

PENGARUH KONSENTRASI KUNYIT (*Curcuma domestica* Val.)
TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI
MINUMAN KUNYIT ASAM
YANG DIFERMENTASI DENGAN JAMUR KOMBU

SYAHRIANI
H 511 03 070



PERPUSTAKAAN KHARISMA HASANUDDIN	
Tgl. Terima	3 - 06 - 08
Asal Dari	Farmasi
Banyaknya	1 shs.
Harga	Rp. 1000
No. Inventaris	161
No. Klas	

JURUSAN FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2008

**PENGARUH KONSENTRASI KUNYIT (*Curcuma domestica* Val.)
TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI MINUMAN KUNYIT ASAM
YANG DIFERMENTASI DENGAN JAMUR KOMBU**

SKRIPSI

**Untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**

**SYAHRIANI
H 511 03 070**

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2008**

**PENGARUH KONSENTRASI KUNYIT (*Curcuma domestica* Val.)
TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI MINUMAN KUNYIT ASAM
YANG DIFERMENTASI DENGAN JAMUR KOMBU**

SYAHRIANI

H 511 03 070

Disetujui oleh :

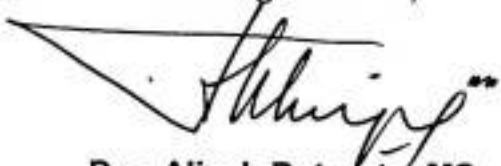
Pembimbing Utama,



Dr. M. Natsir Djide, MS

NIP. 130 785 083

Pembimbing Pertama,



Dra. Aliyah Putranto, MS

NIP. 131 630 988

Pembimbing Kedua,



Dra. Rahmawati Syukur, M.Si

NIP. 132 012 988

Pada tanggal : Juni 2008

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, segala puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah swt yang senantiasa melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyusun dan menyelesaikan skripsi ini sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana pada Jurusan Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada bapak Dr. M. Natsir Djide, M.S. selaku pembimbing utama, ibu Dra. Aliyah, M.S. selaku pembimbing pertama sekaligus penasehat akademik, dan ibu Dra. Rahmawati Syukur, M.Si. selaku pembimbing kedua atas kesediaan beliau meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam membimbing penulis hingga rampungnya penyusunan skripsi ini.

Tak lupa ucapan terima kasih penulis tujukan kepada :

1. Dekan dan Pembantu Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
2. Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
3. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas ilmu yang telah diberikan selama penulis menempuh studi.
4. Seluruh Staf dan Karyawan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, khususnya Staf Laboratorium Mikrobiologi (Kak Haslia, Kak Dewi, Kak Isriani) atas bimbingan dan bantuannya selama pelaksanaan penelitian ini.

5. Panyany Pangeran atas kebersamaan dan kerjasamanya selama ini. Maryam, Anna Fitriana, A.Tasyuni, Karlina, Zhulhajsyirah, Rahmatia, Multazam, Arjuna, Ismail, Rizal serta seluruh rekan mahasiswa Farmasi Angkatan 2003 yang telah menemani dan membantu penulis selama menyelesaikan kuliah.

Terkhusus ucapan terima kasih yang tulus kepada kedua orang tua tercinta Zainuddin Mula dan Rasani yang telah membesarkan dengan penuh kasih sayang, mendidik, serta memberikan dukungan moril dan materil, atas semua doa dan kerja kerasnya yang tak ternilai harganya, kepada adikku tersayang Sarmiati, Erviana, Fikran atas dukungan dan kebersamaannya.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, kami mengharapkan kritik dan saran dari pembaca untuk kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Makassar, Juni 2008

Penulis

5. Panyany Pangeran atas kebersamaan dan kerjasamanya selama ini. Maryam, Anna Fitriana, A.Tasyuni, Karlina, Zhulhajsyirah, Rahmatia, Multazam, Arjuna, Ismail, Rizal serta seluruh rekan mahasiswa Farmasi Angkatan 2003 yang telah menemani dan membantu penulis selama menyelesaikan kuliah.

Terkhusus ucapan terima kasih yang tulus kepada kedua orang tua tercinta Zainuddin Mula dan Rasani yang telah membesarkan dengan penuh kasih sayang, mendidik, serta memberikan dukungan moril dan materil, atas semua doa dan kerja kerasnya yang tak ternilai harganya, kepada adikku tersayang Sarmiati, Erviana, Fikran atas dukungan dan kebersamaannya.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, kami mengharapkan kritik dan saran dari pembaca untuk kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Makassar, Juni 2008

Penulis

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang uji aktivitas antibakteri minuman kunyit asam yang difermentasi dengan jamur kombu terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan data ilmiah tentang aktivitas antibakteri minuman fermentasi kunyit asam serta untuk menentukan pengaruh konsentrasi kunyit terhadap aktivitas antibakteri minuman fermentasi kunyit asam. Minuman kunyit asam dibuat dengan variasi konsentrasi kunyit, yaitu 10%, 15%, dan 20% b/v, kemudian difermentasi dengan jamur kombu selama 6 hari. Minuman fermentasi kunyit asam diuji aktivitas antibakterinya dengan metode difusi agar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa minuman fermentasi kunyit asam dengan konsentrasi kunyit 10% (B) memberikan diameter daerah hambatan terbesar terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan minuman fermentasi kunyit asam dengan konsentrasi kunyit 20% (D) memberikan diameter daerah hambatan terbesar terhadap bakteri *Escherichia coli*. Hasil analisis statistika dengan metode Rancangan Faktorial menunjukkan konsentrasi kunyit dan fermentasi berpengaruh terhadap diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri uji. Peningkatan konsentrasi kunyit berbanding terbalik dengan besarnya aktivitas antibakteri minuman fermentasi kunyit asam terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Kata kunci : aktivitas antibakteri, kunyit asam, fermentasi, jamur kombu.

ABSTRACT

A research about the antibacterial activity test of turmeric-tamarind beverage which fermented with kombucha microbe to the growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* had been done. The purpose of this research was to completed scientific data of antibacterial activity of turmeric-tamarind fermented beverage and also to determinated the influence of turmeric concentration to antibacterial activity of turmeric-tamarind fermented beverage. Turmeric-tamarind beverage was made with the variation of turmeric concentration, namely 10%, 15%, and 20% b/v, and then fermented with kombucha microbe during 6 days. The antibacterial activity of turmeric-tamarind fermented beverage was examined by diffusion method. The result of this research indicated that turmeric-tamarind fermented beverage with turmeric concentration 10% (B) gives the biggest inhibitory zone on *Staphylococcus aureus* and turmeric-tamarind fermented beverage with turmeric concentration 20% (D) gives the biggest inhibitory zone on *Escherichia coli*. The result of statistical analysis using factorial design showed that turmeric concentration and fermentation influencing to the inhibitory zone of bacteria growth. The increasing of turmeric concentration inversed compare by level of antibacterial activity of turmeric-tamarind fermented beverage to the growth of *Staphylococcus aureus*.

Key word : antibacterial activity, turmeric-tamarind, fermentation, kombucha microbe.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENUNJUK.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	iv
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
II.1 Tinjauan Tentang Jamur Kombu.....	4
II.1.1 Fermentasi oleh Jamur Kombu.....	5
II.1.2 Khasiat Jamur Kombu.....	8
II.1.3 Uraian Mikroba dalam Jamur Kombu.....	9
II.1.3.1 <i>Acetobacter aceti</i>	9
II.1.3.2 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	10
II.2 Tinjauan Tentang Kunyit.....	11
II.3 Tinjauan Tentang Asam Jawa.....	13

II.4 Tinjauan Tentang Infus.....	14
II.5 Tinjauan Tentang Antimikroba.....	15
II.5.1 Definisi Antimikroba.....	15
II.5.2 Mekanisme Kerja Antimikroba.....	16
II.5.3 Pengujian Antimikroba secara Mikrobiologis.....	17
II.5.4 Uraian Bakteri Uji yang Digunakan.....	20
II.5.4.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	20
II.5.4.2 <i>Escherichia coli</i>	21
II.6 Cara Perhitungan Jumlah Mikroba.....	21
II.7 Tinjauan Tentang Gula Reduksi dan Metode Luff Schoorl.....	23
BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN.....	26
III.1 Penyiapan Alat dan Bahan.....	26
III.1.1 Alat dan Bahan yang Digunakan.....	26
III.1.2 Pembuatan Medium.....	27
III.1.3 Penyiapan Perekasi.....	28
III.2 Penyiapan Bahan Penelitian.....	31
III.2.1 Pengambilan dan Pengolahan Sampel.....	31
III.2.2 Pembuatan Infus Rimpang Kunyit dan Infus Asam Jawa.....	31
III.2.3 Pembuatan Minuman Kunyit Asam.....	32
III.2.4 Fermentasi Minuman Kunyit Asam.....	32
III.3 Pengujian Angka Lempeng Total (ALT) Khamir dan Bakteri Asam Asetat.....	33
III.4 Penentuan Keasaman dengan Metode Alkalimetri.....	34
III.5 Penentuan Kadar Gula Reduksi dengan Metode Luff Schoorl.....	34

III.6 Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	35
III.6.1 Penyiapan Bakteri Uji.....	35
III.6.2 Pengujian Daya Hambat.....	36
III.7 Pengumpulan dan Analisis Data.....	36
III.8 Pembahasan Hasil Penelitian.....	37
III.9 Pengambilan Kesimpulan.....	37
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	38
IV.1 Hasil Penelitian.....	38
IV.1.1 Hasil Pengujian ALT Khamir dan Bakteri Asam Asetat.....	38
IV.1.2 Hasil Penentuan Keasaman.....	39
IV.1.3 Hasil Penentuan Kadar Gula Reduksi.....	40
IV.1.4 Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	41
IV.1.5 Hasil Pengukuran pH.....	42
IV.2 Pembahasan.....	42
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	52
V.1 Kesimpulan.....	52
V.2 Saran.....	52
DAFTAR PUSTAKA.....	53
LAMPIRAN.....	56

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Nilai ALT Khamir Minuman Kunyit Asam Sesudah Difermentasi dengan Jamur Kombu.....	38
2. Nilai ALT Bakteri Asam Asetat Minuman Kunyit Asam Sesudah Difermentasi dengan Jamur Kombu.....	38
3. Penentuan Keasaman Minuman Kunyit Asam Sebelum dan Sesudah Difermentasi dengan Jamur Kombu Menggunakan Metode Alkalimetri.....	39
4. Penentuan Kadar Gula Reduksi dalam Minuman Kunyit Asam Sebelum dan Sesudah Difermentasi dengan Jamur Kombu Menggunakan Metode Luff Schoorl.....	40
5. Diameter Daerah Hambatan Pertumbuhan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> oleh Minuman Kunyit Asam Sebelum dan Sesudah Difermentasi dengan Jamur Kombu.....	41
6. Diameter Daerah Hambatan Pertumbuhan Bakteri <i>Escherichia coli</i> oleh Minuman Kunyit Asam Sebelum dan Sesudah Difermentasi dengan Jamur Kombu.....	41
7. pH Minuman Kunyit Asam Sebelum dan Sesudah Difermentasi dengan Jamur Kombu.....	42

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur glukosa dan fruktosa (struktur Emil Fischer).....	24
2. Histogram hubungan konsentrasi kunyit (%) dengan nilai ALT bakteri asam asetat minuman kunyit asam sesudah difermentasi dengan jamur kombu.....	43
3. Grafik hubungan konsentrasi kunyit (%) dalam minuman kunyit asam dengan diameter daerah hambatan pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i> (mm) sebelum dan sesudah difermentasi dengan jamur kombu.....	47
4. Grafik hubungan konsentrasi kunyit (%) dalam minuman kunyit asam dengan diameter daerah hambatan pertumbuhan <i>Escherichia coli</i> (mm) sebelum dan sesudah difermentasi dengan jamur kombu.....	47
5. Fermentasi minuman kunyit asam oleh jamur kombu.....	72
6. Foto daerah hambatan pertumbuhan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> oleh minuman kunyit asam sebelum dan sesudah difermentasi dengan jamur kombu.....	73
7. Foto daerah hambatan pertumbuhan bakteri <i>Escherichia coli</i> oleh minuman kunyit asam sebelum dan sesudah difermentasi dengan jamur kombu.....	74

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Formula Minuman Kunyit Asam.....	56
2. Skema Kerja.....	57
3. Analisis Statistika Hasil Perhitungan Nilai ALT Khamir Minuman Kunyit Asam Sesudah Difermentasi dengan Jamur Kombu Menggunakan Metode Rancangan Acak Lengkap (RAL).....	59
4. Analisis Statistika Hasil Perhitungan Nilai ALT Bakteri Asam Asetat dalam Minuman Kunyit Asam Sesudah Difermentasi dengan Jamur Kombu Menggunakan Metode Rancangan Acak Lengkap (RAL).....	60
5. Analisis Statistika Hasil Pengukuran Diameter Daerah Hambatan Pertumbuhan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> oleh Minuman Kunyit Asam Sebelum dan Sesudah Difermentasi dengan Jamur Kombu Menggunakan Metode Rancangan Faktorial.....	62
6. Analisis Statistika Hasil Pengukuran Diameter Daerah Hambatan Pertumbuhan Bakteri <i>Escherichia coli</i> oleh Minuman Kunyit Asam Sebelum dan Sesudah Difermentasi dengan Jamur Kombu Menggunakan Metode Rancangan Faktorial.....	65
7. Perhitungan Pembakuan.....	68
8. Perhitungan Nilai ALT Khamir dan Bakteri Asam Asetat.....	69
9. Perhitungan Keasaman.....	69
10. Tabel Luff Schoorl untuk Penentuan Kadar Gula Reduksi (Glukosa dan Fruktosa).....	70
11. Perhitungan Kadar Gula Reduksi	71

BAB I

PENDAHULUAN

Sejalan dengan berkembangnya ilmu pengetahuan dan perubahan gaya hidup, tuntutan konsumen terhadap bahan pangan tidak hanya terbatas sebagai sumber zat gizi, tetapi juga mampu memberikan manfaat kesehatan bagi tubuh. Fenomena tersebut melahirkan apa yang disebut pangan fungsional, yaitu pangan yang mengandung komponen aktif yang mempunyai fungsi fisiologis dan digunakan untuk pencegahan atau penyembuhan penyakit. Pangan fungsional berbahan baku tanaman obat biasanya disajikan dalam bentuk minuman kesehatan (1).

Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) dan asam jawa (*Tamarindus indica* L.) adalah tanaman yang sering dimanfaatkan masyarakat untuk mengatasi penyakit tertentu. Rimpang kunyit mengandung kurkumin dan minyak atsiri yang mempunyai efek antara lain antikolesterol, antiradang, antioksidan, antihepatotoksik, emenagoga, dan antimikroba (1,2). Infus rimpang kunyit 10% telah dilaporkan bersifat bakteriostatik terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* (3). Sedangkan daging buah asam jawa mengandung asam tartrat, asam malat, asam sitrat, asam suksinat yang berkhasiat sebagai pencahar, mengobati panas dalam, dan menyegarkan (4). Sebagian masyarakat Indonesia mengolah kedua tanaman tersebut menjadi minuman kunyit asam. Minuman ini dikenal sebagai jamu tradisional yang dipercaya memiliki khasiat antara lain mencegah panas

dalam atau sariawan, melancarkan haid, dan sebagai jamu penyegar tubuh (5).

Jamur kombu adalah organisme berbentuk lembaran gelatin berwarna putih dengan ketebalan antara 0,3-1,2 cm dan terbungkus selaput liat. Jamur kombu bukanlah jamur dalam arti sebenarnya, tetapi merupakan koloni dari ragi ("yeast") dan beberapa bakteri, diantaranya *Acetobacter xylinum*, *Saccharomyces ludwigii*, *Acetobacter ketogenum*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Bacterium gluconicum*, *Saccharomyces cerevisiae* yang bersimbiosis untuk memproduksi zat-zat yang berguna bagi tubuh, diantaranya asam asetat, asam glukuronat, asam laktat, asam glukonat, beberapa vitamin B, vitamin C, dan beberapa asam amino (6,7).

Kombucha atau sering disebut teh kombu adalah produk minuman hasil fermentasi larutan teh, gula, dan jamur kombu. Kombucha bermanfaat dalam mencegah dan menyembuhkan berbagai penyakit, diantaranya nyeri persendian, nyeri haid, hipertensi, kolesterol tinggi, dan sembelit. Kombucha bukan menyerang langsung ke sumber penyakit tetapi memperbaiki metabolisme dan sistem kekebalan tubuh. Produk metabolisme jamur kombu berpengaruh kuat dalam pembentukan dinding sel baru pada proses regenerasi sel, sebagai penawar racun dan antimikroba (6,8). Jamur kombu yang ditumbuhkan dalam media kultur teh hijau telah dilaporkan fitratnya mampu menghambat pertumbuhan mikroba uji *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, dan *Candida albicans* (9). Selain itu, cairan kopi yang difermentasi dengan jamur kombu juga menunjukkan adanya

kemampuan penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* (10).

Dari uraian di atas, masalah yang timbul adalah jika minuman kunyit asam difermentasi dengan jamur kombu tersebut, apakah sifat antimikroba kunyit akan mempengaruhi pembentukan senyawa yang bersifat antibakteri oleh jamur kombu, yang secara tidak langsung akan berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri dari produk yang dihasilkan.

Berdasarkan hal tersebut, maka telah dilakukan pembuatan minuman kunyit asam dengan variasi konsentrasi kunyit, yaitu 10%, 15%, dan 20% b/v yang kemudian difermentasi dengan jamur kombu, sehingga produk metabolisme dari jamur kombu bisa memperkaya khasiat minuman kunyit asam dalam mencegah dan menyembuhkan penyakit. Selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antibakteri dari produk tersebut terhadap bakteri gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* dan bakteri gram negatif yaitu *Escherichia coli* menggunakan metode difusi agar.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari minuman kunyit asam yang difermentasi dengan jamur kombu serta menentukan pengaruh konsentrasi kunyit terhadap aktivitas antibakteri minuman fermentasi kunyit asam tersebut.

kemampuan penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* (10).

Dari uraian di atas, masalah yang timbul adalah jika minuman kunyit asam difermentasi dengan jamur kombu tersebut, apakah sifat antimikroba kunyit akan mempengaruhi pembentukan senyawa yang bersifat antibakteri oleh jamur kombu, yang secara tidak langsung akan berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri dari produk yang dihasilkan.

Berdasarkan hal tersebut, maka telah dilakukan pembuatan minuman kunyit asam dengan variasi konsentrasi kunyit, yaitu 10%, 15%, dan 20% b/v yang kemudian difermentasi dengan jamur kombu, sehingga produk metabolisme dari jamur kombu bisa memperkaya khasiat minuman kunyit asam dalam mencegah dan menyembuhkan penyakit. Selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antibakteri dari produk tersebut terhadap bakteri gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* dan bakteri gram negatif yaitu *Escherichia coli* menggunakan metode difusi agar.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari minuman kunyit asam yang difermentasi dengan jamur kombu serta menentukan pengaruh konsentrasi kunyit terhadap aktivitas antibakteri minuman fermentasi kunyit asam tersebut.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Tinjauan Tentang Jamur Kombu

Jamur kombu terdiri atas membran jamur yang liat dan bersifat gelatinoid yang berbentuk piringan datar mengikuti bentuk wadah (tempat pembiakan), berwarna putih dengan ketebalan antara 0,3-1,2 cm. Jamur ini hidup di lingkungan nutrisi larutan teh manis yang tumbuh dengan cara germinasi, yaitu akan tumbuh secara terus-menerus hingga membentuk susunan yang berlapis. Pada mulanya, piringan jamur tumbuh meluas pada permukaan lalu menebal. Bila dirawat secara benar, jamur ini akan tumbuh pesat (6,7).

Jamur kombu bukanlah jamur dalam arti sebenarnya, tetapi merupakan simbiosis antara bakteri asam asetat dan "yeast". Komposisi mikroorganisme dari jamur ini bervariasi tergantung dari sumber kultur ini diperoleh. Bakteri asam asetat yang paling umum dilaporkan dalam kultur ini adalah *Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasteurianus*, *Acetobacter xylinoides*, dan *Gluconoacetobacter xylinus*. Sedangkan jenis "yeast" dalam jamur ini lebih bervariasi, yaitu *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomycodes ludwigii*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Brettanomyces bruxellensis*, *B.intermedius*, *Candida famata*, *Pichia membranofaciens*, *Torulaspota delbrueckii*, *Zygosaccharomyces bailii*, dan *Z.rouxii* (6,7,11).

"Tea-cider" atau yang lebih dikenal dengan nama "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 setelah difermentasi dengan jamur kombu (12).

II.1.1 Fermentasi oleh Jamur Kombu

Fermentasi berarti disimilasi anaerobik senyawa-senyawa organik yang disebabkan oleh aktivitas mikroorganisme. Senyawa-senyawa tersebut mengalami perubahan kimiawi akibat pengaruh beberapa enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme atau yang telah ada dalam bahan pangan. Fermentasi kultur murni jarang terjadi, biasanya terjadi fermentasi campuran. Mikroorganisme yang paling penting dalam memfermentasi bahan pangan antara lain bakteri pembentuk asam laktat, bakteri pembentuk asam asetat, beberapa jenis khamir penghasil alkohol, dan jenis kapang tertentu. Hasil dari sebuah fermentasi bisa meningkatkan metabolisme tubuh dan kondisi fisik manusia (6,13).

Karbohidrat merupakan substrat utama yang dipecah dalam proses fermentasi. Polisakarida terlebih dahulu akan dipecah menjadi gula sederhana, misalnya hidrolisis pati menjadi unit-unit glukosa. Glukosa kemudian akan dipecah menjadi senyawa-senyawa lain tergantung dari jenis fermentasinya. Pada bakteri paling sedikit terdapat tujuh proses fermentasi yang berbeda terhadap glukosa (14).

yang memiliki cita rasa dan aroma yang khas, yaitu rasa asam-manis, mengandung berbagai vitamin dan mineral serta asam-asam organik setelah difermentasi dengan jamur kombu (12).

II.1.1 Fermentasi oleh Jamur Kombu

Fermentasi berarti disimilasi anaerobik senyawa-senyawa organik yang disebabkan oleh aktivitas mikroorganisme. Senyawa-senyawa tersebut mengalami perubahan kimiawi akibat pengaruh beberapa enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme atau yang telah ada dalam bahan pangan. Fermentasi kultur murni jarang terjadi, biasanya terjadi fermentasi campuran. Mikroorganisme yang paling penting dalam memfermentasi bahan pangan antara lain bakteri pembentuk asam laktat, bakteri pembentuk asam asetat, beberapa jenis khamir penghasil alkohol, dan jenis kapang tertentu. Hasil dari sebuah fermentasi bisa meningkatkan metabolisme tubuh dan kondisi fisik manusia (6,13).

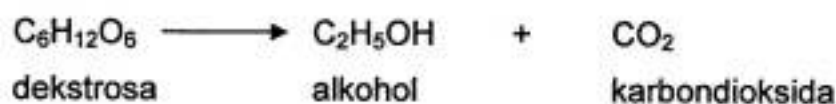
Karbohidrat merupakan substrat utama yang dipecah dalam proses fermentasi. Polisakarida terlebih dahulu akan dipecah menjadi gula sederhana, misalnya hidrolisis pati menjadi unit-unit glukosa. Glukosa kemudian akan dipecah menjadi senyawa-senyawa lain tergantung dari jenis fermentasinya. Pada bakteri paling sedikit terdapat tujuh proses fermentasi yang berbeda terhadap glukosa (14).

Fermentasi glukosa pada prinsipnya terdiri atas dua tahap, yaitu (14) :

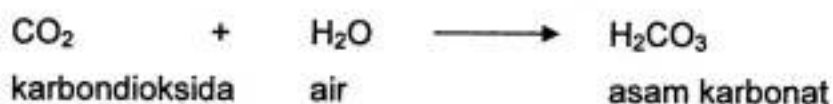
1. Pemecahan rantai karbon dari glukosa dan pelepasan paling sedikit dua pasang atom hidrogen, menghasilkan senyawa karbon lainnya yang lebih teroksidasi daripada glukosa.
2. Senyawa yang teroksidasi tersebut direduksi kembali oleh atom hidrogen yang dilepaskan dalam tahap pertama, membentuk senyawa-senyawa lain sebagai hasil fermentasi.

Kultur jamur kombu dapat digambarkan sebagai sebuah pabrik kimia kecil. Selama fermentasi berlangsung dihasilkan sejumlah kecil alkohol, karbondioksida, vitamin B dan C, dan juga beragam asam organik yang penting bagi metabolisme tubuh, diantaranya asam asetat, asam glukonat, asam glukuronat, asam laktat, asam oksalat (15).

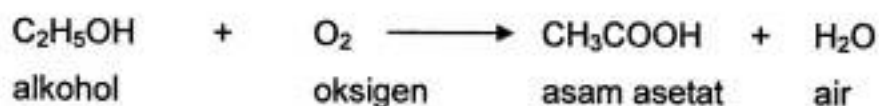
Inversi disakarida mendahului proses pembentukan asam. Disakarida diubah menjadi monosakarida. Perubahan ini disebabkan oleh enzim dan asam. Proses fermentasi oleh jamur kombu diawali dengan perubahan gula menjadi alkohol oleh "yeast" yang berlangsung secara anaerob. Proses ini digambarkan dengan reaksi kimia sebagai berikut (15):



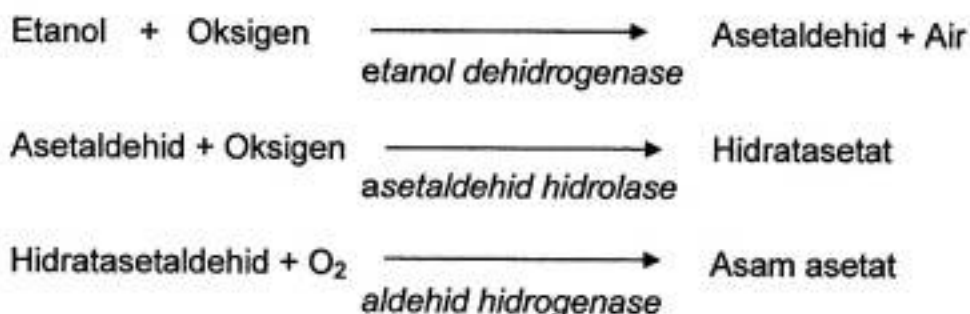
Karbondioksida (CO₂) bereaksi dengan uap lembab dalam teh membentuk asam karbonat :



Pada waktu yang bersamaan, bakteri asam asetat membentuk mucilago di sekitar kultur jamur kombu. Bakteri asam asetat mengubah gula menjadi selulosa dan menyebabkan membran tersebut menutupi kultur jamur kombu secara berangsur-angsur. Pada saat yang sama, bakteri asam asetat memfermentasi alkohol yang dihasilkan oleh "yeast" menjadi asam asetat dan asam organik lainnya secara aerob. Ini adalah proses oksidasi, yang dapat digambarkan sebagai berikut :



Tahapan reaksi enzimatik yang lebih lengkap adalah (8) :



Sedangkan asam glukonat terbentuk dari oksidasi glukosa oleh bakteri dari genus *Acetobacter*.

Proses pengasaman dari larutan teh manis disebabkan oleh aktivitas metabolisme mikroorganisme dalam kultur jamur kombu. Selama proses fermentasi berlangsung, dihasilkan minuman berasa asam yang berbau aromatik. Warna minuman menjadi lebih terang oleh peningkatan keasaman. Karena pertumbuhan dari "yeast", minuman dapat menjadi sedikit kabur. Sedikit gelembung gas terbentuk dalam minuman tersebut (15).



Faktor-faktor yang harus diperhatikan dalam proses fermentasi oleh

jamur kombu, antara lain (8,12,15) :

1. Komposisi dari kultur simbiotik
2. Ketersediaan nutrisi, meliputi unsur C, N, P, dan K.
3. Jumlah dan jenis gula yang digunakan. Kadar sukrosa awal 10% baik untuk pembuatan kombucha.
4. pH medium.
5. Ukuran dan bentuk dari wadah fermentasi.
6. Suhu fermentasi 23-27°C dengan toleransi dalam kisaran 18-35°C. Suhu inkubasi 30°C merupakan suhu terbaik untuk pembuatan kombucha.
7. Ketersediaan udara namun tidak dalam bentuk aerasi aktif.
8. Tidak boleh ada guncangan atau getaran.
9. Tidak boleh terkena sinar matahari secara langsung.

II.1.2 Khasiat Jamur Kombu

Jamur kombu merupakan gabungan "yeast" dan bakteri asam asetat yang dapat memfermentasi campuran larutan teh dan sukrosa menjadi minuman berasa asam dan segar yang dikenal dengan nama kombucha atau teakwass. Produk ini dikonsumsi di seluruh dunia dan menjadi sangat terkenal oleh karena manfaatnya bagi kesehatan. Dilaporkan bahwa dengan mengkonsumsi minuman ini dapat menurunkan tekanan darah, mengurangi arthritis, psoriasis, kelelahan kronis, konstipasi, gangguan pencernaan, meningkatkan respon imun, dan mengobati kanker (11). Kultur jamur kombu

dan produk metabolismenya mempunyai efek yang baik dalam regenerasi dinding sel sehingga dapat menyembuhkan penyakit arteriosclerosis (15). Berdasarkan pengalaman para pemakai kombucha, minuman ini berkhasiat menurunkan kolesterol, menyembuhkan nyeri persendian dan nyeri sewaktu haid, serta mencegah diabetes karena rendahnya kadar gula yang terkandung di dalamnya. Efek lain dari kombucha yaitu sebagai penawar racun dan antimikroba. Racun yang menumpuk dalam tubuh akan dilarutkan dalam air oleh kombucha dalam bentuk senyawa dengan asam glukuronat sehingga bisa diekskresi oleh ginjal bersama urin (6). Aktivitas antimikroba kombucha disebabkan oleh kandungan asam asetatnya. Hal ini dibuktikan oleh penelitian Greenwalt *et al*, bahwa dengan kadar asam asetat sebesar 0,7% dapat menghambat pertumbuhan beberapa bakteri gram positif dan negatif, seperti *Agrobacterium tumefaciens*, *Bacillus cereus*, *Salmonella cholerasuis* serotype *typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli*; sedangkan *Candida albicans* tidak dihambat (16).

II.1.3 Uraian Mikroba dalam Jamur Kombu

II.1.3.1 *Acetobacter aceti* (17, 18)

II.1.3.1.1 Klasifikasi

Kingdom	:	Plantae
Divisio	:	Protophyta
Class	:	Schizomycetes
Ordo	:	Pseudomonadales
Familia	:	Pseudomonadaceae

Genus : *Acetobacter*
Species : *Acetobacter aceti*

II.1.3.1.2 Sifat dan Morfologi

Sel bulat panjang sampai batang, lurus atau agak bengkok, berukuran 0,6-0,8 μm x 1,0-3,0 μm , terdapat tunggal, berpasangan atau dalam rantai. Terdapat bentuk-bentuk involusi. Motil dengan flagelum peritrikus atau nonmotil. Tidak mempunyai endospora. Sel-sel muda bersifat gram negatif, sedangkan sel-sel yang tua sifat gramnya sering bervariasi. Kemoorganotrof. Mengoksidasi etanol menjadi asam asetat. Aerobik sejati. Suhu pertumbuhan berkisar 5-42°C, suhu optimum 30°C.

II.1.3.2 *Saccharomyces cerevisiae* (18, 19)

II.1.3.2.1 Klasifikasi

Kingdom : Plantae
Divisio : Mycota
Subdivisio : Eumycotina
Class : Ascomycetes
Subclass : Hemiascomycetiadae
Ordo : Endomycetales
Familia : Saccharomycetaceae
Genus : *Saccharomyces*
Species : *Saccharomyces cerevisiae*

II.1.3.2.2 Sifat dan Morfologi

Sel-selnya bundar, lonjong, memanjang, atau seperti benang dan menghasilkan pseudomiselium. Berkembang biak secara vegetatif dengan cara penguncupan multilateral. Konjugasi isogam atau heterogam dapat mendahului atau dapat terjadi setelah pembentukan askus. Dapat berbentuk tonjolan-tonjolan. Setiap askus dapat mengandung satu sampai empat spora dengan berbagai bentuk. Spora dapat berkonjugasi. Disimilasi berlangsung dari oksidatif yang disukai sampai kepada fermentatif yang dominan. Senyawa gula yang umum biasanya difermentasi. Nitrat tidak diasimilasi.

II.2 Tinjauan Tentang Kunyit

II.2.1 Klasifikasi (20)

Kingdom	:	Plantae
Divisio	:	Spermatophyta
Subdivisio	:	Angiospermae
Class	:	Monocotyledoneae
Ordo	:	Zingiberales
Familia	:	Zingiberaceae
Genus	:	Curcuma
Species	:	<i>Curcuma domestica</i> Val.

II.2.2 Nama Daerah (2)

Kunyit (Melayu), kunyit (Aceh), hunik (Batak), kunir (Sunda), kunir (Jawa), kunyi (Makassar), unyi (Bugis), alawahu (Gorontalo), kunit (Kalimantan), kumino (Maluku), huni (Nusa Tenggara), rame (Papua).

II.2.3 Morfologi (2, 20)

Kunyit merupakan tanaman terna menahun yang tumbuh berkelompok membentuk rumpun. Tinggi sekitar 70 cm, batangnya pendek dan merupakan batang semu yang dibentuk oleh pelepah-pelepah daun. Setiap tumbuhan berdaun 3-8 helai. Daun tunggal, bertangkai panjang, bentuknya lanset lebar, ujung dan pangkal runcing, tepi rata, pertulangan menyirip, dan warnanya hijau pucat. Perbungaan majemuk, warnanya putih atau kuning muda. Rimpang warna kuning jingga, kuning jingga kemerahan sampai kuning jingga kecoklatan. Rimpang induk berbentuk bulat telur, disebut empu atau kunir lelaki. Anak rimpang letaknya lateral dan bentuknya seperti jari (tabung).

II.2.4 Kandungan Kimia (2, 21)

Rimpang kunyit mengandung kurkuminoid (desmetoksikurkumin, kurkumin, bisdesmetoksikurkumin), minyak atsiri (sesquiterpen, turmeron, keton, tumeron, zingiberen, felandren, sabinen, borneol, sineil), lemak 1-3%, karbohidrat 3%, protein 30%, pati 8%, vitamin C 45-55%, garam-garam mineral (zat besi, fosfor, kalsium).

II.2.5 Kegunaan (2, 21)

Rimpang kunyit dapat digunakan antara lain sebagai obat nyeri haid, diare, penurun kolesterol, sakit kuning, antiinflamasi, antihepatotoksik, dan antibakteri.

II.3 Tinjauan Tentang Asam Jawa

II.3.1 Klasifikasi (20)

Kingdom	:	Plantae
Divisio	:	Spermatophyta
Subdivisio	:	Angiospermae
Class	:	Dicotyledoneae
Ordo	:	Rosales
Familia	:	Caesalpinaceae
Genus	:	Tamarindus
Species	:	<i>Tamarindus indica</i> Linn.

II.3.2 Nama Daerah (4)

Asem (Jawa), asam jawa (Nusa Tenggara, Kalimantan), asam jawaka (Maluku).

II.3.3 Morfologi (20, 22)

Asam jawa merupakan sebuah kultivar daerah tropis dan termasuk tumbuhan berbuah polong. Batang pohonnya yang cukup keras dapat tumbuh menjadi besar dengan tinggi 15-25 m. Daun berseling, menyirip genap, panjang 5-13 cm. Anak daun berhadapan, 10-15 pasang, memanjang sampai bentuk garis. Bunganya berwarna kuning kemerah-merahan dan buah polongnya berwarna coklat dengan rasa khas asam. Di dalam buah polong selain terdapat kulit yang membungkus daging buah, juga terdapat biji berjumlah 2-5 yang berbentuk pipih dengan warna coklat agak kehitaman.

II.3.4 Kandungan Kimia (4, 22)

Buah polong asam jawa mengandung senyawa kimia antara lain asam tartrat, asam sitrat, asam malat, asam suksinat, asam asetat, pektin dan gula invert. Di dalam 100 gram buah asam jawa yang masak di pohon mengandung nilai kalori sebesar 239 kal, protein 2,8 gram, lemak 0,6 gram, hidrat arang 62,5 gram, kalsium 74 mg, fosfor 113 mg, zat besi 0,6 mg, vitamin A 30 SI, vitamin B1 0,34 mg, vitamin C 2 mg.

II.3.5 Kegunaan (4, 22)

Buah asam jawa dapat digunakan antara lain untuk mengobati panas dalam, memudahkan buang air besar, menambah nafsu makan, dan sumber vitamin C.

II.4 Tinjauan Tentang Infus (23)

Infus adalah sediaan cair yang dibuat dengan menyari simplisia nabati dengan air pada suhu 90° selama 15 menit. Pembuatan : Campur simplisia dengan derajat halus yang cocok dalam panci dengan air secukupnya, panaskan di atas tangas air selama 15 menit terhitung mulai suhu mencapai 90° sambil sekali-sekali diaduk. Serkai selagi panas melalui kain flanel, tambahkan air panas secukupnya melalui ampas hingga diperoleh volume infus yang dikehendaki. Infus daun sena dan infus simplisia yang mengandung minyak atsiri, diserkai setelah dingin. Infus daun sena, infus asam jawa, dan infus simplisia lain yang mengandung lendir tidak boleh diperas. Asam jawa sebelum dibuat infus dibuang bijinya dan diremas dengan air hingga massa seperti bubur, buah adasmanis dan buah adas

harus dipecah dahulu. Pada pembuatan infus kulit kina ditambahkan asam sitrat 10% dari bobot bahan khasiat; pada pembuatan infus simplisia yang mengandung glikosida antrakinon, ditambahkan natrium karbonat 10% dari bobot simplisia. Kecuali dinyatakan lain, infus yang mengandung bukan bahan khasiat keras, dibuat dengan menggunakan 10% simplisia.

II.5 Tinjauan Tentang Antimikroba

II.5.1 Definisi Antimikroba (24, 25)

Antimikroba adalah agen yang membunuh mikroorganisme atau menekan pembiakan atau pertumbuhannya. Termasuk dalam golongan ini antara lain antibiotika, antiseptika, disinfektansia, preservatif. Antibiotika merupakan zat-zat kimia yang dihasilkan oleh fungi dan bakteri, yang memiliki khasiat mematikan atau menghambat pertumbuhan bakteri dan fungi, sedangkan toksisitasnya bagi manusia relatif kecil. Antiseptika adalah senyawa kimia yang digunakan untuk menghambat atau mematikan mikroorganisme pada jaringan hidup, yang mempunyai efek membatasi dan mencegah infeksi agar tidak menjadi lebih parah. Sedangkan disinfektansia digunakan pada benda mati dan dengan cepat menghasilkan efek letal yang tidak terpulihkan. Antiseptika digunakan pada permukaan mukosa, kutan, dan luka yang terinfeksi sedangkan untuk sanitasi rumah atau rumah sakit secara luas digunakan disinfektansia.

harus dipecah dahulu. Pada pembuatan infus kulit kina ditambahkan asam sitrat 10% dari bobot bahan khasiat; pada pembuatan infus simplisia yang mengandung glikosida antrakinon, ditambahkan natrium karbonat 10% dari bobot simplisia. Kecuali dinyatakan lain, infus yang mengandung bukan bahan khasiat keras, dibuat dengan menggunakan 10% simplisia.

II.5 Tinjauan Tentang Antimikroba

II.5.1 Definisi Antimikroba (24, 25)

Antimikroba adalah agen yang membunuh mikroorganisme atau menekan pembiakan atau pertumbuhannya. Termasuk dalam golongan ini antara lain antibiotika, antiseptika, disinfektansia, preservatif. Antibiotika merupakan zat-zat kimia yang dihasilkan oleh fungi dan bakteri, yang memiliki khasiat mematikan atau menghambat pertumbuhan bakteri dan fungi, sedangkan toksisitasnya bagi manusia relatif kecil. Antiseptika adalah senyawa kimia yang digunakan untuk menghambat atau mematikan mikroorganisme pada jaringan hidup, yang mempunyai efek membatasi dan mencegah infeksi agar tidak menjadi lebih parah. Sedangkan disinfektansia digunakan pada benda mati dan dengan cepat menghasilkan efek letal yang tidak terpulihkan. Antiseptika digunakan pada permukaan mukosa, kutan, dan luka yang terinfeksi sedangkan untuk sanitasi rumah atau rumah sakit secara luas digunakan disinfektansia.

II.5.2 Mekanisme Kerja Antimikroba (26)

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antimikroba dibagi dalam lima kelompok, yaitu :

1. Antimikroba yang menghambat metabolisme sel mikroba

Mikroba membutuhkan asam folat yang harus disintesisnya sendiri dari asam para amino benzoat (PABA) untuk kelangsungan hidupnya. Apabila suatu zat antimikroba menang bersaing dengan PABA untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk asam folat yang nonfungsional. Antimikroba yang termasuk dalam kelompok ini adalah sulfonamid, trimetoprim, asam p-aminosalisilat (PAS) dan sulfon.

2. Antimikroba yang menghambat sintesis dinding sel mikroba

Dinding sel bakteri terdiri atas peptidoglikan. Antimikroba golongan ini menghambat sintesis atau menghambat aktivitas enzim, yang dapat merusak dinding sel. Oleh karena tekanan osmotik dalam sel bakteri lebih tinggi dibandingkan di luar sel, maka kerusakan dinding sel akan menyebabkan terjadinya lisis. Obat yang termasuk dalam kelompok ini ialah penisilin, sefalosporin, basitrasin, vankomisin, dan sikloserin.

3. Antimikroba yang mengganggu keutuhan membran sel mikroba

Antimikroba bekerja secara langsung pada membran sel yang mempengaruhi permeabilitas dan menyebabkan keluarnya senyawa intraseluler mikroba. Polimiksin sebagai senyawa amonium-kuarterner dapat merusak membran sel setelah bereaksi dengan fosfat pada fosfolipid membran sel mikroba. Sedangkan antibiotik polien bereaksi

II.5.2 Mekanisme Kerja Antimikroba (26)

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antimikroba dibagi dalam lima kelompok, yaitu :

1. Antimikroba yang menghambat metabolisme sel mikroba

Mikroba membutuhkan asam folat yang harus disintesisnya sendiri dari asam para amino benzoat (PABA) untuk kelangsungan hidupnya. Apabila suatu zat antimikroba menang bersaing dengan PABA untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk asam folat yang nonfungsional. Antimikroba yang termasuk dalam kelompok ini adalah sulfonamid, trimetoprim, asam p-aminosalisilat (PAS) dan sulfon.

2. Antimikroba yang menghambat sintesis dinding sel mikroba

Dinding sel bakteri terdiri atas peptidoglikan. Antimikroba golongan ini menghambat sintesis atau menghambat aktivitas enzim, yang dapat merusak dinding sel. Oleh karena tekanan osmotik dalam sel bakteri lebih tinggi dibandingkan di luar sel, maka kerusakan dinding sel akan menyebabkan terjadinya lisis. Obat yang termasuk dalam kelompok ini ialah penisilin, sefalosporin, basitrasin, vankomisin, dan sikloserin.

3. Antimikroba yang mengganggu keutuhan membran sel mikroba

Antimikroba bekerja secara langsung pada membran sel yang mempengaruhi permeabilitas dan menyebabkan keluarnya senyawa intraseluler mikroba. Polimiksin sebagai senyawa amonium-kuarterner dapat merusak membran sel setelah bereaksi dengan fosfat pada fosfolipid membran sel mikroba. Sedangkan antibiotik polien bereaksi

dengan struktur sterol yang terdapat pada membran sel fungus sehingga mempengaruhi permeabilitas selektif membran tersebut.

4. Antimikroba yang menghambat sintesis protein sel mikroba

Antimikroba disini mempengaruhi fungsi ribosom pada mikroba yang menyebabkan sintesis protein terhambat. Golongan aminoglikosida berikatan dengan komponen ribosom 30S dan menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein. Akibatnya akan terbentuk protein yang abnormal dan nonfungsional. Kloramfenikol berikatan dengan ribosom 50S dan menghambat pengikatan asam amino baru pada rantai polipeptida oleh enzim transferase.

5. Antimikroba yang menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba

Antimikroba yang termasuk dalam kelompok ini adalah rifampisin dan golongan kuinolon. Rifampisin berikatan dengan enzim polimerase-RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut. Golongan kuinolon menghambat enzim DNA girase pada bakteri yang fungsinya menata kromosom yang sangat panjang menjadi bentuk spiral hingga bisa muat dalam sel bakteri yang kecil.

II.5.3 Pengujian Antimikroba secara Mikrobiologis (27, 28)

Ada dua metode umum yang sering digunakan untuk pengujian mikrobiologis, yaitu :

1. Metode Difusi

Metode difusi adalah proses perembesan larutan contoh pada medium. Pada medium ini kemampuan zat antimikroba ditentukan

dengan struktur sterol yang terdapat pada membran sel fungus sehingga mempengaruhi permeabilitas selektif membran tersebut.

4. Antimikroba yang menghambat sintesis protein sel mikroba

Antimikroba disini mempengaruhi fungsi ribosom pada mikroba yang menyebabkan sintesis protein terhambat. Golongan aminoglikosida berikatan dengan komponen ribosom 30S dan menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein. Akibatnya akan terbentuk protein yang abnormal dan nonfungsional. Kloramfenikol berikatan dengan ribosom 50S dan menghambat pengikatan asam amino baru pada rantai polipeptida oleh enzim transferase.

5. Antimikroba yang menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba

Antimikroba yang termasuk dalam kelompok ini adalah rifampisin dan golongan kuinolon. Rifampisin berikatan dengan enzim polimerase-RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut. Golongan kuinolon menghambat enzim DNA girase pada bakteri yang fungsinya menata kromosom yang sangat panjang menjadi bentuk spiral hingga bisa muat dalam sel bakteri yang kecil.

II.5.3 Pengujian Antimikroba secara Mikrobiologis (27, 28)

Ada dua metode umum yang sering digunakan untuk pengujian mikrobiologis, yaitu :

1. Metode Difusi

Metode difusi adalah proses perembesan larutan contoh pada medium. Pada medium ini kemampuan zat antimikroba ditentukan



berdasarkan daerah hambatan yang dibentuk oleh larutan contoh terhadap pertumbuhan dari mikroba pada medium tersebut. Beberapa modifikasi dari metode ini adalah sebagai berikut :

a. Metode difusi dengan silinder pipih

Metode difusi dengan silinder pipih didasarkan atas perbandingan antara luas daerah hambatan yang dibentuk larutan contoh terhadap pertumbuhan mikroba dengan daerah hambatan yang terjadi oleh larutan pembanding. Silinder kecil dapat ditempatkan pada cawan petri yang berisi medium agar dengan sejumlah mikroorganisme uji, lalu silinder diisi dengan larutan sampel. Jika sampel tersebut efektif terhadap mikroorganisme uji, maka akan terbentuk daerah hambatan.

b. Metode difusi dengan kertas saring

Metode ini menggunakan kertas saring berdiameter 0,7-1 cm yang dicelupkan dalam larutan sampel, lalu diletakkan pada permukaan agar yang telah diinokulasikan dengan mikroba. Pengamatan dilakukan setelah diinkubasi dan terbentuk daerah hambatan.

c. Metode difusi dengan mangkuk pipih

Prinsip dan cara kerja metode ini sama dengan silinder pipih. Perbedaannya adalah disini menggunakan alat berupa "cup plate" yaitu lubang yang dibuat langsung pada medium agar.

d. Metode difusi Kirby-Bauer

Prinsip dan cara kerja metode ini sama dengan difusi dengan kertas saring. Perbedaannya adalah disini menggunakan alat untuk meletakkan kertas saring dan cawan petri yang digunakan berukuran 150 x 15 mm. Tinggi medium pada cawan petri adalah 5-6 mm, sehingga dapat dilakukan pengujian berbagai konsentrasi larutan contoh secara bersamaan. Setelah inkubasi, besarnya daerah hambatan dapat diukur dengan alat jangka sorong.

e. Metode difusi agar berlapis

Metode ini merupakan modifikasi metode Kirby-Bauer. Perbedaannya yaitu metode ini menggunakan dua lapisan agar, lapisan pertama ("based layer") tidak mengandung mikroba sedangkan lapisan kedua ("seed layer") mengandung mikroba.

2. Metode Turbidimetri

Metode ini menggunakan teknik tabung pengenceran. Penghambatan pertumbuhan (berkurangnya kekeruhan) yang dihasilkan oleh sampel yang diuji terhadap pertumbuhan mikroba dapat diukur dengan menggunakan alat spektrofotometer. Prinsip kerjanya yaitu energi cahaya yang mengenai zat-zat mikroorganisme di dalam sampel suspensi mikroba akan dihamburkan, sedangkan cahaya yang diteruskan diubah oleh tabung fotoelektrik menjadi energi listrik yang dicatat oleh galvanometer sebagai persen transmittan (%T). Semakin sedikit jumlah

sel di dalam suspensi maka makin besar intensitas cahaya yang lolos dan makin tinggi pula persen transmittan yang tercatat.

II.5.4 Uraian Bakteri Uji yang Digunakan

II.5.4.1 *Staphylococcus aureus* (17, 18)

II.5.4.1.1 Klasifikasi

Kingdom	:	Procaryotae
Divisio	:	Scotobacteria
Class	:	Bacteria
Ordo	:	Eubacteriales
Familia	:	Micrococcaceae
Genus	:	<i>Staphylococcus</i>
Species	:	<i>Staphylococcus aureus</i>

II.5.4.1.2 Sifat dan Morfologi

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat dengan diameter 0,8-1,0 μm . Terdapat tunggal, berpasangan, atau bergerombol seperti buah anggur. Nonmotil, kemoorganotrof, katalase positif. Tidak diketahui adanya stadium istirahat. Metabolisme dengan respirasi dan fermentatif. Anaerob fakultatif, tumbuh lebih cepat dan lebih banyak dalam keadaan aerobik. Suhu optimum pertumbuhan 35-40°C, pH optimum 7,0-7,5. Terutama berasosiasi dengan kulit, kelenjar kulit, dan selaput lendir hewan berdarah panas.

II.5.4.2 *Escherichia coli* (17, 18)

II.5.4.2.1 Klasifikasi

Kingdom	:	Procaryotae
Divisio	:	Scotobacteria
Class	:	Bacteria
Ordo	:	Enterobacteriales
Familia	:	Enterobacteriaceae
Genus	:	<i>Escherichia</i>
Species	:	<i>Escherichia coli</i>

II.5.4.2.2 Sifat dan Morfologi

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang lurus dengan ukuran 1,1-1,5 μm x 2,0-6,0 μm . Terdapat tunggal atau berpasangan. Motil dengan flagelum peritrikus atau nonmotil. Tidak membentuk endospora. Tumbuh dengan mudah pada medium nutrisi sederhana. Laktosa difermentasi dengan produksi asam dan gas. Strain *Escherichia coli* menjadi penyebab diare dan infeksi saluran kencing.

II.6 Cara Perhitungan Jumlah Mikroba (29)

Analisis kuantitatif mikroorganisme pada suatu sediaan farmasi, makanan-minuman, dan kosmetik penting dilakukan untuk mengetahui mutu. Dalam analisis kuantitatif tersebut ada beberapa cara yang dapat digunakan untuk menghitung jumlah mikroorganisme di dalam bahan tersebut. Salah satunya adalah perhitungan jumlah sel dengan metode hitung cawan.

II.5.4.2 *Escherichia coli* (17, 18)

II.5.4.2.1 Klasifikasi

Kingdom	:	Procaryotae
Divisio	:	Scotobacteria
Class	:	Bacteria
Ordo	:	Enterobacteriales
Familia	:	Enterobacteriaceae
Genus	:	<i>Escherichia</i>
Species	:	<i>Escherichia coli</i>

II.5.4.2.2 Sifat dan Morfologi

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang lurus dengan ukuran 1,1-1,5 μm x 2,0-6,0 μm . Terdapat tunggal atau berpasangan. Motil dengan flagelum peritrikus atau nonmotil. Tidak membentuk endospora. Tumbuh dengan mudah pada medium nutrisi sederhana. Laktosa difermentasi dengan produksi asam dan gas. Strain *Escherichia coli* menjadi penyebab diare dan infeksi saluran kencing.

II.6 Cara Perhitungan Jumlah Mikroba (29)

Analisis kuantitatif mikroorganisme pada suatu sediaan farmasi, makanan-minuman, dan kosmetik penting dilakukan untuk mengetahui mutu. Dalam analisis kuantitatif tersebut ada beberapa cara yang dapat digunakan untuk menghitung jumlah mikroorganisme di dalam bahan tersebut. Salah satunya adalah perhitungan jumlah sel dengan metode hitung cawan.

Prinsip metode hitung cawan adalah apabila ada satu sel mikroorganismenya yang masih hidup ditumbuhkan pada medium yang sesuai, maka sel tersebut akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dan dihitung dengan mata pada media yang digunakan setelah dilakukan inkubasi pada suhu dan waktu tertentu.

Pada hitung cawan ini, bahan yang diperiksa yang diperkirakan mengandung lebih dari 300 koloni mikroorganismenya per-ml atau per-gram atau per-cm (bila pengambilan contoh dilakukan pada permukaan), memerlukan perlakuan pengenceran sebelum diinokulasikan ke dalam media agar dalam cawan petri. Setelah masa inkubasi selesai, maka akan terbentuk koloni-koloni pada cawan tersebut dalam jumlah yang dapat dihitung. Jumlah yang terbaik yang dapat dihitung adalah antara 30-300 koloni per cawan petri. Pengenceran biasanya dilakukan secara desimal yaitu 1:10, 1:100, 1:1000 (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) dan seterusnya atau dapat pula dibuat pengenceran dengan perbandingan 1:100, 1:1000, 1:10000, 1:100000 dan seterusnya. Sebagai larutan pengencer dapat digunakan air steril, larutan NaCl fisiologis steril 0,9%, larutan Ringer atau larutan buffer fosfat.

Pengerjaan dengan hitung cawan ini dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu metode tuang atau taburan ("pour plate") dan metode permukaan atau sebar ("spread plate"). Metode tuang yang paling sering dilakukan. Sejumlah contoh (1 ml atau 0,1 ml) dari pengenceran yang dikehendaki diinokulasikan ke dalam cawan petri steril dan selanjutnya ditambahkan medium agar cair dengan suhu kurang lebih 40-45°C sebanyak 15-20 ml,

kemudian dihomogenkan, dibiarkan sampai memadat. Selanjutnya diinkubasi pada suhu tertentu dengan cara terbalik.

Jumlah koloni dapat dihitung sebagai berikut :

$$\begin{array}{l} \text{Koloni per ml} \\ \text{atau per gram} \end{array} = \begin{array}{l} \text{Jumlah koloni} \\ \text{per cawan petri} \end{array} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

Untuk pelaporan hasil analisis mikrobiologi ini, dapat digunakan "Standard Plate Count" sebagai berikut :

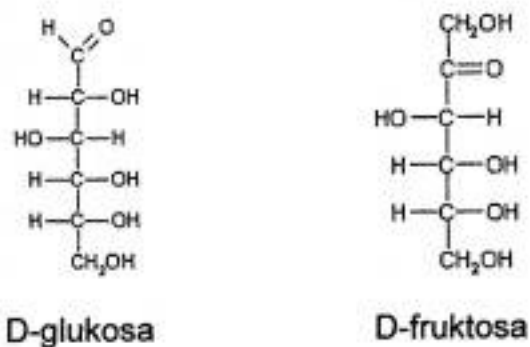
1. Cawan yang dipilih dan dihitung adalah yang mengandung jumlah koloni antara 30-300.
2. Beberapa koloni yang bergabung menjadi satu merupakan satu kumpulan koloni yang besar dimana jumlah koloninya diragukan dapat dihitung sebagai satu koloni.
3. Satu deretan rantai koloni yang terlihat sebagai suatu garis tebal dihitung sebagai satu koloni.

Untuk menghitung total bakteri dapat digunakan medium Nutrient Agar, sedangkan untuk kapang dan khamir digunakan medium Potato Dextrosa Agar. Dipilih cawan petri dari satu pengenceran yang menunjukkan jumlah koloni antara 10-150 untuk perhitungan total kapang dan khamir, sedangkan untuk bakteri dipilih cawan petri yang jumlah koloninya 30-300.

II.7 Tinjauan Tentang Gula Reduksi dan Metode Luff Schoorl (31, 32)

Proses fermentasi oleh jamur kombu pada pembuatan kombucha diawali dengan hidrolisis sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa oleh enzim invertase "yeast" (30). Glukosa merupakan senyawa aldosa yang

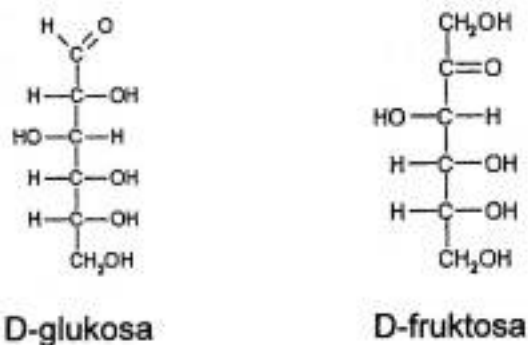
mempunyai satu gugus aldehida dan beberapa gugus hidroksil, sedangkan fruktosa mempunyai satu gugus keton dan beberapa gugus hidroksil sehingga termasuk senyawa ketosa. Struktur glukosa dan fruktosa dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Struktur Glukosa dan Fruktosa (Struktur Emil Fischer)

Glukosa dan fruktosa merupakan zat reduktor sehingga disebut gula pereduksi. Sifat mereduksi dari glukosa dan fruktosa disebabkan oleh adanya gugus aldehid dan gugus keton yang bebas, sehingga mampu mereduksi ion-ion logam seperti tembaga (Cu^{2+}) dan perak (Ag^+) dalam larutan basa. Pengujian kadar gula reduksi dapat dilakukan dengan metode Luff Schoorl. Dalam larutan Luff Schoorl yang terbuat dari campuran CuSO_4 , Na_2CO_3 , dan asam sitrat, gula reduksi akan mereduksi kuprioksida menjadi kuprooksida dan mengendap berwarna merah bata. Pada saat yang bersamaan, gugus aldehida dari glukosa teroksidasi membentuk ion aldolat dan selanjutnya terbentuk asam monokarboksilat yang disebut asam aldolat. Jika digunakan oksidator yang lebih kuat seperti asam nitrat dan asam sulfat, maka yang teroksidasi adalah gugus aldehida dan gugus alkohol primer dari glukosa membentuk asam dikarboksilat yang disebut asam aldorat. Hanya

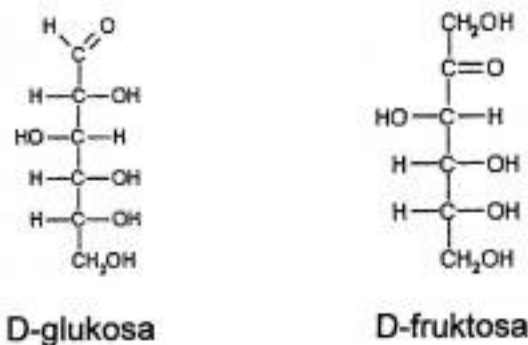
mempunyai satu gugus aldehida dan beberapa gugus hidroksil, sedangkan fruktosa mempunyai satu gugus keton dan beberapa gugus hidroksil sehingga termasuk senyawa ketosa. Struktur glukosa dan fruktosa dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Struktur Glukosa dan Fruktosa (Struktur Emil Fischer)

Glukosa dan fruktosa merupakan zat reduktor sehingga disebut gula pereduksi. Sifat mereduksi dari glukosa dan fruktosa disebabkan oleh adanya gugus aldehid dan gugus keton yang bebas, sehingga mampu mereduksi ion-ion logam seperti tembaga (Cu^{2+}) dan perak (Ag^+) dalam larutan basa. Pengujian kadar gula reduksi dapat dilakukan dengan metode Luff Schoorl. Dalam larutan Luff Schoorl yang terbuat dari campuran CuSO_4 , Na_2CO_3 , dan asam sitrat, gula reduksi akan mereduksi kuprioksida menjadi kuprooksida dan mengendap berwarna merah bata. Pada saat yang bersamaan, gugus aldehida dari glukosa teroksidasi membentuk ion aldolat dan selanjutnya terbentuk asam monokarboksilat yang disebut asam aldolat. Jika digunakan oksidator yang lebih kuat seperti asam nitrat dan asam sulfat, maka yang teroksidasi adalah gugus aldehida dan gugus alkohol primer dari glukosa membentuk asam dikarboksilat yang disebut asam aldorat. Hanya

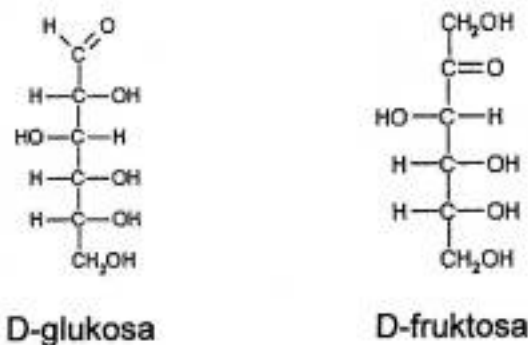
mempunyai satu gugus aldehida dan beberapa gugus hidroksil, sedangkan fruktosa mempunyai satu gugus keton dan beberapa gugus hidroksil sehingga termasuk senyawa ketosa. Struktur glukosa dan fruktosa dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Struktur Glukosa dan Fruktosa (Struktur Emil Fischer)

Glukosa dan fruktosa merupakan zat reduktor sehingga disebut gula pereduksi. Sifat mereduksi dari glukosa dan fruktosa disebabkan oleh adanya gugus aldehid dan gugus keton yang bebas, sehingga mampu mereduksi ion-ion logam seperti tembaga (Cu^{2+}) dan perak (Ag^+) dalam larutan basa. Pengujian kadar gula reduksi dapat dilakukan dengan metode Luff Schoorl. Dalam larutan Luff Schoorl yang terbuat dari campuran CuSO_4 , Na_2CO_3 , dan asam sitrat, gula reduksi akan mereduksi kuprioksida menjadi kuprooksida dan mengendap berwarna merah bata. Pada saat yang bersamaan, gugus aldehida dari glukosa teroksidasi membentuk ion aldolat dan selanjutnya terbentuk asam monokarboksilat yang disebut asam aldolat. Jika digunakan oksidator yang lebih kuat seperti asam nitrat dan asam sulfat, maka yang teroksidasi adalah gugus aldehida dan gugus alkohol primer dari glukosa membentuk asam dikarboksilat yang disebut asam aldorat. Hanya

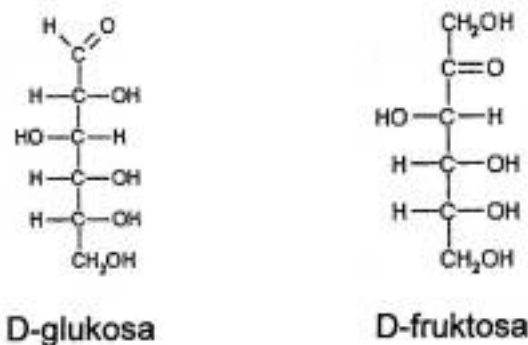
mempunyai satu gugus aldehida dan beberapa gugus hidroksil, sedangkan fruktosa mempunyai satu gugus keton dan beberapa gugus hidroksil sehingga termasuk senyawa ketosa. Struktur glukosa dan fruktosa dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Struktur Glukosa dan Fruktosa (Struktur Emil Fischer)

Glukosa dan fruktosa merupakan zat reduktor sehingga disebut gula pereduksi. Sifat mereduksi dari glukosa dan fruktosa disebabkan oleh adanya gugus aldehid dan gugus keton yang bebas, sehingga mampu mereduksi ion-ion logam seperti tembaga (Cu^{2+}) dan perak (Ag^+) dalam larutan basa. Pengujian kadar gula reduksi dapat dilakukan dengan metode Luff Schoorl. Dalam larutan Luff Schoorl yang terbuat dari campuran CuSO_4 , Na_2CO_3 , dan asam sitrat, gula reduksi akan mereduksi kuprioksida menjadi kuprooksida dan mengendap berwarna merah bata. Pada saat yang bersamaan, gugus aldehida dari glukosa teroksidasi membentuk ion aldolat dan selanjutnya terbentuk asam monokarboksilat yang disebut asam aldolat. Jika digunakan oksidator yang lebih kuat seperti asam nitrat dan asam sulfat, maka yang teroksidasi adalah gugus aldehida dan gugus alkohol primer dari glukosa membentuk asam dikarboksilat yang disebut asam aldorat. Hanya

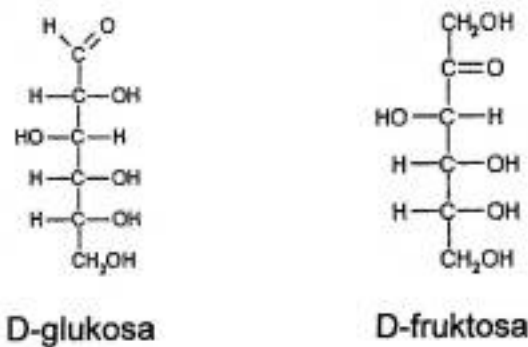
mempunyai satu gugus aldehida dan beberapa gugus hidroksil, sedangkan fruktosa mempunyai satu gugus keton dan beberapa gugus hidroksil sehingga termasuk senyawa ketosa. Struktur glukosa dan fruktosa dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Struktur Glukosa dan Fruktosa (Struktur Emil Fischer)

Glukosa dan fruktosa merupakan zat reduktor sehingga disebut gula pereduksi. Sifat mereduksi dari glukosa dan fruktosa disebabkan oleh adanya gugus aldehid dan gugus keton yang bebas, sehingga mampu mereduksi ion-ion logam seperti tembaga (Cu^{2+}) dan perak (Ag^+) dalam larutan basa. Pengujian kadar gula reduksi dapat dilakukan dengan metode Luff Schoorl. Dalam larutan Luff Schoorl yang terbuat dari campuran CuSO_4 , Na_2CO_3 , dan asam sitrat, gula reduksi akan mereduksi kuprioksida menjadi kuprooksida dan mengendap berwarna merah bata. Pada saat yang bersamaan, gugus aldehida dari glukosa teroksidasi membentuk ion aldolat dan selanjutnya terbentuk asam monokarboksilat yang disebut asam aldolat. Jika digunakan oksidator yang lebih kuat seperti asam nitrat dan asam sulfat, maka yang teroksidasi adalah gugus aldehida dan gugus alkohol primer dari glukosa membentuk asam dikarboksilat yang disebut asam aldorat. Hanya

mempunyai satu gugus aldehida dan beberapa gugus hidroksil, sedangkan fruktosa mempunyai satu gugus keton dan beberapa gugus hidroksil sehingga termasuk senyawa ketosa. Struktur glukosa dan fruktosa dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Struktur Glukosa dan Fruktosa (Struktur Emil Fischer)

Glukosa dan fruktosa merupakan zat reduktor sehingga disebut gula pereduksi. Sifat mereduksi dari glukosa dan fruktosa disebabkan oleh adanya gugus aldehid dan gugus keton yang bebas, sehingga mampu mereduksi ion-ion logam seperti tembaga (Cu^{2+}) dan perak (Ag^+) dalam larutan basa. Pengujian kadar gula reduksi dapat dilakukan dengan metode Luff Schoorl. Dalam larutan Luff Schoorl yang terbuat dari campuran CuSO_4 , Na_2CO_3 , dan asam sitrat, gula reduksi akan mereduksi kuprioksida menjadi kuprooksida dan mengendap berwarna merah bata. Pada saat yang bersamaan, gugus aldehida dari glukosa teroksidasi membentuk ion aldolat dan selanjutnya terbentuk asam monokarboksilat yang disebut asam aldolat. Jika digunakan oksidator yang lebih kuat seperti asam nitrat dan asam sulfat, maka yang teroksidasi adalah gugus aldehida dan gugus alkohol primer dari glukosa membentuk asam dikarboksilat yang disebut asam aldorat. Hanya

karbohidrat dengan gugusan hemiasetal yang merupakan gula pereduksi. Sebagai pengecualian adalah fruktosa yang merupakan ketoheksosa yang siap bereaksi dengan oksidator. Fruktosa tidak dioksidasi langsung. Suasana basa dari campuran reaksi mengubah fruktosa menjadi aldosa (glukosa) dengan hasil antara berupa enediol yang merupakan tautomer dari fruktosa. Aldosa kemudian dioksidasi menjadi asam aldolat.

Pada penentuan gula cara Luff Schoorl, yang ditentukan bukannya kuprooksida yang mengendap, tetapi dengan menentukan kuprioksida dalam larutan sebelum direaksikan dengan gula reduksi (titrasi blanko) dan sesudah direaksikan dengan sampel gula reduksi (titrasi sampel). Penentuannya dengan titrasi menggunakan larutan natrium tiosulfat. Selisih titrasi blanko dengan titrasi sampel ekuivalen dengan kuprooksida yang terbentuk dan juga ekuivalen dengan jumlah gula reduksi yang ada dalam bahan/larutan. Reaksi yang terjadi selama penentuan karbohidrat cara ini mula-mula kuprioksida yang ada dalam reagen akan membebaskan iod dari garam kalium iodida. Banyaknya iod yang dibebaskan ekuivalen dengan banyaknya kuprioksida. Banyaknya iod dapat diketahui dengan titrasi menggunakan natrium tiosulfat dan indikator amilum. Apabila larutan berubah warnanya dari biru menjadi putih, berarti titrasi sudah selesai. Setelah diketahui selisih banyaknya titrasi blanko dan titrasi sampel, kemudian dilihat tabel Luff Schoorl yang tersedia yang menggambarkan hubungan antara banyaknya natrium tiosulfat dengan banyaknya gula reduksi.

BAB III

PELAKSANAAN PENELITIAN

III.1 Penyiapan Alat dan Bahan

III.1.1 Alat dan Bahan yang Digunakan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf, botol fermentasi, botol pengencer, buret, cawan petri, gelas Erlenmeyer, gelas ukur, inkubator, jangka sorong, labu tentukur, "Laminar Air Flow (LAF)", lampu spiritus, oven, ose bulat, panci infus, "paper disc" (*Oxoid*), pH meter (*Hanna*), pipet mikro, pipet volume, spektrofotometer (*Spektronik 340*), spoit, tabung reaksi, termometer, timbangan analitik (*Chyo*), timbangan kasar (*O'Hauss*).

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alkohol 70%, air suling, amilum, asam sitrat, asam sulfat, asam klorida, biakan murni *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, buah asam jawa (*Tamarindus indica* L.), diamonium hidrogen fosfat, etanol 95%, fenolftalein, jamur kombu, kalium biftalat, kalium bikromat, kalium iodida, larutan NaCl fisiologi 0,9%, medium Glukosa Nutrient Agar (GNA), medium GYCA, medium Nutrient Agar (NA), medium Potato Dextrosa Agar (PDA), natrium hidroksida, natrium karbonat, natrium tiosulfat, rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val.), sukrosa, tembaga sulfat, dan timbal asetat.

III.1.2 Pembuatan Medium (30, 33)

1. Medium GYCA

Komposisi : Glukosa 30 g, ekstrak yeast 5 g, kalsium karbonat 10 g, etanol 95% 30 ml (ditambahkan setelah medium disterilkan), agar 20 g, air suling hingga 1000 ml.

Cara pembuatan : Bahan-bahan di atas ditimbang kecuali etanol 95%, dimasukkan ke dalam gelas Erlenmeyer, ditambahkan air suling hingga 800 ml, dipanaskan hingga larut, kemudian dicukupkan volumenya dengan air suling hingga 1000 ml. Setelah itu disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atmosfer selama 15 menit. Kemudian ditambahkan etanol 95%.

2. Medium Potato Dextrosa Agar (PDA)

Komposisi : PDA sintetis 39 g, air suling hingga 1000 ml.

Cara pembuatan : Bahan di atas ditimbang, dimasukkan ke dalam gelas Erlenmeyer, ditambahkan air suling hingga 800 ml, dipanaskan hingga larut dan dicek pH 7, kemudian dicukupkan volumenya dengan air suling hingga 1000 ml. Setelah itu disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atmosfer selama 15 menit.

3. Medium Nutrient Agar (NA)

Komposisi : Ekstrak daging 3%, pepton 5%, agar 15%, air suling hingga 1000 ml. pH 7.

Cara pembuatan : Bahan-bahan di atas ditimbang, dimasukkan ke dalam gelas Erlenmeyer, ditambahkan air suling hingga 800 ml,

III.1.2 Pembuatan Medium (30, 33)

1. Medium GYCA

Komposisi : Glukosa 30 g, ekstrak yeast 5 g, kalsium karbonat 10 g, etanol 95% 30 ml (ditambahkan setelah medium disterilkan), agar 20 g, air suling hingga 1000 ml.

Cara pembuatan : Bahan-bahan di atas ditimbang kecuali etanol 95%, dimasukkan ke dalam gelas Erlenmeyer, ditambahkan air suling hingga 800 ml, dipanaskan hingga larut, kemudian dicukupkan volumenya dengan air suling hingga 1000 ml. Setelah itu disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atmosfer selama 15 menit. Kemudian ditambahkan etanol 95%.

2. Medium Potato Dextrosa Agar (PDA)

Komposisi : PDA sintetis 39 g, air suling hingga 1000 ml.

Cara pembuatan : Bahan di atas ditimbang, dimasukkan ke dalam gelas Erlenmeyer, ditambahkan air suling hingga 800 ml, dipanaskan hingga larut dan dicek pH 7, kemudian dicukupkan volumenya dengan air suling hingga 1000 ml. Setelah itu disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atmosfer selama 15 menit.

3. Medium Nutrient Agar (NA)

Komposisi : Ekstrak daging 3%, pepton 5%, agar 15%, air suling hingga 1000 ml. pH 7.

Cara pembuatan : Bahan-bahan di atas ditimbang, dimasukkan ke dalam gelas Erlenmeyer, ditambahkan air suling hingga 800 ml,

III.1.2 Pembuatan Medium (30, 33)

1. Medium GYCA

Komposisi : Glukosa 30 g, ekstrak yeast 5 g, kalsium karbonat 10 g, etanol 95% 30 ml (ditambahkan setelah medium disterilkan), agar 20 g, air suling hingga 1000 ml.

Cara pembuatan : Bahan-bahan di atas ditimbang kecuali etanol 95%, dimasukkan ke dalam gelas Erlenmeyer, ditambahkan air suling hingga 800 ml, dipanaskan hingga larut, kemudian dicukupkan volumenya dengan air suling hingga 1000 ml. Setelah itu disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atmosfer selama 15 menit. Kemudian ditambahkan etanol 95%.

2. Medium Potato Dextrosa Agar (PDA)

Komposisi : PDA sintetis 39 g, air suling hingga 1000 ml.

Cara pembuatan : Bahan di atas ditimbang, dimasukkan ke dalam gelas Erlenmeyer, ditambahkan air suling hingga 800 ml, dipanaskan hingga larut dan dicek pH 7, kemudian dicukupkan volumenya dengan air suling hingga 1000 ml. Setelah itu disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atmosfer selama 15 menit.

3. Medium Nutrient Agar (NA)

Komposisi : Ekstrak daging 3%, pepton 5%, agar 15%, air suling hingga 1000 ml. pH 7.

Cara pembuatan : Bahan-bahan di atas ditimbang, dimasukkan ke dalam gelas Erlenmeyer, ditambahkan air suling hingga 800 ml,

dipanaskan hingga larut dan dicek pH 7, kemudian dicukupkan volumenya dengan air suling hingga 1000 ml. Setelah itu disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atmosfer selama 15 menit.

4. Medium Glukosa Nutrient Agar (GNA)

Komposisi : Ekstrak daging 5%, glukosa 10%, pepton 10%, NaCl 2,5%, agar 15%, air suling hingga 1000 ml. pH 7.

Cara pembuatan : Bahan-bahan di atas ditimbang, dimasukkan ke dalam gelas Erlenmeyer, ditambahkan air suling hingga 800 ml, dipanaskan hingga larut dan dicek pH 7, kemudian dicukupkan volumenya dengan air suling hingga 1000 ml. Setelah itu disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atmosfer selama 15 menit.

III.1.3 Penyiapan Pereaksi (23, 34)

1. Fenolftalein 1% b/v

Fenolftalein sebanyak 0,5 g dilarutkan dalam etanol netral hingga 50 ml.

2. Larutan kanji 0,5% b/v

Pati sebanyak 0,5 g disuspensikan dalam 5 ml air suling, kemudian dimasukkan ke dalam 90 ml air mendidih, diaduk-aduk hingga jernih dan dicukupkan volumenya dengan air panas hingga 100 ml.

3. Timbal asetat jenuh

Pb asetat sebanyak 25 g dilarutkan dalam 50 ml air suling.

4. Diamonium hidrogen fosfat 10% b/v

Diamonium hidrogen fosfat sebanyak 10 g dilarutkan dalam air suling hingga 100 ml.

5. Larutan Luff Schoorl

Natrium karbonat anhidrat sebanyak 143,8 g dilarutkan dalam 300 ml air suling. Sambil diaduk, ditambahkan 50 g asam sitrat yang telah dilarutkan dalam 50 ml air suling, lalu ditambahkan 25 g tembaga (II) sulfat yang telah dilarutkan dalam 100 ml air suling. Selanjutnya larutan tersebut dipindahkan ke dalam labu tentukur 1000 ml dan dicukupkan sampai tanda garis dengan air suling dan dikocok. Dibiarkan semalam dan kemudian disaring.

6. Kalium Iodida 20% b/v

Kalium iodida sebanyak 20 g dilarutkan dalam air suling hingga 100 ml.

7. Asam sulfat 25%

Asam sulfat pekat diukur sebanyak 127 ml, kemudian dimasukkan perlahan-lahan pada 250 ml air suling dalam Erlenmeyer sambil terus diaduk. Jika campuran menjadi panas, ditunggu selama 5 menit sebelum meneruskan pengenceran. Bila campuran telah dingin lagi, diencerkan dengan air suling hingga 500 ml dan dipindahkan ke dalam botol kaca tertutup rapat.

8. Natrium hidroksida 0,1 N

Pembuatan : Natrium hidroksida sebanyak 4,5 g dilarutkan dalam air suling bebas karbondioksida secukupnya dan diencerkan hingga 1000 ml dalam labu tentukur.

Pembakuan : Kalium biftalat yang telah dikeringkan pada suhu 105°C selama 3 jam ditimbang sebanyak 5 g, lalu dilarutkan dalam 75 ml air suling bebas karbondioksida dalam Erlenmeyer. Selanjutnya ditambahkan 2 tetes indikator fenolftalein dan dititrasasi dengan larutan natrium hidroksida sampai terbentuk warna merah muda yang tetap. Pembakuan diulang 2 kali dan dihitung normalitas rata-rata larutan natrium hidroksida.

1 ml natrium hidroksida 0,1 N setara dengan 20,42 mg kalium biftalat

9. Natrium tiosulfat 0,1 N

Pembuatan : Natrium tiosulfat P sebanyak 26 g dan natrium karbonat P sebanyak 200 mg dilarutkan dalam air suling bebas karbondioksida segar secukupnya dan diencerkan hingga 1000 ml dalam labu tentukur.

Pembakuan : Kalium bikromat yang sebelumnya telah dikeringkan di dalam oven pada suhu 120°C selama 4 jam ditimbang sebanyak 210 mg, lalu dilarutkan dalam 100 ml air suling dalam Erlenmeyer bersumbat kaca, kemudian diangkat tutupnya dan ditambahkan dengan cepat 3 g kalium iodida P, 2 gram natrium bikarbonat P dan 5 ml asam klorida P. Ditutup kembali dan digoyang hingga tercampur, dibiarkan di tempat

8. Natrium hidroksida 0,1 N

Pembuatan : Natrium hidroksida sebanyak 4,5 g dilarutkan dalam air suling bebas karbondioksida secukupnya dan diencerkan hingga 1000 ml dalam labu tentukur.

Pembakuan : Kalium biftalat yang telah dikeringkan pada suhu 105°C selama 3 jam ditimbang sebanyak 5 g, lalu dilarutkan dalam 75 ml air suling bebas karbondioksida dalam Erlenmeyer. Selanjutnya ditambahkan 2 tetes indikator fenolftalein dan dititrasi dengan larutan natrium hidroksida sampai terbentuk warna merah muda yang tetap. Pembakuan diulang 2 kali dan dihitung normalitas rata-rata larutan natrium hidroksida.

1 ml natrium hidroksida 0,1 N setara dengan 20,42 mg kalium biftalat

9. Natrium tiosulfat 0,1 N

Pembuatan : Natrium tiosulfat P sebanyak 26 g dan natrium karbonat P sebanyak 200 mg dilarutkan dalam air suling bebas karbondioksida segar secukupnya dan diencerkan hingga 1000 ml dalam labu tentukur.

Pembakuan : Kalium bikromat yang sebelumnya telah dikeringkan di dalam oven pada suhu 120°C selama 4 jam ditimbang sebanyak 210 mg, lalu dilarutkan dalam 100 ml air suling dalam Erlenmeyer bersumbat kaca, kemudian diangkat tutupnya dan ditambahkan dengan cepat 3 g kalium iodida P, 2 gram natrium bikarbonat P dan 5 ml asam klorida P. Ditutup kembali dan digoyang hingga tercampur, dibiarkan di tempat

8. Natrium hidroksida 0,1 N

Pembuatan : Natrium hidroksida sebanyak 4,5 g dilarutkan dalam air suling bebas karbondioksida secukupnya dan diencerkan hingga 1000 ml dalam labu tentukur.

Pembakuan : Kalium biftalat yang telah dikeringkan pada suhu 105°C selama 3 jam ditimbang sebanyak 5 g, lalu dilarutkan dalam 75 ml air suling bebas karbondioksida dalam Erlenmeyer. Selanjutnya ditambahkan 2 tetes indikator fenolftalein dan dititrasi dengan larutan natrium hidroksida sampai terbentuk warna merah muda yang tetap. Pembakuan diulang 2 kali dan dihitung normalitas rata-rata larutan natrium hidroksida.

1 ml natrium hidroksida 0,1 N setara dengan 20,42 mg kalium biftalat

9. Natrium tiosulfat 0,1 N

Pembuatan : Natrium tiosulfat P sebanyak 26 g dan natrium karbonat P sebanyak 200 mg dilarutkan dalam air suling bebas karbondioksida segar secukupnya dan diencerkan hingga 1000 ml dalam labu tentukur.

Pembakuan : Kalium bikromat yang sebelumnya telah dikeringkan di dalam oven pada suhu 120°C selama 4 jam ditimbang sebanyak 210 mg, lalu dilarutkan dalam 100 ml air suling dalam Erlenmeyer bersumbat kaca, kemudian diangkat tutupnya dan ditambahkan dengan cepat 3 g kalium iodida P, 2 gram natrium bikarbonat P dan 5 ml asam klorida P. Ditutup kembali dan digoyang hingga tercampur, dibiarkan di tempat

8. Natrium hidroksida 0,1 N

Pembuatan : Natrium hidroksida sebanyak 4,5 g dilarutkan dalam air suling bebas karbondioksida secukupnya dan diencerkan hingga 1000 ml dalam labu tentukur.

Pembakuan : Kalium biftalat yang telah dikeringkan pada suhu 105°C selama 3 jam ditimbang sebanyak 5 g, lalu dilarutkan dalam 75 ml air suling bebas karbondioksida dalam Erlenmeyer. Selanjutnya ditambahkan 2 tetes indikator fenolftalein dan dititrasi dengan larutan natrium hidroksida sampai terbentuk warna merah muda yang tetap. Pembakuan diulang 2 kali dan dihitung normalitas rata-rata larutan natrium hidroksida.

1 ml natrium hidroksida 0,1 N setara dengan 20,42 mg kalium biftalat

9. Natrium tiosulfat 0,1 N

Pembuatan : Natrium tiosulfat P sebanyak 26 g dan natrium karbonat P sebanyak 200 mg dilarutkan dalam air suling bebas karbondioksida segar secukupnya dan diencerkan hingga 1000 ml dalam labu tentukur.

Pembakuan : Kalium bikromat yang sebelumnya telah dikeringkan di dalam oven pada suhu 120°C selama 4 jam ditimbang sebanyak 210 mg, lalu dilarutkan dalam 100 ml air suling dalam Erlenmeyer bersumbat kaca, kemudian diangkat tutupnya dan ditambahkan dengan cepat 3 g kalium iodida P, 2 gram natrium bikarbonat P dan 5 ml asam klorida P. Ditutup kembali dan digoyang hingga tercampur, dibiarkan di tempat

8. Natrium hidroksida 0,1 N

Pembuatan : Natrium hidroksida sebanyak 4,5 g dilarutkan dalam air suling bebas karbondioksida secukupnya dan diencerkan hingga 1000 ml dalam labu tentukur.

Pembakuan : Kalium biftalat yang telah dikeringkan pada suhu 105°C selama 3 jam ditimbang sebanyak 5 g, lalu dilarutkan dalam 75 ml air suling bebas karbondioksida dalam Erlenmeyer. Selanjutnya ditambahkan 2 tetes indikator fenolftalein dan dititrasi dengan larutan natrium hidroksida sampai terbentuk warna merah muda yang tetap. Pembakuan diulang 2 kali dan dihitung normalitas rata-rata larutan natrium hidroksida.

1 ml natrium hidroksida 0,1 N setara dengan 20,42 mg kalium biftalat

9. Natrium tiosulfat 0,1 N

Pembuatan : Natrium tiosulfat P sebanyak 26 g dan natrium karbonat P sebanyak 200 mg dilarutkan dalam air suling bebas karbondioksida segar secukupnya dan diencerkan hingga 1000 ml dalam labu tentukur.

Pembakuan : Kalium bikromat yang sebelumnya telah dikeringkan di dalam oven pada suhu 120°C selama 4 jam ditimbang sebanyak 210 mg, lalu dilarutkan dalam 100 ml air suling dalam Erlenmeyer bersumbat kaca, kemudian diangkat tutupnya dan ditambahkan dengan cepat 3 g kalium iodida P, 2 gram natrium bikarbonat P dan 5 ml asam klorida P. Ditutup kembali dan digoyang hingga tercampur, dibiarkan di tempat



gelap selama 10 menit. Selanjutnya dititrasikan dengan larutan natrium tiosulfat menggunakan indikator larutan kanji. Pembakuan diulang 2 kali, dan dihitung normalitas rata-rata larutan natrium tiosulfat.

1 ml natrium tiosulfat 0,1 N setara dengan 4,903 mg kalium bikromat

III.2 Penyiapan Bahan Penelitian

III.2.1 Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val.) dan buah asam jawa (*Tamarindus indica* L.) diperoleh dari daerah Makassar. Buah asam jawa dipilih yang sudah masak. Rimpang kunyit dikupas kulitnya lalu diiris tipis, sedangkan buah asam jawa dikupas kulitnya lalu dikeluarkan bijinya dan diambil daging buahnya.

III.2.2 Pembuatan Infus Rimpang Kunyit dan Infus Asam Jawa

Rimpang kunyit dan daging buah asam jawa masing-masing dibuat infus.

Untuk infus rimpang kunyit dibuat dengan konsentrasi 10%, 15%, dan 20% b/v. Untuk infus 10% b/v dibuat dengan cara : rimpang kunyit ditimbang sebanyak 10 g, lalu dimasukkan ke dalam panci infus dan ditambahkan air 100 ml. Panci infus dipanaskan di atas tangas air selama 15 menit, dihitung mulai suhu di dalam panci mencapai 90°C sambil sekali-sekali diaduk. Setelah dingin diserkai melalui kain flanel. Bila volumenya kurang, maka dicukupkan dengan air melalui ampas hingga diperoleh volume 100 ml. Cara yang sama dilakukan untuk pembuatan infus rimpang kunyit dengan

konsentrasi 15% dan 20% b/v, dengan menimbang rimpang kunyit 15 g dan 20 g untuk 100 ml infus.

Untuk infus asam jawa dibuat dengan konsentrasi 10% b/v dengan cara : daging buah asam jawa sebanyak 10 g diremas-remas dengan air secukupnya hingga menjadi massa seperti bubur, lalu dimasukkan ke dalam panci infus dan ditambahkan air hingga volumenya 100 ml. Panci infus dipanaskan di atas tangas air selama 15 menit, dihitung mulai suhu di dalam panci mencapai 90°C sambil sekali-sekali diaduk. Kemudian diserkai sewaktu masih panas melalui kain flanel tanpa diperas. Bila volumenya kurang, maka dicukupkan dengan air panas melalui ampas hingga diperoleh volume 100 ml.

III.2.3 Pembuatan Minuman Kunyit Asam

Minuman kunyit asam dibuat dengan mencampur infus rimpang kunyit dengan infus asam jawa, lalu ditambahkan sukrosa 10% b/v. Minuman kunyit asam dibuat 3 formula dengan variasi konsentrasi kunyit, yaitu 10%, 15%, dan 20% b/v. Sebagai kontrol adalah minuman asam jawa (0% kunyit). Selanjutnya diukur pHnya menggunakan pH meter, kemudian dilakukan penentuan keasaman, penentuan kadar gula reduksi, dan pengujian aktivitas antibakteri.

III.2.4 Fermentasi Minuman Kunyit Asam

Minuman kunyit asam difermentasi menggunakan jamur kombu. Minuman kunyit asam dimasukkan ke dalam botol fermentasi steril, dibiarkan sampai dingin lalu diinokulasikan jamur kombu sebanyak 10% b/v ke

dalamnya. Selanjutnya ditutup dengan kain berpori dan diinkubasi di tempat gelap dan tenang pada suhu 28°C selama 6 hari. Setelah fermentasi selesai, jamur kombu dikeluarkan. Minuman kunyit asam yang telah difermentasi tersebut diukur pHnya menggunakan pH meter. Cara yang sama dilakukan untuk fermentasi minuman asam jawa (kontrol).

Selanjutnya dilakukan pengujian ALT khamir dan bakteri asam asetat terhadap sampel sebelum dipasteurisasi. Penentuan keasaman, penentuan kadar gula reduksi, dan pengujian aktivitas antibakteri dilakukan terhadap sampel setelah dipasteurisasi.

III.3 Pengujian Angka Lempeng Total (ALT) Khamir dan Bakteri Asam Asetat

III.3.1 Pengujian ALT Khamir

Pengujian jumlah khamir dalam minuman kunyit asam dan minuman asam jawa (kontrol) yang telah difermentasi dengan jamur kombu dilakukan dengan metode tuang pada medium PDA. Sampel dipipet masing-masing 1 ml dan dimasukkan ke dalam 9 ml air suling, kemudian dibuat pengenceran bertingkat 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} . Pengujian dilakukan pada pengenceran 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} dengan mengambil 1 ml dari tiap pengenceran dan 15 ml medium PDA dimasukkan ke dalam cawan petri dalam waktu hampir bersamaan. Medium dibiarkan memadat, kemudian diinkubasi dengan posisi terbalik pada suhu kamar selama 3x24 jam. Koloni khamir yang terbentuk dihitung jumlahnya.

dalamnya. Selanjutnya ditutup dengan kain berpori dan diinkubasi di tempat gelap dan tenang pada suhu 28°C selama 6 hari. Setelah fermentasi selesai, jamur kombu dikeluarkan. Minuman kunyit asam yang telah difermentasi tersebut diukur pHnya menggunakan pH meter. Cara yang sama dilakukan untuk fermentasi minuman asam jawa (kontrol).

Selanjutnya dilakukan pengujian ALT khamir dan bakteri asam asetat terhadap sampel sebelum dipasteurisasi. Penentuan keasaman, penentuan kadar gula reduksi, dan pengujian aktivitas antibakteri dilakukan terhadap sampel setelah dipasteurisasi.

III.3 Pengujian Angka Lempeng Total (ALT) Khamir dan Bakteri Asam Asetat

III.3.1 Pengujian ALT Khamir

Pengujian jumlah khamir dalam minuman kunyit asam dan minuman asam jawa (kontrol) yang telah difermentasi dengan jamur kombu dilakukan dengan metode tuang pada medium PDA. Sampel dipipet masing-masing 1 ml dan dimasukkan ke dalam 9 ml air suling, kemudian dibuat pengenceran bertingkat 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} . Pengujian dilakukan pada pengenceran 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} dengan mengambil 1 ml dari tiap pengenceran dan 15 ml medium PDA dimasukkan ke dalam cawan petri dalam waktu hampir bersamaan. Medium dibiarkan memadat, kemudian diinkubasi dengan posisi terbalik pada suhu kamar selama 3×24 jam. Koloni khamir yang terbentuk dihitung jumlahnya.

III.3.2 Pengujian ALT Bakteri Asam Asetat

Pengujian jumlah bakteri asam asetat dalam minuman kunyit asam dan minuman asam jawa (kontrol) yang telah difermentasi dengan jamur kombu dilakukan dengan metode tuang pada medium GYCA. Sampel dipipet masing-masing 1 ml dan dimasukkan ke dalam 9 ml air suling, kemudian dibuat pengenceran bertingkat 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} . Pengujian dilakukan pada pengenceran 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} dengan mengambil 1 ml dari tiap pengenceran dan 15 ml medium GYCA dimasukkan ke dalam cawan petri dalam waktu hampir bersamaan. Medium dibiarkan memadat, kemudian diinkubasi dengan posisi terbalik di inkubator suhu 37°C selama 3×24 jam. Koloni bakteri yang terbentuk dihitung jumlahnya.

III.4 Penentuan Keasaman dengan Metode Alkalimetri

Sebanyak 10 ml sampel dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditambahkan 1-2 tetes indikator fenolftalein. Selanjutnya dititrasi dengan larutan natrium hidroksida baku sampai terbentuk warna merah muda yang tetap. Dicatat volume larutan NaOH yang digunakan untuk titrasi dan dihitung nilai total asam sampel.

III.5 Penentuan Kadar Gula Reduksi dengan Metode Luff Schoorl (32)

Sampel dipipet sebanyak 10 ml dan dimasukkan ke dalam labu tentukur 100 ml, dicukupkan dengan air suling. Dipipet larutan tersebut sebanyak 50 ml dan dimasukkan ke dalam labu tentukur 250 ml, lalu ditambahkan 10 ml larutan Pb asetat jenuh dan 15 ml larutan $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$

III.3.2 Pengujian ALT Bakteri Asam Asetat

Pengujian jumlah bakteri asam asetat dalam minuman kunyit asam dan minuman asam jawa (kontrol) yang telah difermentasi dengan jamur kombu dilakukan dengan metode tuang pada medium GYCA. Sampel dipipet masing-masing 1 ml dan dimasukkan ke dalam 9 ml air suling, kemudian dibuat pengenceran bertingkat 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} . Pengujian dilakukan pada pengenceran 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} dengan mengambil 1 ml dari tiap pengenceran dan 15 ml medium GYCA dimasukkan ke dalam cawan petri dalam waktu hampir bersamaan. Medium dibiarkan memadat, kemudian diinkubasi dengan posisi terbalik di inkubator suhu 37°C selama 3×24 jam. Koloni bakteri yang terbentuk dihitung jumlahnya.

III.4 Penentuan Keasaman dengan Metode Alkalimetri

Sebanyak 10 ml sampel dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditambahkan 1-2 tetes indikator fenolftalein. Selanjutnya dititrasi dengan larutan natrium hidroksida baku sampai terbentuk warna merah muda yang tetap. Dicatat volume larutan NaOH yang digunakan untuk titrasi dan dihitung nilai total asam sampel.

III.5 Penentuan Kadar Gula Reduksi dengan Metode Luff Schoorl (32)

Sampel dipipet sebanyak 10 ml dan dimasukkan ke dalam labu tentukur 100 ml, dicukupkan dengan air suling. Dipipet larutan tersebut sebanyak 50 ml dan dimasukkan ke dalam labu tentukur 250 ml, lalu ditambahkan 10 ml larutan Pb asetat jenuh dan 15 ml larutan $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$

10%. Digoyangkan dan dicukupkan isi labu tentukur sampai tanda garis dengan air suling, dikocok, didiamkan, dan disaring. Setelah itu dipipet 25 ml larutan hasil penyaringan dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 ml, lalu ditambahkan 25 ml larutan Luff Schoorl. Erlenmeyer diletakkan di atas tangas listrik, dipanaskan terus-menerus selama 10 menit, kemudian diangkat dan segera didinginkan. Setelah dingin ditambahkan 10 ml larutan KI 20% dan 25 ml larutan H₂SO₄ 25%. Selanjutnya dititrasi dengan larutan natrium tiosulfat baku dengan larutan kanji 0,5% sebagai indikator. Dikerjakan penetapan blanko dengan 25 ml air dan 25 ml larutan Luff Schoorl dengan cara seperti di atas.

III.6 Pengujian Aktivitas Antibakteri

III.6.1 Penyiapan Bakteri Uji

III.6.1.1 Peremajaan Kultur Murni Bakteri Uji

Bakteri uji yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* masing-masing diambil 1 ose, kemudian diinokulasikan dengan cara digoreskan pada medium NA miring, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam.

III.6.1.2 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri uji yang telah diremajakan disuspensikan dalam larutan NaCl 0,9% steril dengan menggunakan ose bulat, kemudian diukur transmitannya pada 25% menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 580 nm. Sebagai blanko digunakan larutan NaCl 0,9%.

III.6.2 Pengujian Daya Hambat

Sebanyak 100 µl suspensi bakteri uji dicampur dengan 15 ml medium GNA dalam botol steril dan dihomogenkan, lalu dituang secara aseptis ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan memadat. "Paper disc" yang terlebih dahulu telah ditetesi dengan 20 µl minuman fermentasi kunyit asam dan telah dikeringkan, diletakkan sedemikian rupa secara aseptis di atas medium agar yang telah diinokulasikan bakteri uji. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 1-2 x 24 jam. Cara yang sama dilakukan untuk pengujian daya hambat minuman asam jawa yang telah difermentasi dengan jamur kombu (kontrol).

Pengujian daya hambat juga dilakukan pada minuman kunyit asam dan minuman asam jawa (kontrol) sebelum difermentasi dengan cara yang sama di atas.

III.7 Pengumpulan dan Analisis Data

Data-data dari hasil penelitian dikumpulkan, kemudian dilakukan analisis data.

1. Pengujian ALT khamir dan bakteri asam asetat

Data dikumpulkan dengan menghitung jumlah koloni khamir dan bakteri asam asetat pada tiap pengenceran setelah inkubasi selama 3x24 jam, kemudian dihitung nilai ALTnya. Selanjutnya diolah secara statistika menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL).

2. Penentuan keasaman

Data dikumpulkan dengan menghitung volume titrasi, kemudian dihitung nilai total asamnya.

3. Penentuan kadar gula reduksi

Data dikumpulkan dengan menghitung volume titrasi blanko dan volume titrasi contoh. Dengan mengetahui selisih keduanya, kadar gula reduksi (sebelum inversi) dalam sampel dapat dihitung dengan menggunakan tabel Luff Schoorl.

4. Pengujian aktivitas antibakteri

Data dikumpulkan dengan mengukur diameter daerah hambatan yang terbentuk setelah inkubasi selama 1x24 jam, kemudian diolah secara statistika menggunakan metode Rancangan Faktorial.

5. Pengukuran pH

Data dikumpulkan dengan mengukur pH sampel menggunakan alat pH meter.

III.8 Pembahasan Hasil Penelitian

Pembahasan hasil penelitian diuraikan berdasarkan hasil analisis data yang diperoleh.

III.9 Pengambilan Kesimpulan

Kesimpulan diambil berdasarkan pembahasan hasil penelitian.

3. Penentuan kadar gula reduksi

Data dikumpulkan dengan menghitung volume titrasi blanko dan volume titrasi contoh. Dengan mengetahui selisih keduanya, kadar gula reduksi (sebelum inversi) dalam sampel dapat dihitung dengan menggunakan tabel Luff Schoorl.

4. Pengujian aktivitas antibakteri

Data dikumpulkan dengan mengukur diameter daerah hambatan yang terbentuk setelah inkubasi selama 1x24 jam, kemudian diolah secara statistika menggunakan metode Rancangan Faktorial.

5. Pengukuran pH

Data dikumpulkan dengan mengukur pH sampel menggunakan alat pH meter.

III.8 Pembahasan Hasil Penelitian

Pembahasan hasil penelitian diuraikan berdasarkan hasil analisis data yang diperoleh.

III.9 Pengambilan Kesimpulan

Kesimpulan diambil berdasarkan pembahasan hasil penelitian.

3. Penentuan kadar gula reduksi

Data dikumpulkan dengan menghitung volume titrasi blanko dan volume titrasi contoh. Dengan mengetahui selisih keduanya, kadar gula reduksi (sebelum inversi) dalam sampel dapat dihitung dengan menggunakan tabel Luff Schoorl.

4. Pengujian aktivitas antibakteri

Data dikumpulkan dengan mengukur diameter daerah hambatan yang terbentuk setelah inkubasi selama 1x24 jam, kemudian diolah secara statistika menggunakan metode Rancangan Faktorial.

5. Pengukuran pH

Data dikumpulkan dengan mengukur pH sampel menggunakan alat pH meter.

III.8 Pembahasan Hasil Penelitian

Pembahasan hasil penelitian diuraikan berdasarkan hasil analisis data yang diperoleh.

III.9 Pengambilan Kesimpulan

Kesimpulan diambil berdasarkan pembahasan hasil penelitian.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Hasil Penelitian

IV.1.1 Hasil Pengujian ALT Khamir dan Bakteri Asam Asetat

Tabel 1. Nilai ALT Khamir Minuman Kunyit Asam Sesudah Difermentasi dengan Jamur Kombu

Sampel	Jumlah Koloni			Nilai ALT (koloni/ml)	Nilai ALT Rata-rata (koloni/ml)
	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}		
A	74	10	2	$0,9 \times 10^4$	$0,9 \times 10^4$
	92	4	1	$0,9 \times 10^4$	
B	91	5	5	$0,9 \times 10^4$	$1,0 \times 10^4$
	89	15	1	$1,2 \times 10^4$	
C	162	8	5	$1,6 \times 10^4$	$1,4 \times 10^4$
	116	14	2	$1,3 \times 10^4$	
D	68	27	1	$0,7 \times 10^4$	$2,2 \times 10^4$
	260	45	3	$3,6 \times 10^4$	

Tabel 2. Nilai ALT Bakteri Asam Asetat Minuman Kunyit Asam Sesudah Difermentasi dengan Jamur Kombu

Sampel	Jumlah Koloni			Nilai ALT (koloni/ml)	Nilai ALT Rata-rata (koloni/ml)
	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}		
A	207	183	61	$1,8 \times 10^5$	$2,2 \times 10^5$
	259	269	62	$2,7 \times 10^5$	
B	61	149	93	$1,5 \times 10^5$	$1,9 \times 10^5$
	79	227	97	$2,3 \times 10^5$	
C	34	170	138	$1,7 \times 10^5$	$1,8 \times 10^5$
	59	186	180	$1,9 \times 10^5$	
D	268	73	238	$0,3 \times 10^5$	$0,2 \times 10^5$
	210	171	262	$0,2 \times 10^5$	

IV.1.2 Hasil Penentuan Keasaman

Tabel 3. Penentuan Keasaman Minuman Kunyit Asam Sebelum dan Sesudah Difermentasi dengan Jamur Kombu Menggunakan Metode Alkalimetri

Kondisi Sampel	Sampel	Volume Sampel (ml)	Volume Titrasi Sampel (ml)	Nilai Total Asam (mEq/l)	Nilai Total Asam Rata-rata (mEq/l)
Sebelum fermentasi	A	10	9,5	90,82	90,82
		10	9,5	90,82	
	B	10	9,3	88,91	89,86
		10	9,5	90,82	
	C	10	9,5	90,82	90,34
		10	9,4	89,86	
	D	10	9,6	91,78	90,82
		10	9,4	89,86	
Sesudah fermentasi	A	10	15,3	146,27	145,79
		10	15,2	145,31	
	B	10	14,2	135,75	134,80
		10	14,0	133,84	
	C	10	13,5	129,06	129,06
		10	13,5	129,06	
	D	10	13,0	124,28	125,72
		10	13,3	127,15	

IV.1.3 Hasil Penentuan Kadar Gula Reduksi

Tabel 4. Penentuan Kadar Gula Reduksi dalam Minuman Kunyit Asam Sebelum dan Sesudah Difermentasi dengan Jamur Kombu Menggunakan Metode Luff School

Kondisi Sampel	Sampel	Volume Sampel (ml)	Volume Titration (ml)			Kadar Gula Reduksi (%b/v)	Kadar Gula Reduksi Rata-rata (%b/v)
			Blanko	Sampel	Blanko - Sampel		
Sebelum fermentasi	A	10	10,2	4,7	5,5	2,68	2,66
		10	10,2	4,8	5,4	2,64	
	B	10	10,2	4,7	5,5	2,68	2,68
		10	10,2	4,7	5,5	2,68	
	C	10	10,2	4,9	5,3	2,58	2,63
		10	10,2	4,7	5,5	2,68	
	D	10	10,2	4,8	5,4	2,64	2,66
		10	10,2	4,7	5,5	2,68	
Sesudah fermentasi	A	10	10,2	3,2	7,0	3,43	3,40
		10	10,2	3,3	6,9	3,38	
	B	10	10,2	1,5	8,7	4,52	4,44
		10	10,2	1,4	8,8	4,37	
	C	10	10,2	1,0	9,2	4,57	4,60
		10	10,2	0,9	9,3	4,63	
	D	10	10,2	0,4	9,8	4,89	4,86
		10	10,2	0,5	9,7	4,83	

IV.1.4 Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri

Tabel 5. Diameter Daerah Hambatan Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* oleh Minuman Kunyit Asam Sebelum dan Sesudah Difermentasi dengan Jamur Kombu

Kondisi Sampel	Diameter Daerah Hambatan (mm)			
	A	B	C	D
Sebelum fermentasi	6,95	6,70	6,65	7,50
	7,00	7,00	7,30	7,85
	7,15	7,35	7,75	8,50
Rata-rata	7,03	7,02	7,23	7,88
Sesudah fermentasi	12,35	11,75	9,35	7,35
	12,50	11,95	9,75	7,75
	13,15	12,85	10,50	8,75
Rata-rata	12,67	12,18	9,87	7,95

Tabel 6. Diameter Daerah Hambatan Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* oleh Minuman Kunyit Asam Sebelum dan Sesudah Difermentasi dengan Jamur Kombu

Kondisi Sampel	Diameter Daerah Hambatan (mm)			
	A	B	C	D
Sebelum fermentasi	6,70	6,70	7,50	7,75
	7,35	6,95	7,50	8,05
	7,85	7,50	8,15	9,15
Rata-rata	7,30	7,05	7,72	8,32
Sesudah fermentasi	8,55	7,95	7,85	8,50
	8,75	8,05	8,15	9,25
	9,65	9,05	8,50	9,95
Rata-rata	8,98	8,35	8,17	9,23

IV.1.5 Hasil Pengukuran pH

Tabel 7. pH Minuman Kunyit Asam Sebelum dan Sesudah Difermentasi dengan Jamur Kombu

Kondisi Sampel	pH			
	A	B	C	D
Sebelum fermentasi	2,89	2,92	2,92	2,91
Sesudah fermentasi	2,64	2,65	2,67	2,68

Keterangan :

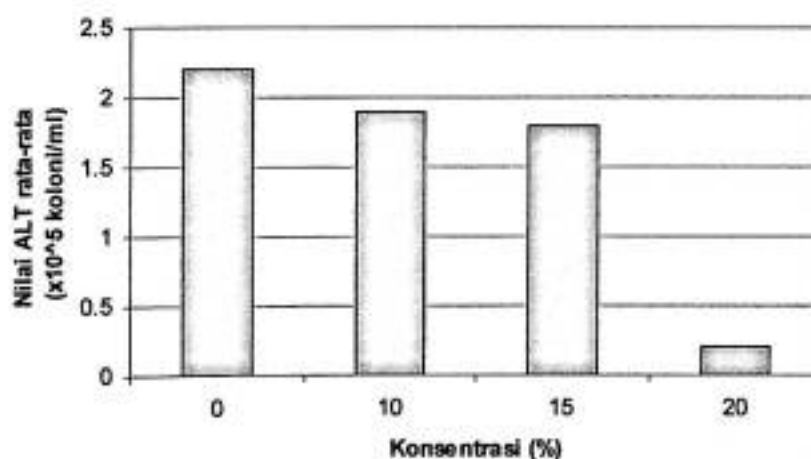
- A = Minuman asam jawa (kontrol)
- B = Minuman kunyit asam dengan konsentrasi kunyit 10%
- C = Minuman kunyit asam dengan konsentrasi kunyit 15%
- D = Minuman kunyit asam dengan konsentrasi kunyit 20%

IV.2 Pembahasan

Pada penelitian ini dibuat minuman kunyit asam yang difermentasi dengan jamur kombu. Produk metabolisme jamur kombu yang dihasilkan dari proses fermentasi oleh khamir dan bakteri asam asetat pada minuman teh telah dibuktikan berefek antibakteri. Banyaknya khamir dan bakteri asam asetat akan mempengaruhi jumlah produk metabolisme yang secara tidak langsung akan berpengaruh pada aktivitas antibakteri yang dihasilkan. Kunyit yang mempunyai sifat antimikroba kemungkinan dapat mempengaruhi laju pertumbuhan khamir dan bakteri asam asetat yang bekerja selama proses fermentasi minuman kunyit asam oleh jamur kombu.

Nilai ALT khamir rata-rata minuman kunyit asam dan minuman asam jawa sebagai kontrol sesudah difermentasi dengan jamur kombu bertambah dengan peningkatan konsentrasi kunyit. Namun, hasil analisis statistika menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) terhadap data nilai ALT khamir menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan antar konsentrasi kunyit terhadap nilai ALT khamir. Hal ini terlihat dari nilai F hitung sebesar 0,59 yang lebih kecil dari F tabel pada taraf 5% (6,59) dan 1% (16,7). Ini berarti tidak ada pengaruh konsentrasi kunyit dalam minuman kunyit asam terhadap jumlah khamir selama berlangsungnya fermentasi. Dengan kata lain, kunyit tidak mempengaruhi pertumbuhan khamir.

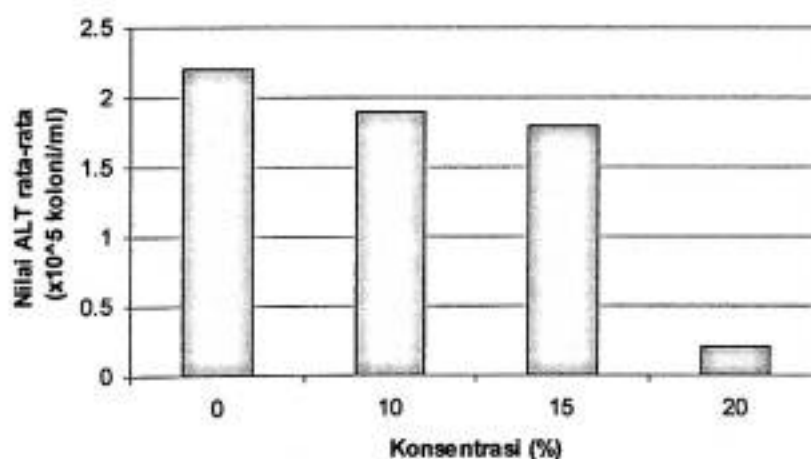
Sebaliknya, nilai ALT bakteri asam asetat rata-rata minuman kunyit asam dan minuman asam jawa sebagai kontrol sesudah difermentasi dengan jamur kombu berkurang dengan peningkatan konsentrasi kunyit seperti yang terlihat pada gambar 2.



Gambar 2. Histogram hubungan konsentrasi kunyit (%) dengan nilai ALT bakteri asam asetat minuman kunyit asam sesudah difermentasi dengan jamur kombu

Nilai ALT khamir rata-rata minuman kunyit asam dan minuman asam jawa sebagai kontrol sesudah difermentasi dengan jamur kombu bertambah dengan peningkatan konsentrasi kunyit. Namun, hasil analisis statistika menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) terhadap data nilai ALT khamir menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan antar konsentrasi kunyit terhadap nilai ALT khamir. Hal ini terlihat dari nilai F hitung sebesar 0,59 yang lebih kecil dari F tabel pada taraf 5% (6,59) dan 1% (16,7). Ini berarti tidak ada pengaruh konsentrasi kunyit dalam minuman kunyit asam terhadap jumlah khamir selama berlangsungnya fermentasi. Dengan kata lain, kunyit tidak mempengaruhi pertumbuhan khamir.

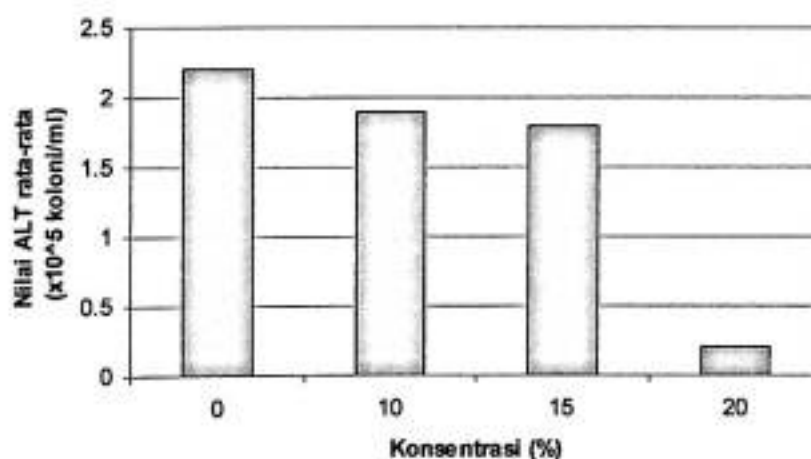
Sebaliknya, nilai ALT bakteri asam asetat rata-rata minuman kunyit asam dan minuman asam jawa sebagai kontrol sesudah difermentasi dengan jamur kombu berkurang dengan peningkatan konsentrasi kunyit seperti yang terlihat pada gambar 2.



Gambar 2. Histogram hubungan konsentrasi kunyit (%) dengan nilai ALT bakteri asam asetat minuman kunyit asam sesudah difermentasi dengan jamur kombu

Nilai ALT khamir rata-rata minuman kunyit asam dan minuman asam jawa sebagai kontrol sesudah difermentasi dengan jamur kombu bertambah dengan peningkatan konsentrasi kunyit. Namun, hasil analisis statistika menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) terhadap data nilai ALT khamir menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan antar konsentrasi kunyit terhadap nilai ALT khamir. Hal ini terlihat dari nilai F hitung sebesar 0,59 yang lebih kecil dari F tabel pada taraf 5% (6,59) dan 1% (16,7). Ini berarti tidak ada pengaruh konsentrasi kunyit dalam minuman kunyit asam terhadap jumlah khamir selama berlangsungnya fermentasi. Dengan kata lain, kunyit tidak mempengaruhi pertumbuhan khamir.

Sebaliknya, nilai ALT bakteri asam asetat rata-rata minuman kunyit asam dan minuman asam jawa sebagai kontrol sesudah difermentasi dengan jamur kombu berkurang dengan peningkatan konsentrasi kunyit seperti yang terlihat pada gambar 2.



Gambar 2. Histogram hubungan konsentrasi kunyit (%) dengan nilai ALT bakteri asam asetat minuman kunyit asam sesudah difermentasi dengan jamur kombu

Dari hasil analisis statistika menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) terhadap data nilai ALT bakteri asam asetat, diperoleh adanya perbedaan yang nyata antar konsentrasi kunyit terhadap nilai ALT bakteri. Hal ini terlihat dari nilai F hitung sebesar 8,32 yang lebih besar dari F tabel pada taraf 5% (6,59). Ini berarti ada pengaruh konsentrasi kunyit dalam minuman kunyit asam terhadap jumlah bakteri asam asetat selama berlangsungnya fermentasi. Jadi, kunyit menghambat pertumbuhan bakteri asam asetat. Hasil analisis lanjutan antar konsentrasi menggunakan uji Beda Nyata Jarak Duncan menunjukkan perbedaan yang signifikan antara konsentrasi 0% (kontrol) dengan 20%, 10% dengan 20%, dan 15% dengan 20%. Sedangkan antara konsentrasi 0% dengan 10%, 0% dengan 15%, dan 10% dengan 15% menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan.

Hasil penentuan keasaman memperlihatkan bahwa minuman kunyit asam dan minuman asam jawa sebagai kontrol sebelum difermentasi dengan jamur kombu memiliki nilai total asam rata-rata yang hampir sama. Ini disebabkan karena buah asam jawa mengandung antara lain asam asetat, asam tartrat, asam sitrat, asam malat dan tidak ada pengaruh kunyit disini. Sedangkan nilai total asam sampel sesudah difermentasi mengalami peningkatan dibandingkan sebelumnya. Ini disebabkan karena akumulasi produk metabolisme jamur kombu berupa asam-asam organik seperti asam asetat dan asam glukonat selama fermentasi berlangsung. Hal ini juga dapat dilihat dari pH sampel yang semakin asam sesudah difermentasi. Jika dihitung selisih nilai total asam sampel sebelum dan sesudah difermentasi,

maka terjadi penurunan nilai total asam dengan peningkatan konsentrasi kunyit. Hal ini sejalan dengan jumlah bakteri asam asetat yang ada dalam sampel. Pertumbuhan bakteri asam asetat dihambat oleh sifat antimikroba kunyit, sehingga dengan peningkatan konsentrasi kunyit dalam minuman kunyit asam mengakibatkan jumlah asam asetat yang terbentuk dari alkohol serta asam glukonat dari oksidasi glukosa oleh bakteri asam asetat semakin berkurang. Karena jumlah koloni khamir dalam minuman kunyit asam selama berlangsungnya proses fermentasi tidak dipengaruhi oleh sifat antimikroba kunyit, maka kemungkinan jumlah glukosa dan fruktosa yang dihasilkan dari hidrolisis sukrosa oleh enzim invertase khamir banyaknya hampir sama untuk tiap perlakuan.

Sedangkan hasil penentuan kadar gula reduksi menunjukkan nilai yang juga hampir sama untuk minuman kunyit asam dan minuman asam jawa sebagai kontrol sebelum difermentasi dengan jamur kombu. Gula invert dalam buah asam jawa yang dihitung kadarnya, sedangkan kunyit tidak memberikan pengaruh. Gula invert ini tidak lain adalah glukosa dan fruktosa. Kadar gula reduksi (glukosa dan fruktosa) selama fermentasi berlangsung tidak konstan, karena proses biokimiawi yang terus berjalan. Jika terbentuk lagi glukosa dan fruktosa, maka khamir akan segera merombak glukosa tersebut menjadi alkohol. Selanjutnya alkohol difermentasi menjadi asam asetat oleh bakteri asam asetat. Sebagian glukosa juga digunakan untuk produksi asam glukonat oleh strain *Acetobacter* melalui jalur pentosa fosfat dan untuk biosintesis selulosa. Sedangkan sebagian besar fruktosa akan

maka terjadi penurunan nilai total asam dengan peningkatan konsentrasi kunyit. Hal ini sejalan dengan jumlah bakteri asam asetat yang ada dalam sampel. Pertumbuhan bakteri asam asetat dihambat oleh sifat antimikroba kunyit, sehingga dengan peningkatan konsentrasi kunyit dalam minuman kunyit asam mengakibatkan jumlah asam asetat yang terbentuk dari alkohol serta asam glukonat dari oksidasi glukosa oleh bakteri asam asetat semakin berkurang. Karena jumlah koloni khamir dalam minuman kunyit asam selama berlangsungnya proses fermentasi tidak dipengaruhi oleh sifat antimikroba kunyit, maka kemungkinan jumlah glukosa dan fruktosa yang dihasilkan dari hidrolisis sukrosa oleh enzim invertase khamir banyaknya hampir sama untuk tiap perlakuan.

Sedangkan hasil penentuan kadar gula reduksi menunjukkan nilai yang juga hampir sama untuk minuman kunyit asam dan minuman asam jawa sebagai kontrol sebelum difermentasi dengan jamur kombu. Gula invert dalam buah asam jawa yang dihitung kadarnya, sedangkan kunyit tidak memberikan pengaruh. Gula invert ini tidak lain adalah glukosa dan fruktosa. Kadar gula reduksi (glukosa dan fruktosa) selama fermentasi berlangsung tidak konstan, karena proses biokimiawi yang terus berjalan. Jika terbentuk lagi glukosa dan fruktosa, maka khamir akan segera merombak glukosa tersebut menjadi alkohol. Selanjutnya alkohol difermentasi menjadi asam asetat oleh bakteri asam asetat. Sebagian glukosa juga digunakan untuk produksi asam glukonat oleh strain *Acetobacter* melalui jalur pentosa fosfat dan untuk biosintesis selulosa. Sedangkan sebagian besar fruktosa akan

maka terjadi penurunan nilai total asam dengan peningkatan konsentrasi kunyit. Hal ini sejalan dengan jumlah bakteri asam asetat yang ada dalam sampel. Pertumbuhan bakteri asam asetat dihambat oleh sifat antimikroba kunyit, sehingga dengan peningkatan konsentrasi kunyit dalam minuman kunyit asam mengakibatkan jumlah asam asetat yang terbentuk dari alkohol serta asam glukonat dari oksidasi glukosa oleh bakteri asam asetat semakin berkurang. Karena jumlah koloni khamir dalam minuman kunyit asam selama berlangsungnya proses fermentasi tidak dipengaruhi oleh sifat antimikroba kunyit, maka kemungkinan jumlah glukosa dan fruktosa yang dihasilkan dari hidrolisis sukrosa oleh enzim invertase khamir banyaknya hampir sama untuk tiap perlakuan.

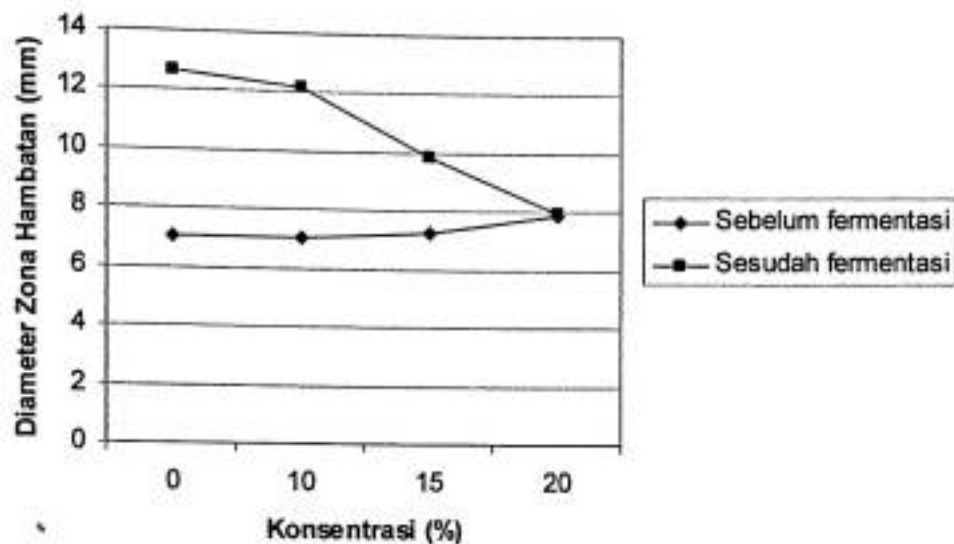
Sedangkan hasil penentuan kadar gula reduksi menunjukkan nilai yang juga hampir sama untuk minuman kunyit asam dan minuman asam jawa sebagai kontrol sebelum difermentasi dengan jamur kombu. Gula invert dalam buah asam jawa yang terhitung kadarnya, sedangkan kunyit tidak memberikan pengaruh. Gula invert ini tidak lain adalah glukosa dan fruktosa. Kadar gula reduksi (glukosa dan fruktosa) selama fermentasi berlangsung tidak konstan, karena proses biokimiawi yang terus berjalan. Jika terbentuk lagi glukosa dan fruktosa, maka khamir akan segera merombak glukosa tersebut menjadi alkohol. Selanjutnya alkohol difermentasi menjadi asam asetat oleh bakteri asam asetat. Sebagian glukosa juga digunakan untuk produksi asam glukonat oleh strain *Acetobacter* melalui jalur pentosa fosfat dan untuk biosintesis selulosa. Sedangkan sebagian besar fruktosa akan

dimetabolisme menjadi asam asetat dan sejumlah kecil asam glukonat. Adanya asam asetat akan menstimulasi khamir untuk menghasilkan lebih banyak alkohol (30). Kadar gula reduksi dalam sampel sesudah difermentasi bertambah dengan peningkatan konsentrasi kunyit. Ini disebabkan karena kecepatan pembentukan asam asetat pada kontrol lebih tinggi dibandingkan yang lainnya, sehingga menstimulasi khamir untuk menghasilkan alkohol lebih banyak. Akibatnya, kadar gula reduksinya lebih kecil.

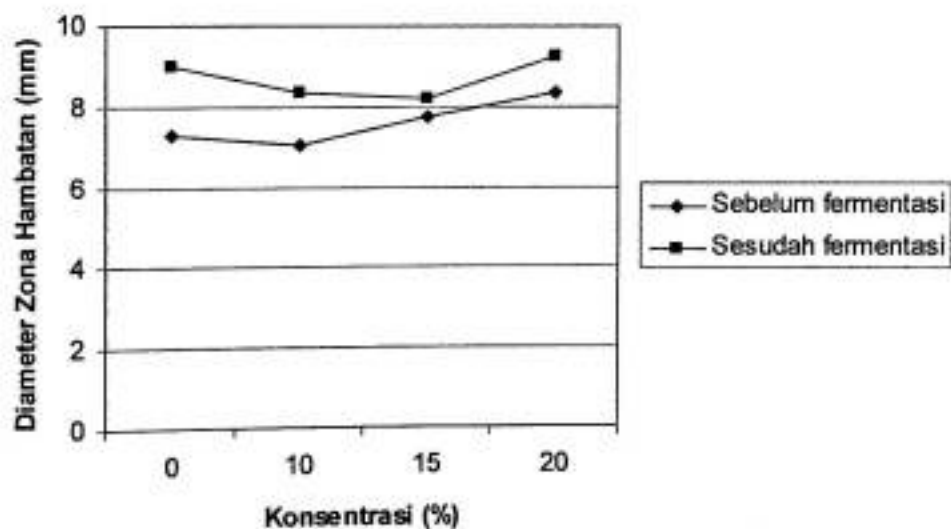
Penelitian pengaruh konsentrasi kunyit terhadap aktivitas antibakteri minuman kunyit asam yang difermentasi dengan jamur kombu menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, karena kedua bakteri ini mewakili bakteri gram positif dan gram negatif yang dapat menunjukkan spektrum kerja suatu antibakteri yang luas. Selain itu, kedua bakteri ini termasuk bakteri patogen bagi manusia yang biasa menimbulkan penyakit. *Staphylococcus aureus* penyebab infeksi pada kulit seperti bisul, sedangkan *Escherichia coli* dapat menyebabkan diare.

Hasil pengukuran diameter daerah hambatan menunjukkan bahwa semua minuman kunyit asam dan minuman asam jawa sebagai kontrol baik sebelum maupun sesudah difermentasi dengan jamur kombu memberikan efek penghambatan terhadap bakteri uji yang digunakan. Hasil analisis statistika menggunakan metode Rancangan Faktorial terhadap kondisi sampel memperlihatkan nilai F hitung sebesar 262,85 untuk *Staphylococcus aureus* dan 22,16 untuk *Escherichia coli* yang lebih besar dari F tabel pada taraf 5% (4,49) dan 1% (8,53). Ini berarti ada pengaruh yang sangat nyata

antar kondisi sampel terhadap diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri uji.



Gambar 3. Grafik hubungan konsentrasi kunyit (%) dalam minuman kunyit asam dengan diameter daerah hambatan pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (mm) sebelum dan sesudah difermentasi dengan jamur kombu



Gambar 4. Grafik hubungan konsentrasi kunyit (%) dalam minuman kunyit asam dengan diameter daerah hambatan pertumbuhan *Escherichia coli* (mm) sebelum dan sesudah difermentasi dengan jamur kombu

Dari gambar 3 dan 4, terlihat bahwa diameter daerah hambatan rata-rata pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* maupun *Escherichia coli* oleh minuman kunyit asam dan minuman asam jawa sebagai kontrol sesudah difermentasi dengan jamur kombu mengalami peningkatan dibandingkan dengan sebelum difermentasi. Ini berarti fermentasi berpengaruh terhadap diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri uji. Peningkatan daya antibakteri ini disebabkan oleh adanya asam-asam organik seperti asam asetat yang dihasilkan oleh jamur kombu selama proses fermentasi yang akan membatasi pertumbuhan mikroorganisme lainnya. Berdasarkan penelitian Greenwalt *et al*, aktivitas antimikroba dari kombucha disebabkan oleh kandungan asam asetatnya (16).

Asam organik dalam bentuk tidak terdisosiasi dapat dengan mudah berpenetrasi ke dalam dinding sel bakteri. Di dalam sel, molekul asam akan terdisosiasi, dengan demikian menurunkan pH di bawah nilai target. Dinding sel akan mencoba untuk membuang proton (ion H^+) yang dibebaskan oleh asam. Ini adalah proses yang membutuhkan energi dan akan mengganggu metabolisme bakteri. Akibatnya sel bakteri akhirnya akan mati. Anion yang tertinggal juga dapat menghambat proses penting dalam sitoplasma dan nukleus. Anion asam asetat dapat menghambat aktivitas enzim (35).

Sedangkan hasil analisis statistika terhadap konsentrasi kunyit dalam minuman kunyit asam memperlihatkan nilai F hitung sebesar 18,88 yang lebih besar dari F tabel pada taraf 5% (3,24) dan 1% (5,29) untuk *Staphylococcus aureus*. Ini berarti ada pengaruh yang sangat nyata antar

konsentrasi kunyit terhadap diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil analisis lanjutan antar konsentrasi dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) menunjukkan perbedaan yang signifikan antar semua konsentrasi yang digunakan tersebut, kecuali antara konsentrasi 0% (kontrol) dengan 10% yang menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan. Sedangkan untuk *Escherichia coli* nilai F hitungnya 3,97 yang lebih besar dari F tabel pada tarat 5% (3,24). Ini berarti ada pengaruh yang nyata antar konsentrasi kunyit terhadap diameter daerah hambatan pertumbuhan *Escherichia coli*. Hasil analisis lanjutan antar konsentrasi dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) menunjukkan perbedaan yang signifikan antara konsentrasi 10% dengan 20% dan 15% dengan 20%, sedangkan antara konsentrasi 0% (kontrol) dengan 10%, 15%, 20% serta 10% dengan 15% menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan.

Dari grafik hubungan konsentrasi kunyit dalam minuman kunyit asam dengan diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* maupun *Escherichia coli* sebelum difermentasi dengan jamur kombu (Gambar 3, 4), terlihat bahwa diameter daerah hambatan rata-rata terbesar dihasilkan oleh minuman kunyit asam dengan konsentrasi kunyit 20%. Kunyit dan asam jawa diduga bekerja sinergis sehingga dihasilkan daya antibakteri yang lebih besar daripada kontrol.

Pada gambar 3, terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi kunyit dalam minuman kunyit asam, diameter daerah hambatan pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yang dihasilkan oleh sampel sesudah difermentasi

konsentrasi kunyit terhadap diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil analisis lanjutan antar konsentrasi dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) menunjukkan perbedaan yang signifikan antar semua konsentrasi yang digunakan tersebut, kecuali antara konsentrasi 0% (kontrol) dengan 10% yang menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan. Sedangkan untuk *Escherichia coli* nilai F hitungnya 3,97 yang lebih besar dari F tabel pada tarat 5% (3,24). Ini berarti ada pengaruh yang nyata antar konsentrasi kunyit terhadap diameter daerah hambatan pertumbuhan *Escherichia coli*. Hasil analisis lanjutan antar konsentrasi dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) menunjukkan perbedaan yang signifikan antara konsentrasi 10% dengan 20% dan 15% dengan 20%, sedangkan antara konsentrasi 0% (kontrol) dengan 10%, 15%, 20% serta 10% dengan 15% menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan.

Dari grafik hubungan konsentrasi kunyit dalam minuman kunyit asam dengan diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* maupun *Escherichia coli* sebelum difermentasi dengan jamur kombu (Gambar 3, 4), terlihat bahwa diameter daerah hambatan rata-rata terbesar dihasilkan oleh minuman kunyit asam dengan konsentrasi kunyit 20%. Kunyit dan asam jawa diduga bekerja sinergis sehingga dihasilkan daya antibakteri yang lebih besar daripada kontrol.

Pada gambar 3, terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi kunyit dalam minuman kunyit asam, diameter daerah hambatan pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yang dihasilkan oleh sampel sesudah difermentasi

konsentrasi kunyit terhadap diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil analisis lanjutan antar konsentrasi dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) menunjukkan perbedaan yang signifikan antar semua konsentrasi yang digunakan tersebut, kecuali antara konsentrasi 0% (kontrol) dengan 10% yang menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan. Sedangkan untuk *Escherichia coli* nilai F hitungnya 3,97 yang lebih besar dari F tabel pada tarat 5% (3,24). Ini berarti ada pengaruh yang nyata antar konsentrasi kunyit terhadap diameter daerah hambatan pertumbuhan *Escherichia coli*. Hasil analisis lanjutan antar konsentrasi dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) menunjukkan perbedaan yang signifikan antara konsentrasi 10% dengan 20% dan 15% dengan 20%, sedangkan antara konsentrasi 0% (kontrol) dengan 10%, 15%, 20% serta 10% dengan 15% menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan.

Dari grafik hubungan konsentrasi kunyit dalam minuman kunyit asam dengan diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* maupun *Escherichia coli* sebelum difermentasi dengan jamur kombu (Gambar 3, 4), terlihat bahwa diameter daerah hambatan rata-rata terbesar dihasilkan oleh minuman kunyit asam dengan konsentrasi kunyit 20%. Kunyit dan asam jawa diduga bekerja sinergis sehingga dihasilkan daya antibakteri yang lebih besar daripada kontrol.

Pada gambar 3, terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi kunyit dalam minuman kunyit asam, diameter daerah hambatan pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yang dihasilkan oleh sampel sesudah difermentasi

konsentrasi kunyit terhadap diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil analisis lanjutan antar konsentrasi dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) menunjukkan perbedaan yang signifikan antar semua konsentrasi yang digunakan tersebut, kecuali antara konsentrasi 0% (kontrol) dengan 10% yang menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan. Sedangkan untuk *Escherichia coli* nilai F hitungnya 3,97 yang lebih besar dari F tabel pada tarat 5% (3,24). Ini berarti ada pengaruh yang nyata antar konsentrasi kunyit terhadap diameter daerah hambatan pertumbuhan *Escherichia coli*. Hasil analisis lanjutan antar konsentrasi dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) menunjukkan perbedaan yang signifikan antara konsentrasi 10% dengan 20% dan 15% dengan 20%, sedangkan antara konsentrasi 0% (kontrol) dengan 10%, 15%, 20% serta 10% dengan 15% menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan.

Dari grafik hubungan konsentrasi kunyit dalam minuman kunyit asam dengan diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* maupun *Escherichia coli* sebelum difermentasi dengan jamur kombu (Gambar 3, 4), terlihat bahwa diameter daerah hambatan rata-rata terbesar dihasilkan oleh minuman kunyit asam dengan konsentrasi kunyit 20%. Kunyit dan asam jawa diduga bekerja sinergis sehingga dihasilkan daya antibakteri yang lebih besar daripada kontrol.

Pada gambar 3, terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi kunyit dalam minuman kunyit asam, diameter daerah hambatan pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yang dihasilkan oleh sampel sesudah difermentasi

konsentrasi kunyit terhadap diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil analisis lanjutan antar konsentrasi dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) menunjukkan perbedaan yang signifikan antar semua konsentrasi yang digunakan tersebut, kecuali antara konsentrasi 0% (kontrol) dengan 10% yang menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan. Sedangkan untuk *Escherichia coli* nilai F hitungnya 3,97 yang lebih besar dari F tabel pada tarat 5% (3,24). Ini berarti ada pengaruh yang nyata antar konsentrasi kunyit terhadap diameter daerah hambatan pertumbuhan *Escherichia coli*. Hasil analisis lanjutan antar konsentrasi dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) menunjukkan perbedaan yang signifikan antara konsentrasi 10% dengan 20% dan 15% dengan 20%, sedangkan antara konsentrasi 0% (kontrol) dengan 10%, 15%, 20% serta 10% dengan 15% menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan.

Dari grafik hubungan konsentrasi kunyit dalam minuman kunyit asam dengan diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* maupun *Escherichia coli* sebelum difermentasi dengan jamur kombu (Gambar 3, 4), terlihat bahwa diameter daerah hambatan rata-rata terbesar dihasilkan oleh minuman kunyit asam dengan konsentrasi kunyit 20%. Kunyit dan asam jawa diduga bekerja sinergis sehingga dihasilkan daya antibakteri yang lebih besar daripada kontrol.

Pada gambar 3, terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi kunyit dalam minuman kunyit asam, diameter daerah hambatan pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yang dihasilkan oleh sampel sesudah difermentasi

konsentrasi kunyit terhadap diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil analisis lanjutan antar konsentrasi dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) menunjukkan perbedaan yang signifikan antar semua konsentrasi yang digunakan tersebut, kecuali antara konsentrasi 0% (kontrol) dengan 10% yang menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan. Sedangkan untuk *Escherichia coli* nilai F hitungnya 3,97 yang lebih besar dari F tabel pada tarat 5% (3,24). Ini berarti ada pengaruh yang nyata antar konsentrasi kunyit terhadap diameter daerah hambatan pertumbuhan *Escherichia coli*. Hasil analisis lanjutan antar konsentrasi dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) menunjukkan perbedaan yang signifikan antara konsentrasi 10% dengan 20% dan 15% dengan 20%, sedangkan antara konsentrasi 0% (kontrol) dengan 10%, 15%, 20% serta 10% dengan 15% menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan.

Dari grafik hubungan konsentrasi kunyit dalam minuman kunyit asam dengan diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* maupun *Escherichia coli* sebelum difermentasi dengan jamur kombu (Gambar 3, 4), terlihat bahwa diameter daerah hambatan rata-rata terbesar dihasilkan oleh minuman kunyit asam dengan konsentrasi kunyit 20%. Kunyit dan asam jawa diduga bekerja sinergis sehingga dihasilkan daya antibakteri yang lebih besar daripada kontrol.

Pada gambar 3, terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi kunyit dalam minuman kunyit asam, diameter daerah hambatan pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yang dihasilkan oleh sampel sesudah difermentasi

dengan jamur kombu semakin kecil. Jika dihitung selisih diameter daerah hambatan oleh sampel sebelum dan sesudah difermentasi, maka besarnya diameter daerah hambatan berkurang dengan peningkatan konsentrasi kunyit. Dari pembahasan sebelumnya, konsentrasi kunyit mempengaruhi pembentukan asam asetat yang berefek antimikroba selama berlangsungnya fermentasi yang dapat dilihat dari selisih nilai total asam yang mengalami penurunan dengan peningkatan konsentrasi kunyit. Ini berarti penurunan jumlah asam asetat mengakibatkan besarnya diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* semakin kecil. Jadi, secara tidak langsung peningkatan konsentrasi kunyit berbanding terbalik dengan besarnya aktivitas antibakteri minuman kunyit asam yang difermentasi dengan jamur kombu. Hal ini didukung oleh hasil analisis data yang menunjukkan adanya interaksi antara konsentrasi kunyit dengan kondisi sampel sebelum dan sesudah fermentasi terhadap diameter daerah hambatan yang dihasilkan.

Berbeda halnya dengan bakteri *Escherichia coli* seperti yang terlihat pada gambar 4. Peningkatan konsentrasi kunyit tidak diikuti dengan semakin kecilnya diameter daerah hambatan pertumbuhan *Escherichia coli* oleh sampel sesudah difermentasi dengan jamur kombu. Diameter daerah hambatan terbesar justru dihasilkan oleh minuman kunyit asam dengan konsentrasi kunyit tertinggi. Jika dihitung selisih diameter daerah hambatan oleh sampel sebelum dan sesudah difermentasi, maka nilainya semakin kecil dengan bertambahnya konsentrasi kunyit, tetapi pada konsentrasi 20%

selisihnya menjadi lebih besar dibandingkan konsentrasi 15%. Ini berarti penurunan jumlah asam asetat tidak diikuti dengan semakin kecilnya diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Hal ini mungkin disebabkan oleh laju difusi bahan aktif yang berbeda serta adanya heterogenitas komposisi serat kertas dari "paper disc" yang menyebabkan sebagian bahan aktif akan terikat pada serat kertas tersebut (29). Hasil analisis data menunjukkan tidak ada interaksi antara konsentrasi kunyit dengan kondisi sampel sebelum dan sesudah fermentasi terhadap diameter daerah hambatan yang dihasilkan.

Diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* oleh minuman kunyit asam dan minuman asam jawa sebagai kontrol sesudah difermentasi dengan jamur kombu lebih besar dibandingkan *Escherichia coli*. Kepekaan bakteri uji yang berbeda terhadap asam asetat disebabkan karena perbedaan sifat fisiologi, komposisi, dan struktur dinding sel antara bakteri gram positif dan gram negatif. *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif yang dinding selnya mengandung lipid dengan persentase yang lebih tinggi dibandingkan kandungan lipid bakteri gram positif seperti *Staphylococcus aureus*. Selain itu, dinding sel bakteri gram positif hanya tersusun atas satu lapisan sel saja, yaitu lapisan peptidoglikan yang relatif tebal; sedangkan bakteri gram negatif mempunyai dua lapisan dinding sel, yaitu lapisan luar yang terdiri atas lipopolisakarida dan protein serta lapisan dalam berupa peptidoglikan yang lebih tipis (24).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Minuman kunyit asam yang difermentasi dengan jamur kombu dengan konsentrasi kunyit 10% memberikan diameter daerah hambatan terbesar terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan dengan konsentrasi kunyit 20% memberikan diameter daerah hambatan terbesar terhadap bakteri *Escherichia coli*.
2. Konsentrasi kunyit mempengaruhi pembentukan asam asetat pada proses fermentasi minuman kunyit asam oleh jamur kombu. Peningkatan konsentrasi kunyit berbanding terbalik dengan besarnya aktivitas antibakteri minuman fermentasi kunyit asam terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

V.2 Saran

Disarankan untuk melakukan analisis kualitatif kandungan kimia kunyit sebelum dan sesudah fermentasi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Winarti, C., Nurdjanah, N. 2005. Peluang Tanaman Rempah dan Obat Sebagai Sumber Pangan Fungsional. *Jurnal Litbang Pertanian*. 24 (2) : 47
2. Wijayakusumah, H. 2001. *Tumbuhan Berkhasiat Obat Indonesia : Rempah, Rimpang, dan Umbi*. Milenia Populer. Jakarta. 157-158.
3. Toumahuw, T.A. 2006. Pengaruh Metode Pengeringan Simplisia Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) Terhadap Efek Antibakteri dari *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*, Fakultas MIPA Universitas Pancasakti. Makassar.
4. Santoso, D., Gunawan, D. 2001. *Ramuan Tradisional untuk Penyakit Kulit*. Penebar Swadaya. Jakarta. 58-60.
5. Utami, N. Tanpa Tahun. *Jamu Gendong-Minuman Tradisional yang Menyehatkan*. www.indonesiamedia.com, diakses April 2007.
6. Naland, H. 2004. *Kombucha : Teh Ajaib Pencegah dan Penyembuh Aneka Penyakit*. Agromedia Pustaka. Jakarta. 2, 8-17, 18-25, 46-55.
7. Frank, G.W. Tanpa Tahun. *The Fascination of Kombucha : Kombucha yang Menakutkan*. www.kombu.de/indones.htm, diakses Maret 2007.
8. Hidayat, N., Padaga, M.C., Suhartini, S. *Mikrobiologi Industri*. Penerbit ANDI. Yogyakarta. 105-106, 168.
9. Irwanto, R. 2004. Uji Daya Hambat dan Analisis KLT-Bioautografi "Jamur Teh" dengan Menggunakan Media Kultur Teh Hijau Asal Malino Terhadap Pertumbuhan Beberapa Mikroba Uji. *Skripsi*, Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin. Makassar.
10. Mulyani, T.P. 2003. Pengaruh Waktu Inkubasi Pada Fermentasi Cairan Kopi dengan Inokulum "Kultur Kombucha" Terhadap Kadar Gula Reduksi, Daya Antibiotik, dan Pembentukan Asam. *Skripsi*, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pengetahuan Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
11. Belloso, G., Morales, Hernandez. H., Sanchez. 2003. Manufacture of a Beverage from Cheese Whey Using a "Tea Fungus" Fermentation. *Revista Latinoamericana de Microbiologia*. 45 (1-2) : 5-11.

12. Aditiwati P., Kusnadi. 2003. Kultur Campuran dan Faktor Lingkungan Mikroorganisme yang Berperan dalam Fermentasi "Tea-Cider". *PROC. ITB Sains & Teknologi*. **35 A (2)** : 147-162.
13. Buckle, A.K., dkk. 1987. *Ilmu Pangan*. Terjemahan oleh Hari Purnomo dan Adiono. Universitas Indonesia Press. Jakarta. 92-96.
14. Fardiaz, S. 1988. *Fisiologi Fermentasi*. Pusat Antar Universitas IPB – Lembaga Sumberdaya Informasi IPB. 46.
15. Frank, G.W. 1995. *Kombucha Healthy Beverage and Natural Remedy from the Far East Its Correct Preparation and Use*. Publishing House Ennsthaler. Great Britain. 40-41, 114-119.
16. Greenwalt, C.J., Ledford, R.A., Steinkraus, K.H. 1999. Determination and Characterization of Antimicrobial Activity of The Fermented Tea Kombucha. *Journal Kombucha* : 1-4.
17. Buchanan, R.E., Gibbons, N.E. 1974. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 8th Edition. The Williams & Wilkins Company. Baltimore. 293-296, 478-487.
18. Pelczar, M.J., Chan, E.C.S. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. UI-Press. Jakarta. 946, 949, 954, 959.
19. Dwidjoseputro, D. 1978. *Pengantar Mikologi*. Edisi Kedua. Penerbit Alumni. Bandung. 292-293.
20. Tjitrosoepomo, G. 2004. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 208-211, 444-445.
21. Wikipedia. Tanpa Tahun. *Kunyit*. <http://id.wikipedia.org/wiki/Kunyit>, diakses Agustus 2007.
22. IPTEKnet. 2005. *Asam Jawa*. www.portaliptek.com, diakses Agustus 2007.
23. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. 1979. *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 12, 689, 733, 748-749.
24. Volk, W.A., Wheeler, M.F. 1990. *Mikrobiologi Dasar*. Terjemahan oleh Adisoemarto. Erlangga. Jakarta.
25. Tan, H.T., Rahardja, K. 2002. *Obat-Obat Penting*. PT Elex Media Komputindo. Jakarta. 63.

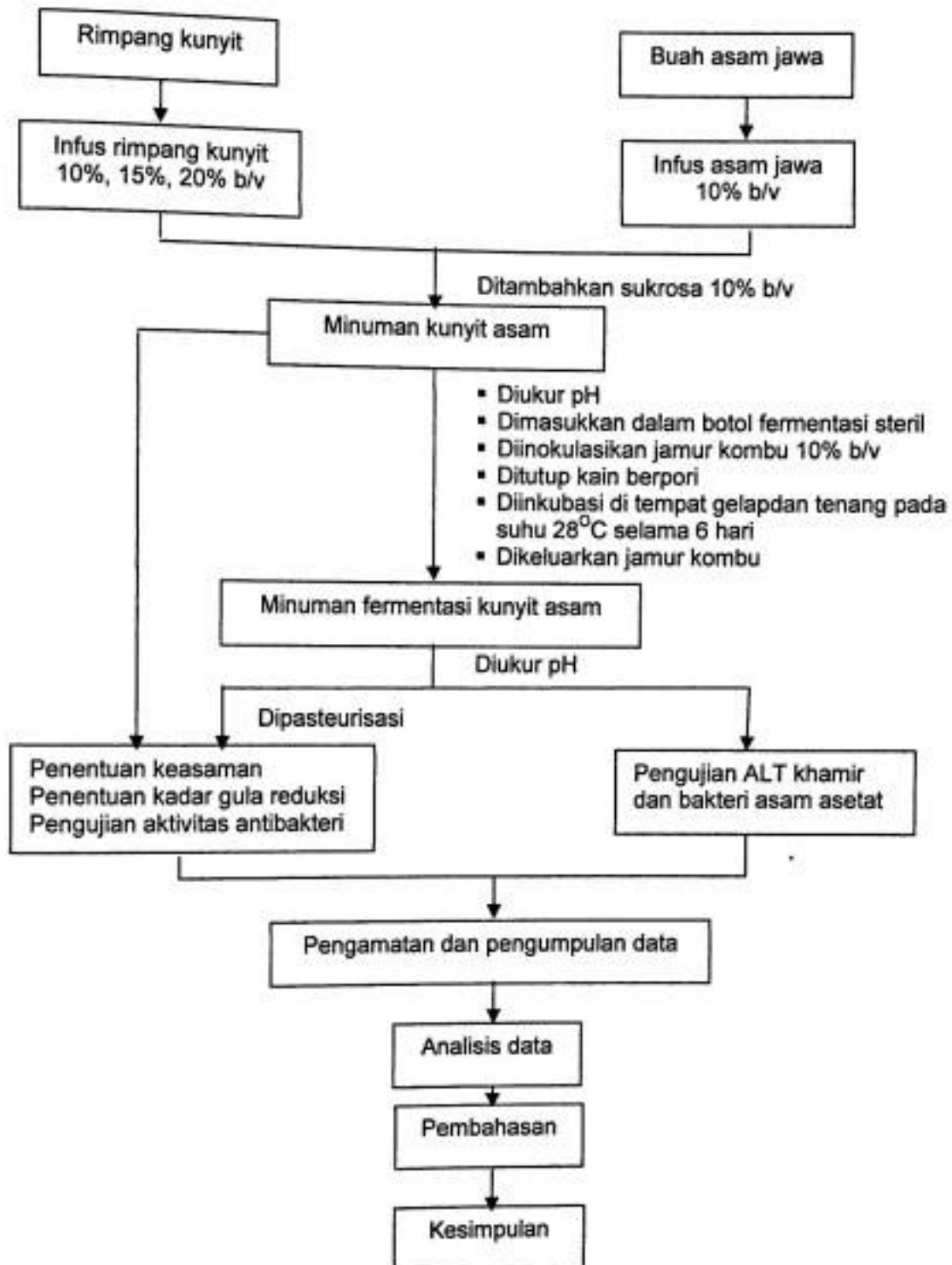


26. Ganiswarna, S.G. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. 572-573.
27. Baker, F. 1987. *Handbook of Bacteriological Technique*. Second Edition. West Minscher Medial School. London 67-75.
28. Cappucino, J., Shemar, N. 1982. *Microbiology A Laboratory Manual*. Addison-Wesley Publishing Company Inc. Canada. 87
29. Lay, B.W. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta.
30. Chen, C., Liu, B.Y. 2000. Changes in Major Components of Tea Fungus Metabolites during Prolonged Fermentation. *Journal of Applied Microbiology*. 89 : 834-839.
31. Fessenden, R.J. 1996. *Dasar-Dasar Kimia Organik*. Terjemahan oleh Sukmariah Maun. Binarupa Aksara. Jakarta. 595-600.
32. Sudarmadji, S., Bambang, H., Suhardi. 1996. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Edisi II. Liberty. Yogyakarta. 79-81.
33. Difco. 1988. *Culture Media Handbook*. E. Merck Darmstad. Federal Republic of Germany.
34. Svehla, G. 1985. *Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro*. Kalman Media Pustaka. Jakarta. 620-635.
35. Hans van Dam. 2006. *Organic Acids and Their Salts*. www.agriworld.nl, diakses Februari 2008.

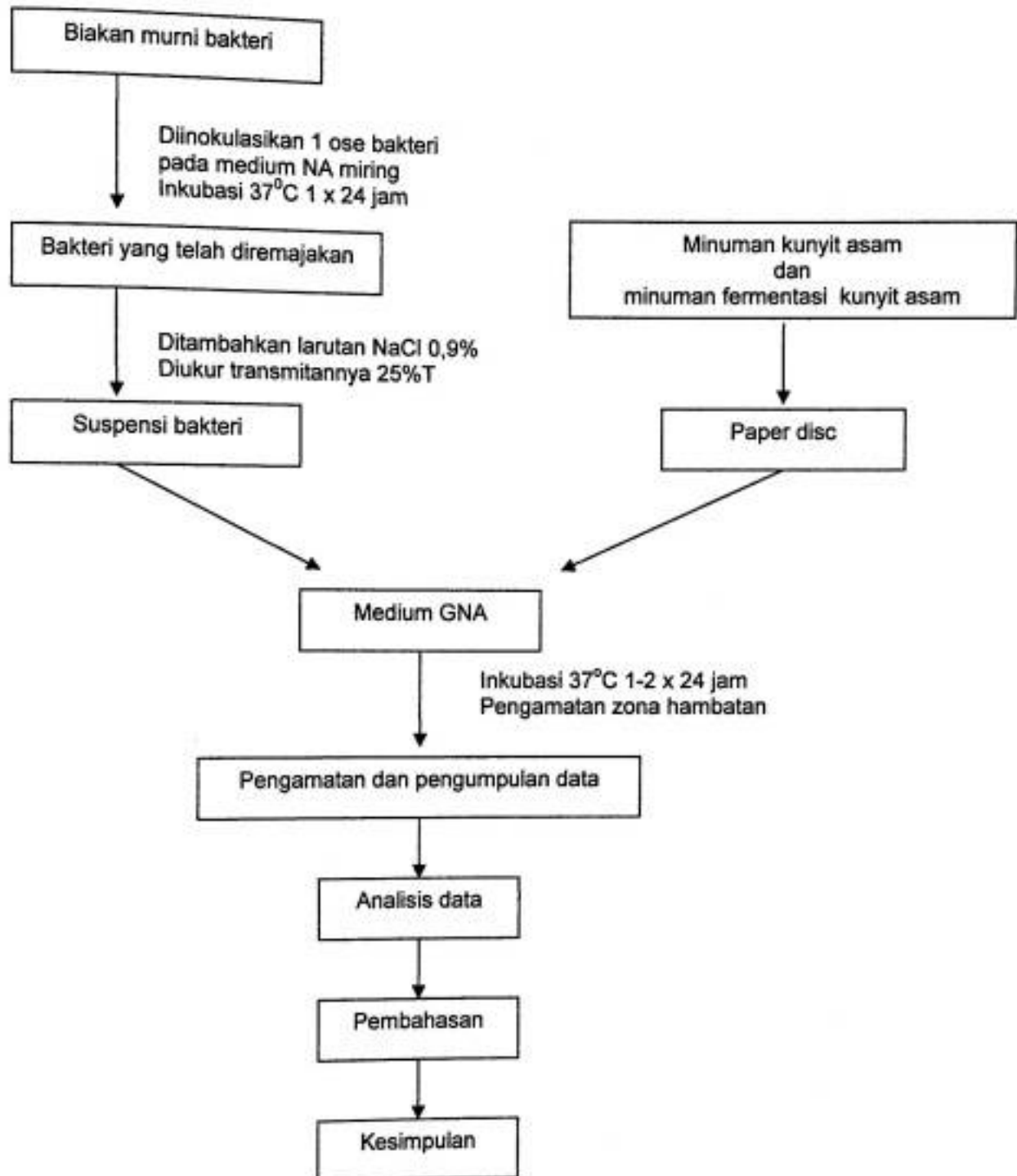
Lampiran 1. Formula Minuman Kunyit Asam

Formula	Komposisi	Konsentrasi	Jumlah
I	Infus rimpang kunyit	10%	100 ml
	Infus asam jawa	10%	100 ml
	Sukrosa	10%	20 g
II	Infus rimpang kunyit	15%	100 ml
	Infus asam jawa	10%	100 ml
	Sukrosa	10%	20 g
III	Infus rimpang kunyit	20%	100 ml
	Infus asam jawa	10%	100 ml
	Sukrosa	10%	20 g

Lampiran 2. Skema Kerja



Skema Kerja Pengujian Aktivitas Antibakteri



Lampiran 3. Analisis Statistika Hasil Perhitungan Nilai ALT Khamir Minuman Kunyit Asam Sesudah Difermentasi dengan Jamur Kombu Menggunakan Metode Rancangan Acak Lengkap (RAL)

Replikasi	Nilai ALT (x 10 ⁴ koloni/ml)				Jumlah
	A	B	C	D	
1	0,9	0,9	1,6	0,7	4,1
2	0,9	1,2	1,3	3,6	7,0
Jumlah	1,8	2,1	2,9	4,3	11,1
Rata-rata	0,90	1,05	1,45	2,15	

$$\begin{aligned} \text{Faktor koreksi (Fk)} &= \frac{(11,1)^2}{4 \times 2} \\ &= 15,40 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Total (JKT)} &= (0,9^2 + 0,9^2 + \dots + 3,6^2) - Fk \\ &= 21,57 - 15,40 \\ &= 6,17 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)} &= \frac{(1,8^2 + 2,1^2 + 2,9^2 + 4,3^2)}{2} - Fk \\ &= 17,28 - 15,40 \\ &= 1,88 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Galat (JKG)} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\ &= 6,17 - 1,88 \\ &= 4,29 \end{aligned}$$

Tabel Analisis Variansi (Anava)

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat	Derajat Bebas	Kuadrat Tengah	F hitung	F tabel	
					5%	1%
Perlakuan	1,88	3	0,63	0,59	6,59	16,7
Galat	4,29	4	1,07			
Total	6,17	7				

Karena $F_h < F_t$ pada taraf 5% dan 1%, maka diantara perlakuan tidak berbeda nyata (tidak signifikan). Jadi, tidak ada pengaruh konsentrasi kunyit terhadap jumlah koloni khamir dalam minuman fermentasi kunyit asam.

$$\text{Nilai tengah } (y) = \frac{12,4}{4 \times 2} = 1,55$$

$$\begin{aligned} \text{Koefisien Keragaman (KK)} &= \frac{\sqrt{KTG}}{y} \times 100\% \\ &= \frac{\sqrt{0,19}}{1,55} \times 100\% = 28,12\% \end{aligned}$$

Analisis Lanjutan dengan Uji Beda Nyata Jarak Duncan (BNJD)

$$R_p = r_{\alpha; p; dbg} \times S_y$$

$$S_y = \sqrt{\frac{KTG}{r}} = \sqrt{\frac{0,19}{2}} = 0,308$$

p	2	3	4
$R_{0,05; p; 4}$	3,93	4,01	4,02
Rp 5%	1,21	1,24	1,24
$R_{0,01; p; 4}$	6,51	6,80	6,90
Rp 1%	2,00	2,09	2,12

Konsentrasi	A	B	C	D
Rata-rata	2,25	1,90	1,80	0,25

Perbandingan antar konsentrasi

Konsentrasi	Selisih	Rp		Keterangan
		5%	1%	
A - B	0,35	1,21	2,00	NS
A - C	0,45	1,24	2,09	NS
A - D	2,00	1,24	2,12	S
B - C	0,10	1,21	2,00	NS
B - D	1,65	1,24	2,09	S
C - D	1,55	1,21	2,00	S

Lampiran 5. Analisis Statistika Hasil Pengukuran Diameter Daerah Hambatan Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* oleh Minuman Kunyit Asam Sebelum dan Sesudah Difermentasi dengan Jamur Kombu Menggunakan Metode Rancangan Faktorial

Kondisi Sampel	Diameter Daerah Hambatan (mm)				Total	Rata-rata
	A	B	C	D		
Sebelum fermentasi	6,95	6,70	6,65	7,50		
	7,00	7,00	7,30	7,65		
	7,15	7,35	7,75	8,50		
Jumlah	21,10	21,05	21,70	23,65	87,50	7,29
Rata-rata	7,03	7,02	7,23	7,88		
Sesudah fermentasi	12,35	11,75	9,35	7,35		
	12,50	11,95	9,75	7,75		
	13,15	12,85	10,50	8,75		
Jumlah	38,00	36,55	29,60	23,85	128,00	10,67
Rata-rata	12,67	12,18	9,87	7,95		
Total	59,10	57,60	51,30	47,50	215,50	
Rata-rata	9,85	9,60	8,55	7,92		

$$\text{Faktor koreksi (Fk)} = \frac{(215,50)^2}{4 \times 2 \times 3} = 1935,01$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Total (JKT)} &= (6,95)^2 + (6,70)^2 + (6,65)^2 + \dots + (8,75)^2 - \text{Fk} \\ &= 2052,00 - 1935,01 \\ &= 116,99 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Konsentrasi (JKC)} &= \frac{(59,10)^2 + (57,60)^2 + (51,30)^2 + (47,50)^2}{2 \times 3} - \text{Fk} \\ &= 1949,75 - 1935,01 \\ &= 14,74 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK Kondisi (JKK)} &= \frac{(87,50)^2 + (128,00)^2}{4 \times 3} - F_k \\
 &= 2003,35 - 1935,01 \\
 &= 68,34
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK Interaksi (JK}_{C-K}) &= \frac{(21,10)^2 + (21,05)^2 + \dots + (23,85)^2}{3} - F_k - \text{JKC} - \text{JKK} \\
 &= 2047,80 - 1935,01 - 14,74 - 68,34 \\
 &= 29,71
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah Kuadrat Galat (JKG)} &= \text{JKT} - \text{JKC} - \text{JKK} - \text{JK}_{C-K} \\
 &= 116,99 - 14,74 - 68,34 - 29,71 \\
 &= 4,20
 \end{aligned}$$

Tabel Analisis Variansi (Anava)

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat	Derajat Bebas	Kuadrat Tengah	F hitung	F tabel	
					5%	1%
Konsentrasi	14,74	3	4,91	18,88	3,24	5,29
Kondisi	68,34	1	68,34	262,85	4,49	8,53
Interaksi	29,71	3	9,90	38,08	3,24	5,29
Galat	4,20	16	0,26			
Total	116,99	23				

- Untuk konsentrasi
 Karena $F_h > F_t$ pada taraf 5% dan 1%, maka diantara perlakuan berbeda sangat nyata (sangat signifikan). Jadi, ada pengaruh konsentrasi kunyit dalam minuman kunyit asam terhadap diameter daerah hambatan pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.
- Untuk kondisi
 Karena $F_h > F_t$ pada taraf 5% dan 1%, maka diantara perlakuan berbeda sangat nyata (sangat signifikan). Jadi, ada pengaruh kondisi sampel terhadap diameter daerah hambatan pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

c. Untuk interaksi

Karena $F_h > F_t$ pada taraf 5% dan 1%, maka berbeda sangat nyata (sangat signifikan). Jadi, interaksi antara konsentrasi kunyit dengan kondisi sampel berpengaruh terhadap diameter daerah hambatan pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

$$\text{Nilai tengah } (y) = \frac{215,5}{4 \times 2 \times 3} = 8,98$$

$$\begin{aligned} \text{Koefisien Keragaman (KK)} &= \frac{\sqrt{KTG}}{y} \times 100\% \\ &= \frac{\sqrt{0,26}}{8,98} \times 100\% \\ &= 5,68\% \end{aligned}$$

Analisis Lanjutan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$\text{BNT} = t_{\alpha/2, \text{dB Galat}} \sqrt{\frac{2(KTG)}{r}}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 5\%} &= t_{0,025, 16} \sqrt{\frac{2 \times 0,26}{6}} \\ &= 2,120 \times 0,29 \\ &= 0,61 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 1\%} &= t_{0,005, 16} \sqrt{\frac{2 \times 0,26}{6}} \\ &= 2,921 \times 0,29 \\ &= 0,85 \end{aligned}$$

Perbandingan antar konsentrasi

Konsentrasi	Rata-rata	Selisih dengan			
		A	B	C	D
		9,85	9,60	8,55	7,92
A	9,85	-	-	-	-
B	9,60	0,25 ^{ns}	-	-	-
C	8,55	1,30 ^s	1,05 ^s	-	-
D	7,92	1,93 ^s	1,68 ^s	0,63 ^s	-

Keterangan :

s = signifikan

ns = tidak signifikan

Lampiran 6. Analisis Statistika Hasil Pengukuran Diameter Daerah Hambatan Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* oleh Minuman Kunyit Asam Sebelum dan Sesudah Difermentasi dengan Jamur Kombu Menggunakan Metode Rancangan Faktorial

Kondisi	Diameter Daerah Hambatan (mm)				Total	Rata-rata
	A	B	C	D		
Sebelum fermentasi	6,70	6,70	7,50	7,75		
	7,35	6,95	7,50	8,05		
	7,85	7,50	8,15	9,15		
Jumlah	21,90	21,15	23,15	24,95	91,15	7,59
Rata-rata	7,30	7,05	7,72	8,32		
Sesudah fermentasi	8,55	7,95	7,85	8,50		
	8,75	8,05	8,15	9,25		
	9,65	9,05	8,50	9,95		
Jumlah	26,95	25,05	24,50	27,70	104,20	8,68
Rata-rata	8,98	8,35	8,17	9,23		
Total	48,85	46,20	47,65	52,65	195,35	
Rata-rata	8,14	7,70	7,94	8,78		

$$\text{Faktor koreksi (Fk)} = \frac{(195,35)^2}{4 \times 2 \times 3} = 1590,07$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Total (JKT)} &= (6,70)^2 + (6,70)^2 + (7,50)^2 + \dots + (9,95)^2 - \text{Fk} \\ &= 1607,29 - 1590,07 \\ &= 17,22 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Konsentrasi (JKC)} &= \frac{(48,85)^2 + (46,20)^2 + (47,65)^2 + (52,65)^2}{2 \times 3} - \text{Fk} \\ &= 1593,88 - 1590,07 \\ &= 3,81 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK Kondisi (JKK)} &= \frac{(91,15)^2 + (104,20)^2}{4 \times 3} - F_k \\
 &= 1597,16 - 1590,07 \\
 &= 7,09
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK Interaksi (JK}_{C-K}) &= \frac{(21,90)^2 + (21,15)^2 + \dots + (27,70)^2}{3} - F_k - \text{JKC} - \text{JKK} \\
 &= 1602,23 - 1590,07 - 3,81 - 7,09 \\
 &= 1,26
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah Kuadrat Galat (JKG)} &= \text{JKT} - \text{JKC} - \text{JKK} - \text{JK}_{C-K} \\
 &= 17,22 - 3,81 - 7,09 - 1,26 \\
 &= 5,06
 \end{aligned}$$

Tabel Analisis Variansi (Anava)

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat	Derajat Bebas	Kuadrat Tengah	F hitung	F tabel	
					5%	1%
Konsentrasi	3,81	3	1,27	3,97	3,24	5,29
Kondisi	7,09	1	7,09	22,16	4,49	8,53
Interaksi	1,26	3	0,42	1,31	3,24	5,29
Galat	5,06	16	0,32			
Total	116,99	23				

- a. Untuk konsentrasi
 Karena $F_h > F_t$ pada taraf 5%, maka diantara perlakuan berbeda nyata (signifikan). Jadi, ada pengaruh konsentrasi kunyit dalam minuman kunyit asam terhadap diameter daerah hambatan pertumbuhan *Escherichia coli*.
- b. Untuk kondisi
 Karena $F_h > F_t$ pada taraf 5% dan 1%, maka diantara perlakuan berbeda sangat nyata (sangat signifikan). Jadi, ada pengaruh kondisi sampel terhadap diameter daerah hambatan pertumbuhan *Escherichia coli*.

c. Untuk interaksi

Karena $F_h < F_t$ pada taraf 5% dan 1%, maka tidak signifikan. Jadi, interaksi antara konsentrasi kunyit dengan kondisi sampel tidak berpengaruh terhadap diameter daerah hambatan pertumbuhan *Escherichia coli*.

$$\text{Nilai tengah } (y) = \frac{195,35}{4 \times 2 \times 3} = 8,14$$

$$\begin{aligned} \text{Koefisien Keragaman (KK)} &= \frac{\sqrt{KTG}}{y} \times 100\% \\ &= \frac{\sqrt{0,32}}{8,14} \times 100\% \\ &= 6,95\% \end{aligned}$$

Analisis Lanjutan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$\text{BNT} = t_{\alpha/2, \text{dB Galat}} \sqrt{\frac{2(KTG)}{r}}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 5\%} &= t_{0,025, 16} \sqrt{\frac{2 \times 0,32}{6}} \\ &= 2,120 \times 0,33 \\ &= 0,69 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 1\%} &= t_{0,005, 16} \sqrt{\frac{2 \times 0,32}{6}} \\ &= 2,921 \times 0,33 \\ &= 0,96 \end{aligned}$$

Perbandingan antar konsentrasi

Konsentrasi	Rata-rata	Selisih dengan			
		A	B	C	D
		8,14	7,70	7,94	8,78
A	8,14	-	-	-	-
B	7,70	0,44 ^{ns}	-	-	-
C	7,94	0,20 ^{ns}	0,24 ^{ns}	-	-
D	8,78	0,64 ^{ns}	1,08 ^s	0,84 ^s	-

Keterangan :

s = signifikan

ns = tidak signifikan

Lampiran 7. Perhitungan Pembakuan

1. Natrium hidroksida (NaOH) 0,1 N

Bobot kalium biftalat ditimbang = 250 mg

Volume titrasi NaOH rata-rata = 12,8 ml

Bobot setara (Bst) = 1 ml NaOH 0,1 N setara dengan 20,42 mg kalium biftalat

$$\begin{aligned} \text{Normalitas NaOH baku} &= \frac{mg \times fk}{Vol \text{ titrasi} \times Bst} \\ &= \frac{250 \times 0,1}{12,8 \times 20,42} \\ &= 0,0956 \text{ N} \end{aligned}$$

2. Natrium tiosulfat (Na₂S₂O₃) 0,1 N

Bobot kalium bikromat ditimbang = 105 mg

Volume titrasi Na₂S₂O₃ rata-rata = 21,45 ml

Bobot setara (Bst) = 1 ml Na₂S₂O₃ 0,1 N setara dengan 4,903 mg kalium bikromat

$$\begin{aligned} \text{Normalitas Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ baku} &= \frac{mg \times fk}{Vol \text{ titrasi} \times Bst} \\ &= \frac{105 \times 0,1}{21,45 \times 4,903} \\ &= 0,0998 \text{ N} \end{aligned}$$

Lampiran 8. Perhitungan Nilai ALT Khamir dan Bakteri Asam Asetat

Contoh perhitungan nilai ALT khamir kelompok A data I :

10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}
74	10	2

Syarat perhitungan ALT untuk khamir = 10-150 koloni

Ada dua data yang masuk range dan berurutan, maka dibandingkan antara pengenceran tertinggi dengan pengenceran terendah :

$$\frac{10 \times 10^3}{74 \times 10^2} = 1,35$$

Karena perbandingannya kurang dari 2, maka hasil pelaporannya diperoleh dengan merata-ratakan jumlah koloni pada dua pengenceran tersebut :

$$\frac{7,4 \times 10^3 + 10 \times 10^3}{2} = 8,7 \times 10^3 \text{ koloni/ml}$$

Untuk bakteri, syarat perhitungan ALT = 30-300 koloni

Lampiran 9. Perhitungan Keasaman

Contoh perhitungan untuk sampel A sebelum fermentasi data I :

Volume sampel = 10 ml

Normalitas NaOH = 0,0956 N

Volume titrasi = 9,5 ml

$$\begin{aligned} \text{Keasaman (nilai total asam)} &= \frac{\text{Vol.titrasi} \times N \text{ NaOH}}{\text{Vol.sampel}} \times 1000 \\ &= \frac{9,5 \text{ ml} \times 0,0956 \text{ N}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \\ &= 90,82 \text{ mEq/l} \end{aligned}$$

Lampiran 10. Tabel Luff Schoorl untuk Penentuan Kadar Gula Reduksi (Glukosa dan Fruktosa)

ml 0,1 N Na-tiosulfat	Banyaknya Gula Reduksi (mg)	Derajat Deviasi (Δ)
1	2,4	2,4
2	4,8	2,4
3	7,2	2,5
4	9,7	2,5
5	12,2	2,5
6	14,7	2,5
7	17,2	2,6
8	19,8	2,6
9	22,4	2,6
10	25,0	2,6
11	27,6	2,7
12	30,3	2,7
13	33,0	2,7
14	35,7	2,8
15	38,5	2,8
16	41,3	2,9
17	44,2	2,9
18	47,1	2,9
19	50,0	3,0
20	53,0	3,0
21	56,0	3,1
22	59,1	3,1
23	62,2	

Lampiran 11. Perhitungan Kadar Gula Reduksi

Contoh perhitungan untuk sampel A sebelum fermentasi data I :

Volume sampel = 10 ml

Normalitas $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 = 0,0998 \text{ N}$

Volume titrasi blanko = 10,2 ml

Volume titrasi sampel = 4,7 ml

Volume akhir = 10,2 ml - 4,7 ml

= 5,5 ml

Volume titrasi untuk 0,1 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 = \text{Vol.akhir} \times \frac{N \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3}{0,1 \text{ N}}$

$$= 5,5 \text{ ml} \times \frac{0,0998 \text{ N}}{0,1 \text{ N}}$$

$$= 5,489 \text{ ml}$$

Derajat deviasi (Δ) = 2,5

Banyaknya gula reduksi (dari tabel Luff Schoorl)

$$= 12,2 \text{ mg} + (0,489 \times 2,5)$$

$$= 13,4225 \text{ mg}$$

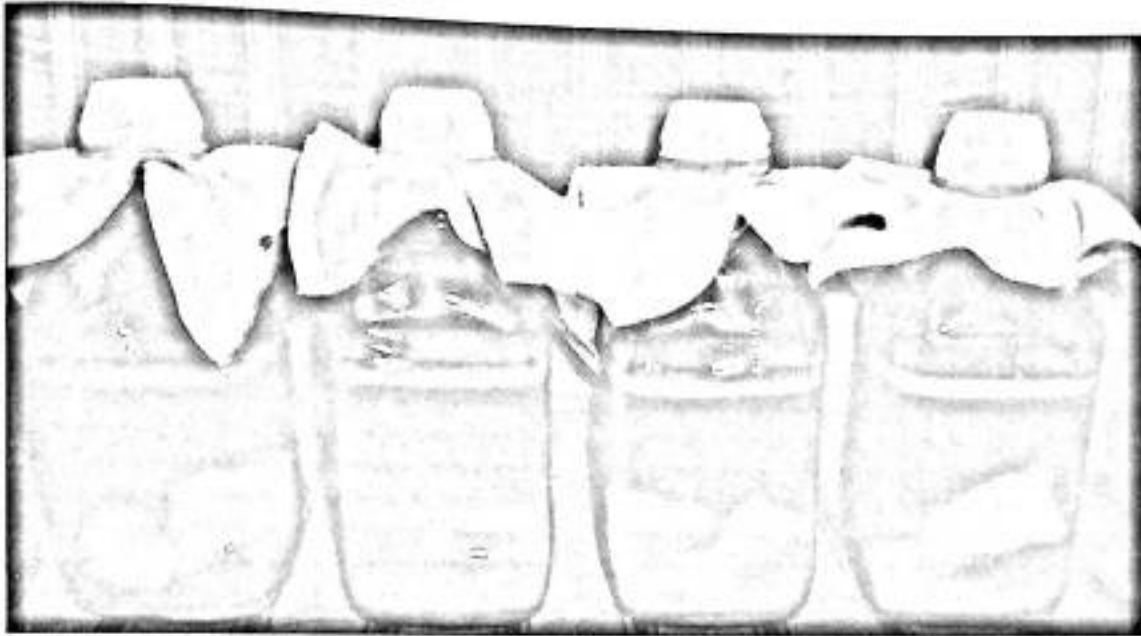
$$= 0,0134225 \text{ g}$$

Faktor pengenceran (fp) = 20

Kadar gula reduksi (%b/v) = $\frac{\text{Banyaknya gula reduksi (g)} \times \text{fp}}{\text{Volume sampel (ml)}} \times 100\%$

$$= \frac{0,0134225 \text{ g} \times 20}{10 \text{ ml}} \times 100\%$$

$$= 2,68\%$$

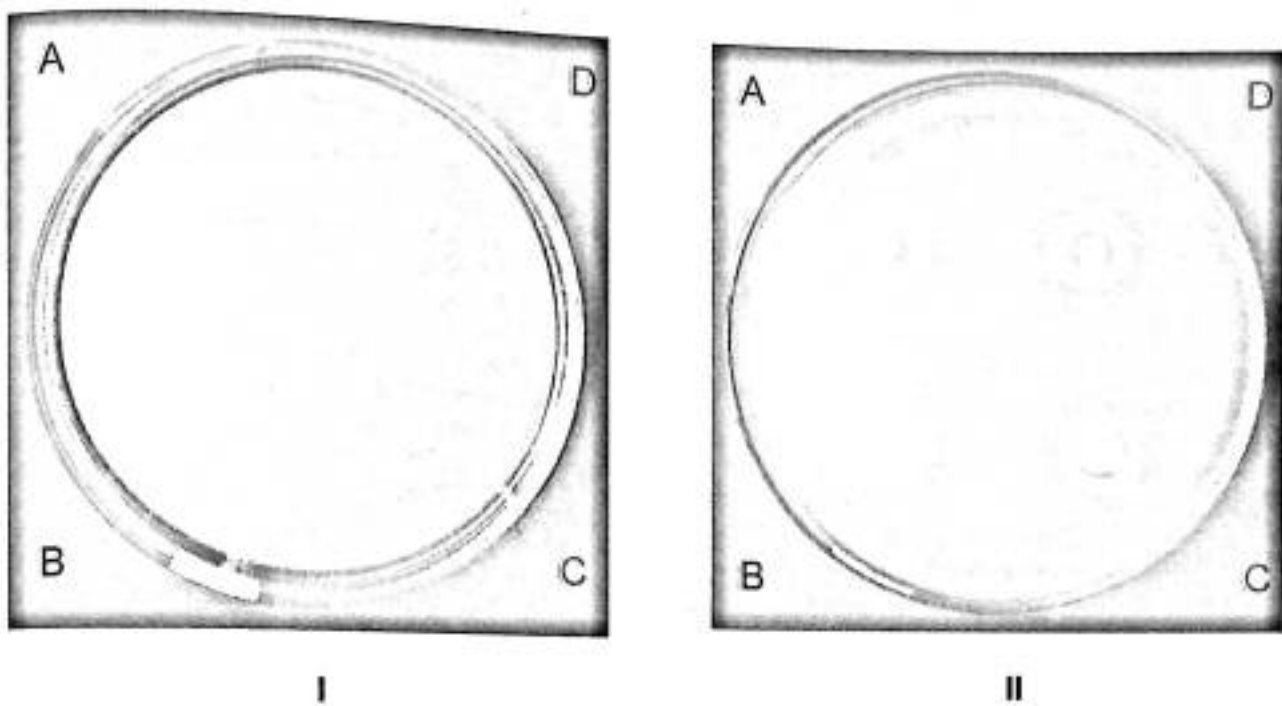


A B C D

Gambar 5. Fermentasi minuman kunyit asam oleh jamur kombu

Keterangan :

- A = Minuman asam jawa (kontrol)
- B = Minuman kunyit asam dengan konsentrasi kunyit 10%
- C = Minuman kunyit asam dengan konsentrasi kunyit 15%
- D = Minuman kunyit asam dengan konsentrasi kunyit 20%



Gambar 6. Foto daerah hambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* oleh minuman kunyit asam sebelum dan sesudah difermentasi dengan jamur kombu

Keterangan :

I = Sebelum fermentasi

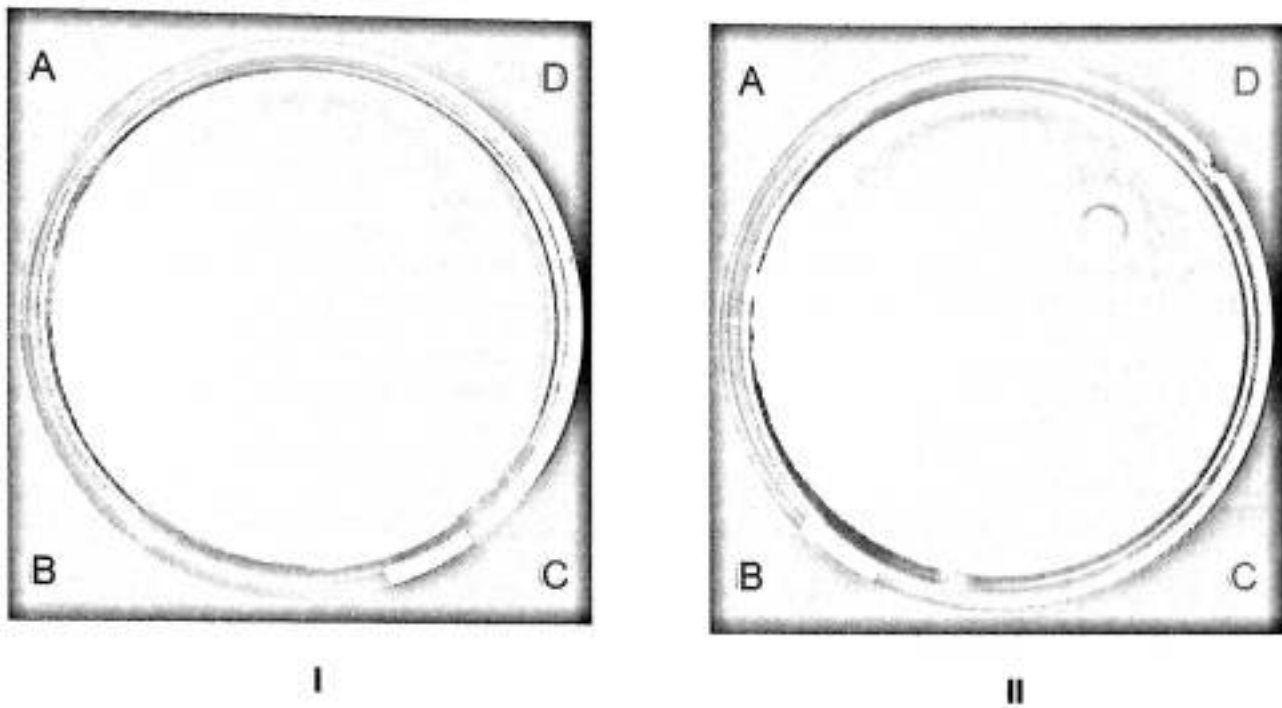
II = Sesudah fermentasi

A = Minuman asam jawa (kontrol)

B = Minuman kunyit asam dengan konsentrasi kunyit 10%

C = Minuman kunyit asam dengan konsentrasi kunyit 15%

D = Minuman kunyit asam dengan konsentrasi kunyit 20%



Gambar 7. Foto daerah hambatan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* oleh minuman kunyit asam sebelum dan sesudah difermentasi dengan jamur kombu

Keterangan :

I = Sebelum fermentasi

II = Sesudah fermentasi

A = Minuman asam jawa (kontrol)

B = Minuman kunyit asam dengan konsentrasi kunyit 10%

C = Minuman kunyit asam dengan konsentrasi kunyit 15%

D = Minuman kunyit asam dengan konsentrasi kunyit 20%