

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBUCHA JAHE (*ZINGIBER OFFICINALE*)
(KAJIAN VARIETAS JAHE DAN KONSENTRASI MADU)**

***Antibacterial Activity Kombucha Jahe (Zingiber officinale)*
(Study of Ginger Varieties and Concentrations of Honey Addition)**

Mega Kristanti Ayuratri^{1*}, Joni Kusnadi¹

¹Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP Universitas Brawijaya Malang
Jl. Veteran, Malang 65145

*Penulis Korespondensi, email: megakristanti17@gmail.com

ABSTRAK

Jahe mengandung komponen bioaktif yaitu minyak atsiri yang dapat berperan sebagai antibakteri. Sari jahe dapat diolah menjadi minuman kombucha, salah satu minuman fermentasi. Penambahan madu dapat digunakan sebagai pemanis dan sumber nutrisi dalam pembuatan minuman kombucha serta dapat berperan sebagai antibakteri. Oleh karena itu, dalam penelitian ini tiga varietas lokal jahe dan madu randu dipilih sebagai bahan pembuatan minuman kombucha yang difermentasi 12 hari. Metode penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang terdiri atas dua faktor. Faktor I yaitu varietas jahe (jahe emprit, jahe gajah, dan jahe merah). Faktor II yaitu konsentrasi madu (10%, 15%, 20%). Data hasil pengamatan dianalisis dengan ANOVA dengan uji lanjut BNT (Beda Nyata Terkecil) atau DMRT 5% apabila terdapat interaksi antara kedua faktor. Hasil yang didapatkan setelah kombucha jahe difermentasi 12 hari yaitu konsentrasi penambahan madu berpengaruh nyata ($\alpha = 0.05$) terhadap nilai pH, total asam, aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Kedua faktor berpengaruh nyata ($\alpha = 0.05$) terhadap total gula, total fenol, tingkat kecerahan (L^*), tingkat kemerahan (a^*), dan tingkat kekuningan (b^*), namun kedua faktor tidak berpengaruh nyata ($\alpha = 0.05$) terhadap total mikroba. Terdapat interaksi antara dua faktor terhadap total fenol, tingkat kecerahan (L^*), tingkat kemerahan (a^*) dan tingkat kekuningan (b^*). Perlakuan terbaik didapatkan pada kombucha jahe dengan jenis jahe merah dan penambahan madu konsentrasi 20% yang memiliki pH 2.64, total asam 1.78%, total fenol 1114.70 ppm, total gula 15.63%, total mikroba 6.35 log CFU/ml, aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 20.42 mm, aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* sebesar 8,12 mm, tingkat kecerahan (L^*) 50.93, tingkat kemerahan (a^*) 7.30, dan tingkat kekuningan (b^*) 22.67.

Kata Kunci : Jahe, Kombucha, Penambahan Madu.

ABSTRACT

*Ginger contains a bioactive component of essential oils that can act as antibacterials. Ginger extract can be processed into kombucha drinks, one of fermented drinks. The addition of honey can be used as a sweetener and source of nutrients in making kombucha drinks and can act as an antibacterial. Therefore, in this study three local varieties of ginger and honey randu selected as ingredients for making kombucha drinks fermented 12 days. The research method used is Randomized Block Design (RAK) which consists of two factors. Factor I is the varieties of ginger (emprit ginger, elephant ginger, and red ginger). Factor II is honey concentrations (10%, 15%, 20%). The results showed that the concentration of honey added has a significant effect ($\alpha = 0.05$) on pH value, total acid, antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. But both factors have significant effect ($\alpha = 0.05$) on total sugar, total phenol, brightness (L^*), redness (a^*), and yellowishness (b^*), but both factors have no significant effect ($\alpha = 0.05$) on total microbial kombucha ginger. There was an interaction between two factors on total phenol,*

brightness (L), redness (a*) and yellowishness (b*). The best treatment was obtained on kombucha ginger with red ginger type and 20% honey concentration added with characteristic: pH 2.64, total acid 1.78%, total phenol 1114.70 ppm, total sugar 15.63%, total microbial 6.35 log CFU / ml, antibacterial activity against Staphylococcus aureus 20.42 mm, antibacterial activity against Escherichia coli 8.12 mm, brightness (L*) 50.93, redness (a*) 7.30, and yellowishness (b*) 2.67.*

Keywords : Addition Of Honey, Ginger, Kombucha.

PENDAHULUAN

Jahe (*Zingiber officinale*) merupakan salah satu tanaman rempah-rempah yang banyak dijumpai di Indonesia dan sangat penting dalam kehidupan sehari-hari (Kusumaningati, 2009). Berdasarkan bentuk, ukuran, dan warna rimpangnya terdapat tiga jenis jahe yang dikenal yaitu jahe putih kecil atau jahe emprit (*Zingiber officinale* var. *Amarum*), jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) atau jahe sunti, dan jahe gajah (*Zingiber officinale* var. *Offinale*) (Wardana *et al.*, 2002).

Secara umum, jahe mengandung pati, minyak atsiri, serat, protein, vitamin, mineral, dan enzim proteolitik yang disebut *zingibain* (Denyer *et al.*, 1994). Beberapa komponen kimia jahe, seperti *gingerol*, *shogaol* dan *zingerone* memberi efek farmakologi dan fisiologi seperti antioksidan, antiinflamasi, analgesik, antikarsinogenik, non-toksik, non-mutagenik dan antibakteri (Stoilova *et al.*, 2006).

Berdasarkan ketersediaan rimpang jahe yang mudah diperoleh dan kandungan nutrisi yang ada di rimpang jahe, maka rimpang jahe dapat dijadikan sebagai bahan dasar pembuatan kombucha. Jahe yang telah di ubah menjadi sari jahe dapat menjadi salah satu bahan baku kombucha. Kombucha merupakan salah satu olahan hasil fermentasi dengan penambahan khamir dan bakteri. Proses fermentasi kombucha membutuhkan waktu antara 8-12 hari. (Napitupulu *dkk.*, 2015).

Teh kombucha dengan konsentrasi 100% mampu menghambat bakteri *Escherichia coli* dengan diameter zona hambat sebesar 21.76 mm (Effendi *et al.*, 2014). Ekstrak jahe juga dapat menghambat pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* dan terhadap koloni bakteri *Bacillus subtilis*. Minyak atsiri dapat mengganggu proses pembentukan membran atau dinding sel bakteri sehingga pembentukan dinding sel tidak sempurna (Juliantina *et al.*, 2008). Berdasarkan penelitian Hernani and Hayani (2001), kandungan minyak atsiri pada jahe merah lebih tinggi dibandingkan dengan jahe gajah dan jahe emprit. Pada jahe merah memiliki kandungan minyak atsiri (3.90%), jahe gajah memiliki kandungan minyak atsiri (2.50%), sedangkan jahe emprit memiliki kandungan minyak atsiri (3.50%). Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dilakukan penelitian mengenai pengaruh varietas jahe terhadap aktivitas antibakteri kombucha jahe.

Penggunaan madu sebagai sumber nutrisi dalam pembuatan minuman kombucha belum pernah dilakukan. Menurut Sarwono (2001), madu alami umumnya tersusun atas 17.10% air, 82.40% karbohidrat (38% fruktosa, 31% glukosa, 12.90% gula lain), 0.50% protein, asam amino, senyawa fenolik, vitamin, asam organik dan berbagai mineral. Oleh sebab itu madu digunakan dalam penelitian ini sebagai sumber nutrisi dan sekaligus untuk memberikan rasa manis pada kombucha karena madu tersusun atas beberapa molekul gula seperti glukosa dan fruktosa. Menurut Rosita (2007), faktor keutamaan madu terhadap aktivitas antibakteri yaitu kadar gula madu yang tinggi akan menghambat pertumbuhan bakteri, sehingga bakteri tidak dapat berkembang biak. Oleh karena itu pada penelitian ini akan dilakukan penelitian mengenai pengaruh penambahan madu terhadap aktivitas antibakteri kombucha jahe.

Sejauh ini belum pernah ada penelitian terhadap aktivitas antibakteri kombucha jahe dari berbagai varietas jahe dengan penambahan madu. Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dilakukan penelitian mengenai aktivitas antibakteri kombucha jahe dari berbagai varietas jahe dengan penambahan madu.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah starter kombucha, jahe segar, madu randu, dan air. Mikroorganisme yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri adalah *Stapylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Bahan yang digunakan dalam analisis aktivitas antibakteri adalah *Nutrient Agar* dan *Nutrient Broth*. Bahan untuk analisis lainnya adalah aquades, asam oksalat, indikator PP, NaOH 0.1 N, anthrone, H₂SO₄, reagen folin-ciocalcetau, asam galat, larutan Na₂CO₃ 7.50%, alkohol 70%, etanol 98%, buffer pH 4, dan buffer pH 7.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan digital (*Mettler Denver AA 200*), blender, termometer, gelas ukur, erlenmeyer 500 ml, spatula, corong, kompor gas, panci *stainless steel*, toples kaca, kain katun putih, pisau, karet gelang, sarung tangan, spektrofotometer (Unico, UV-2100 *Spectrophotometer*), kuvet, kompor listrik (*Maspion 5-300, 220 volt*), pH meter, *color reader* (Minolta CR-10), buret dan statis, vortex, labu ukur 100 ml, labu ukur 50 ml, labu ukur 10 ml, erlenmeyer 250 ml, tabung reaksi, *beaker glass*, pipet ukur 10 ml, pipet ukur 1 ml, pipet tetes, kertas saring, bola hisap, aluminium foil, penangas air, kertas cokelat, *Laminar Air Flow* (LAF), *falcon tubes*, mikropipet 1000 µl, mikropipet 100 µl, cawan petri, *bluetip*, *yellowtip*, ose, busen, inkubator, korek api, masker, plastik sterilisasi, loyang, dan autoklaf.

Metode

Metode penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok yang terdiri dari 2 faktor. Faktor I yaitu varietas jahe (jahe emprit, jahe gajah, dan jahe merah), dan faktor II yaitu konsentrasi madu (10%, 15%, 20%). Tiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

Preparasi Bahan

Pengujian sifat fisik sari jahe dan madu randu dilakukan secara visual yang meliputi warna. Analisis sifat kimia jahe dilakukan untuk mengetahui kandungan awal sebelum dilakukan penelitian yaitu total fenol. Pengujian sifat kimia jahe tersaji pada Tabel 1 di bawah ini.

Tabel 1. Karakteristik Kimia Sari Jahe

Karakteristik Kimia	Emprit	Gajah	Merah
Total Fenol (ppm)	161.68	116.31	369.44

Analisis sifat kimia madu randu dilakukan untuk mengetahui kandungan awal sebelum dilakukan penelitian yaitu pH, total gula, total fenol, dan total asam. Pengujian sifat kimia madu randu tersaji pada Tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik Kimia Madu Randu

Karakteristik Kimia	Madu Randu
pH	3.14
Total Asam (%)	0.40
Total Gula (%)	60.28
Total Fenol (ppm)	3252.62

Pembuatan Sari Jahe

1. Dipilih jahe dalam keadaan segar.
2. Dicuci untuk menghilangkan kotoran luar.
3. Dikupas dan dipotong menjadi kecil.

4. Ditimbang 200 g.
5. Diblender. Proporsi bahan : air yang digunakan 1 : 2.
6. Diperas dan disaring dengan kain saring untuk memisahkan ampas dari sari jahnya.

Pembuatan Kombucha Jahe

1. Sari jahe dipasteurisasi dalam suhu 85°C selama 15 menit.
2. Sari jahe didinginkan pada suhu 25±2°C.
3. Sari jahe dimasukkan ke dalam toples kaca.
4. Ditambahkan madu randu (10%, 15%, 20%).
5. Ditambahkan starter kombucha cair 15% (v/v) ke dalam sari jahe.
6. Wadah ditutup dengan kain katun putih dan diikat dengan karet gelang.
7. Difermentasi selama 12 hari.

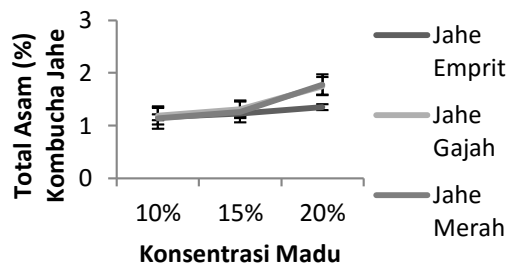
Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis statistic dengan menggunakan analisis ragam (ANOVA) kemudian dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) taraf 5% atau uji DMRT 5% apabila terdapat interaksi antara kedua factor.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Total Asam

Dari hasil pengamatan pada kombucha jahe menunjukkan rerata total asam selama proses fermentasi 12 hari berkisar antara 1.14% - 1.78%. Pengaruh perlakuan jenis jahe dan konsentrasi madu dapat dilihat pada Gambar 1.



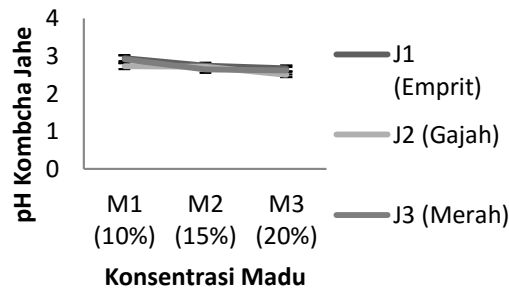
Gambar 1. Grafik Rerata Nilai Total Asam pada Kombucha Jahe Akibat Perlakuan Jenis Jahe dan Penambahan Madu

Berdasarkan Gambar 1 menunjukkan semakin tinggi penambahan madu maka nilai total asam yang dihasilkan semakin tinggi. Hal ini dapat disebabkan oleh meningkatnya penambahan madu sebagai substrat yang tersedia bagi starter kombucha sehingga jumlah asam-asam organik yang dihasilkan lebih banyak. Selama fermentasi berlangsung khamir akan merombak sukrosa yang terdapat pada medium fermentasi menjadi glukosa dan fruktosa. Kemudian glukosa dikonversi menjadi asam glukonat melalui jalur fosfat pentosa oleh bakteri asam asetat. Sebagian besar fruktosa dimetabolisme menjadi asam asetat dan sejumlah kecil asam glukonat (Hidayat, 2006). Sukrosa merupakan sumber energi dimana sukrosa pada madu akan dikonversi menjadi glukosa yang digunakan sebagai substrat untuk pertumbuhan sel dan pembentukan asam asetat (Marwati dkk., 2013). Semakin tinggi konsentrasi madu yang diberikan semakin tinggi kandungan asam-asam organik di dalamnya sehingga nilai total asam juga akan meningkat (Murti, 2007). Disamping itu madu juga memiliki total asam sebesar 0.57% sehingga dapat mempengaruhi nilai total asam kombucha jahe (Koswara, 2009).

Semakin tinggi asam organik yang dihasilkan maka nilai total asam juga semakin tinggi karena semakin lama waktu yang digunakan maka semakin banyak asam asetat yang dihasilkan sebagai hasil metabolisme bakteri *Acetobacter* (Malbasa *et al.*, 2008).

Analisis pH

Dari hasil pengamatan pada kombucha jahe menunjukkan rerata pH selama proses fermentasi 12 hari berkisar antara 2.51 – 2.94. Pengaruh perlakuan jenis jahe dan konsentrasi madu dapat dilihat pada Gambar 2.



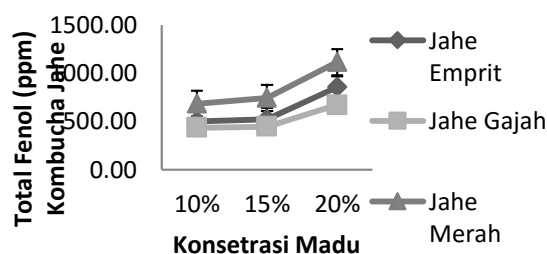
Gambar 2. Grafik Rerata Nilai pH pada Kombucha Jahe Akibat Perlakuan Jenis Jahe dan Penambahan Madu

Berdasarkan Gambar 2 menunjukkan bahwa nilai pH tertinggi pada kombucha jahe dari semua jenis jahe adalah kombucha jahe dengan konsentrasi madu 10%, sedangkan nilai pH terendah pada kombucha jahe dari semua jenis jahe adalah kombucha jahe dengan konsentrasi madu 20%. Hal ini dikarenakan semakin banyaknya konsentrasi madu yang ditambahkan maka semakin banyaknya kandungan sukrosa yang dirombak oleh khamir sehingga semakin banyak asam-asam organik yang dihasilkan dan pH juga akan semakin mengalami penurunan. Aditiwati dan Kusnadi (2003) juga menyatakan bahwa fermentasi kombucha yang semakin lama akan menghasilkan asam yang semakin tinggi. Selama proses fermentasi, khamir dan bakteri melakukan metabolisme terhadap sukrosa dan menghasilkan sejumlah asam-asam organik seperti asam asetat dan asam glukonat, oleh karena itu terjadi peningkatan kadar asam-asam organik dan penurunan pH dari 5 menjadi 2.5 selama fermentasi (Screeramulu *et. al.*, 2000).

Menurut Goh dkk. (2012) penurunan pH dikarenakan adanya konversi glukosa menjadi asam glukonat dan asam-asam organik lainnya oleh bakteri *Acetobacter* dalam kombucha, kemudian asam-asam organik yang dihasilkan selama fermentasi akan melepaskan ion-ion H⁺ sehingga adanya pelepasan ion H⁺ tersebut dapat menurunkan nilai pH.

Analisis Total Fenol

Dari hasil pengamatan pada kombucha jahe menunjukkan rerata total fenol selama proses fermentasi 12 hari berkisar antara 432.73 ppm – 1114.70 ppm. Pengaruh perlakuan jenis jahe dan konsentrasi madu dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Grafik Rerata Nilai Total Fenol pada Kombucha Jahe Akibat Perlakuan Jenis Jahe dan Penambahan Madu

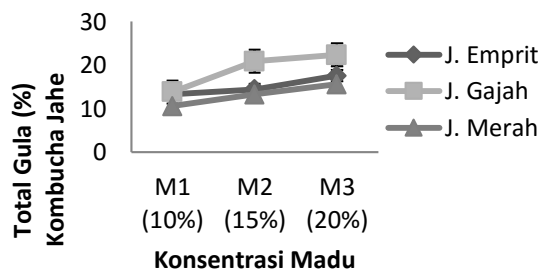
Gambar 3 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi madu yang diberikan maka semakin tinggi nilai dari total fenol. Proses fermentasi menyebabkan kadar fenol pada

kombucha jahe meningkat. Hal ini diduga adanya mikroorganisme yang bermetabolisme dapat meningkatkan senyawa fenol melalui reaksi enzimatik sehingga dapat mempengaruhi nilai total fenol dalam produk kombucha jahe. Peningkatan kadar fenolik total disebabkan karena selama fermentasi, enzim yang dibebaskan oleh bakteri dan khamir yang terdapat pada minuman kombucha akan mendegradasi kompleks polifenol menjadi suatu senyawa sederhana (Bhattacharya *et al.*, 2011).

Berdasarkan penelitian dari Chayati dan Isnati (2014) menyatakan bahwa madu juga memiliki komponen fenolat yang dominan seperti asam klorogenat dan asam kafeat. Selain madu, Wresdiyati dkk. (2003) menyatakan bahwa senyawa flavonoid pada jahe seperti katekin dan asam kafeat merupakan senyawa fenolik. Menurut Pokorny *et al.* (2001) menyatakan bahwa asam kafeat merupakan turunan asam sinamat. Saez *et al.* (2010) menyatakan bahwa selama fermentasi jumlah senyawa fenol meningkat karena mikroorganisme pada kombucha seperti *Saccaromyces cerevisiae* memiliki kemampuan untuk melakukan dekarboksilasi asam sinamat dan asam ferulat. Beek dan Priest (2000) juga menyatakan bahwa peningkatan jumlah senyawa fenol selama proses fermentasi dikarenakan mikroorganisme memiliki kemampuan untuk melakukan dekarboksilasi komponen asam sinamat seperti *trans-4-hydroxy-methoxycinnamic acid (ferulic acid (FA))* dan *trans-4hydroxycinnamic acid (p-coumaric acid (PCA))* membentuk senyawa fenol yaitu *4-vinylguaiacol (4-VG)* dan *4-vinylphenol (4-VP)*. Terjadinya dekarboksilasi asam sinamat menjadi vinil fenol oleh khamir karena aktivitas enzim fenol reduktase.

Analisis Total Gula

Dari hasil pengamatan pada kombucha jahe menunjukkan rerata total gula selama proses fermentasi 12 hari berkisar antara 10.58% - 22.35%. Pengaruh perlakuan jenis jahe dan konsentrasi madu dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Grafik Rerata Nilai Total Gula pada Kombucha Jahe Akibat Perlakuan Jenis Jahe dan Penambahan Madu

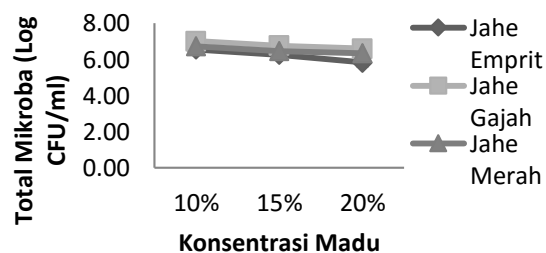
Gambar 4 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi madu yang diberikan maka semakin tinggi nilai dari total gula. Selama proses fermentasi kombucha jahe diduga terjadi pemecahan pati pada jahe menjadi gula sederhana oleh asam. Utami dkk. (2014) menjelaskan bahwa reaksi hidrolisa pati dapat berjalan dengan katalisator asam. Laju proses hidrolisa akan bertambah oleh konsentrasi asam yang tinggi. Salah satu asam yang berperan sebagai katalisator dalam proses reaksi hidrolisis pati adalah asam asetat. Pati akan mengalami proses pemutusan rantai oleh enzim atau asam menjadi molekul-molekul yang lebih kecil. Ada beberapa tingkatan dalam reaksi hidrolisis tersebut, yaitu molekul pati mula-mula pecah menjadi unit rantai glukosa yang lebih pendek (6-10 molekul) yang disebut dekstrin. Dekstrin kemudian pecah menjadi maltosa yang selanjutnya dipecah lagi menjadi unit terkecil glukosa. Dekstrin adalah karbohidrat yang dibentuk selama hidrolisis pati menjadi gula oleh panas, asam atau enzim. Gula sederhana tersebut juga akan dirombak oleh khamir menjadi alkohol. Suranto (2004) mengatakan bahwa madu randu mengandung asam asetat. Asam asetat pada madu randu dapat bertindak sebagai katalisator dalam proses hidrolisa pati.

Penurunan kadar gula pada kombucha jahe diduga karena madu yang berfungsi sebagai gula digunakan sebagai sumber energi bagi starter selama fermentasi. Hasil tersebut diperkuat dengan Frank (1996) yang menyatakan bahwa khamir dan bakteri

memanfaat gula sebagai sumber energi selama fermentasi untuk mempertahankan kehidupan sel. Semakin sedikit jumlah gula pada kombucha maka semakin sedikit gula yang dapat dirombak oleh khamir dan bakteri. Hawusiwa dkk. (2015) menyatakan bahwa terjadinya penurunan total gula tidak hanya dikarenakan gula yang terdapat didalam medium digunakan untuk pertumbuhan mikroorganisme didalamnya, melainkan gula juga diubah menjadi berbagai jenis asam. Namun, nutrisi dalam media fermentasi yang berlebihan dapat menjadi inhibitor bagi mikroorganisme kombucha sehingga dapat menurunkan aktivitas mikroorganisme. Hal ini sesuai dengan pernyataan Goh dkk. (2012) bahwa gula dapat berfungsi sebagai senyawa inhibitor bagi mikroorganisme akibat dari dihasilkannya senyawa metabolit seperti asam-asam organik dan alkohol sehingga kemampuan mikroorganisme dalam merombak gula menurun. Champbell (2002) menyatakan bahwa pada penambahan gula dengan konsentrasi yang tinggi atau berlebihan menyebabkan larutan berada pada kondisi hipertonis karena konsentrasi gula lebih tinggi daripada konsentrasi pelarutnya. Pada kondisi hipertonis, mikroorganisme akan mengalami plasmolisis yang akan menyebabkan keluarnya cairan dari sel mikroorganisme menuju larutan yang lebih pekat yaitu larutan gula sehingga sel mengkerut dan kemudian menjadi rusak dan hancur.

Analisis Total Mikroba

Dari hasil pengamatan pada kombucha jahe menunjukkan rerata total mikroba selama proses fermentasi 12 hari berkisar antara 5.83 log CFU/ml – 7.01 log CFU/ml. Pengaruh perlakuan jenis jahe dan konsentrasi madu dapat dilihat pada Gambar 5.

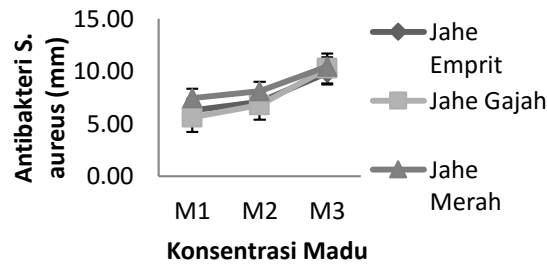


Gambar 5. Grafik Rerata Nilai Total Mikroba pada Kombucha Jahe Akibat Perlakuan Jenis Jahe dan Penambahan Madu

Pada Gambar 5 menunjukkan bahwa semakin tinggi penambahan madu maka nilai total mikroba pada kombucha jahe menurun. Hal ini diduga karena semakin banyak konsentrasi madu maka semakin banyak gula yang dirombak oleh khamir sehingga semakin banyak asam-asam organik. Greenwalt *et al.* (1998) menyatakan bahwa selama fermentasi gula yang dirombak oleh khamir menghasilkan berbagai asam-asam organik, alkohol, dan senyawa fenol yang dapat menjadi pembatas pertumbuhan mikroba, sehingga mikroba tidak berkembang secara terus menerus tetapi menurun seiring dengan penurunan sumber karbon yang dimiliki dan asam-asam organik yang dihasilkan.

Analisis Antibakteri *Staphylococcus aureus*

Dari hasil pengamatan pada kombucha jahe menunjukkan rerata nilai zona hambat *Staphylococcus aureus* selama proses fermentasi 12 hari berkisar antara 5.58 mm hingga 10.42 mm. Pengaruh perlakuan jenis jahe dan konsentrasi madu dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Grafik Rerata Aktivitas Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*

Berdasarkan Gambar 6 menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* tertinggi pada penambahan madu dengan konsentrasi 20%. Semakin tinggi konsentrasi madu yang ditambahkan maka semakin tinggi aktivitas antibakteri yang dihasilkan atau semakin besar zona bening yang terbentuk disekitar sumuran. Aktivitas antibakteri terbukti dengan adanya zona bening disekitar sumuran. Terbentuknya zona bening disekitar sumuran diduga dipengaruhi oleh kandungan asam-asam organik yang terbentuk selama proses fermentasi berlangsung. Kandungan asam organik seperti asam asetat merupakan kandungan asam organik yang dihasilkan paling besar pada fermentasi kombucha.

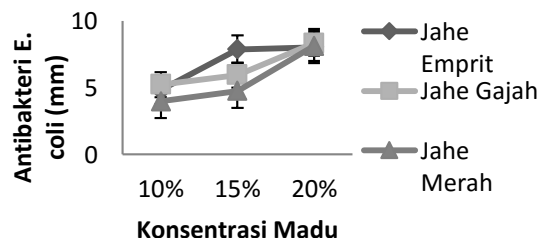
Naidu (2000) menyatakan bahwa asam asetat yang terlarut di dalam, asam asetat akan terurai melepaskan proton-proton bebas sehingga pH larutan turun. Asam asetat yang tidak terdisosiasi dapat merusak struktur *bilayer* lipid bakteri dan khamir dan memasukkan proton ke dalam sitoplasma. Banyaknya jumlah proton intraseluler membuat kondisi asam pada sitoplasma, menyebabkan denaturasi protein dan kehilangan energi. Oleh sebab itu kandungan asam asetat yang tinggi dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Meningkatnya total fenol selama fermentasi akan mempengaruhi aktivitas antibakteri kombucha jahe. Semakin tinggi senyawa fenol maka semakin besar pula aktivitas antibakteri. Suliantari *et al.* (2008) menyatakan bahwa senyawa fenol memiliki kemampuan untuk memutuskan ikatan peptidoglikan pada dinding sel dan merusak ikatan hidrofobik dari membran sel saat menerobos dinding sel sehingga terjadi perubahan permeabilitas dinding sel yang akan menghambat pertumbuhan sel.

Elliza (2010) menyatakan bahwa *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif yang memiliki struktur dinding sel yang relatif sederhana dibandingkan dengan bakteri Gram negatif. Struktur dinding sel bakteri Gram positif yang lebih sederhana memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk ke dalam sel.

Analisis Antibakteri *Escherichia coli*

Dari hasil pengamatan pada kombucha jahe menunjukkan rerata nilai zona hambat *Escherichia coli* selama proses fermentasi 12 hari berkisar antara 3.98 mm hingga 8.32 mm. Pengaruh perlakuan jenis jahe dan konsentrasi madu dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Grafik Rerata Aktivitas Antibakteri terhadap *Escherichia coli* pada Kombucha Jahe Akibat Perlakuan Jenis Jahe dan Penambahan Madu

Pada Gambar 7. menunjukkan bahwa semakin tinggi penambahan madu maka aktivitas antibakteri yang dihasilkan oleh kombucha jahe terhadap *Escherichia coli*

meningkat. Pada penambahan madu dengan konsentrasi 20% menghasilkan aktivitas tertinggi. Aktivitas antibakteri terbukti dengan adanya zona bening disekitar sumuran. Terbentuknya zona bening disekitar sumuran diduga dipengaruhi oleh kandungan asam-asam organik yang terbentuk selama proses fermentasi berlangsung. Greenwalt *et al.* (1998) menyatakan bahwa aktivitas antibakteri pada minuman kombucha berupa asam organik yang terbentuk selama fermentasi dan dapat menghambat beberapa jenis mikroba yang terdapat pada manusia.

Meningkatnya total fenol selama fermentasi menyebabkan aktivitas antibakteri kombucha jahe juga meningkat. Yulianti (2009) menyatakan bahwa senyawa fenol memiliki kemampuan dalam memutus ikatan peptidoglikan sehingga dapat menerobos dinding sel.

Elliza (2010) menyatakan bahwa *Escherichia coli* adalah bakteri Gram negatif yang memiliki struktur dinding sel yang lebih kompleks dan berlapis tiga, yaitu lapisan luar berupa lipoprotein, lapisan tengah berupa peptidoglikan yang tebal dan lapisan dalam lipopolisakarida. Dinding sel yang kompleks menimbulkan hambatan bagi senyawa bioaktif seperti madu untuk menembus membran sel bakteri, sehingga *Escherichia coli* kurang peka terhadap senyawa bioaktif tersebut.

Analisis Warna

Rerata nilai warna dengan tingkat kecerahan (L^*) yang didapatkan dari kombucha jahe setelah fermentasi selama 12 hari berkisar 33.07 hingga 60.47. Rerata nilai tingkat kemerahan (a^*) kombucha jahe setelah fermentasi selama 12 berkisar 1.83 hingga 9.87. Nilai tingkat kemerahan (a^*) yang positif menunjukkan bahwa minuman kombucha jahe didominasi dengan warna merah. Rerata nilai tingkat kekuningan (b^*) kombucha jahe setelah fermentasi selama 12 hari berkisar 7.90 hingga 24.00. Nilai tingkat kekuningan (b^*) yang positif menunjukkan bahwa minuman kombucha madu didominasi dengan warna kuning. Perubahan nilai dengan tingkat kecerahan (L^*), kemerahan (a^*), dan kekuningan (b^*) pada kombucha jahe dengan perlakuan jenis jahe dan penambahan madu dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rerata Tingkat Kecerahan (L^*), Kemerahan (a^*), dan Kekuningan (b^*) Kombucha Jahe Akibat Perlakuan Jenis Jahe dan Penambahan Madu

Jenis Jahe	Konsentrasi Madu (%)	Kecerahan (L^*)	Kemerahan (a^*)	Kekuningan (b^*)
Emprit	10	34.10 ± 1.93	9.87 ± 4.67	16.13 ± 10.19
	15	35.17 ± 6.79	3.33 ± 2.29	12.93 ± 6.32
	20	37.93 ± 4.47	4.23 ± 3.33	9.30 ± 2.10
Gajah	10	33.07 ± 1.35	1.63 ± 1.12	7.90 ± 2.05
	15	50.10 ± 9.46	4.10 ± 1.05	21.33 ± 2.73
	20	60.47 ± 3.93	4.63 ± 1.16	24.00 ± 1.23
Merah	10	34.57 ± 0.76	7.77 ± 0.15	12.03 ± 0.15
	15	45.87 ± 7.36	3.93 ± 0.29	20.47 ± 3.35
	20	50.93 ± 0.12	7.30 ± 0.10	22.67 ± 0.25

Berdasarkan Tabel 3 menunjukkan bahwa semakin tinggi penambahan madu maka nilai kecerahan (L^*) semakin tinggi. Penambahan madu dengan konsentrasi 20% menghasilkan nilai tingkat kecerahan (L^*) tertinggi. Hal ini diduga selama fermentasi berlangsung sukrosa yang terdapat pada madu akan dikonversi menjadi glukosa yang digunakan sebagai substrat untuk pertumbuhan sel dan pembentukan asam asetat. Terbentuknya asam-asam organik menyebabkan penurunan pH sehingga suasana kombucha menjadi asam. Potter and Hotchkiss (1995) menyatakan bahwa apabila suasana larutan menjadi semakin asam maka larutan akan terlihat lebih cerah karena katekin yang terdapat didalamnya mengalami kerusakan.

Degradasi katekin akibat adanya asam menyebabkan produk kombucha semakin cerah. Hal ini sesuai dengan pendapat Heroniaty (2012) yang menyatakan bahwa katekin

mengalami kerusakan akibat adanya asam. Pada akhir fermentasi jumlah asam-asam organik semakin meningkat sehingga minuman kombucha semakin cerah atau terang.

Pada Tabel 3 menunjukkan bahwa nilai kemerahan (a^*) tertinggi pada perlakuan jenis jahe emprit dan penambahan madu dengan konsentrasi 10%. Sedangkan nilai tingkat kemerahan (a^*) terendah pada perlakuan jenis jahe gajah dan penambahan madu dengan konsentrasi 10%. Meningkatnya tingkat kemerahan pada minuman kombucha jahe diduga disebabkan karena adanya penambahan madu. Chayati (2008) menyatakan bahwa madu randu memiliki tingkat kemerahan 2.23 – 4.13.

Pada Tabel 3 menunjukkan bahwa nilai kekuningan (b^*) tertinggi pada perlakuan jenis jahe merah dan penambahan madu dengan konsentrasi 20%. Sedangkan nilai tingkat kekuningan (b^*) terendah pada perlakuan jenis jahe gajah dan penambahan madu dengan konsentrasi 20%. Tingkat kekuningan (b^*) pada minuman kombucha jahe dapat dipengaruhi adanya pigmen karotenoid yang terdapat pada madu randu. Penurunan tingkat kekuningan (b^*) pada minuman kombucha jahe diduga karena pigmen karotenoid warnanya semakin memudar. Deman (1997) menyatakan bahwa warna pigmen karoten akan semakin dalam suasana asam, sedangkan apabila dalam larutan basa warna pigmen karoten menjadi lebih terang. Sehingga lama fermentasi maka pigmen karotenoid pada madu akan memudar dan menyebabkan turunnya nilai tingkat kekuningan (b^*).

Senyawa kurkumin pada jahe juga dapat mempengaruhi tingkat kekuningan (b^*) pada minuman kombucha jahe. Hambali dkk. (2005) menyatakan bahwa jahe mengandung senyawa kurkumin yang memiliki sifat antioksidan. Sidik *et al.* (1995) dalam Fauzana (2010) menyatakan bahwa senyawa kurkumin dalam suasana asam berwarna kuning jingga, sedangkan dalam suasana basa berwarna merah.

Perlakuan Terbaik

Pemilihan perlakuan terbaik pada penelitian ini menggunakan metode Zeleny (Zeleny, 1982). Pemilihan perlakuan terbaik ditentukan dengan membandingkan nilai ideal pada masing-masing parameter. Parameter yang diujikan pada kombucha jahe diantaranya pH, total asam, total gula, total fenol, total mikroba, aktivitas antibakteri *Staphylococcus*, aktivitas antibakteri *Escherichia coli*, tingkat kecerahan (L^*), tingkat kemerahan (a^*), dan tingkat kekuningan (b^*). Pemilihan parameter berdasarkan faktor kepentingan dan pengharapan nilai terbaik untuk mendapatkan nilai perlakuan terbaik.

Tabel 4. Nilai Perlakuan Terbaik Kombucha Jahe Akibat Jenis Jahe dan Penambahan Madu

Parameter	Jahe Merah dan Penambahan Madu 20%
Total Asam (%)	1.78
pH	2.64
Total Gula (%)	15.63
Total Fenol (ppm)	1114.70
Total Mikroba (Log CFU/ml)	6.35
Antibakteri <i>S. aureus</i> (mm)	10.42
Antibakteri <i>E. coli</i> (mm)	8.12
Kecerahan (L^*)	50.93
Kemerahan (a^*)	7.30
Kekuningan (b^*)	22.67

SIMPULAN

Perlakuan terbaik didapatkan pada kombucha jahe dengan jenis jahe merah dan penambahan madu konsentrasi 20% yaitu pH 2.64, total asam 1.78%, total gula 15.63%, total fenol 1114.70 ppm, total mikroba 6.35 log CFU/ml, aktivitas antibakteri *Staphylococcus* sebesar 10.42 mm, aktivitas antibakteri *Escherichia coli* sebesar 8.12 mm,

tingkat kecerahan (L^*) 50.93, tingkat kemerahan (a^*) 7.30, serta tingkat kekuningan (b^*) 22.67.

DAFTAR PUSTAKA

- Aditiwati dan Kusnadi. 2003. *Kultur Campuran dan Faktor Lingkungan Mikroorganisme yang Berperan dalam Fermentasi Tea Cider*. Jurnal ITB Sains dan Teknologi. 35 (2): 147-162.
- Beek, S.V., and F.G. Priest. 2000. *Decarboxylation of Substituted Cinnamic Acid by Lactic Acid Bacteria Isolated During Malt Whisky Fermentation*. Applied and Environmental Microbiology. Des. 2000: 5322-5328.
- Bhattacharya, S., Prasenjit M., Ratan G., and Plarames C. Sil. 2011. *Protective Effect of Kombucha Tea Against Tertiary Butyl Hydroperoxide Induced Cytotoxicity and Cell Death in Murine Hepatocytes*. Indian Journal of Experimental Biology. India.
- Campbell, N.A. 2002. *Biologi Jilid I Edisi Kelima*. Erlangga. Jakarta.
- Chayati, I. 2008. *Sifat Fisikokimia Madu Monoflora Dari Daerah Istimewah Yogyakarta dan Jawa Tengah*. Universitas Negeri Yogyakarta. Yogyakarta.
- Chayati, I., dan Isnati M. 2014. *Kandungan Komponen Fenolat, Kadar Fenolat, dan Aktivitas Antioksidan Madu dari Beberapa Daerah di Jawa dan Sumatera*. Universitas Negeri Yogyakarta. Yogyakarta.
- Demam, J.M. 1997. *Kimia Makanan*. Penerbit ITB. Bandung.
- Effendi, F., Roswien, A.K., dan E. Stefani. 2014. *Uji Aktivitas Antibakteri The Kombucha Probiotik terhadap Bakteri Escherichia coli dan Staphylococcus aureus*. Jurnal Fitofarmaka. Vol. 4 No. 2, hal. 34-41.
- Elliza, N. 2010. *Pengaruh Pemberian Madu Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Fauzana, D.L. 2010. *Perbandingan Metode Maserasi, Remaserasi, Perkolasi dan Reperkolasi Terhadap Rendemen Ekstrak Temulawak (Curcuma xanthorrhiza Roxb.)*. SKRIPSI. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Frank, G.W. 1996. *Kombucha Healthy Beverage and Natural Remedy from The Far East*. Publishing House Ennsthaler. Austria.
- Goh, W.N., Rosma, A., Kaur azilah a., Karim A.A., and B. Rajev. 2012. *Fermentation of Black Tea Broth (Kombucha) : Effects of Sucrose Concentration and Fermentation Time On The Yield of Microbial Cellulose*. International Food Research Journal. 19 (9): 109-117.
- Greenwalt C.J, R.A Ledford, and K.H Steinkraus. 1998. *Detoxification and Characterization of The Antimicrobial Activity of The Fermented Tea Kombucha*. <http://www.tmb.com/~Kombu/FAC/Antibiotic.html>.
- Hambali, E., Ani S., dan Mira R. 2005. *Membuat Aneka Bumbu Instan Pasta*. Penebar Swadaya. Bandung.
- Hawusiwa, E. S., Agustin K. W., dan Dian W. N. 2015. *Pengaruh Konsentrasi Pasta Sngkong (Manihot esculenta) dan Lama Fermentasi pada Proses Pembuatan Minuman Wine sngkong*. Jurnal Pangan dan Agroindustri Vol.3 No. 1 p. 147-155. Universitas Brawijaya. Malang.
- Hernani and E. Hayani. 2001. *Identification of Chemical Components on Red Ginger (Zingiber officinale var. Rubrum) by GC-MS*. International Seminar on Natural Products Chemistry and Utilization of Natural Resources. UI-Unesco, Jakarta: 501-505.
- Heroniaty. 2012. *Sintesis Senyawa Dimer Katekin dari Ekstrak The Hijau dengan Menggunakan Katalis Enzim Peroksidase dari Kulit Bawang Bombay (Allium cep L.)*. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Hidayat, D. 2006. *Mikrobiologi Industri*. C.V Andi offset. Yogyakarta.
- Juliantina F., Citra D.A., Nirwani B., Nurmasitoh T., dan Bowo E.T. 2008. *Manfaat Siri Merah (Piper crocatum) sebagai Agen Anti Bacterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif*. Universitas Indonesia. Jakarta.

- Koswara, S. 2009. *Madu: Jenis dan Penggunaannya*. eBook Pangan Unimus. Semarang.
- Malbasa, R., Loncar, E., dan M. Djuric. 2008. *Comparison of the Products of Kombucha Fermentation on Sucrose and Millasses*. Journal Food Chemistry. Vol. 106, p. 1039-1045.
- Marwati, Hudaida Syahrumsyah, dan Ratri Handria. 2013. *Pengaruh Konsentrasi Gula dan Starter terhadap Mutu The Kombucha*. Jurnal Teknologi Pertanian. Vol. 08. No.02. Hal: 49-53.
- Murti, T.W. 2007. *Kajian Cita Rasa dan Ragam Asam Organik Fermentasi Susu Kambing Menggunakan Bakteri Lactobacillus casei*. J. Indon. Trop. Anim. Agric. 32 (4).
- Naidu, A.S. 2000. *Natural Food Antimicrobial Systems*. CRC Press. New York.
- Napitupulu, M.O.W., Setyohadi, dan L. M. Lubis. 2015. *Pengaruh Variasi Konsentrasi Gula Sukrosa dan Lama Fermentasi terhadap Pembuatan Kopi Kombucha*. Jurnal Rekayasa Pangan dan Pertanian. Vol. 3 No. 3.
- Pokorny, J.N., N.Yanishlieva, and M. Gordon. 2001. *Antioxidant in Food*. CRC Press Boca Raton.
- Potter, N.N. and J. H. Hotchkiss. 1995. *Food Science. 3th edition*. CBS Publishers and Distributors. New Dehli.
- Rosita. 2007. *Berkat Madu*. Qanita. Bandung.
- Saez, J.S., Lopes, C.A., Kirs, V.C., and M.P. Sangorin. 2010. *Enhanced Volatile Phenols In Wine Fermented With Saccharomyces Cerevisiae and Spoiled With Pichia Guillermondii and Dekkera Bruxellensis*. Journal of Applied Microbiology. Vol. 51 (2): 170-176.
- Sarwono B. 2001. *Kiat Mengatasi Permasalahan Praktis Lebah Madu*. AgroMedia. Jakarta.
- Screeramulu, G., Zhu, Y., dan W. Knol. 2000. *Kombucha Fermentation and It's Antimicrobial Activity*. Journal Agriculture Food Chemistry. Vol. 886, p. 65-73.
- Stoilova I., A. Krastanov, A. Stoyanova, P. Denev dan S. Gargova. 2006. *Antioxidant activity of a Ginger Extract (Zingiber officinale)*. Food Chemistry. 102: 764-770.
- Suliantari, J.B.S.L. Suhartono, M.T.H., dan Apriantono, A. 2008. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Sirih Hijau (Piper bittle L.) Terhadap Bakteri Patogen Pangan*. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan. 19 (1). 1-7.
- Suranto, A. 2004. *Khasiat & Manfaat Madu Herbal*. AgroMedia Pustaka. Jakarta.
- Utami, S. R., Eva Pamungkas S., dan Inayati. 2014. *Pengaruh Waktu Hidrolisa dan Konsetrasi Asam Pada Hidrolisa Pati Kentang dengan Katalis Asam*. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Wardana, Heru D, Barwa NS, Kongsjahju A, Iqbal A, Khalid M, dan Taryadi RR. 2002. *Budi Daya secara Organik Tanaman Obat Rimpang*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Wresdiyati, T., Astawan M., dan Adriyani, L.K.M. 2003. *Aktivitas Antiinflamasi Oleoresin Jahe (Zingiber officinale) pada Ginjal Tikus yang Mengalami Perlakuan Stress*. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan. Vol. XIV, No. 2.
- Yulianti, O.N. 2009. *Kajian Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak Biji, Kulit Buah, Batang, dan Daun Tanaman Jarak Pagar (Jatropha curcas l)*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.