Tranggono (1986) *cit.* Afifah (2010), pada umumnya semakin meningkatnya kandungan asam suatu bahan maka nilai pH akan semakin turun. Penurunan pH minuman kombucha diduga disebabkan oleh peningkatan konsentrasi zat – zat asam selama proses fermentasi. Zat asam yang terlarut akan melepaskan proton yang menyebabkan penurunan pH. Akita (1999) *cit.* Afifah (2010) menambahkan bahwa *Saccharomyces cerevisiae* dapat menghasilkan 70%

asam organik seperti asam asetat, asam malat, asam suksinat dan asam piruvat pada saat melakukan fermentasi.

4.3.2. Kadar Alkohol

Kadar alkohol yang dihasilkan dari masing-masing perlakuan selama 14 hari fermentasi dapat dilihat dari histogram berikut ini:



Gambar 8. Histogram kadar alkohol minuman fermentasi kombucha pada perlakuan A (teh hijau); B (daun kopi); C (daun kakao); D (daun jambu bol); E (daun jambu mete); F (daun mangga).

Dari Gambar 8. di atas terlihat bahwa terdapat perbedaan kadar alkohol yang dihasilkan pada masing-masing perlakuan setelah 14 hari fermentasi. Perlakuan yang memiliki kadar alkohol tertinggi adalah pada perlakuan F (daun mangga) yaitu sebesar 2,64 %. Sedangkan perlakuan yang memiliki kadar alkohol terendah adalah pada perlakuan C (daun kakao) yaitu sebesar 0,60 %.

Mikroba yang ada dalam media fermentasi bekerja saling mendukung atau saling bersimbiosis. Pada tahap awal terjadi proses fermentasi yang dilakukan oleh khamir terhadap glukosa menjadi alkohol dan CO_2 , kemudian alkohol digunakan

oleh bakteri *A. xylinum* menjadi asam, sehingga menyebabkan kadar alkohol semakin hari semakin menurun persentasenya (Aditiwati & Kusnadi, 2003).

Dari pengamatan analisa statistik (Lampiran 8.) menunjukkan perbedaan yang sangat nyata pada masing-masing perlakuan sehingga dilakukan uji lanjut DNMRT pada taraf 5 % dan 1 %. Untuk melihat pengaruh media fermentasi berbeda pada minuman fermentasi kombucha terhadap kadar alkohol dapat dilihat pada Tabel di bawah ini:

Tabel 7. Rata – Rata Kadar Alkohol Minuman Fermentasi Kombucha pada Media fermentasi yang Berbeda Setelah 14 Hari Fermentasi.

Perlakuan	Kadar alkohol (%)
A	0,66 c
B	0,87 b
C	0,60 c
D	0,66 c
E	1,81 a
F	2,64 a

Keterangan : Angka yang tidak diikuti huruf kecil yang sama berbeda nyata pada taraf 5% atau berbeda sangat nyata pada taraf 1%

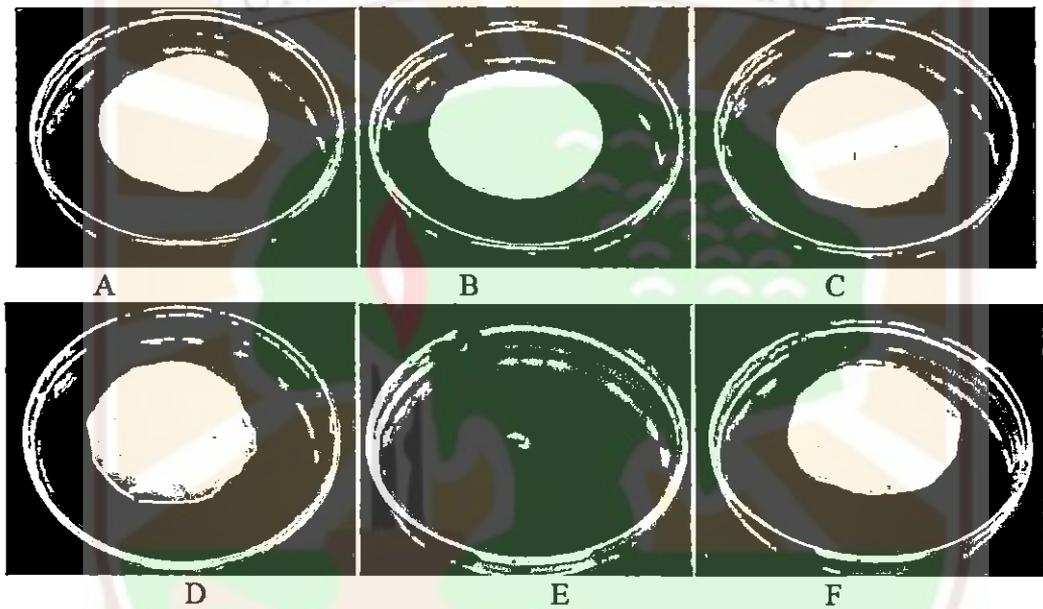
Pada Tabel 7. dapat dilihat bahwa pada masing-masing perlakuan ada yang memberikan pengaruh yang sangat berbeda nyata dan ada juga perlakuan yang memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata. Perlakuan yang memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap perlakuan lainnya adalah perlakuan B (daun kopi). Perlakuan A (teh hijau) ($\alpha = 0,05$) memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata terhadap perlakuan C (daun kakao) dan D (daun jambu bol). Sedangkan perlakuan E (daun jambu mete) ($\alpha = 0,05$) memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata terhadap perlakuan F (daun mangga).

4.3.3 Kadar Gula Sisa

Dari pengamatan analisa statistik (Lampiran 6.) menunjukkan perbedaan yang sangat nyata pada masing-masing perlakuan sehingga dilakukan uji lanjut DNMRT pada

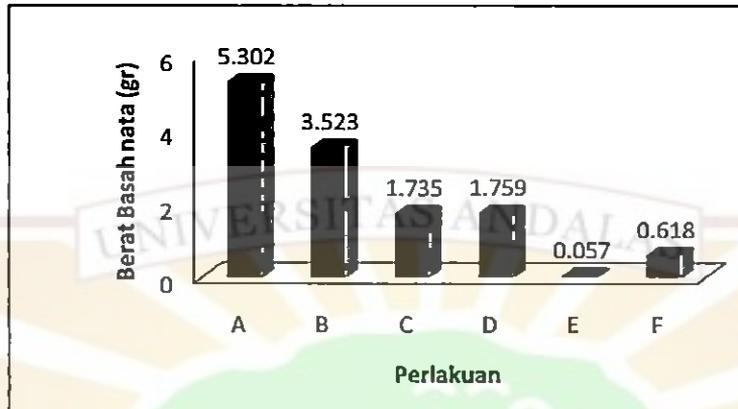
4.3.4 Berat Sellulosa (Nata)

Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan terdapat perbedaan berat sellulosa (nata) yang dihasilkan dari masing-masing media fermentasi pada minuman fermentasi kombucha. Berat sellulosa (nata) yang dihasilkan setelah 14 hari fermentasi pada masing-masing perlakuan setelah dapat dilihat pada Gambar dibawah ini :



Gambar 9. Selulosa yang diproduksi oleh minuman fermentasi kombucha pada perlakuan: A (teh hijau); B (daun kopi); C (daun kakao); D (daun jambu bol); E (daun jambu mete); F (daun mangga).

Penghitungan berat selulosa dilakukan setelah 14 hari fermentasi dapat dilihat pada histogram yang terdapat pada Gambar 10. di bawah ini :



Gambar 10. Histogram berat selulosa (nata) minuman fermentasi kombucha pada perlakuan A (teh hijau); B (daun kopi); C (daun kakao); D (daun jambu bol); E (daun jambu mete); F (daun mangga).

Dari Gambar 10. di atas terlihat bahwa terdapat perbedaan berat nata yang dihasilkan pada masing-masing perlakuan setelah 14 hari fermentasi. Perlakuan yang memiliki berat nata tertinggi adalah perlakuan A (teh hijau) yaitu sebesar 5,302 gr. Sedangkan perlakuan yang memiliki berat nata terendah adalah pada perlakuan E (daun jambu mete) yaitu sebesar 0,057 gr.

Pertumbuhan dan perkembangan yang optimal dai *Acetobacter xylinum* akan meningkatkan produksi enzim selulosa sinthetase yang berperan sebagai biokatalisator reaksi pembentukan selulosa. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Brown dan Saxena (2000) *cit.* Rossi (2008) bahwa selulosa disintesis oleh enzim selulosa sinthetase yang merupakan protein membran yang mengkatalis polimerasi glukosa.

Pembentukan selulosa (nata) pada permukaan media menunjukkan adanya aktivitas bakteri asam asetat. Bakteri asam asetat selain dapat merombak alkohol menjadi asam asetat, juga mampu membentuk selulosa dari glukosa yang terdapat

pada media. *Acetobacter xylinum* akan mengubah glukosa menjadi prekursor pada membran sel yang kemudian disekresikan kebagian luar sel menjadi selulosa. (Mulyani, 2003 *cit.* Ardheniati, 2008). Bakteri *Acetobacter xylinum* bila ditumbuhkan pada media yang mengandung gula akan merubah 19 % dari gula yang tersedia menjadi selulosa (Thiman dan Kenneth, 1955 *cit.* Ardheniati, 2008). Bakteri *A.xylinum* membentuk asam dari glukosa, etil alkohol dan glikol, mengoksidasi asam asetat menjadi senyawa CO₂ dan H₂O. Sifat yang spesifik dari bakteri ini adalah kemampuannya untuk membentuk selaput tebal pada permukaan cairan yang merupakan komponen selulosa (Lapuz *et al*, 1967 *cit.* Ardheniati, 2008).

Pada awal terbentuknya, selulosa akan dihasilkan pertama kali dalam medium dalam bentuk tidak berstruktur, sebagai material yang dilepaskan sel, terdiri dari molekul-molekul yang terdistribusi secara acak. Kondisi ini menunjukkan selulosa kemungkinan tidak dibentuk secara utuh oleh bakteri tapi terbentuk kemudian dalam larutan (Gunzalus, 1962 *cit.* Ardheniati, 2008). Serabut selulosa yang disekresikan akan membentuk jaringan yang lepas menutupi sel (Stanier *et al*, 1970 *cit.* Ardheniati, 2008) yang secara bertahap menutupi permukaan cairan media fermentasi. Konsentrasi gula yang semakin tinggi pada media fermentasi menyebabkan kelarutan oksigen semakin rendah, sementara bakteri membutuhkan oksigen untuk pertumbuhannya, mengakibatkan menurunnya aktivitas metabolis bakteri untuk pertumbuhannya, dan hal ini dapat menyebabkan menurunnya aktivitas pembentukan selulosa.

Faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan dan optimalitas produksi selulosa dari *Acetobacter xylinum* dan sifat fisiologi dalam pembentukan nata adalah ketersediaan nutrisi dalam medium, sumber karbon, sumber nitrogen, serta derajat keasaman media, temperatur, dan udara (oksigen). Medium untuk produksi selulosa

harus mengandung konstituen kimia yang memenuhi kebutuhan elemen massa sel dan produk serta harus dapat memasok energi secukupnya untuk sintesis dan pemeliharaan. Selain itu medium juga harus mengandung kebutuhan nutrisi spesifik seperti vitamin-vitamin dan mineral-mineral (Judoamidjojo *et al*, 1990).

Dari pengamatan dan analisa ragam yang dilakukan pada dosis gula berbeda, menunjukkan adanya perbedaan yang sangat nyata, sehingga dilakukan uji DNMRT pada taraf 5 % dan 1 % (Lampiran 7.). Untuk melihat pengaruh dosis gula berbeda pada minuman fermentasi kombucha, dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 9. Rata – Rata Berat Selulosa Pada Media Fermentasi Yang Berbeda Setelah 14 Hari Fermentasi

Perlakuan	Rata – rata berat selulosa (nata) (g)
A	5,302 a
B	3,523 b
C	1,735 c
D	1,759 c
E	0,057 d
F	0,606 d

Keterangan : Angka yang tidak diikuti huruf kecil yang sama berbeda nyata pada taraf 5% atau berbeda sangat nyata pada taraf 1%

Pada Tabel 9. dapat dilihat bahwa pada masing-masing perlakuan ada yang memberikan pengaruh yang sangat berbeda nyata dan ada juga perlakuan yang memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata. Perlakuan yang memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap perlakuan lainnya adalah perlakuan A (teh hijau) ($\alpha = 0,05$), begitu juga dengan perlakuan B (daun kopi) yang juga memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap perlakuan lainnya. Perlakuan C (daun kakao) memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata terhadap perlakuan D (daun jambu bol). Sedangkan perlakuan E (daun jambu mete) memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata terhadap perlakuan F (daun mangga).

Berdasarkan Tabel diatas terlihat bahwa berat selulosa tertinggi terdapat pada perlakuan A (teh hijau) yaitu sebesar 5,302 gr dan selulosa terendah terdapat pada

perlakuan E (daun jambu mete) 0,0507 gr. La Teng (1999) *cit.* Ahmad (1996) menyatakan bahwa biosintesis selulosa dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti kandungan oksigen pada permukaan medium, kondisi medium mengalami agitasi atau tidak, dan ketersediaan sumber karbon yang cukup. Ketersediaan sumber karbon erat sekali dengan kandungan karbohidrat. Dengan demikian biosintesis selulosa akan meningkat seiring meningkatnya jumlah karbohidrat yang diubah.

4.3.5 Penilaian Organoleptik

Setelah dilakukan penilaian organoleptik terhadap 15 orang panelis dengan menggunakan skala hedonik yang terdiri dari 4 parameter kesukaan panelis dengan skala tertinggi 4 dan skala terendah 1. Rata – rata nilai organoleptik dari masing – masing perlakuan dapat dilihat pada Lampiran 10 dan Lampiran 11, setelah dianalisa secara statistik dengan uji jenjang bertanda Wilcoxon (*Wilcoxon Signed Rank Test*).



Gambar 11. Minuman fermentasi kombucha pada perlakuan media fermentasi berbeda setelah 14 hari fermentasi

Dari Gambar 11. diatas terlihat perubahan warna larutan menjadi keruh pada masing – masing produk minuman fermentasi kombucha yang dihasilkan setelah 14 hari fermentasi. Hal ini disebabkan adanya pembedrtukan benang-benang fibril yang melayang-layang dalam media fermentasi dan kemudian akan membentuk selulosa yang mengapung dipermukan masing-masing media fermentasi. Namun, pada

perlakuan E (daun jambu mete) hanya terjadi pembentukan benang-benang fibril sehingga lapisan sellulosa tidak terbentuk.

Produk kombucha yang diuji kepada panelis merupakan hasil fermentasi selama 14 hari. Pengujian organoleptik meliputi rasa dan aroma. Secara keseluruhan nilai kecenderungan terhadap aroma dan rasa kombucha dapat dilihat pada Tabel 10 berikut ini :

Tabel 10. Rata – Rata Organoleptik Minuman Fermentasi Kombucha Masing – Masing Perlakuan.

No.	Perlakuan	Nilai Kesukaan	
		Aroma	Rasa
1	A	2,467	2,600
2	B	2,600	2,733
3	C	2,200	2,400
4	D	2,800	2,933
5	E	2,133	2,267
6	F	2,667	2,533

Keterangan : Nilai kesukaan Angka 1 = tidak suka, 2 = agak suka, 3 = suka, 4 = suka sekali

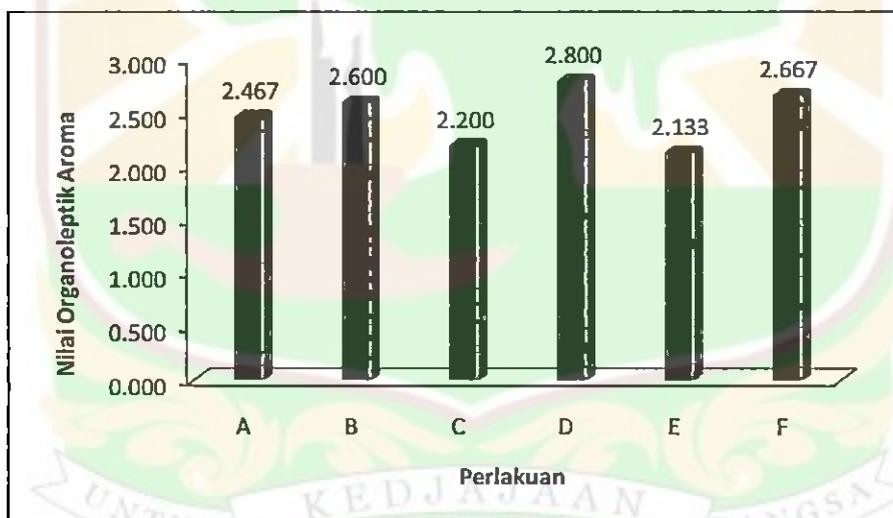
Dari Tabel 10. diatas dapat dilihat bahwa media fermentasi yang berbeda memberikan pengaruh nilai kesukaan yang berbeda terhadap aroma dan rasa minuman fermentasi kombucha. Kecenderungan nilai kesukaan tertinggi terhadap parameter aroma adalah perlakuan d (daun jambu bol) yaitu 2,800 dan nilai kesukaan terendah terdapat pada perlakuan E (daun jambu mete) 2,133. Sedangkan kecenderungan nilai kesukaan tertinggi terhadap parameter rasa adalah pada perlakuan D (daun jambu bol) yaitu sebesar 2,933 dan kecenderungan nilai kesukaan terendah adalah pada perlakuan E (daun jambu mete) yaitu sebesar 2,267. Jadi, dapat disimpulkan bahwa perlakuan D (daun jambu bol) sangat disukai oleh panelis baik dari segi aroma maupun rasa.

Jenis gula (sukrosa, glukosa, fruktosa) memiliki pengaruh yang berbeda-beda terhadap pembentukan etanol dan asam laktat, namun konsentrasi gula secara

individu hanya mempunyai pengaruh yang sangat kecil terhadap flavor (rasa) kombucha. Rasa kombucha probiotik sangat dipengaruhi oleh rasa asli kombucha yang dipengaruhi asam-asam organik di dalamnya. Asam-asam organik yang terdapat dalam kombucha antara lain asam glukoronat, asam asetat, asam folat (Blanc, 2000) *cit.* Sutarni (2005).

4.3.5.1 Aroma

Pengujian pertama yang dilakukan terhadap produk minuman fermentasi kombucha adalah aroma, kelayakan aroma ini sangat menentukan kualitas produk yang dihasilkan. Apabila aroma produk yang dihasilkan berbau busuk, maka produk tersebut tidak layak untuk diuji cobakan kepada panelis. Adapun rata – rata nilai kesukaan terhadap aroma untuk masing – masing perlakuan di akhir fermentasi dapat dilihat pada Gambar berikut ini :



Gambar 12. Histogram rata – rata nilai kesukaan terhadap aroma minuman fermentasi kombucha pada perlakuan A (teh hijau); B (daun kopi); C (daun kakao); D (daun jambu bol); E (daun jambu mete); F (daun mangga)
 Nilai kesukaan : 1 = tidak suka, 2 = agak suka, 3 = suka, 4 = suka sekali

Pada Gambar 12. dapat dilihat bahwa rata – rata nilai kesukaan terhadap aroma adalah 2,13 – 2,80 yang berarti minuman fermentasi kombucha mempunyai

nilai agak suka sampai mendekati suka. Tingkat kesukaan tertinggi terhadap aroma minuman fermentasi kombucha yakni pada perlakuan D (daun jambu mete) sedangkan tingkat kesukaan terendah terdapat pada perlakuan E (jambu mete). Jadi dapat dinyatakan bahwa panelis lebih menyukai aroma minuman fermentasi kombucha dengan media fermentasi daun jambu bol. Akan tetapi, panelis agak menyukai minuman fermentasi kombucha dengan media fermentasi daun jambu mete, dimana hal ini disebabkan karena adanya bau khamir/yeast yang dihasilkan sangat tajam pada perlakuan tersebut.

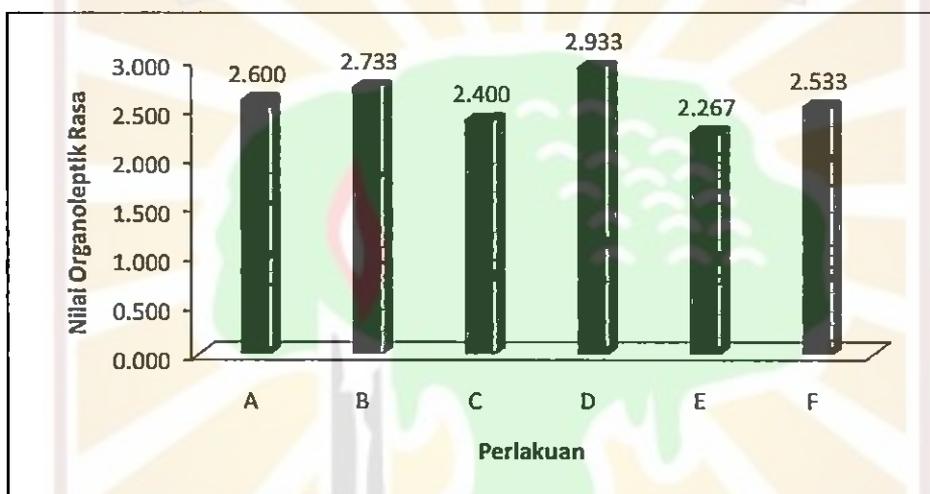
Dalam metabolismenya, khamir/yeast juga memiliki kemampuan dalam menghasilkan komponen-komponen penghasil aroma dan rasa. Selain mengubah molekul-molekul pada bahan dasar, khamir/yeast juga mampu mensintesa substansi penghasil aroma dan rasa dari hasil metabolisme primer maupun sekunder. Komponen-komponen yang dibebaskan dari hasil autolisa yeast juga berpengaruh terhadap aroma. Reaksi antara alkohol dan asam-asam organik yang dimediasi oleh enzim akan menghasilkan ester (Wood, 1993 *cit.* ardhieniati, 2008).

Dalam hal ini aroma yang dihasilkan terutama disebabkan oleh aktivitas khamir (*yeast*) sehingga menimbulkan aroma yang berbeda. Hal ini sesuai dengan pernyataan Gunata *et al.*, (2000) *cit.* Periadnadi (2003) bahwa pada wine, keberadaan aroma sangat tergantung dari aktivitas ragi yang digunakan. Mikroorganisme – mikroorganisme sebagaimana juga halnya dengan enzim – enzim pada khamir/ragi yang memainkan peranan penting pada produksi aroma wine melalui pemecahan dari prekursor pembentuk aroma yang terdapat pada bahan dasar. Selain itu aroma pada minuman fermentasi kombucha selain ditimbulkan oleh alkohol dan asam asetat juga ditimbulkan oleh hasil sampingan dari fermentasi ini seperti vitamin, asam amino dan asam – asam organik lainnya. Sedangkan menurut Pambudi (2002) minuman fermentasi kombucha disamping mengandung alkohol, asam asetat, asam glukonat

sebagai komponen utamanya juga mengandung sejumlah kecil vitamin – vitamin, fluorida dan substansi lainnya. Substansi – substansi ini sangat besar peranannya dalam membentuk flavor minuman fermentasi kombucha tersebut.

4.3.5.2 Rasa

Tingkat kesukaan panelis terhadap rasa minuman fermentasi kombucha pada masing – masing perlakuan yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 14 berikut ini :



Gambar 13. Histogram nilai kesukaan terhadap rasa minuman fermentasi kombucha perlakuan A (teh hijau); B (daun kopi); C (daun kakao); D (daun jambu bol); E (daun jambu mete); F (daun mangga)

Nilai kesukaan : 1 = tidak suka, 2 = agak suka, 3 = suka, 4 = suka sekali

Pada Gambar 13 di atas dapat dilihat bahwa penilaian terhadap rasa minuman fermentasi kombucha memiliki nilai kesukaan rata-rata 2,267–2,933 yang berarti minuman fermentasi kombucha memiliki nilai kesukaan agak suka sampai mendekati suka. Secara keseluruhan tingkat kesukaan panelis yang paling tinggi terhadap parameter rasa terdapat pada perlakuan D (daun jambu bol) dan tingkat terendah terdapat pada perlakuan E (daun jambu mete). Terbentuknya asam disebabkan karena kemampuan bakteri asam asetat dapat mengoksidasi etanol menjadi asam asetat sehingga bakteri ini mendapat julukan bakteri asam asetat

(Drews 1983 *cit.* Elinda 2008). Jadi, dapat dinyatakan bahwa perlakuan D (daun jambu bol) lebih disukai oleh panelis dari perlakuan lainnya dari segi rasa maupun aromanya.

4.3.5.3. Resume Produk Minuman fermentasi kombucha

Penilaian akhir produk minuman fermentasi kombucha yang dihasilkan dalam suatu proses fermentasi sangat ditentukan oleh faktor seperti bahan dasar, mikroflora yang berperan, *starter*, dan lain sebagainya. Selain itu total bakteri *A. xylinum*, nilai pH, kadar gula sisa yang dihasilkan sangat mempengaruhi penilaian organoleptik seperti aroma dan rasa. Perbandingan total bakteri *A. xylinum*, nilai pH, kadar gula sisa, dan penilaian organoleptik minuman fermentasi kombucha setelah 14 hari fermentasi dapat dilihat pada Tabel 14 berikut ini :

Tabel 11. Resume Produk akhir minuman fermentasi kombucha dari berbagai aspek

No	Perlakuan	Rata – rata Total <i>A. xylinum</i> (10 ⁸ cfu/ml)	Nilai pH	Kadar Gula (% Brix)	Organoleptik	
					Aroma	Rasa
1	A	15	2,55	8,450	2,467	2,600
2	B	38	2,74	8,368	2,600	2,733
3	C	9,5	2,77	8,402	2,200	2,400
4	D	8,8	2,48	8,231	2,800	2,933
5	E	23	2,95	8,593	2,133	2,267
6	F	21	2,79	8,505	2,667	2,533

Pada Tabel 11. dapat dilihat bahwa, media fermentasi yang berbeda akan memberikan pengaruh yang berbeda pada fermentasi minuman fermentasi kombucha, meliputi total *A. xylinum*, nilai pH, kadar gula maupun nilai organoleptiknya. Total bakteri *A. xylinum* tertinggi terdapat pada perlakuan B (daun kopi) 38 x 10⁸ cfu/ml, dengan nilai pH 2,74 dan kadar gula sisa 8,368 %. Nilai kesukaan terhadap aroma tertinggi terdapat pada perlakuan D (daun jambu bol) 2,80

(mendekati suka). Nilai kesukaan tertinggi terhadap rasa terdapat pada perlakuan D... (daun jambu bol) yaitu 2,933 (mendekati suka).

Dari penilaian keseluruhan terhadap total *A. xylinum*, nilai pH, kadar gula, dan organoleptik rasa, dapat disimpulkan bahwa produk minuman fermentasi kombucha juga dapat dihasilkan dari bahan-bahan selain teh yaitu berasal daun-daun tanaman yang telah diolah seperti halnya teh. Daun tanaman yang memiliki potensi untuk dijadikan minuman fermentasi kombucha adalah daun kopi karena memiliki jumlah mikroflora tertinggi selama fermentasi berlangsung. Namun, dari segi organoleptik baik aroma maupun rasa konsumen lebih menyukai minuman fermentasi kombucha berbahan dasar daun jambu bol.



V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan tentang pengaruh media fermentasi yang berbeda terhadap perkembangan mikroflora dan organoleptik minuman fermentasi kombucha, maka dapat disimpulkan :

1. Produk minuman fermentasi kombucha terbaik yang cocok untuk pertumbuhan mikroflora kombucha adalah pada media fermentasi daun kopi.
2. Produk minuman fermentasi kombucha terbaik dan disukai konsumen dari segi aroma maupun adalah pada media fermentasi daun jambu bol dengan nilai kesukaan 2,8 dan 2,93 (suka) dengan nilai pH 2,48, dan kadar gulanya 8,23 (% Brix).

5.2 Saran

Adapun saran pada penelitian ini adalah dilakukannya penelitian lebih lanjut tentang minuman fermentasi kombucha berbahan pucuk daun tanaman, dalam pengamatan beberapa faktor yang lain, seperti uji aktivitas antioksidan sehingga menambah khasiat dari minuman fermentasi ini.

Daftar Kepustakaan

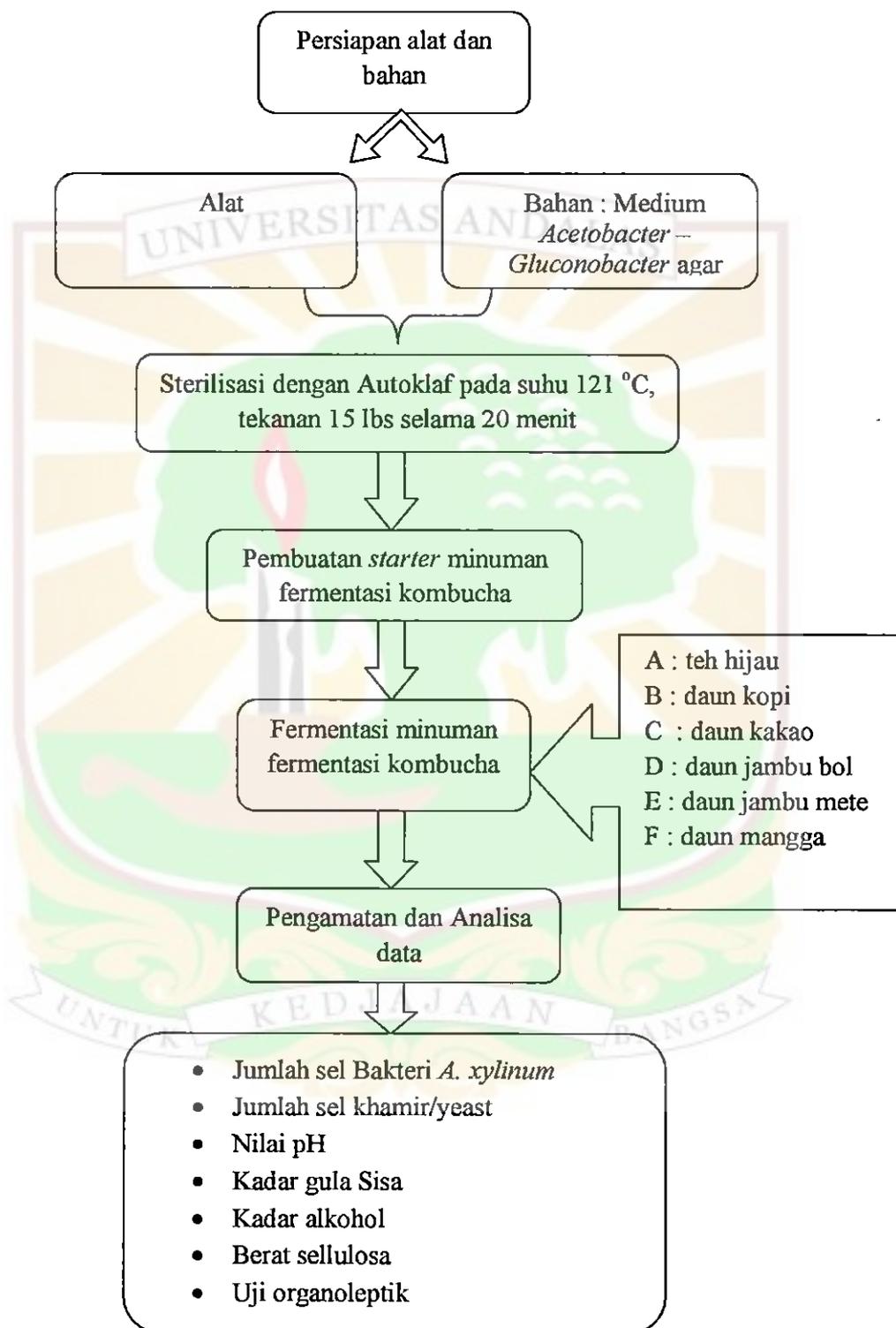
- Ahmad, A. 1996. *Penggunaan Dosis Starter Acetobacter xylinum dan Lama Fermentasi Pada Sari Buah Jambu Biji (Psidium guajava) dalam Menghasilkan Nata*. Skripsi Sarjana Biologi. Universitas Andalas. Padang
- Anonimous a. 2009. *Jambu bol*. <http://jambu-bol-juga-punya-khasiat.html>. 5 Oktober 2011.
- Anonimous b. 2011. *Mangifera indica L*. http://kambing.ui.ac.id/bebas/v12/artikel/ttg_tanaman_obat/depkes/buku3/3-070.pdf. 1 November 2011.
- Anonimous c. 2011. *Fermentasi*. <http://fermentasi.wordpress.com/2009>. Diakses 30 November 2011.
- Aditiwati dan Kusnadi, 2003. Kultur Campuran dan Faktor Lingkungan Mikroorganisme yang Berperan dalam Fermentasi Tea Cider. *Journal ITB Sains dan Teknologi*. Bandung
- Afifah, N. 2010. *Analisis Kondisi dan Potensi Lama Fermentasi Medium Kombucha (Teh, Kopi, Rosela) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Patogen (Vibrio cholerae dan Bacillus cereus)*. Skripsi Sarjana Biologi Universitas Islam Negri Malang. Malang
- Ardheniati, M . 2008. *Fermentasi pada Teh Kombucha dengan Variasi Jenis Teh Berdasarkan Pengolahannya*. Skripsi Sarjana Pertanian. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Blanc, P.J. 1996. Characterization Of The Tea Fungus Metabolites. *Biotechnology Letters*. Vol.: 18, No. 2, p. 139-142.
- Buckle, K. A., R. A. Edward, G. H. Fleet dan M. Wooton. 1987. Penerjemah H. Purnomo dan Adiono. *Ilmu Pangan*. Universitas Indonesia Press. Jakarta
- Dalimartha, S. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Di Indonesia*. Trubus Agriwidya. Jakarta.
- Djarwanto, P.S. 1983. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Djambatan. Jakarta.
- Elinda, M. 2008. *Pengaruh Variasi Dosis Starter dan Teh Hitam dalam Fermentasi Dan Organoleptik Teh Kombucha*. Tesis sarjana biologi. Universitas andalas. Padang
- Fatima, N.I . 2008. *Skrining Awal Fungi Endofit Kulit Buah Kakao (Theobroma cacao L.) sebagai Penghasil Bahan Baku Antimikroba*. Skripsi Sarjana Farmasi Universitas Hasanuddin. Makassar.

- Frank, G.W. 1999. *Kombucha Healthy Beverage And Natural Remedy From The Far East Its Correct Preparation And Use*. Publishing House Ennsthaler Great Britain.
- Haensch, S. 2006. *Refractometer*. <http://www.Schmidt-Haensch.com>. 1 November 2011.
- Hartoyo, A. 2003. *Teh dan Khasiatnya bagi Kesehatan*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Hartati, dan Palennari, M. 2010. Pengaruh Umur Biakan *Acetobacter Cylinum* terhadap Rendemen Nata Aren. *Jurnal Chemica Vo/. 11 Nomor 1 Juni 2010*, 65 -70.
- Hertog, M.G.L, Hollman P.C.H, and P. Betty. 1992. Content of Potentially Anticarcinogenic Flavonols of Tea Infusion, Wine and Fruits Juices. *Journal Agriculture Food Chemistry*. Vol.: 41, p. 1242-1246.
- Hui, Y.H. 1990. *Encyclopedia of Food Science and Technology*. John Willey and Son Inc. New York
- Jayabalan, R, K. Mailini, M. Sathishkumar, K . Swaminathan, dan S.E. Yun. 2010. Biochemical Characteristic Of Tea Fungus Produced During Kombucha Fermentation. *Journal Food Sci. Biotechnology*. Vol.:19, No. 3, p. 843-847.
- Judoamidjojo, M., A. A. Darwis dan E. G. Said. 1990. *Teknologi Fermentasi*. Institut pertanian Bogor. Bogor.
- Kustyawati, M.E. dan S. Ramli. 2008. *Pemanfaatan Hasil Tanaman Hias Rosella Sebagai Bahan Minuman*. Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi II 2008. Universitas Lampung. Lampung.
- Kusuma, J.R. 2010. *Potensi Jelly Daun Mangga Asam Sebagai Snack Anti Sepsis*. Skripsi Sarjana Kedokteran Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Lin Y.L., Juan I.M., Ling Y.C., and J.K. Lin. 1996. Composition of Polyphenols in Fresh Tea Leaves and Association of Their Oxygen-Radical-Absorbing Capacity with Antiproliferative Actions in Fibroblast Cells. *Journal Agriculture Food Chemistry*. Vol.:44, No.6, p 1387-1394.
- Manurung, D. 2010. *Pengaruh Jenis dan Jumlah Inokulum Mikroba Terhadap Mutu Kopi Bubuk*. Skripsi Sarjana Teknologi Pertanian. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoida*. Terjemahan Kosasih Padmawinata. ITB Press. Bandung.

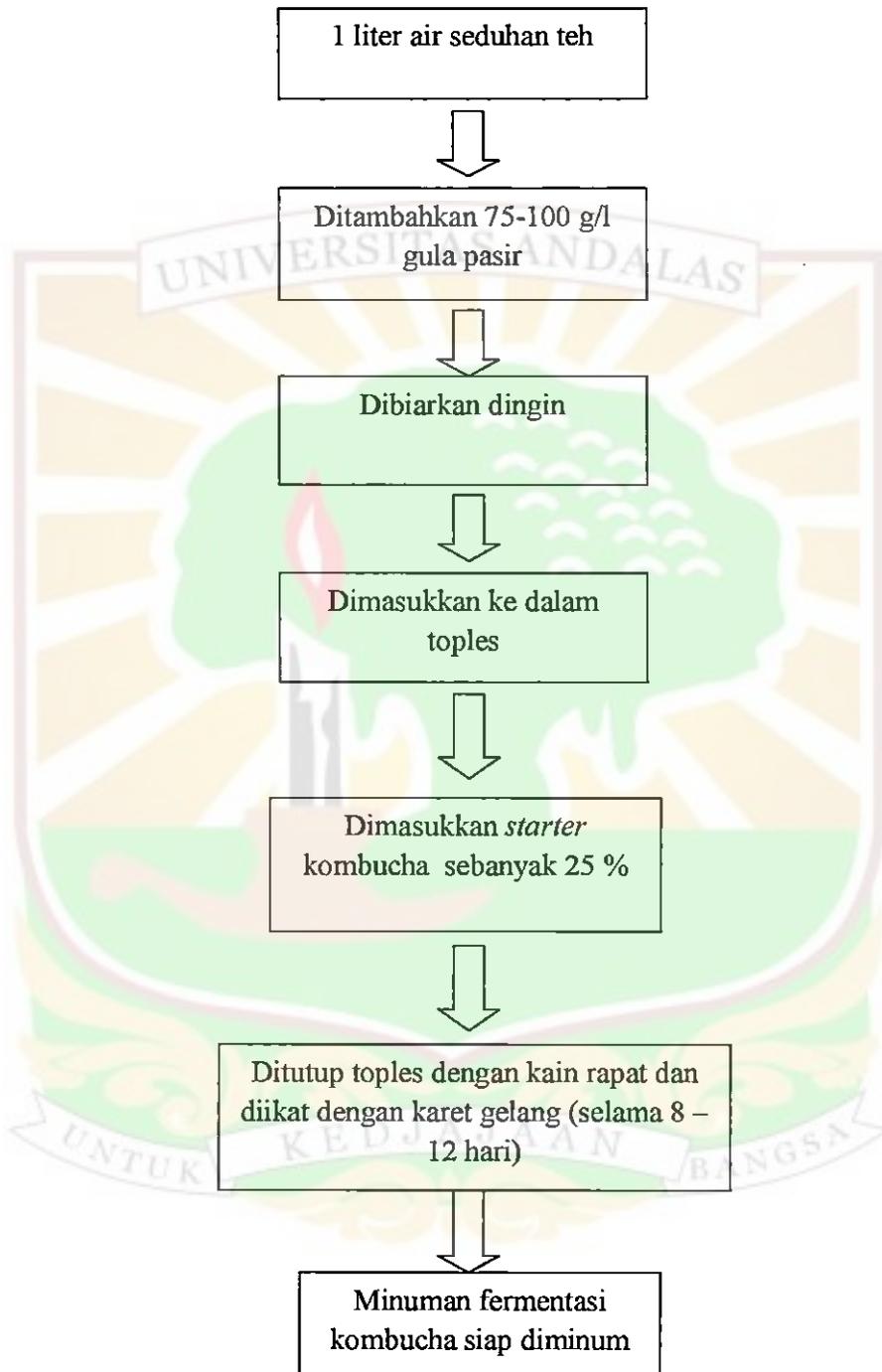
- Marsetya, Y.R. . 2009. *Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolat dan Flavonoid Ekstrak Buah Pare Belut (Trichosanthes anguina L.)*. Skripsi Sarjana Kimia. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Nainggolan, J. 2009. *Kajian Pertumbuhan Bakteri Acetobacter sp. dalam Kombucha Rosella Merah (Hibiscus sabdarifa) dalam Kadar Gula dan Lama Fermentasi yang Berbeda*. Tesis pasca sarjana Program Studi Biologi. Medan.
- Naland, H. 2008. *Kombucha, Teh dengan Seribu Khasiat*. PT. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Nuryennita. 2008. *Pengaruh Penggunaan Jenis Teh dan Dosis Gula terhadap Perkembangan Mikroflora dan Organoleptik Kombucha*. Tesis Jurusan Biologi Program Pasca Sarjana. Universitas Andalas. Padang.
- Panjaitan, E. 2005. Pengaruh Pupuk Cair Trace Nutrient Fertilizer (TNF) dan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) Atonik terhadap Pertumbuhan Vegetatif Tanaman Kopi (*Coffea arabica*) Di Polibag. *Jurnal Penelitian Bidang Ilmu Pertanian*. Vol.: 3, No. 2.
- Periadnadi. 2003. *Vorkommen Und Stoffwechselleistungen Von Bakterien Der Gattungen Acetobacter Und Gluconobacter Während Der Weinbereitung Unter Berücksichtigung Des Zucker-Säure Stoffwechsells*. Disertasi Johann Wolfgang Goethe Universität in Frankfurt am Main.
- Pambayun, R. 2002. *Teknologi Pengelolaan Nata De Coco*. Kanisius. Yogyakarta
- Pasaribu, E. M. . 2011. *Isolasi Senyawa Flavonoida Dari Kulit Batang Tumbuhan Mangga (Mangifera Indica L.)*. Skripsi Sarjana Kimia. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Pusphita, S. 2011. *Analisis Kandungan Senyawa Polifenol Dari Hasil Fermentasi Paecilomyces sp Isolat Fungi Endofit Kulit Buah Kakao (Theobroma cacao L.)*. Skripsi Sarjana Farmasi. Universitas Hasanudin. Makassar.
- Rifki, T. D. M. 2004. *Pengaruh Persentase Gula yang Berbeda terhadap Mutu Nata de Seaweed dari Eucheuma cottonii*. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang
- Rofiq, M. N. 2002. Pengaruh Inhibisi Teh Fermentasi Kombucha Terhadap Bakteri *Salmonella pullorum* Secara In Vitro. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia*. Vol.:4, No.5, p. 186-189.
- Rossi, E., U. Pato., dan S. R. Damanik. 2008. *Optimalisasi Pemberian Ammonium Sulfat terhadap Produksi Nata De Banana Skin, Vol. 7 No. 2 : 30-36*. Program Studi Teknologi Pertanian. Universitas Riau

- Rukmana, H. 1997. *Budidaya Mangga*. Kanisius. Yogyakarta.
- Salisbury, F. B . 1995. *Fisiologi Tumbuhan*. Penerbit ITB. Bandung.
- Salvia, E. 2007. *Penggunaan Beberapa Sediaan Murni Saccharomyces cerevisiae Meyen ex. E.C Hansen Saccharomyces bayanus Sacardo dan Fermipan pada Fermentasi Sari Buah Nenas dalam Menghasilkan Esens Nenas*. Skripsi Sarja Biologi Universitas Andalas Press. Padang
- Sanita, S. 2006. *Perkembangan Acetobacter xylinum Brown. pada Starter Nata De Coco dalam Kombinasi Dosis Gula dan Nilai pH*. Skripsi Sarjana Biologi. Universitas Andalas. Padang.
- Schlegel, H. G. Dan K. Schmidt. 1994. *Mikrobiologi Umum Edisi Ke-6*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- Silaban, M. 2005. *Pengaruh Jenis Teh dan Lama Fermentasi pada Proses Pembuatan Teh Kombucha*. Skripsi Sarjana Teknologi Pertanian. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Skoog, D.A. 1985. *Principles of instrumental*. Saunder College. Japan.
- Sutarmi, M. 2005. *Pengembangan Produk Kombucha Probiotik Berbahan Baku Teh Hijau dan Teh Oolong*. Skripsi sarjana Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Syah A.N.A. 2006. *Taklukan Penyakit dengan Teh Hijau*. AgroMedia Pustaka. Jakarta.
- Tampubolon, T.N. 2011. *Isolasi Senyawa Flavonoid dari Daun Jambu Monyet (Anacardium occidentale L.)*. Skripsi Sarjana Kimia. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Waluyo, L. 2007. *Mikrobiologi Umum*. Universitas Muhammadiyah. Malang.
- Wilujeng,R.A. 2009. *Ekstraksi Dan Karakterisasi Zat Warna Alami Dari Daun Mangga (Mangifera indica LIIN) Serta Uji Potensinya Sebagai Pewarna Tekstil*. Laporan PKMP. Universitas Negeri Malang. Malang.
- Winarno, F. G. S. Fardiaz dan D. Fardiaz. 1980. *Pengantar Teknologi Pangan*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta

lampiran 1. Skema Kerja



Lampiran 2. Skema Pembuatan Minuman Fermentasi Kombucha



Lampiran 3. Analisa Statistik Jumlah Bakteri *A. xylinum* Minuman Fermentasi Kombucha Setelah 14 Hari Fermentasi

a. Jumlah bakteri *A. xylinum* (10^8 CFU/ml)

Ulangan	perlakuan						total
	A	B	C	D	E	F	
1	11	35	9	7	25	20	
2	18	42	12	9	29	24	
3	16	31	10	15	18	17	
4	15	44	7	4	20	23	
Total	60	152	38	35	92	84	461
Rata-rata	15	38	9,5	8,8	23	21	

Keterangan : A. Teh hijau
 B. Daun kopi
 C. Daun kakao
 D. Daun jambu bol
 E. Daun jambu mete
 F. Daun mangga

b. Jumlah sel bakteri *A. xylinum* setelah ditransformasikan dalam log x

Ulangan	perlakuan						total
	A	B	C	D	E	F	
1	9,041	9,544	8,954	8,845	9,398	9,301	
2	9,255	9,623	9,079	8,954	9,462	9,380	
3	9,204	9,462	9,000	9,176	9,255	9,230	
4	9,176	9,663	8,845	8,602	9,301	9,362	
Total	36,677	38,292	35,879	35,577	37,417	37,273	221,12
Rata-rata	9,169	9,573	8,970	8,894	9,354	9,318	

Sidik Ragam

$$\begin{aligned} \text{Faktor Korelasi (FK)} &= \frac{Jt^2}{N} \\ &= \frac{(221,12)^2}{24} \\ &= 2037,252 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah Kuadrat (JK)} &= \sum (j_i^2 / r) - FK \\
 &= \{(36,677)^2 / 4 + \dots + (37,273)^2 / 4\} - 2037,252 \\
 &= 1,201
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah Kuadrat Total} &= \sum (y_{ij})^2 - FK \\
 &= (9,041)^2 + \dots + (9,362)^2 - 2037,252 \\
 &= 2038,741 - 2037,252 \\
 &= 1,489
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah Kuadrat Galat (JKG)} &= JKT - JKP \\
 &= 1,489 - 1,201 \\
 &= 0,288
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Derajat Bebas Perlakuan (DBP)} &= t - 1 \\
 &= 6 - 1 \\
 &= 5
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Derajat Bebas Galat (DbG)} &= t(r - 1) \\
 &= 6(4 - 1) \\
 &= 18
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Derajat Bebas Total (DBT)} &= (t.r) - 1 \\
 &= (6.4) - 1 \\
 &= 23
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP)} &= \frac{JKP}{DbP} \\
 &= \frac{1,201}{5} \\
 &= 0,2402
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kuadrat Tengah Galat (KTG)} &= \frac{JKG}{DbG} \\
 &= \frac{0,288}{18} \\
 &= 0,016
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{F Hitung} &= \frac{KTP}{KTG} \\
 &= \frac{0,2402}{0,016} \\
 &= 15,013
 \end{aligned}$$

Daftar Sidik Ragam Jumlah Sel Bakteri *A. xylinum* minuman fermentasi Kombucha pada hari ke-14 fermentasi

Sumber keragaman	db	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel taraf 5 %	F. Tabel taraf 1 %
Perlakuan	5	1.201	0,24	15,013 **	2,77	4,25
Galat	18	0,288	0,02			
Total	23	1,489				

Keterangan : * = Berbeda nyata pada taraf 5 %

** = Berbeda sangat nyata pada taraf 1 %

Uji lanjut

Uji lanjut yang digunakan adalah Duncan's News Multiple Range Test (DNMRT)

Daftar uji lanjut Duncan's terhadap jumlah bakteri *A. xylinum* dalam minuman fermentasi Kombucha pada taraf 5% dan 1%

Rumus: $LSR = S_y \cdot SSR$

$$\begin{aligned}
 S_y &= \sqrt{\frac{KTG}{r}} \\
 &= \sqrt{\frac{0,016}{4}} \\
 &= 0,0632
 \end{aligned}$$

SSR 18 pada 1%	2	3	4	5	6
	4.07	4.27	4.38	4.46	4.53
<u>LSR 1% = SSR 1% . Sy</u>	0.257224	0.269864	0.276816	0.281872	0.286296
SSR 18 pada 5%	2	3	4	5	6
	2.97	3.12	3.21	3.27	3.32
<u>LSR 5% = SSR 5% . Sy</u>	0.187704	0.197184	0.202872	0.206664	0.209824

Daftar Uji Lanjut Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT) terhadap Jumlah Sel Bakteri *A. xylinum* Minuman Fermentasi Kombucha (10^8) CFU/ml Pada hari ke-14 fermentasi

		B	E	F	A	C	D	LSR 5%	Notasi
	Rata-rata	9,573	9,354	9,318	9,169	8,970	8,894		
B	9,573	-							a
E	9,354	0,219*	-				0,1877		b
F	9,318	0,255*	0,03 ^{ns}	-			0,1972		b
A	9,169	0,404*	0,185 ^{ns}	0,149 ^{ns}	-		0,2029		bc
C	8,970	0,603*	0,384*	0,348*	0,199 ^{ns}	-	0,2067		cd
D	8,894	0,679*	0,460*	0,424*	0,275*	0,076 ^{ns}	-	0,2098	d

Keterangan : * = Berbeda nyata pada taraf 5 %
 ns = Tidak berbeda nyata

Lampiran 4. Analisa Statistik Jumlah Sel Khamir (*yeast*) dalam Minuman Fermentasi Kombucha Setelah 14 Fermentasi

a. Jumlah sel khamir (*yeast*)

Ulangan	Perlakuan						Total
	A	B	C	D	E	F	
1	27	55	51	34	137	37	
2	51	62	50	20	66	42	
3	50	72	55	31	168	63	
4	45	103	45	29	141	5	
Total	173	242	268	114	512	193	1345
Rata-rata	43,25	60,50	67,00	28,50	128,00	48,25	

Keterangan : A. Teh hijau
B. Daun kopi
C. Daun kakao
D. Daun jambu bol
E. Daun jambu mete
F. Daun mangga

b. Jumlah sel khamir (10^5 sel/ml) setelah 14 hari fermentasi

Ulangan	Perlakuan					
	A	B	C	D	E	F
1	$13,5 \times 10^5$	$27,5 \times 10^5$	$25,5 \times 10^5$	17×10^5	$68,5 \times 10^5$	$18,5 \times 10^5$
2	$25,5 \times 10^5$	31×10^5	25×10^5	10×10^5	33×10^5	21×10^5
3	25×10^5	36×10^5	$27,5 \times 10^5$	$15,5 \times 10^5$	84×10^5	$31,5 \times 10^5$
4	$22,5 \times 10^5$	52×10^5	$22,5 \times 10^5$	$14,5 \times 10^5$	$70,5 \times 10^5$	$25,5 \times 10^5$

Keterangan : A. Teh hijau
B. Daun kopi
C. Daun kakao
D. Daun jambu bol
E. Daun jambu mete
F. Daun mangga

c. Jumlah sel khamir setelah ditransformasikan dalam log x

Ulangan	Perlakuan						Total
	A	B	C	D	E	F	
1	6,13	6,44	6,41	6,23	6,83	6,27	
2	6,41	6,49	6,40	6,00	6,52	6,32	
3	6,40	6,56	6,44	6,19	6,92	6,50	
4	6,35	6,72	6,35	6,16	6,85	6,41	
Total	25,29	26,20	25,60	24,58	27,12	25,49	154,28
Rata-rata	6,32	6,55	6,40	6,15	6,78	6,37	

Keterangan :
 A. Teh hijau
 B. Daun kopi
 C. Daun kakao
 D. Daun jambu bol
 E. Daun jambu mete
 F. Daun mangga

Sidik Ragam

$$\begin{aligned} \text{Faktor Korelasi (FK)} &= \frac{Jt^2}{N} \\ &= \frac{(154,28)^2}{24} \\ &= 991,763 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)} &= \sum (j_i^2 / r) - FK \\ &= \{(25,29)^2 / 4 \dots + (25,49)^2 / 4\} - 991,763 \\ &= 992,698 - 991,763 \\ &= 0,935 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Total (JKT)} &= \sum (y_{ij})^2 - FK \\ &= (6,13)^2 + (6,44)^2 + \dots + (6,41)^2 - 991,763 \\ &= 992,988 - 991,763 \\ &= 1,225 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Galat (JKG)} &= JKT - JKP \\ &= 1,225 - 0,935 \\ &= 0,290 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Derajat Bebas Perlakuan (DBP)} &= t - 1 \\
 &= 6 - 1 \\
 &= 5
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Derajat Bebas Galat (DbG)} &= t(r - 1) \\
 &= 6(4 - 1) \\
 &= 18
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Derajat Bebas Total (DBT)} &= (t.r) - 1 \\
 &= (6.4) - 1 \\
 &= 23
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP)} &= \frac{JKP}{DbP} \\
 &= \frac{0,935}{5} \\
 &= 0,187
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kuadrat Tengah Galat (KTG)} &= \frac{JKG}{DbG} \\
 &= \frac{0,290}{18} \\
 &= 0,0161
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{F Hitung} &= \frac{KTP}{KTG} \\
 &= \frac{0,187}{0,0161} \\
 &= 11,614
 \end{aligned}$$

Daftar Sidik Ragam Jumlah Sel Khamir Minuman fermentasi kombucha pada hari ke-14 fermentasi

Sumber keragaman	db	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel taraf 5 %	F. Tabel taraf 1 %
Perlakuan	5	0,935	0,187	11,614**	2,77	4,25
Galat	18	0,290	0,016			
Total	23	1,225				

Keterangan : * = Berbeda nyata pada taraf 5 %

** = Berbeda sangat nyata pada taraf 1 %

Uji lanjut

Uji lanjut yang digunakan adalah Duncan's News Multiple Range Test (DNMRT)

Daftar uji lanjut Duncan's terhadap jumlah sel khamir dalam fermentasi Minuman fermentasi kombucha pada taraf 5% dan 1%

Rumus: $LSR = S_y \cdot SSR$

$$\begin{aligned}
 S_y &= \sqrt{\frac{KTG}{r}} \\
 &= \sqrt{\frac{0,0161}{4}} \\
 &= 0,0634
 \end{aligned}$$

SSR 18 pada 1%	2	3	4	5	6
	4,07	4,27	4,38	4,46	4,53
LSR 1% = SSR 1% . S_y	0,2580	0,2707	0,2777	0,2828	0,2872
SSR 18 pada 5%	2	3	4	5	6
	2,97	3,12	3,21	3,27	3,32
LSR 5% = SSR 5% . S_y	0,1883	0,1978	0,2035	0,2073	0,2105

Daftar Uji Lanjut Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT) terhadap Jumlah Sel Khamir Minuman Fermentasi Kombucha Pada Hari Ke-14 Fermentasi

	Rata-rata	E	B	C	F	A	D	LSR 5%	Notasi
		6,78	6,55	6,40	6,37	6,32	6,15		
E	6,78	-							a
B	6,55	0,23*	-					0,1883	b
C	6,40	0,38*	0,15 ^{ns}	-				0,1978	bc
F	6,37	0,41*	0,18 ^{ns}	0,03 ^{ns}	-			0,2035	bc
A	6,32	0,46*	0,23*	0,08 ^{ns}	0,05 ^{ns}	-		0,2073	cd
D	6,15	0,63*	0,40*	0,25*	0,22*	0,17 ^{ns}	-	0,2105	d

Keterangan : * = Berbeda nyata pada taraf 5 %

ns = Tidak berbeda nyata

Lampiran 5. Analisa Statistik Nilai pH Minuman Fermentasi Kombucha Setelah 14 Hari Fermentasi

a. Nilai pH

Ulangan	perlakuan						Total
	A	B	C	D	E	F	
1	2.650	2.740	2.770	2.480	2.950	2.780	
2	2.600	2.650	2.760	2.450	2.960	2.780	
3	2.450	2.770	2.780	2.470	2.950	2.790	
4	2.500	2.800	2.770	2.520	2.940	2.820	
Total	10.200	10.960	11.080	9.920	11.800	11.170	65.130
Rata-Rata	2.550	2.740	2.770	2.480	2.950	2.793	

Keterangan : A. Teh hijau
 B. Daun kopi
 C. Daun kakao
 D. Daun jambu bol
 E. Daun jambu mete
 F. Daun mangga

b. Nilai pH setelah ditransformasikan dalam \sqrt{x}

Ulangan	Perlakuan						Total
	A	B	C	D	E	F	
1	1.627	1.655	1.664	1.575	1.718	1.667	
2	1.612	1.627	1.661	1.565	1.72	1.667	
3	1.565	1.664	1.677	1.571	1.714	1.67	
4	1.581	1.673	1.664	1.587	1.718	1.679	
Total	6.385	6.619	6.666	6.298	6.87	6.683	39.521
Rata-Rata	1.596	1.655	1.667	1.575	1.718	1.671	

Sidik Ragam

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor Korelasi (FK)} &= \frac{Jt^2}{N} \\
 &= \frac{(39,521)^2}{24} \\
 &= 65,080
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah Kuadrat (JK)} &= \sum (j_i^2 / r) - FK \\
 &= \{(6,385)^2 / 4 + \dots + (6,683)^2 / 4\} - 65,080 \\
 &= 65,134 - 65,080 \\
 &= 0,054
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah Kuadrat Total} &= \sum (y_{ij})^2 - FK \\
 &= (1,581)^2 + (1,655)^2 + \dots + (1,658)^2 - 65,135 \\
 &= 65,139 - 65,080 \\
 &= 0,059
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah Kuadrat Galat (JKG)} &= JKT - JKP \\
 &= 0,059 - 0,046 \\
 &= 0,005
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Derajat Bebas Perlakuan (DBP)} &= t - 1 \\
 &= 6 - 1 \\
 &= 5
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Derajat Bebas Galat (DbG)} &= t(r - 1) \\
 &= 6(4 - 1) \\
 &= 18
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Derajat Bebas Total (DBT)} &= (t.r) - 1 \\
 &= (6.4) - 1 \\
 &= 23
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kuadrat Tengah Perlakuan} &= \frac{JKP}{DbP} \\
 &= \frac{0,054}{5} \\
 &= 0,0108
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kuadrat tengah galat (KTG)} &= \frac{JKG}{DbG} \\
 &= \frac{0,005}{18} \\
 &= 0,00028
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{F Hitung} &= \frac{KTP}{KTG} \\
 &= \frac{0,0108}{0,00028} \\
 &= 38,571
 \end{aligned}$$

Daftar Sidik Ragam Nilai pH Minuman fermentasi kombucha pada hari ke-14 fermentasi

Sumber keragaman	db	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel taraf 5 %	F. Tabel taraf 1 %
Perlakuan	5	0,054	0,0108	38,571**	2,77	4,25
Galat	18	0,005	0,00028			
Total	23	0,059				

Keterangan : * = Berbeda nyata pada taraf 5 %

** = Berbeda sangat nyata pada taraf 1 %

Uji lanjut

Uji lanjut yang digunakan adalah Duncan's News Multiple Range Test (DNMRT)

Daftar uji lanjut Duncan's terhadap nilai pH dalam fermentasi minuman fermentasi Kombucha pada taraf 5% dan 1%

Rumus: $LSR = S_y \cdot SSR$

$$\begin{aligned}
 S_y &= \sqrt{\frac{KTG}{r}} \\
 &= \sqrt{\frac{0,00028}{4}} \\
 &= 8,37 \times 10^{-3}
 \end{aligned}$$

SSR 18 pada 1%	2	3	4	5	6
	4,07	4,27	4,38	4,46	4,53
LSR 1 % = SSR 1% . S_y	0,0341	0,0357	0,0367	0,0373	0,0379
SSR 18 pada 5%	2	3	4	5	6
	2,97	3,12	3,21	3,27	3,32
LSR 5% = SSR 5% . S_y	0,0249	0,0261	0,0269	0,0274	0,0278

Daftar Uji Lanjut Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT) terhadap Nilai pH Minuman Fermentasi Kombucha Pada hari ke-14 fermentasi

	Rata-rata	E	F	C	B	A	D	LSR 5%	Notasi
		1,718	1,671	1,667	1,655	1,596	1,575		
E	1,718	-							a
F	1,671	0,047*	-					0,0249	b
C	1,667	0,051*	0,004 ^{ns}	-				0,0261	b
B	1,655	0,063*	0,016 ^{ns}	0,012 ^{ns}	-			0,0269	b
A	1,596	0,122*	0,075*	0,071*	0,059*	-		0,0274	c
D	1,575	0,143*	0,096*	0,092*	0,080*	0,021 ^{ns}	-	0,0278	c

Keterangan : * = Berbeda nyata pada taraf 5 %
 ns = Tidak berbeda nyata

Lampiran 6. Analisa Statistik Kadar Gula Sisa Minuman Fermentasi Kombucha Setelah 14 Hari Fermentasi

a. Kadar gula sisa

Ulangan	Perlakuan						total
	A	B	C	D	E	F	
1	8.450	8.350	8.421	8.250	8.450	8.490	
2	8.370	8.400	8.204	8.210	8.500	8.570	
3	8.480	8.330	8.458	8.230	8.650	8.550	
4	8.500	8.390	8.524	8.235	8.770	8.410	
Total	33.800	33.470	33.607	32.925	34.370	34.020	202.192
Rata-rata	8.450	8.368	8.402	8.231	8.593	8.505	

Keterangan : A. Teh hijau D. Daun jambu bol
 B. Daun kopi E. Daun jambu mete
 C. Daun kakao F. Daun mangga

b. Kadar gula sisa setelah ditransformasikan dalam Arc sin $\sqrt{\%}$

Ulangan	Perlakuan						total
	A	B	C	D	E	F	
1	16.917	16.798	16.857	16.678	17.098	17.157	
2	16.917	16.857	16.618	16.618	17.157	17.038	
3	16.917	16.798	16.857	16.678	17.098	16.978	
4	16.977	16.798	16.977	16.678	17.218	17.098	
Total	67.728	67.251	67.309	66.652	68.571	68.271	405.782
Rata-rata	16.932	16.813	16.827	16.663	17.143	17.068	

Sidik ragam

$$\begin{aligned} \text{Faktor Korelasi (FK)} &= \frac{Jt^2}{N} \\ &= \frac{(405,782)^2}{24} \\ &= 6860,793 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)} &= \sum (j_i^2 / r) - FK \\
 &= \{(67,551)^2 / 4 + \dots + (67,79)^2 / 4\} - 6860,793 \\
 &= 6861,420 - 6860,793 \\
 &= 0,627
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah Kuadrat Total (JKT)} &= \sum (y_{ij})^2 - FK \\
 &= (16,858)^2 + \dots + (16,858)^2 - 6860,793 \\
 &= 6861,520 - 6860,793 \\
 &= 0,727
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah Kuadrat Galat (JKG)} &= JKT - JKP \\
 &= 0,627 - 0,727 \\
 &= 0,1
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Derajat Bebas Perlakuan (DBP)} &= t - 1 \\
 &= 6 - 1 \\
 &= 5
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Derajat Bebas Galat (DbG)} &= t(r - 1) \\
 &= 6(4 - 1) \\
 &= 18
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Derajat Bebas Total (DBT)} &= (t.r) - 1 \\
 &= (6.4) - 1 \\
 &= 23
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP)} &= \frac{JKP}{DbP} \\
 &= \frac{0,627}{5} \\
 &= 0,125
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kuadrat Tengah Galat (KTG)} &= \frac{JKG}{DbG} \\
 &= \frac{0,1}{18} \\
 &= 5,56 \times 10^{-3}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{F Hitung} &= \frac{KTP}{KTG} \\
 &= \frac{0,125}{0,00556} \\
 &= 22,482
 \end{aligned}$$

Daftar Sidik Ragam Kadar Gula Sisa Minuman fermentasi kombucha pada hari ke-14 fermentasi

Sumber keragaman	db	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel taraf 5 %	F. Tabel taraf 1 %
Perlakuan	5	0,627	0,125	22,48**	2,77	4,25
Galat	18	0,1	0,00556			
Total	23	0,727				

Keterangan : * = Berbeda nyata pada taraf 5 %

** = Berbeda sangat nyata pada taraf 1 %

Uji lanjut

Uji lanjut yang digunakan adalah Duncan's News Multiple Range Test (DNMRT)

Daftar uji lanjut Duncan's terhadap kadar gula sisa dalam Fermentasi Minuman fermentasi kombucha pada taraf 5% dan 1%

Rumus: $LSR = S_y \cdot SSR$

$$\begin{aligned}
 S_y &= \sqrt{\frac{KTG}{r}} \\
 &= \sqrt{\frac{0,00556}{4}} \\
 &= 0,0372
 \end{aligned}$$

SSR 18 pada 1%	2	3	4	5	6
	4,07	4,27	4,38	4,46	4,53
LSR 1% = SSR 1% . Sy	0,1514	0,1588	0,1629	0,1659	0,1685
SSR 18 pada 5%	2	3	4	5	6
	2,97	3,12	3,21	3,27	3,32
LSR 5% = SSR 5% . Sy	0,1105	0,1161	0,1194	0,1216	0,1235

Daftar Uji Lanjut Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT) terhadap Kadar Gula Sisa Minuman Fermentasi Kombucha Pada Hari Ke-14 Fermentasi

	Rata-rata	E	F	A	C	B	D	LSR 5 %	Notasi
E	17,143	-							a
F	17,068	0,075 ^{ns}	-					0,1105	a
A	16,932	0,211*	0,136*	-				0,1161	b
C	16,827	0,316*	0,241*	0,105 ^{ns}	-			0,1194	b
B	16,813	0,330*	0,255*	0,119 ^{ns}	0,014 ^{ns}	-		0,1216	b
D	16,663	0,480*	0,405*	0,269*	0,164*	0,150*	-	0,1235	c

Keterangan : * = Berbeda nyata pada taraf 5 %
 ns = Tidak berbeda nyata

Lampiran 7. Analisa Statistik Berat Nata Minuman Fermentasi Kombucha Setelah 14 Hari Fermentasi

Ulangan	Perlakuan						Total
	A	B	C	D	E	F	
1	4,240	3,579	2,189	1,421	0,058	0,564	
2	6,601	3,298	1,528	2,001	0,057	0,569	
3	5,065	3,691	1,489	1,855	0,057	0,72	
4	6,601	3,578	2,189	1,855	0,058	0,569	
Total	22,507	14,146	7,395	7,132	0,230	2,422	53,832
Rata-Rata	5,627	3,5365	1,849	1,783	0,058	0,606	

Sidik Ragam

$$\begin{aligned} \text{Faktor Korelasi (FK)} &= \frac{Jt^2}{N} \\ &= \frac{(53,832)^2}{24} \\ &= 120,745 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Perlakuan} &= \sum (j_i^2 / r) - FK \\ \text{(JKP)} &= \{(22,507)^2 / 4 + (14,146)^2 / 4 + \dots + (2,422)^2 / 4\} - 123,098 \\ &= 204,536 - 120,745 \\ &= 83,791 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Total} &= \sum (y_{ij})^2 - FK \\ \text{(JKT)} &= (4,240)^2 + (3,579)^2 + \dots + (0,569)^2 - 123,098 \\ &= 209,428 - 120,745 \\ &= 88,683 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Galat} &= JKT - JKP \\ \text{(JKG)} &= 88,683 - 83,791 \\ &= 4,982 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Derajat Bebas Perlakuan} &= t - 1 \\ \text{(DBP)} &= 6 - 1 \\ &= 5 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Derajat Bebas Galat (DbG)} &= t(r - 1) \\ &= 6(4 - 1) \\ &= 18 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Derajat Bebas Total (DBT)} &= (t.r) - 1 \\ &= (6.4) - 1 \\ &= 23 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kuadrat Tengah Perlakuan} &= \frac{JKP}{DbP} \\ \text{(KTP)} &= \frac{83,791}{5} \\ &= 16,758 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kuadrat Tengah Galat} &= \frac{JKG}{DbG} \\ \text{(KTG)} &= \frac{4,982}{18} \\ &= 0,277 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{F Hitung} &= \frac{KTP}{KTG} \\ &= \frac{16,758}{0,277} \\ &= 60,498 \end{aligned}$$

Daftar Sidik Ragam Berat Nata Minuman Fermentasi Kombucha Pada Hari Ke-14 Fermentasi

Sumber keragaman	db	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel taraf 5 %	F. Tabel taraf 1 %
Perlakuan	5	83,791	16,758	60,498**	2,77	4,25
Galat	18	4,982	0,277			
Total	23	88,683				

Keterangan : * = Berbeda nyata pada taraf 5 %

** = berbeda sangat nyata pada taraf 1 %

Uji lanjut

Uji lanjut yang digunakan adalah Duncan's News Multiple Range Test (DNMRT)

Daftar uji lanjut Duncan's terhadap berat nata dalam Fermentasi Minuman fermentasi kombucha pada taraf 5% dan 1%

Rumus: $LSR = S_y \cdot SSR$

$$\begin{aligned}
 S_y &= \sqrt{\frac{KTG}{r}} \\
 &= \sqrt{\frac{0,277}{4}} \\
 &= 0,263
 \end{aligned}$$

SSR 18 pada 1%	2	3	4	5	6
	4,07	4,27	4,38	4,46	4,53
LSR 1% = SSR 1% . S_y	1,0704	1,1230	1,1519	1,1730	1,1914

SSR 18 pada 5%	2	3	4	5	6
	2,97	3,12	3,21	3,27	3,32
LSR 5% = SSR 5% . S_y	0,7811	0,8206	0,8442	0,8600	0,8732

Daftar Uji Lanjut Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT) terhadap Berat Nata Minuman Fermentasi Kombucha Pada Hari Ke-14 Fermentasi

	Rata-rata	A	B	D	C	F	E	LSR 5%	Notasi
		5,302	3,523	1,759	1,735	0,606	0,057		
A	5,302	-						0,718	a
B	3,523	1,779*	-					0,8206	b
D	1,759	3,543*	1,764*	-				0,8442	c
C	1,735	3,567*	1,788*	0,024 ^{ns}	-			0,8600	c
F	0,606	4,696*	2,917*	1,153*	1,129*	-		0,8732	d
E	0,057	5,245*	3,466*	1,702*	1,678*	0,549 ^{ns}	-	0,8811	d

Keterangan : * = Berbeda nyata pada taraf 5 %
 ns = Tidak berbeda nyata

Lampiran 8. Analisis Statistik Kadar Alkohol (%) Minuman Fermentasi Kombucha

- a. Kadar Alkohol Minuman fermentasi kombucha (%) pada hari ke-14 fermentasi

Ulangan	Perlakuan						Total
	A	B	C	D	E	F	
1	0.66	0.87	0.60	0.66	1.81	2.64	
2	0.60	0.80	0.53	0.66	1.75	2.70	
3	0.66	0.93	0.60	0.60	1.81	2.57	
4	0.73	0.87	0.66	0.73	1.88	2.64	
Total	2.65	3.47	2.39	2.65	7.25	10.55	28.96
Rata-rata	0.66	0.87	0.60	0.66	1.81	2.64	

- b. Kadar Alkohol Minuman fermentasi kombucha dalam Arc sin \sqrt{x}

Ulangan	Perlakuan						Total
	A	B	C	D	E	F	
1	4.659	5.351	4.442	4.659	7.731	9.351	
2	4.442	5.131	4.175	4.659	7.601	9.457	
3	4.659	5.534	4.442	4.442	7.731	9.224	
4	4.901	5.351	4.659	4.907	7.881	9.351	
Total	18.661	21.367	17.718	18.667	30.944	37.383	144.740
Rata-rata	4.665	5.342	4.430	4.667	7.736	9.346	

Sidik Ragam

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor Korelasi (FK)} &= \frac{Jt^2}{N} \\
 &= \frac{(144,740)^2}{24} \\
 &= 872,903
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah Kuadrat (JK)} &= \sum (j_i^2 / r) - FK \\
 &= \{(18,661)^2 / 4 + \dots + (1.658)^2 / 4\} - 872,903 \\
 &= 82,643
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah Kuadrat Total} &= \sum (y_{ij})^2 - FK \\
 &= (4,659)^2 + \dots + (9,351)^2 - 872,903 \\
 &= 956,0262 - 872,903 \\
 &= 83,1232
 \end{aligned}$$

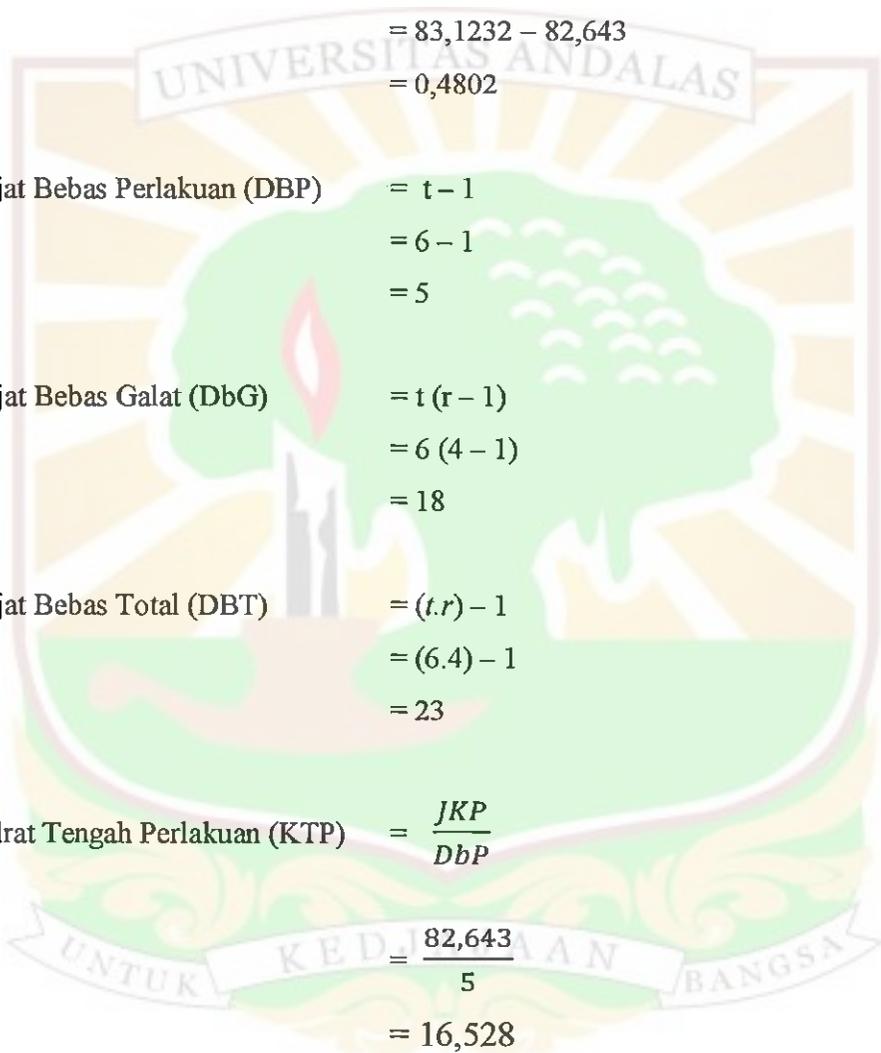
$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah Kuadrat Galat (JKG)} &= JKT - JKP \\
 &= 83,1232 - 82,643 \\
 &= 0,4802
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Derajat Bebas Perlakuan (DBP)} &= t - 1 \\
 &= 6 - 1 \\
 &= 5
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Derajat Bebas Galat (DbG)} &= t(r - 1) \\
 &= 6(4 - 1) \\
 &= 18
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Derajat Bebas Total (DBT)} &= (t.r) - 1 \\
 &= (6.4) - 1 \\
 &= 23
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP)} &= \frac{JKP}{DbP} \\
 &= \frac{82,643}{5} \\
 &= 16,528
 \end{aligned}$$



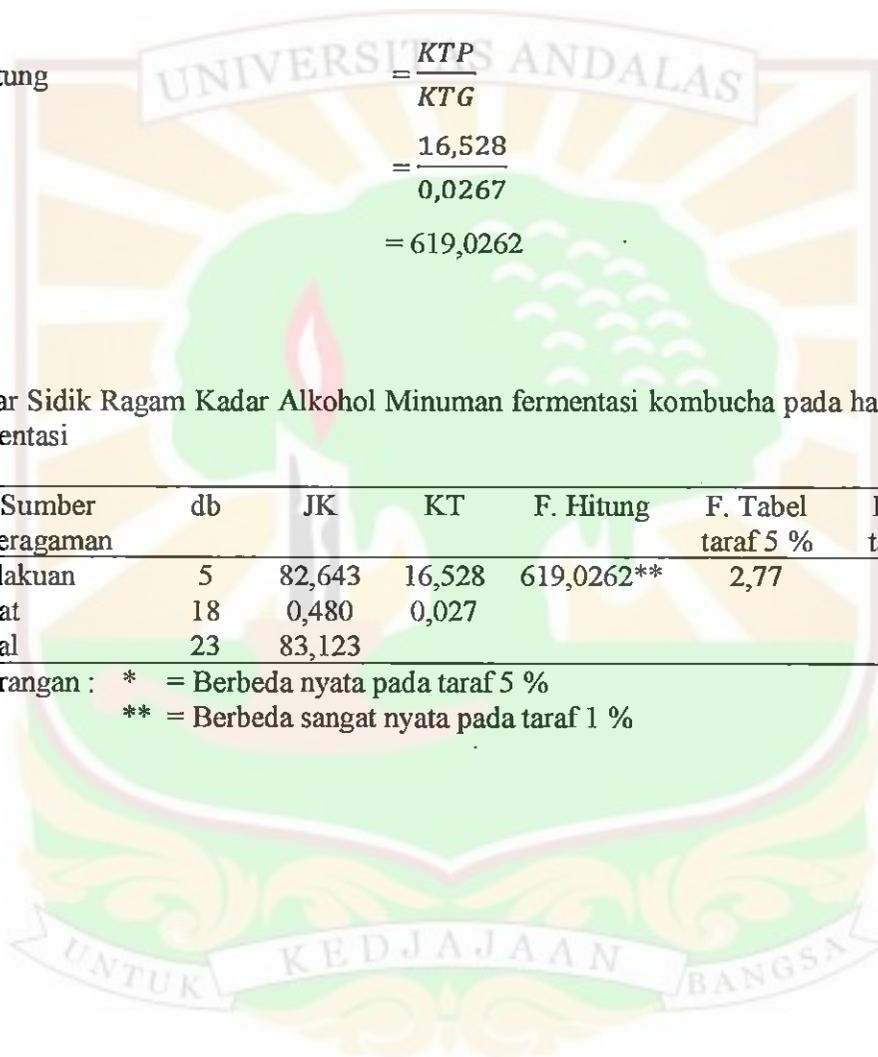
$$\begin{aligned} \text{Kuadrat Tengah Galat (KTG)} &= \frac{JKG}{DbG} \\ &= \frac{0,4802}{18} \\ &= 0,0267 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{F Hitung} &= \frac{KTP}{KTG} \\ &= \frac{16,528}{0,0267} \\ &= 619,0262 \end{aligned}$$

Daftar Sidik Ragam Kadar Alkohol Minuman fermentasi kombucha pada hari ke-14 fermentasi

Sumber keragaman	db	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel taraf 5 %	F. Tabel taraf 1 %
Perlakuan	5	82,643	16,528	619,0262**	2,77	4,25
Galat	18	0,480	0,027			
Total	23	83,123				

Keterangan : * = Berbeda nyata pada taraf 5 %
 ** = Berbeda sangat nyata pada taraf 1 %



Uji lanjut

Uji lanjut yang digunakan adalah Duncan's News Multiple Range Test (DNMRT)

Daftar uji lanjut Duncan's terhadap Kadar Alkohol dalam Fermentasi Minuman Fermentasi Kombucha Pada Taraf 5% Dan 1%

Rumus: $LSR = S_y \cdot SSR$

$$\begin{aligned}
 S_y &= \sqrt{\frac{KTG}{r}} \\
 &= \sqrt{\frac{0,0267}{4}} \\
 &= 0,0817
 \end{aligned}$$

SSR 18 pada 1%	2	3	4	5	6
	4,07	4,27	4,38	4,46	4,53
LSR 1% = SSR 1% . S_y	0,333	0,349	0,358	0,364	0,370
SSR 18 pada 5%	2	3	4	5	6
	2,97	3,12	3,21	3,27	3,32
LSR 5% = SSR 5% . S_y	0,243	0,255	0,262	0,267	0,271

Daftar Uji Lanjut Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT) terhadap Kadar Alkohol Minuman fermentasi kombucha Pada hari ke-14 fermentasi

	Rata-rata	F	E	B	D	A	C	LSR 5%	LSR 1%	Notasi
		9,346	7,736	5,342	4,667	4,665	4,430			
F	9,346	-								a
E	7,736	1,610 ^{ns}	-					0,243	0,333	a
B	5,342	4,004*	2,394*	-				0,255	0,349	b
D	4,667	4,679*	3,069*	0,675*	-			0,262	0,358	c
A	4,665	4,681*	3,071*	0,767*	0,002 ^{ns}	-		0,267	0,364	c
C	4,430	4,916*	3,306*	0,912*	0,237 ^{ns}	0,235 ^{ns}	-	0,271	0,370	c

Keterangan : * = Berbeda nyata pada taraf 5 %
ns = Tidak berbeda nyata

Lampiran 9. Blanko Organoleptik Minuman fermentasi kombucha

Nama :

Tanggal :

Berikan tanda (√), penilaian sesuai dengan penginderaan

Nilai	Kriteria Penilaian											
	A		B		C		D		E		F	
	Aroma	Rasa	Aroma	Rasa	Aroma	Rasa	Aroma	Rasa	Aroma	Rasa	Aroma	Rasa
1												
2												
3												
4												

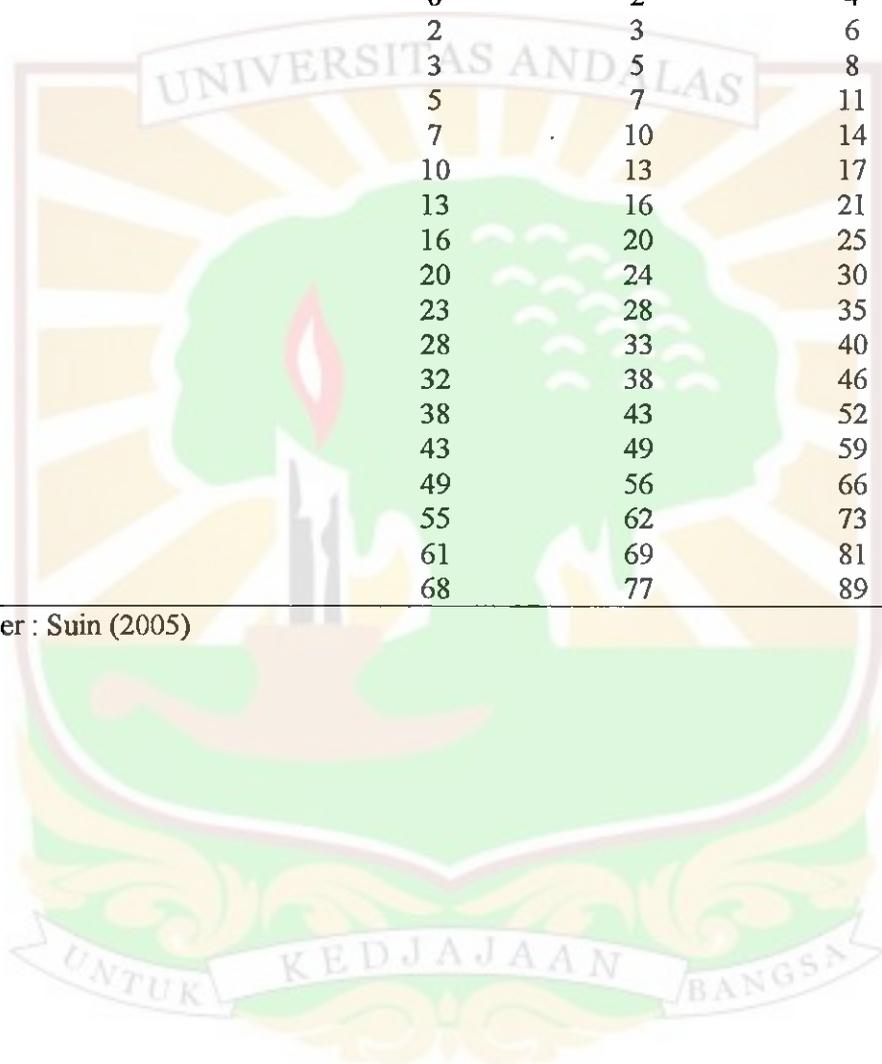
Ket :

1. Tidak suka,
2. Agak suka,
3. Suka,
4. Suka sekali

Lampiran 10. Tabel Nilai J untuk Wilcoxon Signed Rank Test

Pairs	Significance Level			
	One-tailed test :	0,005	0,01	0,025
	Two-tailed test :	0,01	0,02	0,05
6	0
7	0	2
8	0	0	2	4
9	2	2	3	6
10	3	3	5	8
11	5	5	7	11
12	7	7	10	14
13	10	10	13	17
14	13	13	16	21
15	16	16	20	25
16	20	20	24	30
17	23	23	28	35
18	28	28	33	40
19	32	32	38	46
20	38	38	43	52
21	43	43	49	59
22	49	49	56	66
23	55	55	62	73
24	61	61	69	81
25	68	68	77	89

Sumber : Suin (2005)



Lampiran 11. Analisa Statistik Nilai Organoleptik Rasa Minuman fermentasi kombucha

a. Nilai organoleptik rasa minuman fermentasi kombucha pada masing – masing perlakuan dari 15 orang panelis

Panelis	A	B	C	D	E	F
1	2	4	2	3	1	1
2	1	4	2	2	1	2
3	2	4	2	3	1	1
4	2	2	2	3	3	2
5	2	4	4	3	2	2
6	4	3	2	2	2	2
7	3	1	2	3	2	3
8	2	4	3	2	1	2
9	4	3	3	3	3	3
10	3	2	1	3	3	3
11	3	4	3	4	2	4
12	3	1	3	3	2	3
13	3	3	3	3	4	3
14	2	1	2	3	3	4
15	3	1	2	4	4	3
Rata-rata	2.600	2.733	2.400	2.933	2.267	2.533
Jumlah	39	41	36	44	34	38

b. Daftar Uji Wilcoxon Rasa Minuman fermentasi kombucha pada masing – masing perlakuan

Panelis	A	B	Beda	Jenjang	Tanda Jenjang	
					+	-
1	2	4	-2	9		-9
2	1	4	-3	13		-13
3	2	4	-2	9		-9
4	2	2	0			
5	2	4	-2	9		-9
6	4	3	1	3	3	
7	3	1	2	9	9	
8	2	4	-2	9		-9
9	4	3	1	3	3	
10	3	2	1	3	3	
11	3	4	-1	3		-3
12	3	1	2	9	9	
13	3	3	0			
14	2	1	1	3	3	
15	3	1	2	9	9	

Harga jenjang (J Hitung) = 52

Jumlah jenjang = 13 , maka J Tabel (0.05) = 17

$$\frac{1+2+3+4+5}{5} = 3$$

$$\frac{6+7+8+9+10+11+12}{7} = 9$$

$$\frac{13}{1} = 13$$

Karena J Hitung > J Tabel (0.05), maka kedua perlakuan tersebut berbeda nyata. Seterusnya dilakukan cara-cara yang sama terhadap perlakuan-perlakuan lainnya sehingga didapatkan hasil seperti pada Tabel berikut :

- c. Hasil analisa statistik rasa minuman fermentasi kombucha dari masing – masing perlakuan dengan Uji Jenjang Bertanda Wilcoxon

Perlakuan	J	Jumlah	J	Keterangan
	Hitung	jenjang	(0.05)	
A dengan B	52	13	17	J Hit. > J (0,05) Berbeda nyata
C	13	10	8	J Hit. > J (0,05) Berbeda nyata
D	40	10	8	J Hit. > J (0,05) Berbeda nyata
E	24	12	14	J Hit. > J (0,05) Berbeda nyata
F	12,5	7	2	J Hit. > J (0,05) Berbeda nyata
B dengan C	21	10	8	J Hit. > J (0,05) Berbeda nyata
D	39	12	14	J Hit. > J (0,05) Berbeda nyata
E	30,5	14	21	J Hit. > J (0,05) Berbeda nyata
F	28	11	11	J Hit. > J (0,05) Berbeda nyata
C dengan D	46	10	8	J Hit. > J (0,05) Berbeda nyata
E	34,5	12	14	J Hit. > J (0,05) Berbeda nyata
F	26,5	9	6	J Hit. > J (0,05) Berbeda nyata
D dengan E	3,5	9	6	J Hit. < J (0,05) Tidak berbeda nyata
F	8	7	2	J Hit. > J (0,05) Berbeda nyata
E dengan F	31,5	9	6	J Hit. > J (0,05) Berbeda nyata

Lampiran 12. Analisa Statistik Nilai Organoleptik Aroma Minuman fermentasi kombucha

- a. Nilai organoleptik aroma minuman fermentasi kombucha pada masing – masing perlakuan dari 15 orang panelis

Panelis	A	B	C	D	E	F
1	2	3	2	2	1	1
2	2	4	2	2	1	2
3	1	4	3	4	1	2
4	3	2	2	3	3	3
5	2	4	4	3	2	2
6	2	3	2	2	2	2
7	3	2	1	2	3	4
8	2	4	2	3	1	2
9	3	2	2	1	2	2
10	3	1	2	3	2	2
11	4	3	3	3	2	4
12	3	2	3	4	2	3
13	2	3	2	3	4	4
14	2	1	1	3	2	4
15	3	1	2	4	4	3
Rata-rata	2.467	2.600	2.200	2.800	2.133	2.667
Jumlah	37	39	33	42	32	40

- b. Daftar Uji Wilcoxon aroma minuman fermentasi kombucha pada masing – masing perlakuan

Panelis	A	B	Beda	Jenjang	Tanda Jenjang	
					+	-
1	2	3	-1	5		5
2	2	4	-2	12		12
3	1	4	-3	15		15
4	3	2	1	5		
5	2	4	-2	12		12
6	2	3	-1	5		5
7	3	2	1	5		
8	2	4	-2	12		12
9	3	2	1	5		
10	3	1	2	12		
11	4	3	1	5		
12	3	2	1	5		
13	2	3	-1	5		5
14	2	1	1	5		
15	3	1	2	12		

Harga jenjang (J Hitung) = 66

Jumlah jenjang = 15, maka J Tabel (0.05) = 25

$$\frac{1+2+3+4+5+6+6+7+8+9}{9} = 5$$

$$\frac{10+11+12+13+14}{5} = 12$$

$$\frac{15}{1} = 15$$

Karena J Hitung > J Tabel (0.05), maka kedua perlakuan tersebut berbeda nyata. Seterusnya dilakukan cara-cara yang sama terhadap perlakuan-perlakuan lainnya sehingga didapatkan hasil seperti pada Tabel berikut :

c. Hasil Analisis Statistik Aroma Minuman fermentasi kombucha Pada Dosis Gula berbeda dan Proses penggoyangan dengan Uji Jenjang Bertanda Wilcoxon

Perlakuan		J Hitung	Jumlah jenjang	J (0.05)	Keterangan
A dengan	B	66	15	25	J Hit. > J (0,05) Berbeda nyata
	C	16	9	6	J Hit. > J (0,05) Berbeda nyata
	D	37	10	8	J Hit. > J (0,05) Berbeda nyata
	E	13	9	6	J Hit. > J (0,05) Berbeda nyata
	F	19	7	2	J Hit. > J (0,05) Berbeda nyata
B dengan	C	13,5	10	8	J Hit. > J (0,05) Berbeda nyata
	D	40	11	11	J Hit. > J (0,05) Berbeda nyata
	E	31,5	13	17	J Hit. > J (0,05) Berbeda nyata
	F	45,5	14	21	J Hit. > J (0,05) Berbeda nyata
C dengan	D	56	11	11	J Hit. > J (0,05) Berbeda nyata
	E	40,5	12	14	J Hit. > J (0,05) Berbeda nyata
	F	32,5	9	6	J Hit. > J (0,05) Berbeda nyata
D dengan	E	15	12	14	J Hit. > J (0,05) Berbeda nyata
	F	33,5	12	14	J Hit. > J (0,05) Berbeda nyata
E dengan	F	32,5	8	4	J Hit. > J (0,05) Berbeda nyata

BIODATA

Nama lengkap : Rika Rahma Yulanda

Tempat dan tanggal lahir : Padang, 24 Desember 1988

Agama : Islam

Gol. Darah : O

Alamat : Komp. Pemda Sei. Lareh blok F/13 Kec. Koto
Tengah, Padang

Motto Hidup : Hidup adalah perjuangan untuk menjadi yang
lebih baik

Nama Orang Tua

Ayah : Basri Durin

Ibu : Yulfini

Latar Belakang Pendidikan : SDN 11 Lolong Padang (1995 - 2001)
SMPN 7 Padang (2001 - 2004)
SMAN 7 Padang (2004 - 2007)
S1 Biologi Universitas Andalas (2007 - 2012)

Pengalaman Organisasi :

1. Pengurus UKM FKI Rabbani (2008-2009)
2. Pengurus UKM FKI Rabbani (2009-2010)
3. Koordinator Kestari UKM FKI Rabbani
(2010-2011)
4. Panitia BBMK 2009 UKM FKI Rabbani
Unand
5. Panitia BBMK 2010 UKM FKI Rabbani
Unand