

KOMBUCHA ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa* Lin) SEBAGAI AGENSIA PROBIOTIK

Merkuria Karyantina¹, Sumarmi²

¹Fakultas Teknologi dan Industri Pangan Universitas Slamet Riyadi Surakarta
Jalan Sumpah Pemuda No.18, Joglo, Kadipiro, Surakarta

²Fakultas Pertanian Universitas Slamet Riyadi Surakarta
Jalan Sumpah Pemuda No.18, Joglo, Kadipiro, Surakarta

ABSTRAK

Kombucha merupakan salah satu jenis minuman segar tradisional yang dihasilkan dari proses fermentasi air teh manis selama 7 – 10 hari dengan bantuan pertumbuhan simbiosis antara yeast dan bakteri serta mengandung alkohol $\pm 0,5 - 1 \%$ dan pH $\pm 3 - 5,5$. Bakteri berperan dalam proses fermentasi kombucha dan senyawa yang dihasilkan cukup kompleks, diantaranya bakteri yang berpotensi sebagai agensia probiotik. Kombucha merupakan penyeimbang metabolik yang efektif, sebagai probiotik (mendukung pertumbuhan bakteri yang menguntungkan dalam saluran pencernaan).

Menurut Naland (2004); Stainkrauss (1983); Indrati (1990); Sugianto, (1972); dan Kasper, (2007), mikrobial yang berperan dalam fermentasi kombucha adalah hasil hubungan simbiosis antara yeast dan bakteri. Bakteri yang berperan adalah bakteri asam asetat dan bakteri asam laktat. Bakteri asam asetat merupakan golongan bakteri yang bersifat aerob sehingga tidak berpotensi sebagai probiotik.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa 4 isolat dari kelompok *Lactobacillus* dan 4 isolat dari kelompok *Pediococcus*. Isolat yang lainnya tidak terindikasi sebagai asam laktat.

Kata kunci : Kombucha Rosela, probiotik, isolat

ABSTRACT

Kombucha is one kind of traditional fresh beverage produced from the fermentation of sweet tea water for 7-10 days with symbiotic growth between yeast and bacteria and alcoholic content ± 0.5 to 1% and pH ± 3 to 5.5. Bacteria play a role in the process of fermenting kombucha and compounds is complex, that is bacteria as probiotic potential agents. Kombucha is an effective metabolic balance, probiotics (supporting the growth of beneficial bacteria in the digestive tract).

According Naland (2004); Stainkrauss (1983); Indrati (1990); Sugianto, (1972); and Kasper (2007), the microbes that play a role in fermenting kombucha is the result of a symbiotic relationship between yeast and bacteria. The bacteria that act is acetic acid bacteria and lactic acid bacteria. Acetic acid bacteria are bacteria that are aerobic classes so that no potential as probiotics.

The results of this study, obtained 4 isolates indicated from *Lactobacillus* grup dan 4 isolate indicated from *Pediococcus* grup. Other isolate no indicate as lactic acid bacteria.

Keywords : kombucha rosella, probiotic, isolate

PENDAHULUAN

Kombucha merupakan salah satu jenis minuman segar tradisional yang dihasilkan dari proses fermentasi air teh manis selama 7 – 10 hari dengan bantuan pertumbuhan simbiosis antara yeast dan bakteri, mengandung alkohol $\pm 0,5 - 1 \%$ dan pH $\pm 3 - 5,5$ (Sucipto, 2000 dan Naland, 2004). Bakteri yang berperan meliputi bakteri asam asetat dan kadang-kadang bakteri asam laktat (Naland, 2004; Kasper, ___; Blanc, 1995; Anonim, 2006; Indrati (1990)). Beberapa spesies dari yeast dan bakteri asam laktat diketahui berpotensi sebagai probiotik seperti *Acidophillus* dan *bifidobacteria* (Bryant, 1986).

Menurut Dr. R. Sklenar MD, seorang ilmuwan berkebangsaan Jerman, kombucha telah digunakan sebagai agen terapi untuk penyakit saluran pencernaan, rematik, arteriosklerosis, arthritis, disbakteria, konstipasi, impotensi, kegemukan, batu ginjal, hiperkolesterol, dan kanker (Sklenar, 1964). Karena kemampuan penyembuhan dan efek menguntungkan bagi kesehatan inilah maka kombucha menjadi sangat populer saat itu di

Jerman dan sempat diangkat dalam penelitian disertasi. Penelitian yang berkenaan dengan kombucha banyak dikembangkan di Negara Rusia dan Jerman.

Sejak ditemukannya antibiotik, masyarakat banyak yang menggunakan antibiotik untuk menyembuhkan berbagai penyakit. Pada masa sekarang, masyarakat mulai sadar akan efek buruk pemakaian antibiotik. Masyarakat mulai beralih ke penyembuhan alami dengan memanfaatkan bahan-bahan alami yang sebenarnya sudah ada dan digunakan sejak dahulu oleh nenek moyang kita. Salah satu upaya untuk menekan penggunaan antibiotik adalah dengan menggunakan probiotik. Probiotik merupakan suplemen makanan yang terdiri dari mikrobial hidup yang mempunyai efek menguntungkan pada inang melalui peningkatan keseimbangan mikrobiota dalam saluran pencernaan. Probiotik pada prinsipnya adalah memasukkan bakteri menguntungkan pada saluran pencernaan. Probiotik secara alami terdapat pada beberapa bahan makanan

atau sengaja ditambahkan untuk tujuan kesehatan.

Metabolit yang dihasilkan dalam fermentasi kombucha sangat bermanfaat bagi kesehatan tubuh, antara lain; asam asetat, asam glukonat, asam glukoronat, asam laktat, asam kondroitin sulfat, asam hialuronat, asam-asam amino, vitamin C, vitamin B dan lain sebagainya. Kombucha merupakan penyeimbang metabolik (membantu beberapa organ tubuh untuk bekerja bersama secara sinergis) yang efektif, sebagai probiotik (mendukung pertumbuhan bakteri yang menguntungkan dalam saluran pencernaan), sebagai adaptogen (menyeimbangkan beberapa proses untuk mengeluarkan senyawa asing), dan merupakan agensia detoksifier.

Dalam pengobatan modern melalui pendekatan terapi naturopatik atau holistik, dapat dilihat cara kerja kombucha sebagai probiotik. Dalam kasus kombucha sebagai probiotik, kombucha berpotensi menyehatkan mikrobiota dalam saluran pencernaan dengan jalan memacu dan meningkatkan produksi bakteri asam laktat. Hal tersebut mirip dengan cara kerja bakteri

Acidophillus yang merupakan bakteri pada yoghurt (Bryant, 1986).

Mikrobia yang berperan dalam fermentasi kombucha adalah hasil hubungan simbiosis antara yeast dan bakteri. Bakteri yang berperan adalah bakteri asam asetat dan bakteri asam laktat. Bakteri asam asetat merupakan golongan bakteri yang bersifat aerob sehingga tidak berpotensi sebagai probiotik. Sehingga isolasi mikrobia dilakukan dengan cara menguji yeast dan bakteri asam laktat dalam fermentasi kombucha, meliputi uji ketahanan terhadap pH rendah (asam lambung), ketahanan terhadap *bile salt*, *oxgall*, dan kondisi mikroaerob. Tujuan dari penelitian ini adalah mengisolasi bakteri yang berpotensi sebagai agensi probiotik pada kombucha rosela.

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Starter "jamur" Kombu, Kelopak bunga rosela kering (diperoleh dari pasar terdekat), Gula tebu (pasir) diperoleh dari supermarket terdekat, Bahan kimia untuk analisis diperoleh dari Laboratorium FATIPA

UNISRI dan distributor bahan kimia di Solo dan sekitarnya.

Alat yang digunakan adalah wadah untuk fermentasi, kain penutup wadah, kain, gelas takar, panci perebus, peralatan gelas untuk analisis, autoklaf, thermometer, corong, spektrofotometer, kompor listrik, timbangan listrik, perlengkapan aseptis, cawan petri, tabung reaksi.

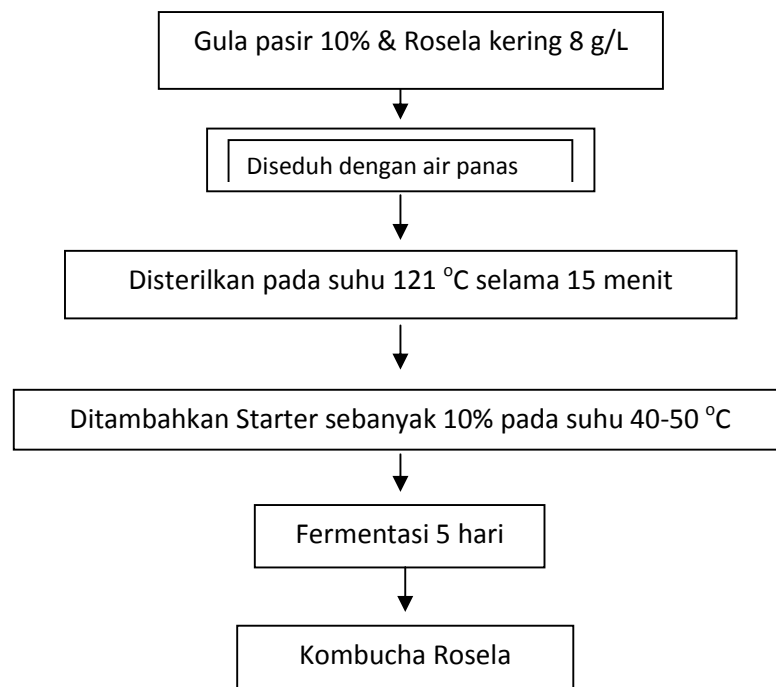
Isolasi dan identifikasi awal mikrobia yang berpotensi sebagai probiotik dalam kombucha. Penelitian dilakukan untuk mengisolasi dan

identifikasi awal mikrobia yang disinyalir berpotensi sebagai agensia probiotik dalam kombucha. Hasil akhir dari penelitian ini adalah memperoleh beberapa isolat yang diduga mempunyai kemampuan sebagai agensia probiotik.

Tujuan tersebut dapat dicapai dengan cara :

a. Pembuatan kombucha

Sebelum dilakukan isolasi dan identifikasi, dilakukan pembuatan kombucha sebagai sampel dalam penelitian ini. Bagan alir proses ini dapat dilihat pada Gambar 1



Gambar 1. Diagram Alir Proses Pembuatan Kombucha

b. *Enrichment*

Sampel kombucha diinokulasikan dalam media cair MRS cair sebagai agensia selektif mikrobial intestinal dan 10 ppm sodium azida untuk mengikat oksigen sehingga menekan pertumbuhan mikrobial aerob. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24-48 jam untuk memberi kesempatan bakteri berkembang.

c. Isolasi

Metode yang digunakan untuk isolasi bakteri yang berpotensi sebagai agensia probiotik adalah dengan metode *pour plate* pada media MRS agar yang ditambah dengan CaCO₃. Caranya dengan inokulasi 1 mL kombucha pada media MRS agar dan diinkubasi pada suhu 37°C

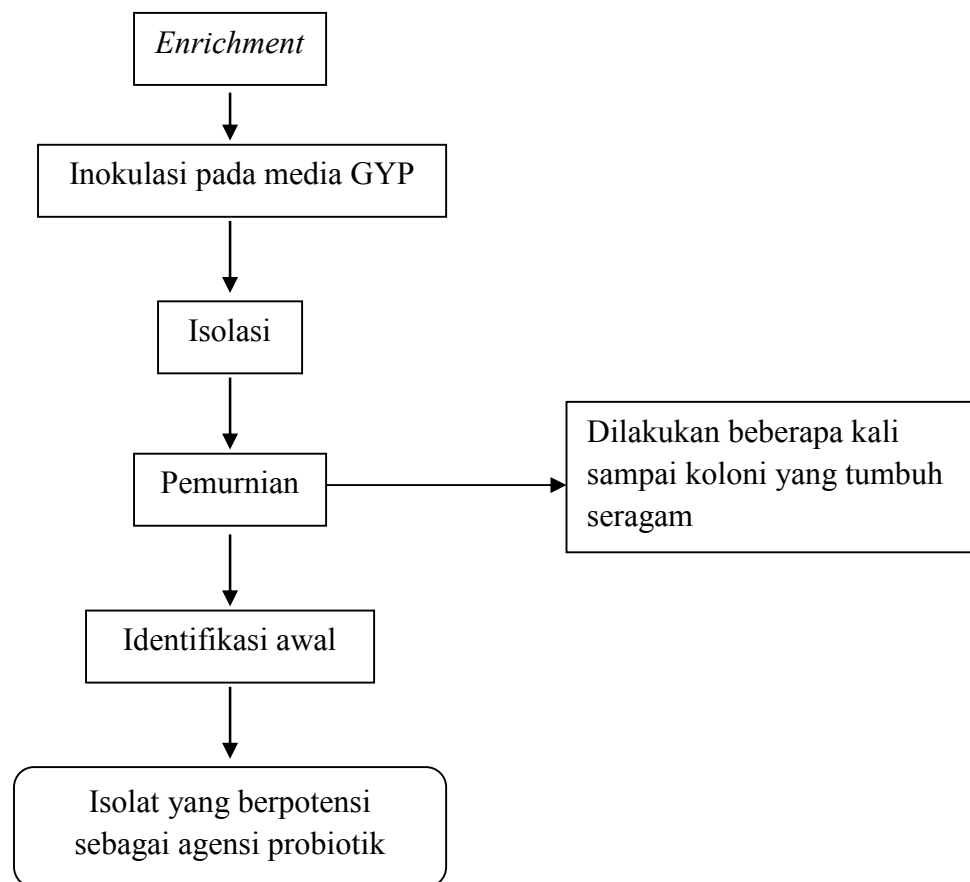
selama 48 jam. Koloni bakteri asam laktat dapat dibedakan dengan koloni bakteri yang lain yaitu dengan munculnya zona jernih akibat netralisasi asam oleh CaCO₃. Masing-masing koloni yang diduga bakteri asam laktat ini selanjutnya dimurnikan dengan media nutrisi cair secara berulang-ulang sampai dihasilkan isolat yang benar-benar murni.

d. Identifikasi awal

Koloni yang telah dimurnikan merupakan bakteri asam laktat. Selanjutnya dilakukan identifikasi awal, yaitu dengan menguji kemampuannya terhadap *bile salt* serta mengamati ciri dari isolat tersebut dengan membandingkan dengan isolat yang telah ada.

Kombucha





Gambar 2. Diagram alir isolasi Bakteri yang berpotensi sebagai agensia Probiotik

HASIL DAN PEMBAHASAN

Fuller (1989, dalam Fuller 1992) mendefinisikan probiotik sebagai suplemen makanan yang terdiri dari mikrobia hidup yang mempunyai efek menguntungkan pada inang melalui peningkatan keseimbangan mikrobiota dalam saluran pencernaan. Probiotik pada prinsipnya adalah memasukkan bakteri menguntungkan pada saluran pencernaan.

Efek menguntungkan dari probiotik pertama kali dikenali oleh

Metchnikoff (1907) dari hasil penelitian terhadap petani Bulgaria yang mengkonsumsi susu yang difermentasi dengan *Lactobacillus acidophilus*. Diketahui bahwa mikrobia merugikan dalam saluran pencernaan yang memproduksi substansi yang dapat berbahaya bagi manusia dapat dinetralisir oleh *Lactobacillus acidophilus* yang ada dalam susu tersebut (Jin dkk, 1997).

Probiotik seringkali direkomendasi oleh dokter dan lebih

sering lagi oleh ahli nutrisi, setelah pengonsumsi antibiotik, atau sebagai bagian dari pengobatan *candidas*. Banyak probiotik disediakan dalam sumber alamnya seperti *Lactobacillus* pada *yoghurt* dan *sauer kraut*. Bahkan ada beberapa orang yang menyatakan bahwa probiotik mampu meningkatkan sistem kekebalan tubuh (Anonim¹, 2008).

Kombucha berasal dari kata “kombu” dan “cha”. “Kombu” adalah nama seorang tabib dari Korea dan “Cha” berarti teh. Kombucha merupakan salah satu jenis minuman segar tradisional yang dihasilkan dari proses fermentasi air teh manis selama 7 – 10 hari dengan bantuan pertumbuhan simbiosis antara yeast dan bakteri, mengandung alkohol $\pm 0,5 - 1 \%$ dan pH $\pm 3 - 5,5$ (Sunantyo, 2002 dan Naland, 2004).

Khasiat Kombucha tersebut di atas disebabkan aktivitas mikroorganisme yang ada di dalam “jamur” kombu akan mengubah larutan teh dan gula menjadi berbagai senyawa biokimia yang berkhasiat yaitu: berbagai jenis asam (asam asetat, asam glukoronat, asam laktat, asam karbonat, asam folat, asam glukonat, asam chondroitin sulfat, asam Hyaluronic dan

asam usnat), vitamin (B1, B2, B3, B6, B12, B15 dan C) serta polifenol yang memiliki efek antioksidan kuat (Naland, 2004).

Kombucha dapat dibuat dari teh hijau, teh oolong dan teh hitam. Tetapi untuk tujuan pengobatan, paling baik menggunakan teh hijau karena mengandung lebih dari 36% polifenol sebagai komponen bioaktifnya dibandingkan teh hitam. Senyawa polifenol tersebut berperan sebagai penangkap radikal bebas hidroksil sehingga tidak mengoksidasi lemak, protein dan DNA dalam sel. Kandungan polifenol sebagai senyawa antioksidan inilah yang berkhasiat bagi kesehatan (Fulder, 2004).

Selama proses fermentasi larutan teh manis akan terjadi perubahan gula di dalam larutan teh tersebut menjadi berbagai jenis asam, vitamin, dan alkohol. Potensi antioksidan kombucha juga tersebut tidak lepas dari peranan media air teh yang mengandung senyawa-senyawa bermanfaat seperti polifenol, theofilin, flavonoid/metixantin, tanin, vitamin C dan E, catechin serta sejumlah mineral seperti Zn, Se, Mo, Ge dan Mg (Fulder, 2004).

Tahap awal penelitian adalah inokulasi stater yang telah dibeli dengan

media teh hitam (merk tong tji). Teh hitam merupakan media asal dari kombucha. Cairan dari fermentasi tersebut nantinya diinokulasi pada media teh rosella, sebagai media pada

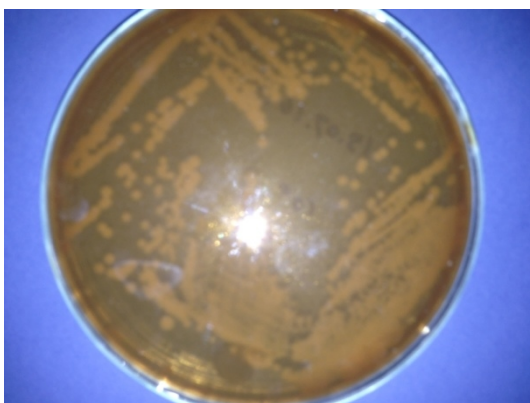


Gambar 3. Kombucha rosella kering dan stater kombucha

Tahapan selanjutnya adalah pembuatan media teh rosella yang kemudian nantinya diinokulasi dengan stater dari kombucha teh hitam yang telah diinokulasi sebelumnya. Inokulasi kombucha mulai dilakukan pada 25 Juni 2016. Setelah umur 3 hari, dilakukan enumerasi sel dari kombucha rosella. Media yang digunakan adalah MRS agar dengan penambahan CaCO_3 . CaCO_3

penelitian ini. Hasil yang diperoleh berupa kombucha dengan karakteristik sesuai dengan yang diharapkan dari sisi pH cairan, terbentuknya nata yang tipis.

digunakan sebagai indikator adanya bakteri asam laktat, yang ditunjukkan adanya zona jernih di sekitar koloni. Metode yang digunakan adalah *pour plate* (metode tuang). Jumlah sel/koloni pada kombucha umur 3 hari adalah $3,3 \times 10^5$ cfu/ml. Jumlah tersebut tergolong cukup tinggi. Namun zona jernih hasil pengendapan CaCO_3 belum tampak dengan jelas.



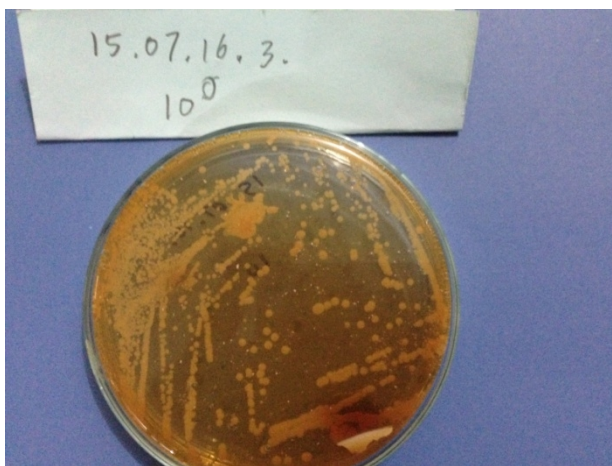
Gambar 4. Hasil enumerasi sel (*pour plate*) kombucha rosella umur 3 hari

Hasil enumerasi tersebut, sebagai identifikasi awal jumlah sel pada kombucha rosella. Enumerasi sel dilakukan lagi saat fermentasi kombucha rosella umur 5 hari, dengan metode *pour plate*. Jumlah sel yang diperoleh adalah $1,8 \times 10^6$ cfu/ml.

Tahapan selanjutnya adalah enumerasi sel dengan metode *streak plate* (goresan). Metode ini digunakan untuk mempermudah dalam pemurnian sel dari koloni yang tumbuh, sehingga mempermudah proses isolasi dan identifikasi asal. Salah satu syarat isolasi dan identifikasi awal adalah karakteristik sel dalam 1 koloni adalah

seragam, baik dari bentuk sel maupun sifatnya.

Kombucha rosella hasil fermentasi awal, digunakan sebagai stater awal dalam pembuatan kombucha rosella selanjutnya. Kombucha rosella dibuat lagi, kemudian dilakukan enumerasi sel dengan metode *streak plate*. Media yang digunakan adalah MRS Agar dengan penambahan CaCO_3 dan Natrium azida. Natrium azida digunakan untuk menekan pertumbuhan jamur dan bakteri pathogen.



Gambar 5. Hasil enumerasi sel kombucha rosella umur 3 hari

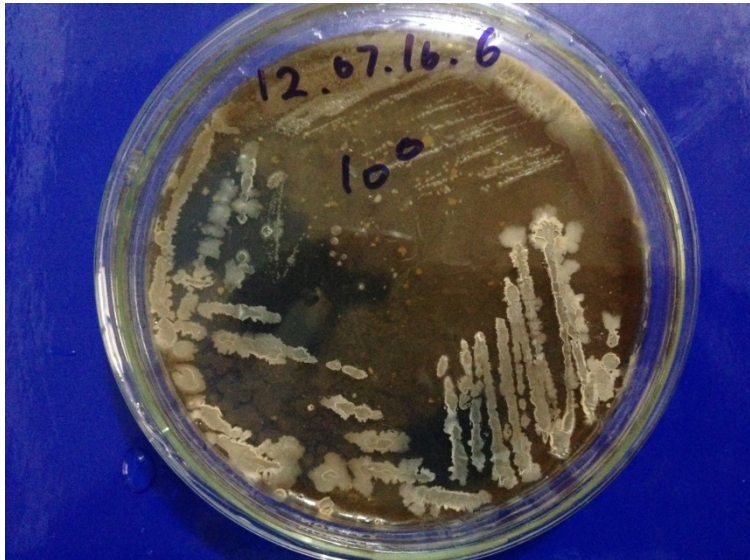
Gambar 5 menunjukkan hasil enumerasi sel kombucha rosella umur 3 hari. Koloni yang terbentuk belum jelas zona jernih hasil pengendapan CaCO_3 . Hal tersebut dimungkinkan karena bakteri asam laktat (sebagai agensia

probiotik) belum terbentuk/tumbuh pada hari ke 3. Sehingga dilanjutkan enumerasi sel pada kombucha sampai umur 14 hari. Kadar gula kombucha rosella umur 3 hari adalah 11,8%, pengukuran menggunakan

handrefractometer. Jumlah sel pada umur 3 hari adalah $8,1 \times 10^6$ cfu/ml.

Enumerasi sel dilakukan lagi saat kombucha rosella umur 6 hari. pH pada saat tersebut adalah 5, sedang kadar gula

10,8 % brix. Gambar 7 menunjukkan hasil enumerasi sel menggunakan *streak plate*. Hasil menunjukkan adanya zona jernih yang terlalu tampak jelas. Jumlah sel saat tersebut 2×10^8 cfu/ml.



Gambar 6. Hasil enumerasi sel kombucha umur 6 hari

Enumerasi sel dilanjutkan saat kombucha rosella umur 9. Hasil menunjukkan jumlah sel adalah $9,7 \times 10^2$ cfu/ml dengan pH 4 dan kadar gula 8 brix. Jumlah sel tersebut adalah jumlah

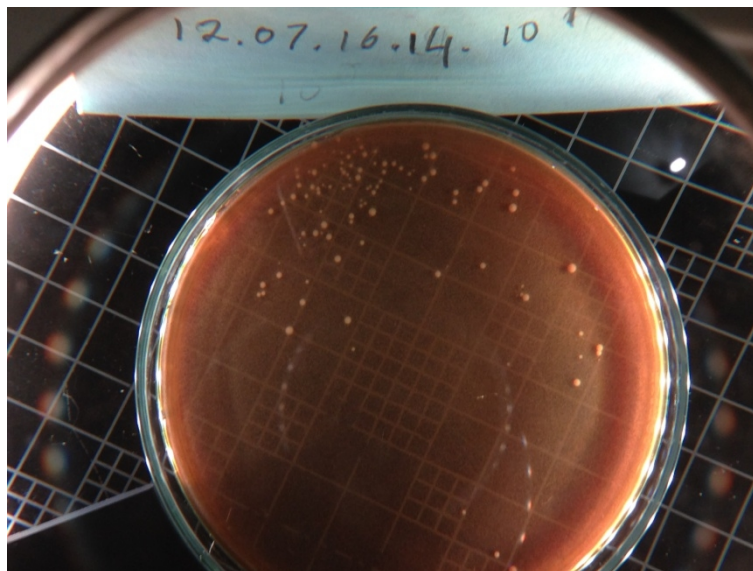
sel yang sudah tampak zona jernih disekitar koloni. Hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat bakteri asam laktat sebagai agensia probiotik.



Gambar 7. Hasil enumerasi sel kombucha umur 9 hari

Enumerasi sel dilakukan selanjutnya pada kombucha rosella umur 14 hari. Jumlah sel yang menunjukkan zona jernih adalah $1,35 \times$

10^3 cfu/ml. Gambar 9 menunjukkan adanya zona jernih hasil pengendapan CaCO_3 sebagai identifikasi awal bakteri asam laktat.



Gambar 8. Hasil enumerasi sel kombucha rosella umur 14 hari.

Hasil enumerasi sel kombucha rosella umur 14 hari dengan metode *streak plate*, kemudian diambil 2-3 koloni menggunakan jarum ose. Koloni tersebut

selanjutnya dimurnikan pada media MRS agar yang baru dengan penambahan Natrium Azida. Pemurnian dilakukan beberapa kali sampai

diperoleh sel dari satu koloni yang mempunyai karakteristik sama. Hasil pemurnian dan identifikasi awal, isolat terindikasi bahwa 4 isolat dari kelompok *Lactobacillus* dan 4 isolat dari kelompok *Pediococcus*. Isolat yang lainnya tidak terindikasi sebagai asam laktat.

KESIMPULAN

Hasil fermentasi kombucha rosella terdapat bakteri dari kelompok *Lactobacillus* dan 4 isolat dari kelompok *Pediococcus*. Isolat yang lainnya tidak

terindikasi sebagai asam laktat. *Lactobacillus* dan *Pediococcus* merupakan golongan bakteri asam laktat yang bermanfaat bagi manusia, khususnya pada saluran pencernaan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Kemenristek-DIKTI yang telah memberikan bantuan dana, sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan lancar

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim¹. 2008. *Probiotik*. <http://id.wikipedia.org/wiki/Probiotik>. Download Sabtu 23 Februari 2008 (13.00 WIB)
- Anonim². 2008. *Probiotik*. <http://www.sulis-health.co.uk/kombucha/downloads/kombucha.html> Download Sabtu 23 Februari 2008 (13.00 WIB)
- Bryant, Monica. 1986. *Probiotik*, Journal of Alternative Medicine, Feb. 1986. International Institute of Symbiotic Studies. USA
- Dutton, G., 1980. *Glucuronidation of Drug & Other Compounds*. CRC Press.
- Fulder, S., 2004. *Khasiat Teh Hijau*. Jakarta: Prestasi Pustaka Publisher
- Fuller, R. 1989. dalam Fuller, R. 1992 *History and development of Probiotics*. Edited by Fuller, Roy. *Probiotic : The Scientific basis*. Chapman & Hall. London
- Fuller, R. 1992. *History and Development of Probiotics*. Edited by Fuller, Roy. *Probiotic : The Scientific basis*. Chapman & Hall. London.

- Goldin, R. Barry dan Gorbach, Sherwood L.. 1992. *Probiotic for Humans*. Edited by Fuller, Roy. *Probiotic : The Scientific basis*. Chapman & Hall. London.
- Havenaar, R.; Brink, B.T.; Huis, J.H.J. 1992. *Selection of strain for Probiotic Use*. Edited by Fuller, Roy. *Probiotic : The Scientific basis*. Chapman & Hall. London.
- Hilmansyah, Hilman. 2008. *Si Dua Serangkai FOS dan GOS*. <http://www.tabloid-nakita.com/artikel.php3?edisi=07331&rubrik=sehat>. Download Sabtu 23 Februari 2008 (13.00 WIB)
- Jin, L.Z. ; Ho, Y.W. ; All, M.A. ; Abdullah, N; Jalaludin, S. 1997. *Probiotic in poultry : modes of action*. *World's Poultry Science Journal*, Vol 53 December 1997.
- Naland, H., 2004. *Kombucha Teh Ajaib Pencegah & Penyembuh Aneka Penyakit*. Jakarta: P.T. Agro Media Pustaka..
- Perker. 1974. dalam Samadi. 2002. *Probiotik Pengganti Antibiotik dalam Pakan Ternak*. Kompas Cyber Media, Jumat 13 September 2002, Download 17 Mei 2003
- Raibaud, Pierre. 1992. *Bacterial interaction in gut..* Edited by Fuller, Roy. *Probiotic : The Scientific basis*. Chapman & Hall. London.
- Reeves, P.G., F.H. Nelson, and G.C. Fahey, 1993. *AIN-93 Purified Diets for laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet*. *J. Nutr.* 123: 1939-1951.
- Sklenar, R., M.D., 1964. *Erfahrungssheilkundee*. *Zeitschrift fur die tagliche Praxis*, XIII:3.
- Sudarmo, Subijanto Marto; Ranuh, Reza Gunadi; Soeparto, Pitono; Djupri, Like S. 2003. *Kontribusi Prebiotik Pada Formula Untuk Pemeliharaan Ekosistem Mikrobiota Normal Pada Usus*. Laboratorium/SMF Ilmu Kesehatan Anak RS.Dr.Soetomo/FK Unair. Surabaya.
- Suprati, L., 2003. *Teh Jamsi dan Manisan Nata Berkhasiat Obat*. Jogjakarta: Kanisius. 72 hal.
- Widodo. 2003. *Bioteknologi Industri Susu*. Lacticia Press. Yogyakarta.