

Uji Aktivitas Kombucha Teh dan Kopi Sebagai Antibakteri Bakteri Gram Positif dan Bakteri Gram Negatif

Surahmaida^{1*)}, Kinanti Ayu Puji Lestari¹

¹Akademi Farmasi Surabaya, Surabaya.

^{*)}E-mail: fahida1619@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan Kombucha dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif. Metode yang digunakan dalam penelitian ini meliputi pembuatan Kombucha dengan variasi bahan dasar (teh hitam, teh hijau dan kopi) dengan jenis gula yang berbeda (gula pasir dan gula stevia); dan uji antibakteri menggunakan metode kertas cakram (difusi agar) terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif. Hasil penelitian menunjukkan ke-6 varian Kombucha tidak berpengaruh atau tidak adanya zona bening (zona hambat) yang terbentuk di sekitar kertas cakram uji pada semua bakteri uji.

Kata kunci: Kombucha teh dan kopi, bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif, zona hambat

Tea and Coffee Kombucha Activity Test as Antibacterial for Gram Positive Bacteria and Gram Negative Bacteria

ABSTRACT

The aim of this study is to determine the ability of Kombucha to inhibit the growth of Gram positive and Gram negative bacteria. The method used in this study included the making of Kombucha with a variety of basic ingredients (black tea, green tea and coffee) with different types of sugar (sugar and stevia sugar); and antibacterial tests using the paper disc (agar diffusion) method against Gram positive and Gram negative bacteria. The results showed that the 6 variants of Kombucha had no effect or absence of a clear zone (inhibition zone) formed around the test disc paper in all test bacteria.

Keywords: Tea and coffee Kombucha, Gram positive bacteria and Gram negative bacteria, inhibitory zone

1. PENDAHULUAN

Kombucha atau yang sering disebut dengan jamur teh merupakan minuman fermentasi teh atau kopi menggunakan starter bakteri dan jamur (*Scooby*) dengan waktu fermentasi selama 7-14 hari. Kombucha banyak dikonsumsi masyarakat sebagai minuman kesehatan karena banyak mengandung asam organik, vitamin dan monosakarida^[1]. Selama ini, manfaat kombucha hanya digunakan untuk mengobati beberapa penyakit, namun masih sedikit penelitian yang memanfaatkan kombucha sebagai antibakteri. Penelitian yang dilakukan oleh^[2], menunjukkan bahwa Kombucha teh hitam mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* (23 mm), *Pseudomonas aeruginosa* (26 mm), dan *Staphylococcus aureus* (25 mm) pada fermentasi hari ke-14 hari.^[3] menyatakan bahwa Kombucha teh hitam dan hijau yang difermentasi selama 12 hari mampu menghambat bakteri *E. coli* (150 µg/ml), *S. typhi* (336 µg/ml) dan *P. aeruginosa* (228 µg/ml); untuk Kombucha teh hijau mampu menghambat

bakteri *S. aureus* (280 µg/ml). Minuman Kombucha teh hitam juga mampu menghambat bakteri *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli*^[4]. Penelitian tentang aktivitas antibakteri juga telah lama dilakukan oleh^[4] dan^[5] dimana Kombucha teh mampu menghambat bakteri *S. typhi*, *S. aureus*, *E. coli* dan *B. cereus*.

Pada penelitian ini, digunakan jenis bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Contoh dari bakteri Gram positif yaitu *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* dan *Bacillus cereus*; sedangkan bakteri Gram negatif yang digunakan yaitu *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. Keenam bakteri tersebut merupakan bakteri penyebab penyakit infeksi pada manusia.

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi Kombucha teh hitam, teh hijau dan kopi terhadap bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif.

diharapkan penelitian ini dapat menjadi informasi tambahan/acuan bagi peneliti selanjutnya.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini terdiri dari 6 varian Kombucha yang akan diujikan sebagai antibakteri Gram positif dan Gram negatif.

2.1. Alat

Alat-alat yang digunakan adalah toples kaca, saringan, kompor listrik, cawan petri, beker gelas, gelas ukur, pengaduk, tabung reaksi, pipet, spatula, pinset, gunting, autoklaf, termometer, pH meter inkubator.

2.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquadest, gula pasir, gula Stevia (Tropicana), teh hijau merek "Djenggot", teh hitam merek "Tong Tji", kopi bubuk, starter Kombucha, bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*), bakteri Gram negatif (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*), kertas cakram, *plastic wrap*, *aluminium foil*, kapas lemak, media *Nutrient Agar* dan media *Nutrient Broth*.

2.3. Cara Kerja

2.3.1. Pembuatan Kombucha

A. Pembuatan Kombucha (jenis gula: gula pasir)

Sebanyak 2 kantong teh hitam (berat per 1 kantong teh yaitu 2 gr) dilarutkan ke dalam panci yang berisi 1 Liter air panas dan ditambahkan dengan gula pasir sebanyak 127 gr/Liter. Diaduk hingga bercampur sempurna. Lalu teh disaring dan dimasukkan ke dalam toples dan dibiarkan hingga mencapai suhu ruang (37°C). Setelah suhu mencapai 37°C, ¼ starter kombucha yang berdiameter 10 cm + 2 sendok larutan starter Kombucha dimasukkan ke dalam toples yang telah berisi larutan teh-gula. Sebelum ditutup, terlebih dahulu dilakukan pengukuran pH. Setelah itu, toples ditutup rapat dan dibungkus dengan serbet. Difermentasi selama 10 hari dalam kondisi gelap dan pada suhu ruang. Tiap tahapan dilakukan secara aseptis.

Untuk pembuatan Kombucha Teh Hijau, 2 kantong Teh Hijau cap "Djenggot" (1 kantong teh @ 2,4 gr) dimasukkan ke dalam 1 Liter air panas.

Sedangkan Kombucha Kopi, membutuhkan 10 gram kopi bubuk untuk dilarutkan ke dalam 1 Liter air panas.

B. Pembuatan Kombucha (jenis gula: gula Stevia)

Perlakuan yang sama juga digunakan untuk membuat Kombucha teh hitam, teh hijau dan kopi dengan gula Stevia (Tropicana). Namun, gula Stevia yang ditambahkan ke dalam larutan teh hitam, teh hijau dan kopi sebanyak 18,2 gram (7 bungkus). Tiap tahapan dilakukan secara aseptis.

2.3.2. Pembuatan Media

Media yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri adalah media *Nutrient Agar* (NA). Sebanyak 2 gram NA dilarutkan ke dalam Erlenmeyer yang berisi 100 ml akuades, diaduk hingga larut dengan sempurna lalu dididihkan sampai berwarna seperti minyak goreng. Kemudian larutan NA disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Setelah disterilisasi, larutan NA dituang ke dalam cawan petri masing-masing sebanyak 15 ml. Ditunggu sampai mengeras dan diinkubasi selama 24 jam.

2.3.3. Pengukuran pH

Diambil sedikit larutan Kombucha, kemudian diukur pH-nya dengan menggunakan kertas pH universal. Perlakuan ini dilakukan sebelum dan sesudah fermentasi.

2.3.4. Penentuan Konsentrasi Kombucha

Konsentrasi yang digunakan pada ke-6 varian Kombucha adalah 100%.

2.3.5. Pembuatan Media NA

Sebanyak 2 gram NA dilarutkan ke dalam erlenmeyer yang berisi 1 Liter aquadest, diaduk hingga homogen. Lalu dipanaskan hingga mendidih sampai berwarna kuning seperti minyak goreng. Disterilkan ke dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C (tekanan 1 atm). Kemudian media dituangkan ke dalam cawan petri (@ 15 ml) dan dibiarkan hingga memadat. Setelah media NA padat, kemudian 0,1 ml suspensi bakteri uji diinokulasikan di atas media NA dengan menggunakan *spreader*, cawan petri dibungkus dengan *plastic wrap* sampai rapat. Inkubasi selama 24 jam.

2.3.6. Uji Aktivitas Kombucha sebagai Antibakteri

Dilakukan pengujian aktivitas Kombucha sebagai antibakteri pada masing-masing sampel Kombucha terhadap masing-masing bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*) dan bakteri Gram negatif (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*,

Salmonella typhi), dengan menggunakan metode kertas cakram. Konsentrasi ekstrak yang digunakan antibakteri Kombucha adalah 100%, dimana kertas cakram uji telah direndam ke dalam masing-masing larutan Kombucha selama 5 menit. Sebagai kontrol, digunakan pelarut aquades. Lalu diinkubasi 2x24 jam untuk mengetahui sifat bakteriostatik atau bakterisidal. Masing-masing perlakuan dilakukan replikasi 3 kali. Kemudian diukur zona hambat yang terbentuk dengan menggunakan jangka sorong.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Kombucha atau yang dikenal dengan “jamur dipo” oleh masyarakat, merupakan salah satu minuman tradisional hasil fermentasi dari larutan teh/kopi dengan menggunakan SCOBY (*Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast*) yang difermentasi selama 7-12 hari sehingga terbentuk rasa asam [6]. Bakteri (*Acetobacter xylinum*) dan yeast (*Saccharomyces cereviceae*, *Sachharomyces bisporus*, *Zygosaccharomyces sp.*) pada SCOBY akan mengubah gula menjadi berbagai jenis zat asam, vitamin dan alkohol yang berkhasiat bagi tubuh [7] seperti meningkatkan stamina dan imunitas tubuh, rematik, peradangan sendi [8], antioksidan dan antimikroba [7]. Pada penelitian ini, fermentasi Kombucha dilakukan selama 10 hari.

Untuk membuat Kombucha yang melibatkan mikroorganisme, maka harus ditambahkan nutrisi untuk pertumbuhan mikroorganisme tersebut. Nutrisi tersebut adalah gula. Gula ini akan diubah menjadi glukosa dan fruktosa untuk menghasilkan asam asetat. Selain itu, gula juga digunakan sebagai media pertumbuhan mikroorganisme sehingga menghasilkan zat-zat hasil fermentasi secara optimal [9]. Dalam penelitian ini, terdapat 2 jenis gula yang digunakan yaitu gula pasir dan gula batu (gula stevia) untuk masing-masing teh hitam, teh hijau dan kopi.

Selama proses fermentasi Kombucha, yeast (khamir) akan merombak sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa, serta mengubah glukosa dan fruktosa menjadi etanol dan karbondioksida [10]. Etanol yang dihasilkan oleh yeast (khamir) mempercepat pertumbuhan bakteri asam asetat (*Acetobacter xylinum*) [11]. Sedangkan bakteri asam asetat akan mengoksidasi glukosa menjadi asam glukonat dan asam ketoglukonat, dan mengoksidasi fruktosa menjadi asam asetat [12, 13]. Selain itu, gula akan merangsang pertumbuhan bakteri *A. xylinum*

sehingga selulosa (polisakarida) cepat terbentuk. Semakin banyak jumlah selulosa yang terbentuk, maka starter Kombucha (SCOBY) akan semakin menebal. Hal ini ditandai dengan starter Kombucha yang awalnya hanya berupa lapisan tipis, lama-kelamaan starter Kombucha akan meluas dan menebal secara berlapis [14].

3.1. Analisis pH

Pengukuran pH untuk ke-6 varian Kombucha dilakukan sebelum dan setelah difermentasi selama 10 hari. Adapun hasil pengukuran pH pada ke-6 varian Kombucha dapat dilihat pada Tabel 1 sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil pengukuran pH Kombucha

No	Varian Kombucha	pH	
		Awal	10 hari
1	Teh Hijau Gula Pasir (TJP)	7	3
2	Teh Hijau Gula Stevia (TJS)	7	2
3	Teh Hitam Gula Pasir (THP)	7	3
4	Teh Hitam Gula Stevia (THS)	7	2
5	Kopi Gula Pasir (KP)	7	2
6	Kopi Gula Stevia (KS)	7	2

Dari Tabel 1, diperoleh nilai pH yang mengalami penurunan secara cepat pada fermentasi 10 hari (dari pH 7 menurun menjadi pH 2 - 3). Penurunan pH pada ke-6 varian Kombucha kemungkinan terjadi karena adanya asam asetat yang meningkat. Asam asetat tersebut melepaskan ion-ion H^+ sehingga pH menjadi menurun [15]. Hal ini sesuai dengan pernyataan [16] dan [17], dimana penurunan pH yang cepat disebabkan karena adanya aktivitas metabolisme bakteri *Acetobacter xylinum* selama proses fermentasi berlangsung.

pH optimum yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri *Acetobacter spp.* antara 5,4 – 6,3. Pertumbuhan bakteri mungkin juga terjadi pada pH 4 - 4.5 dan pertumbuhan minimal mungkin terjadi pada pH 7 – 8 [18]. Namun hasil penelitian ini menunjukkan nilai pH 2 – 3. Menurut [19] bakteri asam asetat mampu tumbuh dan menghasilkan selulosa pada pH < 3. Hasil nilai pH inilah yang mungkin disebabkan oleh variabilitas mikroflora normal yang ditemukan pada varian Kombucha yang berbeda.

Untuk konsumsi Kombucha, pH Kombucha yang aman untuk dikonsumsi adalah pada kisaran pH 3. Namun, dikarenakan pH pada penelitian ini ada

yang bernilai pH 2, maka Kombucha tersebut harus diencerkan terlebih dahulu sebelum dikonsumsi untuk mengurangi dampak buruk pada dinding saluran pencernaan akibat pH yang terlalu rendah (asam) [20].

3.2. Analisis Antibakteri Kombucha

Pada saat fermentasi Kombucha telah mencapai 10 hari, maka diambil sedikit larutan Kombucha untuk dilakukan pengujian daya hambat terhadap bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*) dan bakteri Gram negatif (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*) dengan metode kertas cakram.

Dari hasil pengamatan pada keenam varian Kombucha tidak menunjukkan adanya zona hambat (zona bening). Hasil aktivitas keenam varian Kombucha sebagai antibakteri bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif ini dapat dilihat pada Tabel 2 di bawah ini:

Tabel 2. Hasil pengujian pada ke-6 varian Kombucha sebagai antibakteri Gram positif dan Gram negatif

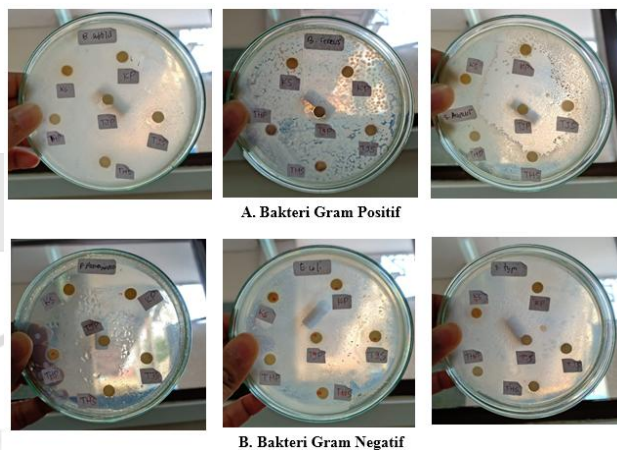
Jenis Bakteri	Nama Bakteri	Luas Zona Hambat (mm)						
		Kontrol	TJP	TJS	THP	THS	KP	KS
Gram Positif	<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0	0	0
	<i>Bacillus subtilis</i>	0	0	0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0	0	0
<i>Bacillus cereus</i>	0	0	0	0	0	0	0	
	0	0	0	0	0	0	0	
	0	0	0	0	0	0	0	
Gram Negatif	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0	0	0
	<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0	0	0
<i>Samonella typhi</i>	0	0	0	0	0	0	0	
	0	0	0	0	0	0	0	
	0	0	0	0	0	0	0	

Pada Tabel 2. menunjukkan bahwa ke-6 varian Kombucha tidak memberikan pengaruh pada pengujian antibakteri Gram positif dan Gram negatif.

Kombucha mampu bertindak sebagai antibakteri karena adanya simbiosis antara bakteri dan yeast di dalamnya [21, 22]. Kandungan zat pada Kombucha yang berperan sebagai antimikroba adalah *usnic acid* pada kultur Kombucha [23], asam asetat sebagai agen antimikroba yang utama [5] dan senyawa lain seperti *bacteriocins*, protein, enzim, teh yang mengandung senyawa fenolik serta tannin [4]. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas Kombucha (teh hitam, teh hijau dan kopi) sebagai antibakteri Gram positif dan Gram negatif. Namun

semuanya menunjukkan tidak terbentuk zona bening (zona hambat) di sekitar kertas cakram uji (Gambar 1).

Tidak adanya zona hambat yang terbentuk dari ke-6 varian Kombucha terhadap semua bakteri yang diuji, diduga karena lama fermentasi yang kurang lama. Lama fermentasi, asam asetat dan pH sangat berkaitan erat, dimana semakin lama fermentasi, maka asam asetat yang dihasilkan juga semakin banyak dan mengakibatkan pH menjadi menurun.



Gambar 1. Hasil uji Kombucha sebagai antibakteri

Kemungkinan lain disebabkan adanya perbedaan takaran bahan dasar yang digunakan yaitu jenis gula dan media Kombucha yang digunakan saat pembuatan Kombucha.

Dari hasil penelitian ini, diharapkan ada penelitian lanjutan tentang uji aktivitas Kombucha teh hitam, teh hijau dan kopi sebagai antibakteri namun dengan variabel uji yang berbeda sehingga diharapkan dapat dijadikan acuan awal (referensi) bagi peneliti yang lain.

4. KESIMPULAN

Keenam varian Kombucha mengalami penurunan pH dari 7 menjadi sekitar 2-3. Namun varian Kombucha tersebut tidak memiliki pengaruh sebagai antibakteri terhadap bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif (ditandai dengan tidak adanya zona bening) yang terbentuk.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Akademi Farmasi Surabaya dan semua pihak yang telah memberikan dukungan dan fasilitas sehingga penulis dapat menyelesaikan artikel ini.

6. KONFLIK KEPENTINGAN

Seluruh penulis menyatakan tidak terdapat potensi konflik kepentingan dengan penelitian, kepenulisan (*authorship*), dan atau publikasi artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Malbasa, R., Loncar, E., Djuric, M., Dosenovic, I. **Effect of sucrose concentration on the products of Kombucha fermentation on molases.** *Food Chemistry*. 2008: 108(3): 926-932.
2. Alkhalifawi, I. **Antimicrobial Activity of Kombucha (KH) Tea Against Bacteria Isolated From Diabetic Foot Ulcer.** *Journal of Biotechnology Research Center*. 2014: 8(4): 27-33.
3. Dehriq, M., Chriaa, J., Battikh, H., Abid, K. and Bakhrouf, A. **Antiproliferative and antimicrobial activities of kombucha tea.** *African Journal of Microbiology Research*, 2013; 7(27): 3466-3470.
4. Sreeramulu, G., Zhu, Y., Knol, W. **Characterization of antimicrobial activity in Kombucha fermentation.** *Acta Biotechnol.* 2001: 21(1): 49-56.
5. Greenwalt, C.J., Steinkraus, K.H., Ledford, R.A. **Determination and characterization of the antimicrobial activity of the fermented tea kombucha.** *Lebensm Wiss Technol.* 1998: 13: 291-296.
6. Herwin, Kosman, R., Fitriani. **Analisis Kadar Alkohol Produk Kombucha Daun Permot (*Passiflora foetida* L.) Asal Makassar Sulawesi Selatan Secara Kromatografi Gas.** *As-Syifa*. 2013: 5(2): 112-118.
7. Naland, H. **Kombucha Teh Ajaib: Pencegah dan Penyembuh Aneka Penyakit.** Jakarta: PT. Agromedia Pustaka; 2004.
8. Napitupulu, M.O.W., Setyohadi, Lubis, L.M. **Pengaruh Variasi Konsentrasi Gula Sukrosa Dan Lama Fermentasi Terhadap Pembuatan Kopi Kombucha.** *Ilmu dan Teknologi Pangan*. 2015: 3(3): 316-322.
9. Aditiawati dan Kusnadi. **Kultur Campuran dan Faktor Lingkungan Mikroorganisme yang Berperan Dalam Fermentasi Tea Cider.** *Jurnal ITB Sains dan Teknologi*. 2003: 35(2): 147-162.
10. Rezaie, A., Bayat, B.T., Abdollahi, M. **Biologic Management of Fistulizing Chron's Disease** [diakses tanggal 10 Maret 2019]. <http://docsdrive.com/pdfs/ansinet/ikp/2005/17-24.pdf>
11. Loncar, E.S, Katarina, G.M., Radomir, V.M., Mirjana, S.D. and Spasenija, D.M. **Kinetics of Saccharose Fermentation By Kombucha.** *Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly*. 2014: 20(3): 345-352.
12. Loncar, E.S, Djuric, M., Malbasa, R., Kolarv, L.J., Klasnja, M. **Influence of working conditions upon kombucha conducted fermentation of black tea.** *Food Bioproc.* 2006: 84: 186-192.
13. Ahmed, S.E. **Biochemical and Microbial Changes During Fermentation of Tea Fungus (Kombucha) (Tesis).** Sudan: University of Khartoum; 2003.
14. Rinihapsari, E. dan Ariani, C. **Fermentasi Kombucha dan Potensinya Sebagai Minuman Kesehatan.** *Media Farmasi Indonesia*. 2008 : 3(2): 241-246.
15. Goh, W.N., Rosma, A., Kaur, A.A., Karim, A.A. dan Rajev, B. **Fermentation of Black Tea Broth (Kombucha): Effects of Sucrose Concentration and Fermentation Time On The Yield of Microbial Cellulose.** *International Food Research Journal*. 2012: 19(9): 109-117.
16. Sievers, M., Lanini, C., Weber, A., Schuler-Schmid, U. and Teuber, M. **Microbiology and Fermentation Balance In Kombucha Beverage Obtained From A Tea Fungus Fermentation.** *Systematic & Applied Microbiology*. 1995: 18: 590-594.
17. Blanc, P.J.. **Characterization of the tea fungus metabolites.** *Biotechnology Letters*. 1996: 18: 139-142.
18. Bergey, D.H. and Holt, J.G. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.** 9th Edition. USA: Williams and Wilkins; 1994.
19. Chan, C. and Liu, B.Y. **Changes in major components of tea fungus metabolites during prolonged fermentation.** *Journal of Applied Microbiology*. 2000: 89: 834-839.
20. Naland, H. **Kombucha Teh Dengan Seribu Khasiat.** Jakarta: PT. Agromedia Pustaka; 2008.
21. Liu, C.H., Hsu, W.H., Lee, F.L. and Liao, C.C. **The isolation and identification of microbes from a fermented tea beverage, haipao, and their interactions during Haipao fermentation.** *Food Microbiology*. 1996: 14: 407-415.
22. Balentine, D.A. **Special Issue: Tea and Health.** *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 1997: 8: 691-692.
23. Tietze, H.W. **Kombucha: The Miracle Fungus.** 6th Edition. Australia: Phree Books; 1995.