

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kesehatan masyarakat saat ini menjadi perhatian utama, terutama dalam hal peningkatan sistem imun dan pencegahan penyakit degeneratif. Berdasarkan data **World Health Organization (WHO, 2021)**, sekitar **71% kematian global disebabkan oleh penyakit tidak menular** seperti kanker, diabetes, dan penyakit jantung. Dalam konteks ini, pangan tidak lagi dipandang sebagai sumber energi dan memenuhi kebutuhan nutrisi, tapi juga menjadi bagian penting dalam menjaga kesehatan dan mencegah penyakit. Hal ini dikenal dengan konsep **pangan fungsional**, yaitu makanan yang selain bergizi, juga memberikan manfaat khusus bagi tubuh, seperti membantu menjaga fungsi organ dan meningkatkan daya tahan tubuh.

Pangan fungsional merupakan pangan yang mengandung berbagai komponen bioaktif seperti antioksidan, serat pangan, probiotik, prebiotik, vitamin dan senyawa fitokimia lainnya yang mendukung fungsi tubuh, meningkatkan imun serta menurunkan resiko dari penyakit degeneratif seperti penyakit jantung, diabetes dan hipertensi (Zhou & Underhill, 2020). Seiring meningkatnya kesadaran masyarakat terhadap pola hidup sehat, permintaan pangan fungsional juga terus meningkat. Minuman fungsional menjadi salah satu kategori pangan fungsional yang mengalami pertumbuhan signifikan. Menurut laporan Grand View Research (2023), pasar global minuman fungsional diperkirakan mencapai USD 208,13 miliar pada tahun 2030, dengan tingkat pertumbuhan tahunan gabungan (CAGR) sebesar 8,8%. Salah satu minuman fungsional yang sedang populer yaitu kombucha.

Kombucha merupakan minuman hasil fermentasi teh menggunakan SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*) (Villarreal-Soto *et al.*, 2018). SCOBY terdiri dari bakteri seperti *Acetobacter xylinum*, *Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasturianus*, dan *Gluconobacter oxydans* serta khamir seperti *Saccharomyces cerevisiae*, *Brettanomyces sp.*, *Torulopsis sp.*, *Pichia sp.* yang akan memproduksi asam-asam organik dan etanol serta selulosa (Bishop *et al.*, 2022). Kombucha mengandung senyawa bioaktif seperti asam asetat, asam glukuronat, polifenol dan probiotik yang dapat meningkatkan kesehatan usus, menurunkan tekanan darah, mengandung antioksidan serta antimikroba (Ayu *et al.*, 2024). Bahan utama yang umumnya digunakan dalam pembuatan teh kombucha adalah daun teh hijau, daun teh hitam, starter dan SCOBY (*Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast*) dan gula sebagai nutrisi bagi mikroba (Khasanah, D.U., & Dewi, 2024). Bahan dasar pembuatan kombucha seringkali dimodifikasi oleh masyarakat, seperti mengganti daun teh dengan jenis daun lainnya atau menggunakan berbagai macam daun dan ekstrak buah sebagai penggantinya. Pada penelitian yang dilakukan oleh Amalina & Harmini (2024) menggunakan bunga telang dan pada penelitian Rukmelia *et al.*, (2023) menggunakan kayu manis dan cengkeh. Salah satu alternatif bahan lain yang memiliki potensi besar untuk dikembangkan adalah kombucha dengan bahan dasar seduhan daun kersen.

Kersen (*Muntinga calabura* L.) merupakan tanaman buah tropis termasuk dalam famili Elaeocarpaceae yang mudah dijumpai. Berdasarkan penelitian Sumarni *et al.*, (2022), daun kersen memiliki potensi sebagai bahan fungsional karena kandungan senyawa aktif seperti flavonoid, saponin, tanin, dan polifenol yang menunjukkan aktivitas

antioksidan, antidiabetik, dan antiinflamasi. Berdasarkan penelitian oleh Karita *et al.*, (2022), daun kersen memiliki potensi mencegah peningkatan Malondialdehid (MDA) akibat kerusakan sel akibat efek diabetes mellitus tipe II. Aktivitas antioksidan pada daun kersen sebesar 49% dan kandungan total fenol sebesar 47 mg TAE/g (Rosida *et al.*, 2021). Oleh karena itu, pemanfaatan daun kersen dalam pembuatan kombucha dapat menjadi solusi inovatif untuk meningkatkan daya tarik produk, mengingat tren konsumen yang semakin mengarah pada pilihan minuman sehat dan alami.

Proses fermentasi kombucha dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti jenis kultur yang digunakan, jenis teh, jenis air, suhu, durasi fermentasi, serta ketersediaan oksigen (Evangelina Gabriella dan Nugerhani, 2025). Faktor-faktor tersebut berperan dalam menentukan aktivitas fermentasi dan organoleptik kombucha. Gula merupakan sumber karbon bagi kultur kombucha, diartikan sebagai makanan (Hafsari *et al.*, 2021). Selama ini, gula tebu digunakan sebagai sumber karbon utama pada fermentasi kombucha. Terdapat berbagai alternatif jenis gula yang sebenarnya dapat digunakan dalam pembuatan kombucha salah satunya yaitu gula sorgum. Gula sorgum memiliki indeks glikemik yang lebih rendah sekitar 46, dibandingkan gula tebu yang berada di angka sekitar 65 sehingga gula sorgum dapat lebih menjaga kadar gula dalam tubuh (Surayya *et al.*, 2020). Gula sorgum juga mengandung antioksidan seperti asam fenolat dan antosianin yang dapat berkontribusi terhadap kesehatan tubuh (Isdamayani & Panunggal, 2015).

Dalam penelitian ini digunakan bahan dasar kombucha dari daun kersen (*Muntingia calabura* L.) diharapkan dapat dijaikan sebagai salah satu diversifikasi produk, mengingat daun kersen kaya akan zat kimia yang baik untuk tubuh dan menggunakan variasi gula tebu dan gula sorgum untuk dapat menciptakan produk sehat yang diharapkan disukai masyarakat.

1.2 Rumusan Masalah

Kombucha merupakan minuman hasil fermentasi yang banyak dikenal karena manfaat kesehatannya, terutama sebagai minuman fungsional yang kaya akan senyawa bioaktif. Kombucha tidak hanya dapat dibuat dari daun teh namun juga dapat dibuat jenis daun lainnya salah satunya adalah daun kersen. Daun kersen (*Muntingia calabura*), diketahui memiliki kandungan antioksidan dan senyawa fitokimia, berpotensi sebagai bahan dasar alternatif dalam pembuatan kombucha. Selain itu, jenis gula yang digunakan dalam proses fermentasi berperan penting dalam memengaruhi aktivitas mikroorganisme serta komposisi kimia produk akhir. Gula tebu merupakan jenis gula yang umum digunakan. Gula tebu dapat digantikan dengan sumber lain yang mengandung glukosa, fruktosa serta sukrosa. Salah satu alternatif bahan yang dapat digunakan yakni gula sorgum. Gula sorgum memiliki keunggulan tersendiri, seperti kandungan mineral dan indeks glikemik yang lebih rendah. Oleh karena itu, dilakukan penelitian ini sehingga diperoleh minuman fungsional kombucha dari daun kersen menggunakan variasi gula dengan formulasi terbaik.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini, yaitu:

1. Menentukan formulasi terbaik dalam pembuatan minuman kombucha dari teh daun kersen bubuk dengan variasi gula tebu dan gula sorgum berdasarkan uji organoleptik.
2. Menganalisis karakteristik fisik dan kimia pada kombucha teh daun kersen bubuk dengan variasi gula tebu dan gula sorgum.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini bermanfaat sebagai sumber referensi agar pembaca dapat mengetahui proses pembuatan minuman kombucha menggunakan daun kersen sebagai minuman fungsional yang memiliki khasiat dan mutu sensori sesuai dengan selera konsumen.

BAB II. METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei hingga Agustus 2025, bertempat di *Teaching Industry*, Laboratorium Kimia Analisa dan Pengawasan Mutu Pangan, Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Pangan, Laboratorium Pengolahan Pangan, Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, serta Laboratorium Biofarmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makassar.

2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu toples kaca, autoklaf, blender, timbangan analitik, pH meter, colorimeter, inkubator, kain serbet, mikropipet, rak tip, pipet tetes, hotplate, Laminar Air Flow (LAF), gelas kimia, gelas ukur, magnetic stirrer, labu ukur, erlenmeyer, sentrifuge, spektrofotometer UV-Vis, statif, cawan petri, tabung reaksi, rak tabung reaksi, batang pengaduk, labu semprot, pipet ukur, kain saring, bulb dan glukometer.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu SCOBY, teh daun kersen bubuk, air mineral, gula tebu kristal, gula sorgum, media MRSA, akuades, buffer pH 4,01 dan 7, Natrium Hidroksida (NaOH), DPPH 50 μ M, Indikator PP, tip, dan tisu.

2.3 Prosedur Penelitian

2.3.1 Pembuatan Bubuk Daun Kersen

Pembuatan bubuk daun kersen dilakukan dengan cara sortasi daun kersen. Daun yang digunakan merupakan daun tua namun masih segar, diambil dari posisi daun ke-3 sampai ke-5 dari pucuk cabang, dengan kriteria berwarna hijau tua, tidak berlubang, dan bebas dari kontaminan. Setelah itu, dilakukan pencucian lalu pelayuan daun kersen pada suhu 36°C selama 3 jam dalam oven. Kemudian, dilakukan pengeringan pada suhu 50°C selama 3 jam. Setelah itu, daun kersen kering dihaluskan menggunakan blender. Setelah itu, diayak hingga diperoleh bubuk daun kersen.

2.3.2 Pembuatan Minuman Kombucha (Akbar *et al.*, 2023 yang dimodifikasi)

Pembuatan kombucha dilakukan dengan cara 1 liter air dididihkan lalu ditambahkan bubuk daun kersen sesuai perlakuan. Setelah itu, ditambahkan substrat sesuai perlakuan lalu diaduk hingga larut. Kemudian, diturunkan suhu hingga 22°C. Setelah mencapai suhu ruang, ditambahkan kultur kombucha sebanyak 10% dan dimasukkan SCOBY. Selanjutnya, wadah ditutup menggunakan kain bersih lalu diikat dengan karet. Selanjutnya, dilakukan fermentasi pada suhu ruang selama 7 hari.

2.4 Desain Penelitian

2.4.1 Penelitian Tahap 1

Penelitian ini menggunakan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan tiga kali pengulangan. Adapun perlakuan yang digunakan pada penelitian ini yaitu

Tabel 1. Perlakuan Penelitian

Perlakuan	Teh Daun Kersen		Gula Tebu		Gula Sorgum	
	3%	5%	10%	20%	10%	20%
A1	✓	-	-	✓	-	-
A2	-	✓	-	✓	-	-
A3	✓	-	✓	-	✓	-
A4	-	✓	✓	-	✓	-
A5	✓	-	-	-	-	✓
A6	-	✓	-	-	-	✓

Tabel 2. Formulasi Bahan pada Pembuatan Kombucha

Bahan	Perlakuan					
	A1	A2	A3	A4	A5	A6
Air (ml)	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Gula tebu (g)	200	200	100	100	-	-
Gula sorgum (g)	-	-	100	100	200	200
Teh daun kersen (g)	30	50	30	50	30	50
Starter kombucha (ml)	100	100	100	100	100	100

2.4.2 Penelitian Tahap 2

Penelitian tahap II dilakukan setelah diperoleh formulasi terbaik berdasarkan pengujian organoleptik. Tiga perlakuan dengan nilai rata-rata tertinggi akan dilanjutkan dengan analisis seperti pengujian pH, pengujian total asam, pengujian intensitas warna, pengujian total bakteri asam laktat, pengujian aktivitas antioksidan dan pengujian respon glukosa darah pada mencit.

2.5 Parameter Pengujian

2.5.1 Pengujian Organoleptik

Pengujian organoleptik dilakukan dengan metode hedonik dan deskriptif kepada 30 panelis. Sampel akan disajikan pada wadah organoleptik kemudian panelis akan menilai warna, aroma dan rasa menggunakan skala hedonik. Selanjutnya panelis mendeskripsikan warna, aroma dan rasa pada setiap perlakuan. Adapun skala hedonik yang terdiri atas :

- 1 = sangat tidak suka;
- 2 = tidak suka;
- 3 = netral;

4 = suka;

5 = sangat suka

2.5.2 pH

Pengujian pH minuman kombucha dilakukan dengan menggunakan alat pH meter. Alat dikalibrasi dengan larutan buffer pH 4 kemudian dinetralkan menggunakan akuades dan dikalibrasi kembali menggunakan buffer pH 7 kemudian dinetralkan kembali menggunakan akuades. Selanjutnya alat pH meter dicelupkan ke dalam sampel hingga diperoleh pH konstan.

2.5.3 Intensitas Warna

Pengujian intensitas warna dilakukan dengan menggunakan kolorimeter. Sampel dimasukkan ke dalam plastik cetik lalu ditutup rapat. Kemudian, alat dihidupkan dan sampel diletakkan pada alat. Selanjutnya, nilai L^* , a^* , b^* diatur, lalu alat akan mengukur warna dari sampel. Hasil dari pengukuran warna kemudian dimasukkan ke dalam website <https://colorizer.org/> untuk menetapkan warna kombucha yang dihasilkan.

2.5.4 Total Asam (Khasanah & Dewi, 2024)

Metode pengujian total asam minuman kombucha menggunakan metode titrasi. Sampel disiapkan sebanyak 1 mL kemudian ditambahkan 100 mL akuades dan indikator pp sebanyak 1% kemudian dititrasi menggunakan NaOH 0,1 N hingga terjadi perubahan warna menjadi warna merah muda. Hasil titrasi kemudian dihitung menggunakan rumus total asam yaitu:

$$\text{Total asam(\%)} = \frac{V_n \times N \times BM \times FP}{V_b \times 1000}$$

Keterangan :

V_n = Volume NaOH

N = Konsentrasi NaOH (0,1 N)

BM = Berat Molekul

FP = Faktor Pengenceran

V_b = Volume Bahan

2.5.5 Perhitungan Bakteri Asam Laktat (Rihibiha *et al.*, 2020)

Perhitungan BAL dilakukan dengan metode agar tuang. Kombucha diencerkan dengan NaCl fisiologis secara berseri dari 10^{-1} – 10^{-5} . Selanjutnya, tiga seri pengenceran terakhir ditumbuhkan pada medium de-Mann Rogoassa and Sharp (MRS), dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C dengan posisi cawan terbalik. Setelah itu, jumlah koloni dihitung dengan rentang 30-300 koloni. Adapun hasil total bakteri asam laktat dalam 1 mL.

$$\text{Jumlah BAL} = \frac{\text{jumlah koloni}}{\text{Faktor pengenceran}}$$

2.5.6 Aktivitas Antioksidan dengan menggunakan metode DPPH (Anr *et al.*, 2024)

Pengujian aktivitas antioksidan terhadap sampel dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dengan menggunakan spektrofotometer UV Visible. Sampel dimasukkan 1 mL (100 µg/mL) ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 2 mL larutan 0,1mM DPPH. Kemudian divortex selama 30 detik hingga homogen dan diinkubasi selama 20 menit dalam ruang gelap pada suhu 30°C. Nilai absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang 517 nm. Hasil disajikan dalam bentuk IC 50 (µg/mL). Sampel dipipet sebanyak 0,2 mL dengan pipet mikro dan masukan ke dalam vial, kemudian tambahkan 3,8 mL larutan DPPH 50 µM. Kocok campuran hingga homogen dan dibiarkan selama 30 menit ditempat gelap, ukur serapannya dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum DPPH. Aktivitas antioksidan sampel oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH dapat diketahui melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{\text{Abs. blanko} - \text{Abs. sampel}}{\text{Abs. blanko}} \times 100\%$$

Keterangan:

Abs. Blanko : Absorban DPPH 50 µM

Abs. Sampel : Absorbansi Sampel Uji

Aktivitas antioksidan ditentukan dengan menggunakan nilai IC₅₀ (Inhibition Concentration 50%). IC₅₀ adalah bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat aktivitas suatu radikal sebesar 50%. Nilai IC₅₀ masing-masing konsentrasi sampel dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier, yang menyatakan hubungan antara konsentrasi fraksi antioksidan yang dinyatakan sebagai sumbu x dengan % inhibisi yang dinyatakan sebagai sumbu y dari seri replikasi pengukuran.

2.5.7 Pengujian Respon Glukosa Darah pada Mencit (Kholidha *et al.*, 2017)

Pengujian indeks glikemik pada teh kombucha dilakukan secara *in vivo* menggunakan mencit (*Mus musculus*) sebanyak 12 ekor untuk masing-masing 3 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol. Sebelum diberikan perlakuan, mencit dipuasakan selama 8-12 jam dan tetap diberikan air minum. Setelah itu, setiap mencit diberi glukosa untuk meningkatkan gula darah dengan dosis 1-2g/kg BB untuk kelompok kontrol, sedangkan kelompok perlakuan diberikan sampel kombucha dalam volume yang telah disesuaikan berdasarkan berat badan. Selanjutnya, darah mencit diukur terlebih dahulu menggunakan glukometer pasca induksi. Setelah itu, dilakukan pengujian kadar glukosa sebelum dan setelah konsumsi sampel uji pada menit ke 0, 30, 60 dan 120.

2.5.8 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis sidik ragam (*Analysis of Variance* atau ANOVA) pada taraf signifikansi 5% ($\alpha = 0,05$). Jika hasil analisis menunjukkan perbedaan yang signifikan, maka dilakukan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) untuk mengetahui interaksi antar perlakuan.