

**KARAKTERISTIK FISIKO KIMIA KOMBUCHA BERBAHAN DASAR TEH
DAUN PINUS (*Pinus merkusii*) DAN TEH BUNGA ROSELLA (*Hibiscus
sabdariffa* Linn)**



**TRI SETYO WIBOWO PUTRA
G031 19 1084**



**PROGRAM STUDI ILMU DAN TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**KARAKTERISTIK FISIKO KIMIA KOMBUCHA BERBAHAN DASAR TEH
DAUN PINUS (*Pinus merkusii*) DAN TEH BUNGA ROSELLA (*Hibiscus
sabdariffa* Linn)**

**TRI SETYO WIBOWO PUTRA
G031 19 1084**



**PROGRAM STUDI ILMU DAN TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**PHYSICAL AND CHEMICAL CHARACTERISTICS OF KOMBUCHA BASED
ON PINE LEAF TEA (*Pinus merkusii*) AND ROSELLA FLOWER TEA
(*Hibiscus sabdariffa* Linn)**

**TRI SETYO WIBOWO PUTRA
G031 19 1084**



**FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY STUDY PROGRAM
FACULTY OF AGRICULTURE
HASANUDDIN UNIVERSITY
MAKASSAR, INDONESIA
2024**

**KARAKTERISTIK FISIKO KIMIA KOMBUCHA BERBAHAN DASAR TEH
DAUN PINUS (*Pinus merkusii*) DAN TEH BUNGA ROSELLA (*Hibiscus
sabdariffa* Linn)**

**TRI SETYO WIBOWO PUTRA
G031 19 1084**

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana

Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan

pada

**PROGRAM STUDI ILMU DAN TEKNOLOGI PANGAN
DEPARTEMEN TEKNOLOGI PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

LEMBAR PENGESAHAN

Judul Skripsi : Karakteristik Fisiko Kimia Kombucha Berbahan Dasar Teh Daun Pinus (*Pinus merkusii*) dan Teh Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn)

Nama : Tri Setyo Wibowo Putra

NIM : G031 19 1084

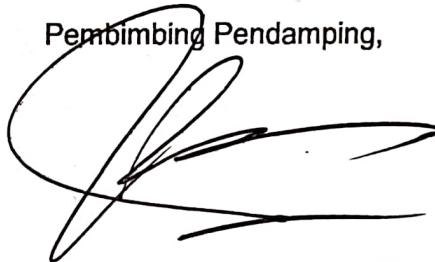
Disetujui oleh:

Pembimbing Utama,



Dr. Ir. Andi Hasizah, M.Si
NIP. 19680522 201508 2 001

Pembimbing Pendamping,



Prof. Dr. Ir. Amran Laga, MS
NIP. 19621231 198803 1 020

Diketahui oleh:

Ketua Program Studi,



Dr. Ir. A. Nur Faidah Rahman, S.TP., M.Si
NIP. 19830428 200812 2 002

Tanggal lulus: 19 Agustus 2024

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "Karakteristik Fisiko Kimia Kombucha Berbahan Dasar Teh Daun Pinus (*Pinus merkusii*) dan Teh Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn)" benar adalah karya saya dengan arahan dari pembimbing **Dr. Ir. Andi Hasizah, M.Si. dan Prof. Dr. Ir. Amran Laga, Ms.** Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, Oktober 2024



Tri Setyo Wibowo Putra
G031 19 1084

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan Syukur bagi Tuhan Yesus Kristus atas segala anugerah dan kemurahan serta kasih setia-Nya yang begitu besar dan selalu menyertai sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “**Karakteristik Fisiko Kimia Kombucha Berbahan Dasar Teh Daun Pinus (*Pinus merkusii*) dan Teh Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn)**” Sebagai salah satu persyaratan dalam menyelesaikan studi guna mendapatkan gelar Sarjana Teknologi Pertanian (S.TP) pada program strata satu (S1) Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari bahwa dalam proses penelitian dan penyusunan skripsi ini banyak mengalami kendala, namun berkat bimbingan dan kerjasama dari berbagai pihak, Penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada orang yang sangat berperan penting dalam hidup penulis, yaitu Bapak **Isak Allo** dan Ibu **Elis Banne** selaku orang tua atas segala dukungan dan doa yang tidak pernah berhenti untuk keberhasilan Penulis hingga dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada kakak-kakak tercinta penulis yaitu **Lisa** dan **Edryan** serta adik **Angelin** yang selalu mendukung dan memberikan semangat agar selalu terus berjuang menyelesaikan perkuliahan Penulis.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari keterlibatan berbagai pihak yang senantiasa membantu dan membimbing Penulis, untuk itu Penulis mengucapkan mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada seluruh pihak yang telah terlibat dalam penyusunan skripsi ini, diantaranya:

1. **Prof. Ir. Salengke, M.Sc** selaku Dekan Fakultas Pertanian yang telah memberi kesempatan kepada penulis untuk menuntut ilmu dan mencari pengalaman serta menyelesaikan Pendidikan Program Sarjana di Universitas Hasanuddin, Makassar.
2. **Dr. Suhardi, S.TP., MP** selaku Ketua Departemen Teknologi Pertanian yang telah memberikan kesempatan kepada Penulis untuk menyelesaikan program sarjana di Universitas Hasanuddin, Makassar.
3. **Dr. Ir. Andi Nur Faidah Rahman, S.TP., M.Si** selaku Ketua Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, yang telah memberikan izin kepada Penulis untuk belajar serta melaksanakan penelitian di laboratorium ilmu dan teknologi pangan, Universitas Hasanuddin, Makassar.
4. **Ibu Dr. Ir. Andi Hasizah, M.Si** selaku pembimbing pertama yang senantiasa memberikan arahan, memberikan masukan, memberikan ilmu dan solusi kepada penulis terhadap penelitian ini, selain itu Penulis juga ingin mengucapkan banyak terima kasih kepada Ibu yang sudah memberikan semangat dan mengingatkan penulis untuk tidak menyerah dalam menyusun skripsi ini.
5. **Bapak Prof. Dr. Ir. Amran Laga, MS** selaku pembimbing kedua yang telah banyak memberikan arahan, saran dan ilmu yang bermanfaat kepada Penulis selama penyusunan skripsi ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
6. **Segenap Dosen dan Staf Akademik** yang telah memberikan fasilitas, layanan, serta ilmu pembelajaran selama Penulis berkuliah di Universitas Hasanuddin.

7. **Kak Nisa, Ibu Hasmi, Ibu Nana** selaku Teknisi Laboratorium yang membantu dan membimbing Penulis selama penelitian di laboratorium.
8. Sahabat nongkrong dan melawak di pelawak hewani **Gabriel, Eki, Felixs, Suho, Maul, Anshi, Gloria, Tania dan Ardel** yang telah menyemangati dan menasehati Penulis supaya cepat-cepat wisuda.
9. Teman-teman seperjuangan selama penelitian **Ucup, Asysa, Nurul Muqaima, Yumastira, Marwah, Elok, Sarmila, Tania Amanda, Annisa** yang telah menemani dan menghibur Penulis dikala kesulitan selama penelitian.
10. Teman-teman KKN **Tenri Wulengsari, Fadil, Alif, Wiwi, Ica, Ida** yang selalu menanyakan kepada Penulis “Kapan Wisuda?”, sehingga menjadi motivasi bagi penulis untuk segera menyelesaikan skripsi ini.
11. Sahabat salam sukses **Raihan dan Pika** yang telah memberikan dukungan dan telah menyemangati serta menemani Penulis selama masa perkuliahan penulis.
12. Sahabat **Ilmu dan Teknologi Pangan 2019** yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu namanya, terima kasih karena telah menemani dan menyemangati selama masa perkuliahan Penulis.
13. Teman-teman **PISTON 19** dan keluarga besar KMD TP UH yang sangat keren dan telah menjadi keluarga dan tempat menimba ilmu selama perkuliahan Penulis.
14. Teman-teman SMA Penulis yang berada di makassar **Frenky, Wandu, Adi, Ciko** yang selalu mendukung dan mengajak Penulis untuk segera menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari dalam penulisan Skripsi ini masih terdapat kekurangan yang perlu disempurnakan dengan saran dan kritikan yang membangun dari semua pihak. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bukan hanya bagi penulis tapi juga bermanfaat dan memberikan informasi bagi para pembaca.

Penulis,

Tri Setyo Wibowo Putra

ABSTRAK

Tri Setyo Wibowo Putra. Karakteristik Fisiko Kimia Kombucha Berbahan Dasar Teh Daun Pinus (*Pinus merkusii*) dan Teh Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn). Dibimbing oleh Andi Hasizah dan Amran Laga.

Latar Belakang, Teh dari daun pinus (*Pinus merkusii*) dan teh bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn) mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin dan antosianin yang tinggi serta asam organik lainnya yang berfungsi sebagai antioksidan untuk menangkal radikal bebas. Teh kombucha adalah teh hasil fermentasi menggunakan SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*), yang merupakan gabungan dari bakteri dan khamir. Proses fermentasi ini akan mentransformasikan kandungan gula menjadi senyawa asam organik yang bermanfaat untuk kesehatan tubuh. **Tujuan,** untuk mengetahui perbandingan terbaik dari pencampuran teh daun pinus dan teh bunga rosella dan untuk mengetahui lama fermentasi terbaik pada pembuatan kombucha teh daun pinus dan teh bunga rosella serta untuk mengetahui karakteristik fisiko kimia kombucha teh daun pinus dan teh bunga rosella. **Metode,** penelitian ini dilakukan dalam tiga tahapan yaitu penelitian tahap satu dilakukan untuk mengetahui perbandingan pencampuran terbaik dari teh daun pinus dan teh bunga rosella, penelitian tahap dua dilakukan untuk mengetahui lama fermentasi terbaik kombucha teh daun pinus dan teh bunga rosella dan penelitian tahap 3 dilakukan untuk mengetahui pengaruh penggunaan konsentrasi gula terhadap karakteristik fisiko kimia kombucha teh daun pinus dan teh bunga rosella. **Hasil,** pada tahap pertama, hasil uji organoleptik parameter warna 2,72-3,56, parameter aroma 3,16-3,24 dan parameter rasa 3,32-3,79. Pada tahap kedua, hasil uji nilai pH 1,81-3,16, hasil uji total plate count (TPC) 1,23-5,72 log CFU/ml dan hasil uji total gula 1,92-12,46%. Pada tahap ketiga, hasil uji nilai pH 2,02-2,22, total asam 1,23-1,37%, total plate count (TPC) antara 2,56-4,48 log CFU/ml dan total gula 1,99-8,97% serta aktivitas antioksidan (IC_{50}) 11,04-4,49. Selain itu, hasil uji organoleptik parameter warna 3,58-3,74, parameter aroma 2,75-2,88 dan parameter rasa 2,70-3,51. **Kesimpulan,** perbandingan terbaik dari pencampuran teh daun pinus dan teh bunga rosella yaitu 50%:50%, dimana formulasi ini memiliki rasa yang lebih disukai dibandingkan dengan formulasi 75%:25% dan 25%:75% sedangkan warna dan aromanya tidak berbeda jauh. Lama fermentasi terbaik selama 6 hari yang memiliki pH 2,22, total plate count (TPC) 4,04 log CFU/ml dan total gula 5,71%. Karakteristik fisik dari kombucha teh daun pinus pinus merkusii dan teh bunga rosella yaitu memiliki warna merah terang, beraroma asam dan rasanya asam dan manis. Sifat kimia dari kombucha teh daun pinus dan teh bunga rosella yaitu memiliki pH di bawah 3 sehingga belum memenuhi syarat, total plate count (TPC) berada di bawah 8,46 log CFU/ml, sehingga belum memenuhi syarat, penggunaan konsentrasi gula 15% telah memenuhi syarat total gula kombucha dan nilai aktivitas antioksidan (IC_{50}) di bawah 50, yang menunjukkan bahwa kombucha teh daun pinus dan teh bunga rosella memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

Kata Kunci: Fermentasi, kombucha, pinus, rosella.

ABSTRACT

Tri Setyo Wibowo Putra. *Physical And Chemical Characteristics of Kombucha Based On Pine Leaf Tea (Pine merkusii) And Rosella Flower Tea (Hibiscus sabdariffa Linn)*. Supervised by Andi Hasizah dan Amran Laga.

Background, Tea from pine leaves (*Pinus Merkusii*) and rosella flower tea (*Hibiscus sabdariffa* Linn) contain flavonoid compounds, tannins, saponins, high anthocyanins and other organic acids that function as antioxidants to ward off free radicals. Kombucha tea is fermented tea using SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*) which is a combination of bacteria and yeast. This fermentation process will transform the sugar content into organic acid compounds that are beneficial for body health.. **This study aims,** to determine the best ratio of mixing pine leaf tea and rosella flower tea and to determine the best fermentation time in making kombucha of pine leaf tea and rosella flower tea and to determine the chemical physicochemical characteristics of kombucha of pine leaf tea and rosella flower tea. **The method,** this research was conducted in three stages, namely stage one research was conducted to determine the best mixing ratio of pine leaf tea and rosella flower tea, stage two research was conducted to determine the best fermentation duration of pine leaf tea kombucha and rosella flower tea and stage 3 research was conducted to determine the effect of the use of sugar concentration on the physico-chemical characteristics of pine leaf tea kombucha and rosella flower tea. **The results,** in the first stage, the organoleptik test results of color parameters 2.72-3.56, aroma parameters 3.16-3.24 and taste parameters 3.32-3.79. In the second stage, the pH value test results were 1.81-3.16, total plate count (TPC) test results were 1.23-5.72 log CFU/ml and total sugar test results were 1.92-12.46%. In the third stage, the test results of pH value 2.02-2.22, total acid 1.23-1.37%, total plate count (TPC) between 2.56-4.48 log CFU/ml and total sugar 1.99-8.97% and antioxidant activity (IC_{50}) 11.04-4.49. In addition, the organoleptik test results of color parameters were 3.58-3.74, aroma parameters were 2.75-2.88 and taste parameters were 2.70-3.51. **Conclusion,** the best ratio of mixing pine leaf tea and rosella flower tea is 50%:50%, where this formulation has a more preferred taste compared to the 75%:25% and 25%:75% formulations while the color and aroma are not much different. The best fermentation time was 6 days with pH 2.22, total plate count (TPC) 4.04 log CFU/ml and total sugar 5.71%. The physical characteristics of kombucha tea from *Pinus merkusii* pine leaves and rosella flower tea are bright red color, sour aroma and sour and sweet taste. The chemical properties of pine leaf tea kombucha and rosella flower tea are pH below 3 so that it has not met the requirements, total plate count (TPC) is below 8.46 log CFU / ml, so it has not met the requirements, the use of 15% sugar concentration has met the requirements of total sugar kombucha and antioxidant activity value (IC_{50}) below 50, which indicates that pine leaf tea kombucha and rosella flower tea have very strong antioxidant activity.

Keywords: Fermentation, kombucha, pine, rosella.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
PERNYATAAN PENGAJUAN.....	iv
HALAMAN PENGESAHAN.....	v
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA.....	vi
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xivv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan masalah.....	3
1.3 Tujuan dan Manfaat.....	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB II. METODE PENELITIAN	4
2.1 Tempat dan Waktu Penelitian	4
2.2 Alat dan Bahan	4
2.3 Prosedur Penelitian	4
2.3.1 Pembuatan teh daun pinus dan teh bunga rosella	4
2.3.2 Pembuatan Teh	4
2.4 Desain Penelitian.....	4
2.4.1 Tahap I.....	4
2.4.2 Tahap II.....	5
2.4.3 Tahap III.....	5
2.5 Parameter Pengujian.....	5
2.5.1 Uji Organoleptik	5
2.5.2 Uji pH.....	5
2.5.3 Uji Total Asam (Cholidah, 2020).....	6

2.5.4 Uji <i>Total plate count</i> (PCA) (Putri, 2018)	6
2.5.5 Uji Total Gula Reduksi (Ramadhani <i>et al</i> , 2017)	6
2.5.6 Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode konsentrasi inhibisi (IC ₅₀)	7
2.6 Pengolahan Data	8
BAB III. HASIL DAN PEMBAHASAN	10
3.1 Penentuan Formulasi Teh Daun Pinus dan Teh Bunga Rosella Terbaik.....	10
3.1.1 Uji Organoleptik Warna Formulasi Teh Daun Pinus dan Teh Bunga Rosella	10
3.1.2 Uji Organoleptik Aroma Formulasi Teh Daun Pinus dan Teh Bunga Rosella	11
3.1.3 Uji Organoleptik Rasa Formulasi Teh Daun Pinus dan Teh Bunga Rosella	12
3.2 Penentuan Waktu Fermentasi Terbaik Pada Kombucha Teh Daun Pinus Dan Teh Bunga Rosella.....	13
3.2.1 Nilai pH Berdasarkan Lama Fermentasi Kombucha Teh Daun Pinus dan Teh Bunga Rosella	13
3.2.2 Total Gula Berdasarkan Lama Fermentasi Kombucha Teh Daun Pinus dan Teh Bunga Rosella	14
3.2.3 <i>Total plate count</i> (TPC) Berdasarkan Lama Fermentasi Kombucha Teh Daun Pinus dan Teh Bunga Rosella	16
3.3 Konsentrasi Gula Terbaik Pada Kombucha Teh Daun Pinus Dan Teh Bunga Rosella.....	17
3.3.1 Nilai pH Berdasarkan Konsentrasi Gula Kombucha Teh Daun Pinus dan Teh Bunga Rosella	17
3.3.2 Total Asam Berdasarkan Konsentrasi Gula Kombucha Teh Daun Pinus dan Teh Bunga Rosella	19
3.3.3 Total Gula Berdasarkan Konsentrasi Gula Kombucha Teh Daun Pinus dan Teh Bunga Rosella	20
3.3.4 <i>Total plate count</i> (TPC) Berdasarkan Konsentrasi Gula Kombucha Teh Daun Pinus dan Teh Bunga Rosella	21
3.3.5 Aktivitas Antioksidasi (IC ₅₀) Berdasarkan Konsentrasi Gula Kombucha Teh Daun Pinus dan Teh Bunga Rosella.....	22
3.3.6 Uji Organoleptik Berdasarkan Konsentrasi Gula Kombucha Teh Daun Pinus dan Teh Bunga Rosella	24

BAB IV. PENUTUP	28
4.1 Kesimpulan	28
4.2 Saran	28
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN	33
RIWAYAT HIDUP	43

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Prosedur Penelitian.....	9
Gambar 2. Pengaruh Perbandingan Teh Daun pinus dan Teh Bunga Rosella Terhadap Nilai Warna Produk	10
Gambar 3. Pengaruh Perbandingan Teh Daun Pinus dan Teh Bunga Rosella Terhadap Nilai Aroma Produk	11
Gambar 4. Pengaruh Perbandingan Teh Daun Pinus dan Teh Bunga Rosella Terhadap Nilai Aroma produk.....	12
Gambar 5. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Nilai pH Kombucha.....	13
Gambar 6. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Total Gula Kombucha.....	15
Gambar 7. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Total plate count (TPC) Kombucha.....	16
Gambar 8. Pengaruh Konsentrasi Gula Terhadap Nilai pH Kombucha	18
Gambar 9. Pengaruh Konsentrasi Gula Terhadap Total Asam Kombucha.....	19
Gambar 10. Pengaruh Konsentrasi Gula Terhadap Total Gula Kombucha	20
Gambar 11. Pengaruh Konsentrasi Gula Terhadap Total plate count (TPC) Kombucha.....	22
Gambar 12. Pengaruh Konsentrasi Gula Terhadap Aktivitas Antioksidan (IC ₅₀) Kombucha.....	23
Gambar 13. Pengaruh Konsentrasi Gula Terhadap Nilai Warna Kombucha	24
Gambar 14. Pengaruh Konsentrasi Gula Terhadap Nilai Aroma Kombucha	25
Gambar 15. Pengaruh Konsentrasi Gula Terhadap Nilai Rasa Kombucha	26

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Tabel Hasil Pengujian Organoleptik Warna Formulasi Teh Daun Pinus : Teh Bunga Rosella	33
Lampiran 2.	Tabel Hasil Pengujian Organoleptik Aroma Formulasi Teh Daun Pinus : Teh Bunga Rosella.	33
Lampiran 3.	Tabel Hasil Pengujian Organoleptik Rasa Formulasi Teh Daun Pinus : Teh Bunga Rosella.	33
Lampiran 4a.	Tabel Hasil Pengujian pH Berdasarkan Lama Fermentasi Kombucha.....	33
Lampiran 4b.	Hasil Anova Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap pH Kombucha	34
Lampiran 4c.	Hasil Uji Lanjut Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap pH Kombucha.....	34
Lampiran 5a.	Tabel Hasil Pengujian Total Gula Berdasarkan Lama Fermentasi Kombucha.....	34
Lampiran 5b.	Hasil Anova Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Total Gula Kombucha.....	35
Lampiran 5c.	Hasil Uji Lanjut Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Total Gula Kombucha.....	35
Lampiran 6a.	Tabel Hasil Pengujian Total plate count (TPC) Berdasarkan Lama Fermentasi Kombucha (log CFU/ml).....	35
Lampiran 6b.	Hasil Anova Pengaruh Lama Terhadap <i>Total plate count</i> (TPC) Kombucha (log CFU/ml)	36
Lampiran 6c.	Hasil Uji Lanjut Pengaruh Lama Terhadap <i>Total plate count</i> (TPC) Kombucha (log CFU/ml)	36
Lampiran 7a.	Tabel Hasil Pengujian Nilai pH Berdasarkan Konsentrasi Gula	36
Lampiran 7b.	Hasil Anova Pengaruh Konsentrasi Gula Terhadap Nilai pH Kombucha.....	36
Lampiran 7c.	Hasil Uji Lanjut Pengaruh Konsentrasi Gula Terhadap Nilai pH.....	37
Lampiran 8a.	Tabel Hasil Pengujian Total Asam Berdasarkan Konsentrasi Gula Kombucha	37
Lampiran 8b.	Hasil Anova Pengaruh Konsentrasi Gula Terhadap Total Asam Kombucha.....	37
Lampiran 8c.	Hasil Uji Lanjut Pengaruh Konsentrasi Gula Terhadap Total Asam Kombucha.....	38
Lampiran 9a.	Tabel Hasil Pengujian Total Gula Berdasarkan Konsentrasi Gula Kombucha.....	38
Lampiran 9b.	Hasil Anova Pengaruh Konsentrasi Gula Terhadap Total Gula Kombucha.....	38
Lampiran 9c.	Hasil Uji Lanjut Pengaruh Konsentrasi Gula Terhadap Total Gula Kombucha.....	38
Lampiran 10a.	Tabel Hasil Pengujian Total plate count (TPC) Berdasarkan Konsentrasi Gula Kombucha (Log CFU/ml)	39

Lampiran 10b. Hasil Anova Pengaruh Konsentrasi Gula Terhadap <i>Total plate count</i> (TPC) Kombucha (Log CFU/ml)	39
Lampiran 11a. Tabel Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan (IC ₅₀) Berdasarkan Konsentrasi Gula Kombucha.....	39
Lampiran 11b. Hasil Anova Pengaruh Konsentrasi Gula Terhadap Aktivitas Antioksidan (IC ₅₀) Kombucha	39
Lampiran 11c. Hasil Uji Lanjut Pengaruh Konsentrasi Gula Terhadap Aktivitas Antioksidan (IC ₅₀) Kombucha	40
Lampiran 12. Tabel Hasil Pengujian Warna Berdasarkan Konsentrasi Gula Kombucha.....	40
Lampiran 13. Tabel Hasil Pengujian Aroma Berdasarkan Konsentrasi Gula Kombucha.....	40
Lampiran 14. Tabel Hasil Pengujian Rasa Berdasarkan Konsentrasi Gula Kombucha.....	40
Lampiran 15. Dokumentasi Penelitian	41

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kombucha merupakan salah satu produk pangan fungsional yang dihasilkan air seduhan atau teh yang telah difermentasi. Berdasarkan catatan sejarah, kombucha berasal dari daerah timur laut Tiongkok. Kombucha berasal dari 2 kata yaitu “kombu” dan “cha”, kombu adalah nama seorang tabib dan cha berasal dari bahasa Mandarin yang artinya teh (Zou *et al.*, 2021). Kombucha memiliki karakteristik berupa rasa yang asam manis dan beraroma asam. Kombucha merupakan minuman herbal yang dibuat dari fermentasi teh menggunakan khamir dan bakteri untuk mendapatkan minuman yang mengandung mikroba probiotik dan juga senyawa asam organik yang bermanfaat untuk menjaga kesehatan pencernaan (Susanti, 2023). Proses fermentasi kombucha berlangsung antara 3-14 hari dan prosesnya fermentasinya dilakukan secara anaerob dan aerob (memerlukan oksigen). Selama fermentasi berlangsung, SCOBY akan menghasilkan asam-asam organik dan akan terus bertambah seiring waktu fermentasi berlangsung (Suhardini & Zubaidah, 2016). Khamir dan bakteri memanfaatkan gula yang berasal dari teh sebagai substrat untuk dikonsumsi, hasil dari konsumsi gula akan dimetabolismekan oleh mikroba menjadi sumber energi untuk pertumbuhan dan berkembang biak serta menghasilkan metabolit sekunder berupa senyawa asam organik (Anggraini, 2023).

Kombucha telah lama dimanfaatkan sebagai minuman herbal yang kaya akan nutrisi dan memiliki manfaat bagi kesehatan, diantaranya sebagai antioksidan, antibakteri, menjaga kesehatan usus serta dapat menurunkan tekanan darah (Wistiana & Zubaidah, 2014). Kandungan nutrisi yang terdapat di dalam kombucha berupa senyawa asam organik seperti asam asetat, asam glukonat dan asam glukronat. Kandungan asam organik yang di dalam kombucha dapat dimanfaatkan sebagai senyawa yang berperan untuk melawan mikroba patogen pada saluran pencernaan seperti *S. aureus* dan *E. coli* (Chofidah *et al.*, 2019). Selain itu, senyawa asam glukonat pada kombucha juga dapat digunakan untuk detoksifikasi dalam tubuh karena dapat menjadi agen untuk membuang sel-sel yang tidak diperlukan bagi tubuh, seperti kolesterol dan racun yang berada di dalam hati (Yasmina *et al.*, 2016). Pemanfaatan kombucha tidak hanya sebatas dijadikan minuman herbal, kombucha juga dapat diolah lebih lanjut menjadi produk non-pangan seperti sabun mandi dan shampo. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Rezaldi (2022), sabun mandi berbahan dasar kombucha mampu dijadikan sebagai antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dengan rata-rata zona hambat 15,5 mm. Selain itu, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Rezaldi (2022), sampo yang dibuat dari larutan kombucha dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan fungi, yaitu *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, dan *Pitosporum ovale* yang menjadi penyebab ketombe pada kulit kepala.

Pembuatan kombucha dilakukan dengan memfermentasikan larutan teh dan gula menggunakan khamir dan bakteri yang berasal dari SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*). Bakteri yang terdapat di dalam SCOBY merupakan probiotik yaitu bakteri *acetobacter xylinum*, *acetobacter aceti* dan khamir yang terdapat di dalamnya yaitu *Brettanomyces*, *Zygosaccharomyces* dan *Saccharomyces* (Suhardini & Zubaidah,

2016). Mekanisme dari proses fermentasi kombucha melalui dua tahapan. Tahapan pertama yaitu fermentasi anaerob. Pada tahap fermentasi anaerob, khamir akan melepaskan enzim invertase yang bertujuan untuk menghidrolisis rantai glikosidik pada molekul sukrosa (gula), sehingga sukrosa terputus menjadi unit-unit glukosa. Setelah glukosa didapatkan, maka glukosa tersebut akan dikonsumsi oleh khamir sebagai sumber karbon untuk menghasilkan energi. Adapun hasil metabolit sekunder dari khamir berupa alkohol dan karbon dioksida (Widyanti dan Moehadi, 2016). Pada tahap fermentasi aerob, bakteri acetobacter akan menghasilkan enzim asetaldehid dehidrogenase yang akan mengoksidasi alkohol menjadi senyawa asam asetat. Selain itu, bakteri asam asetat juga mentransformasikan glukosa menjadi asam glukonat melalui fermentasi jalur fosfat pentose (Ardheniati, 2008). Selama fermentasi kombucha, bakteri acetobacter mengkonsumsi glukosa sebagai sumber energi dan mengsekresikan glukosa menjadi serbut-serabut selulosa yang tipis. Serabut selulosa yang dihasilkan oleh acetobacter akan saling bergabung satu sama lainnya membentuk kepingan baru yang disebut anakan SCOBY (Anggraini & Retnaningrum 2023). Anakan SCOBY dapat dipakai untuk membuat kombucha yang baru. Semakin lama fermentasi kombucha, maka akan semakin banyak senyawa asam organik yang terbentuk, sehingga pH kombucha semakin menurun dan total asam meningkat.

Senyawa-senyawa asam organik yang dihasilkan dari fermentasi mikroba pada kombucha dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan untuk menangkal radikal bebas dan penuaan sel dini (Kuncoro, 2019). Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat mencegah dan menetralkan radikal bebas di dalam tubuh untuk mencegah penyakit-penyakit degenerative seperti karsinogenesis, kardiovaskuler dan penurunan kinerja jaringan atau organ dalam tubuh. Radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan pada sel dan jaringan tubuh karena menyebabkan reaksi oksidatif (peroksidasi lipid). Antioksidan bersifat sebagai senyawa reduktan, antioksidan akan memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas yang ada dalam tubuh sehingga memutus reaksi yang ditimbulkan oleh molekul radikal bebas (Parwata, 2016). Senyawa antioksidan di dalam kombucha tidak sepenuhnya berasal dari senyawa asam organik yang dihasilkan selama fermentasi, namun juga berasal dari senyawa antioksidan yang berasal dari teh yang digunakan. Kombucha umumnya dibuat dari teh karena memiliki kandungan fenol yang tinggi, seperti teh daun pinus dan teh bunga rosella.

Teh daun pinus merupakan minuman yang didapatkan dari proses penyeduhan daun pinus. Teh daun pinus memiliki karakteristik berupa warna yang kekuningan, aroma yang wangi dan rasa yang sepat. Teh pinus memiliki komponen bahan aktif berupa Alkaloid yang berperan sebagai antibakteri, katekin yang berfungsi sebagai antioksidan, terpenoid sebagai senyawa aromatik, dan tanin sebagai antioksidan dan antibakteri untuk tubuh (Nurfirzatulloh, 2023). Senyawa aktif yang terdapat di dalam teh daun pinus bermanfaat untuk menurunkan kadar gula darah dan meningkatkan aktivitas insulin di dalam tubuh. Selain itu, komponen aktif di dalam teh daun pinus juga merupakan senyawa antioksidan yang dapat menstabilkan senyawa radikal bebas di dalam tubuh (Ningsih dan Santika, 2023). Teh bunga rosella merupakan minuman herbal yang dihasilkan dari penyeduhan kelopak bunga rosella. Teh bunga rosella memiliki karakteristik yaitu berwarna merah gelap, aromanya yang sedikit asam dan rasanya yang asam. Teh bunga rosella memiliki manfaat yang baik bagi tubuh. teh rosella dapat

dijadikan sebagai minuman penghasil antioksidan, hal ini karena kelopak bunga rosella memiliki kandungan gossypetin yang dapat menghambat penyakit degeneratif/penuaan (Tsai *et al.*, 2001). Selain itu, teh bunga rosella juga mengandung vitamin C (asam askrobat) yang sangat tinggi, vitamin C ini berperan dalam meningkatkan daya tahan dan kekebalan tubuh (Nasrukin, 2019).

Teh daun pinus dan teh bunga rosella merupakan minuman herbal yang berkhasiat bagi tubuh. kedua teh tersebut dapat diolah lebih lanjut lagi menjadi kombucha yang memiliki manfaat kesehatan yang lebih lagi. Pembuatan teh kombucha dari daun pinus dan bunga rosella diharapkan dapat menambah kandungan gizi dan menambah khasiat dari kedua teh tersebut untuk tubuh seperti meningkatkan kandungan antioksidan teh dan membuat teh memiliki sifat antibakteri. Selain itu, penggunaan teh bunga rosella juga diharapkan dapat memperbaiki warna teh dari daun pinus, hal ini karena teh daun pinus warnanya tidak terlalu merah sehingga kurang diminati konsumen. Berdasarkan uraian tersebut, pembuatan produk ini dilakukan untuk mengetahui karakteristik dan kandungan gizi pada kombucha dari teh daun pinus dan teh bunga rosella serta sebagai suatu inovasi minuman fungsional.

1.2 Rumusan masalah

Daun pinus dan bunga rosella merupakan salah satu contoh bahan herbal yang dapat diolah sebagai minuman kesehatan. Salah satu contoh pengolahannya yaitu dijadikan sebagai teh. Teh dari daun pinus memiliki kandungan berupa senyawa flavonoid, tanin, saponin dan steroid. Kandungan tersebut memiliki manfaat bagi tubuh sebagai antikolestrol. Teh dari bunga rosella mengandung senyawa asam askrobat dan antioksidan yang bermanfaat untuk mengendalikan tekanan darah dan memperlancar peredaran darah serta meningkatkan daya tahan tubuh. pengolahan teh pinus dan rosella menjadi teh kombucha dilakukan untuk menambah kandungan nutrisinya bagi tubuh sehingga menjadi produk minuman yang kaya akan nutrisi.

1.3 Tujuan dan Manfaat

Tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. untuk menganalisis perbandingan terbaik dari pencampuran teh daun pinus dan teh bunga rosella.
2. untuk mendapatkan lama fermentasi terbaik pada pembuatan kombucha teh daun pinus dan teh bunga rosella.
3. untuk menganalisis karakteristik fisiko kimia kombucha teh daun pinus dan teh bunga rosella.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah agar dapat menambah wawasan terkait pengolahan daun pinus merkusii dan bunga rosella menjadi pangan olahan yang bernilai gizi tinggi.

BAB II. METODE PENELITIAN

2.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada September 2023 – April 2024 Laboratorium Kimia Analisa dan Pengawasan Mutu Pangan, Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Pangan, Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan. Departemen Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin, Makassar.

2.2 Alat dan Bahan

Bahan-bahan utama dalam penelitian ini yaitu:

1. Daun pinus kering yang dibeli di toko online
2. Bunga rosella kering yang dibeli di toko online
3. SCOBY dan larutan starter yang dibeli di toko online

Selain itu, terdapat bahan-bahan lain yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu aluminium foil, air mineral, asam sulfat (H_2SO_4), aquades, cup plastic, gula, *diphenyl picrylhydrazin* (DPPH), indikator PP (*fenolftalein*), metanol, natrium klorida (NaCl), natrium hidroksida (NaOH), *plate count agar* (PCA).

Alat-alat yang digunakan dalam melaksanakan penelitian ini antara lain Erlenmeyer, gelas ukur, pH meter, kain kasa, karet gelang, hot plate, labu ukur, panci, sendok pengaduk, saringan teh, toples kaca, oven, pipet volume, spektrofotometer, tabung reaksi, termometer dan timbangan analitik.

2.3 Prosedur Penelitian

2.3.1 Pembuatan teh daun pinus dan teh bunga rosella

Daun pinus kering sebanyak 40 gram dan bunga rosella sebanyak 40 gram masing-masing diseduh di dalam satu liter air yang bersuhu 90°C (tidak sampai mendidih) selama 15 menit agar kandungan antioksidannya tidak rusak jika diseduh dengan air mendidih dalam waktu yang lama. Selanjutnya, teh disaring untuk dipisahkan dari ampasnya, kemudian kedua teh disatukan dalam wadah sesuai dengan formulasi.

2.3.2 Pembuatan Kombucha

Teh daun pinus dan teh bunga rosella yang telah siap ditambahkan gula pasir sesuai perlakuan lalu diaduk hingga gula terlarut. Setelah itu, teh didinginkan hingga suhunya sama dengan suhu ruang, lalu dimasukkan kedalam toples kaca dan ditambahkan satu keping SCOBY yang memiliki berat antara 120-145 gram dan larutan starter kombucha 10% dari berat bahan, lalu ditutup dengan *tissue* (fermentasi secara *aerob*). Selanjutnya teh difermentasikan pada suhu ruang. Kombucha telah siap jika mengeluarkan aroma asam dan rasanya asam serta terdapat lapisan selulosa baru dipermukaan larutan (anakan SCOBY). Diagram alir prosedur penelitian dapat dilihat pada Gambar 1.

2.4 Desain Penelitian

2.4.1 Tahap I

Penelitian dilakukan dengan melihat 1 faktor, yaitu perbandingan dari pencampuran teh daun pinus dan teh bunga rosella. Tahap I dilakukan untuk mengetahui teh terbaik berdasarkan uji organoleptik warna, aroma dan rasa.

Perlakuan (Teh daun pinus : Teh bunga rosella) :

F1 = 25% : 75%

F2 = 50% : 50%

F3 = 75% : 25%

Hasil teh terbaik dari perbandingan pencampuran teh daun pinus dan teh bunga rosella yang diperoleh dari penelitian tahap I akan digunakan pada penelitian tahap II.

2.4.2 Tahap II

Penelitian dilakukan dengan melihat 1 faktor, yaitu lama fermentasi pada kombucha teh daun pinus dan teh bunga rosella. Tahap II dilakukan untuk mengetahui waktu fermentasi teh terbaik nilai pH, *total plate count* (TPC) dan total gula.

Perlakuan (Lama fermentasi) :

H1 = 3 hari

H2 = 6 hari

H3 = 9 hari

H4 = 12 hari

H5 = 15 hari

Hasil kombucha terbaik berdasarkan lama fermentasi yang diperoleh dari penelitian tahap II akan digunakan pada penelitian tahap III.

2.4.3 Tahap III

Penelitian dilakukan dengan melihat 1 faktor, yaitu konsentrasi gula yang ditambahkan pada kombucha teh daun pinus dan teh bunga rosella. Tahap III dilakukan untuk mengetahui konsentrasi gula terbaik berdasarkan nilai pH, total asam, *total plate count* (TPC), total gula, aktivitas antioksidan (IC_{50}) dan organoleptik.

Perlakuan (Konsentrasi gula) :

P1 = 10%

P2 = 15%

P3 = 20%

2.5 Parameter Pengujian

2.5.1 Uji Organoleptik

Uji ini dilakukan dengan menggunakan metode hedonic, parameter yang diamati pada pengujian ini yaitu warna, aroma dan rasa dari teh kombucha. Panelis yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 20 panelis semi terlatih. Skala yang digunakan yaitu *scoring test* 1-5. Adapun deskripsi dari setiap skor sebagai berikut:

1 = sangat tidak sukai

2 = tidak sukai

3 = agak disukai

4 = disukai

5 = sangat disukai.

2.5.2 Uji pH

Langkah pertama dalam pengujian yaitu dilakukan kalibrasi alat pH meter menggunakan dua larutan buffer. Kalibrasi dilakukan dengan cara mencelupkan elektroda kedalam larutan buffer. Larutan buffer pertama untuk mengkalibrasikan pH 4,01 kemudian larutan buffer kedua untuk mengkalibrasikan pH 7. Selanjutnya elektroda dicelupkan ke dalam sampel hingga tertera skala nilai pH pada layar pH meter.

2.5.3 Uji Total Asam (Cholidah, 2020).

Pengujian total asam dilakukan dengan cara sampel sebanyak 10 ml dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml, ditambahkan aquades sampai tanda batas lalu dihomogenkan dan disaring. Filtrat diambil 25 ml dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Ditambahkan indikator PP 2 – 3 tetes. Dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N sampai terbentuk warna merah muda, pembacaan skala pada saat warna merah muda terbentuk yang pertama kali dan bertahan sampai beberapa saat. Setelah itu, dihitung nilai total asam sampel menggunakan rumus berikut ini.

$$\text{Total asam (\%)} = \frac{\text{ml NaOH} \times N \text{ NaOH} \times 4 \times 60}{V. \text{Sampel} \times 1000} \times 100\%$$

2.5.4 Uji Total plate count (PCA) (Putri, 2018)

2.5.4.1 Pembuatan Media PCA

Bubuk PCA ditimbang sebanyak 24 gram. Kemudian dimasukkan kedalam erlenmeyer 1 liter, lalu ditambahkan aquades sebanyak 1 liter. Larutan kemudian dipanaskan dan distirer hingga berwarna kuning kecoklatan.

2.5.4.2 Preparasi Sampel

Disiapkan 5 buah tabung reaksi yang telah diisi dengan aquades steril sebanyak 9 ml pada setiap tabungnya. Sampel sebanyak 1 ml dimasukkan kedalam 9 ml larutan aquades steril menggunakan mikro pipet untuk membuat pengenceran 10^{-1} . Lalu dipindahkan lagi 1 ml suspensi dari pengenceran 10^{-1} kedalam tabung reaksi yang telah berisi 9 ml aquades steril untuk membuat pengenceran 10^{-2} . Kemudian, diulangi dengan cara yang sama untuk membuat pengenceran 10^{-5} .

2.5.4.3 Cara Kerja Total plate count (TPC)

Sampel yang telah diencerkan dipipet sebanyak 0,1 ml. selanjutnya media agar dituangkan sebanyak 15 atau 20 ml kedalam cawan petri. Agar suspensi tersebar merata di dalam cawan maka cawan petri harus digoyang membentuk angka delapan dengan segera mungkin. Dilakukan duplo untuk setiap pengenceran. Selanjutnya, diinkubasi dengan kisaran waktu 24-48 jam dengan suhu 37°C . Setelah itu diamati dan dihitung jumlah koloni yang tumbuh pada media dengan cara membalik cawan petri. Setelah diinkubasi, jumlah koloni kemudian dihitung lalu menentukan total mikroba menggunakan rumus berikut:

$$\text{Jumlah bakteri} = \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{Faktor pengenceran}}$$

2.5.5 Uji Total Gula Reduksi (Ramadhani et al, 2017)

Pengujian total gula dalam penelitian ini menggunakan fenol-sulfat. Langkah pertama yang dilakukan yaitu mengencerkan larutan sampel dan dipipet sampel kedalam tabung reaksi sebanyak 1 ml. Setelah itu, ditambahkan larutan fenol 5% sebanyak 1 ml. langkah selanjutnya yaitu penambahan larutan asam sulfat (H_2SO_4) sebanyak 5 ml. Tabung reaksi kemudian direndam di air dingin selama 10 menit dan kemudian sampel diukur panjang gelombangnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 490 nm dengan larutan standar glukosa. Nilai absorbansi yang diperoleh kemudian dimasukkan pada persamaan kurva standar.

2.5.6 Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode konsentrasi inhibisi (IC₅₀) (Hassmy, 2017)

2.5.6.1 Pembuatan larutan DPPH

DPPH ditimbang sebanyak 0,002g dan dilarutkan dalam 50 ml methanol di dalam labu ukur, selanjutnya sampel dibungkus aluminium foil dan dihomogenkan.

2.5.6.2 Pembuatan larutan sampel

Pembuatan larutan sampel kombucha dilakukan dengan memipet sampel sebanyak 0,02 ml lalu dimasukkan kedalam gelas kimia dan ditambahkan metanol PA sebanyak 20 ml. selanjutnya, larutan dihomogenkan dengan bantuan *magnetic stirrer* selama 20 menit. Selanjutnya, sampel kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi sesuai dengan ppm yang digunakan. Larutan dengan konsentrasi 6000-10000 ppm dibuat untuk pengujian antioksidan menggunakan spektrofotometer. Pembuatan larutan uji yaitu sebagai berikut :

1. Konsentrasi 6000 ppm dibuat dengan memipet larutan sampel sebanyak 1,2 mL menggunakan mikropipet kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan metanol PA sebanyak 0,8 mL.
2. Konsentrasi 7000 ppm dibuat dengan memipet larutan sampel sebanyak 1,4 mL menggunakan mikropipet kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan metanol PA sebanyak 0,6 mL.
3. Konsentrasi 8000 ppm dibuat dengan memipet larutan sampel sebanyak 1,6 mL menggunakan mikropipet kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan metanol PA sebanyak 0,4 mL.
4. Konsentrasi 9000 ppm dibuat dengan memipet larutan sampel sebanyak 1,8 mL menggunakan mikropipet kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan metanol PA sebanyak 0,2 mL.
5. Konsentrasi 10000 ppm dibuat dengan memipet larutan sampel sebanyak 2 ml menggunakan mikropipet kedalam tabung reaksi.
6. Larutan kontrol dibuat dengan memipet metanol PA sebanyak 2 mL menggunakan mikropipet kedalam tabung reaksi. Tujuan dibuat larutan kontrol yaitu untuk diketahui juga absorbansinya agar dapat dilakukan perhitungan persen penghambatan (persen inhibisi).

Setelah itu, tabung reaksi dibungkus menggunakan aluminium foil dan ditambahkan larutan DPPH sebanyak 2 mL lalu dihomogenkan menggunakan vortex kemudian pada bagian atas tabung reaksi ditutup juga menggunakan aluminium foil. Selanjutnya, larutan diinkubasi pada suhu ruang di dalam ruangan gelap dan terhindar dari sinar matahari selama 30 menit. Setelah itu, absorbansi setiap larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm. Adapun perhitungan aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan rumus berikut:

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{a-b}{a} \times 100\%$$

Keterangan :

a = Absorbansi kontrol

b = Absorbansi sampel

Nilai inhibisi (%) dari setiap ppm sampel yang didapatkan kemudian dibuat menjadi kurva untuk memperoleh persamaan regresi linear dalam bentuk $y = b(x) + a$

yang selanjutnya akan diambil nilai a dan b pada kurva standar untuk menghitung nilai IC₅₀. Rumus perhitungan IC₅₀ sebagai berikut:

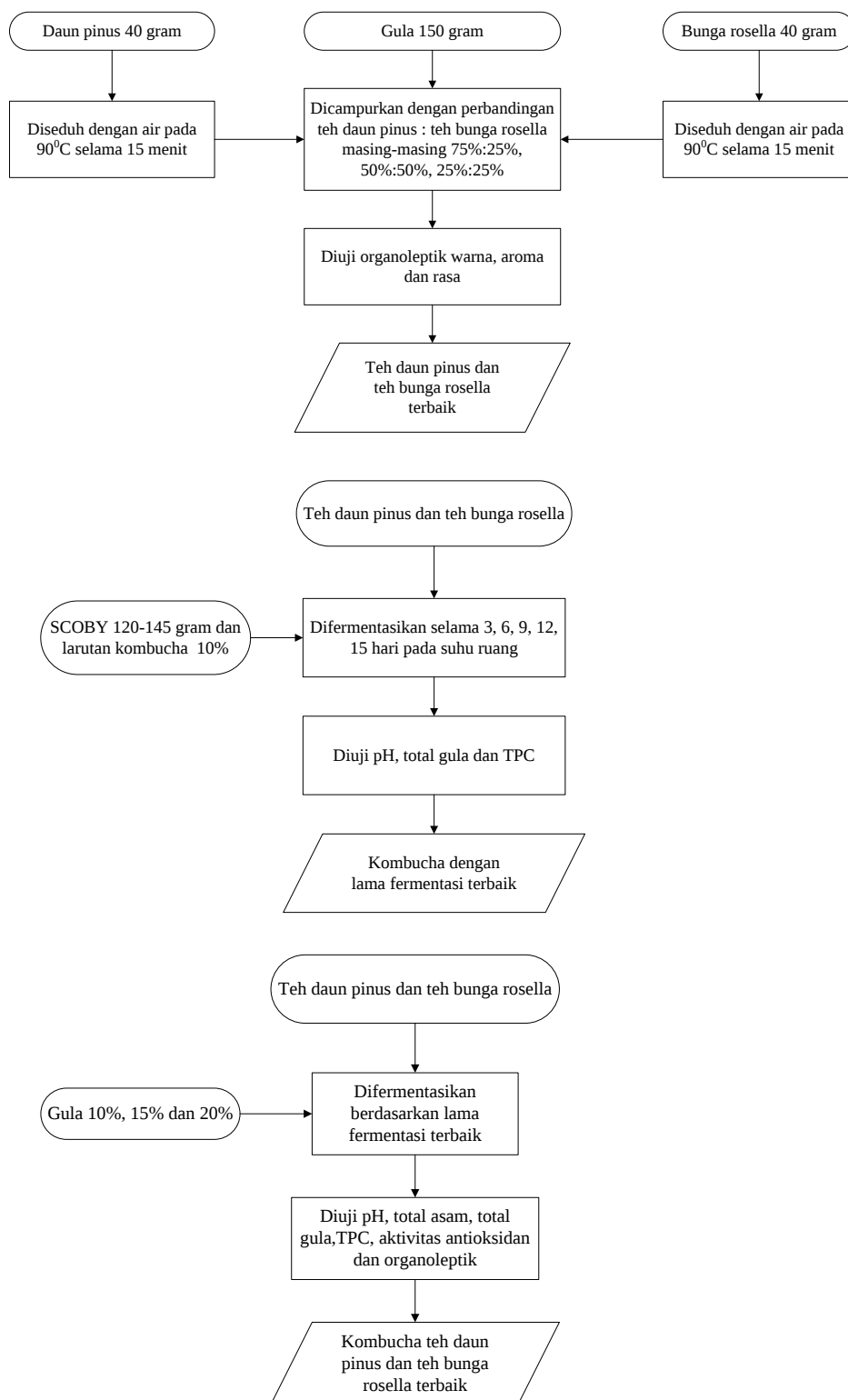
$$IC_{50} = \frac{50-b}{a}$$

Nilai IC₅₀ menyatakan konsentrasi larutan sampel yang diperlukan dalam mereduksi DPPH sebesar 50%. Semakin rendah nilai IC₅₀ yang diperoleh maka aktivitas antioksidan pada sampel tersebut semakin kuat, sedangkan semakin tinggi nilai IC₅₀, maka semakin lemah aktivitas antioksidan yang terdapat pada suatu sampel. Adapun skala tingkat kekuatan aktivitas antioksidan suatu bahan yaitu apabila kurang dari 50 maka dikatakan sangat kuat, 50-100 dikatakan kuat, 100-150 dikatakan sedang, dan 151-200 dikatakan lemah.

2.6 Pengolahan Data

Pengolahan data yang akan dilakukan pada tahap I, II dan III dalam penelitian ini sebagai berikut:

1. Pada tahap I, rancangan penelitian yang digunakan yaitu rancangan acak lengkap (RAL) satu faktor dengan 3 taraf, data yang diperoleh akan diolah secara deskriptif.
2. Pada tahap II, rancangan penelitian yang digunakan yaitu rancangan acak lengkap (RAL) satu faktor dengan 3 taraf. Data dianalisis menggunakan ANOVA (Analysis of Variance), jika terdapat pengaruh nyata (<0,05), maka dilakukan dengan uji lanjut DMRT (Duncan's Multiple Range Test).
3. Pada tahap III, rancangan penelitian yang digunakan yaitu rancangan acak lengkap (RAL) satu faktor dengan 3 taraf. Data dianalisis menggunakan ANOVA (Analysis of Variance), jika terdapat pengaruh nyata (<0,05), maka dilakukan dengan uji lanjut DMRT (Duncan's Multiple Range Test).



Gambar 1. Prosedur Penelitian