Jurnal Sains dan Edukasi Sains
Vol.5, No.2, Agustus 2022: 44-51
https://doi.org/10.24246/juses.v5i2p44-51

Karakteristik Kimia dan Aktivitas Antioksidan Selama Fermentasi Kombucha Cascara Kopi Arabika (*Coffea arabika L.*) Desa Catur Kabupaten Bangli

Dylla Hanggaeni Dyah Puspaningrum[1,*], Ni Luh Utari Sumandewi[2], Ni Kadek Yunita Sari[3]

[1]Program Studi Ilmu Gizi, Universitas Dhyana Pura, Badung, Bali 80361
[2]Program Studi Kesehatan Masyarakat, Universitas Dhyana Pura, Badung, Bali 80361
[2]Program Studi Biologi, Universitas Dhyana Pura, Badung, Bali 80361

*email korespondensi: dyllahanggaeni@undhirabali.ac.id

Received : 15 Juli 2022; ***Revised*** : 1 Agustus 2022; ***Accepted*** : 12 September 2022; ***Published*** : 23 September 2022

ABSTRAK

Kulit kopi yang dikeringkan (cascara) dapat dimanfaatkan menjadi minuman seduhan layaknya teh. Pengembangan cascara sebagai minuman fermentasi (kombucha) banyak dilakukan. Kombucha merupakan minuman fermentasi larutan cascara dan gula yang ditambahkan starter kombucha yaitu simbiosis bakteri Acetobacter xylinum dan beberapa jenis khamir diantaranya Saccharomyces cerevisiae. Penelitian bertujuan mengetahui karakteristik kimia (total asam, total fenol, total gula, pH, alkohol) dan aktivitas antioksidan kombucha cascara kopi arabika selama fermentasi. Penelitian ini dilakukan dengan Rancangan Acak Lengkap dengan satu faktor yaitu lama fermentasi (4, 8, 10, 12, dan 14 hari). Analisia sidik ragam untuk pengaruh perlakuan dilakukan pada data yang diperoleh, bila hasil menunjukkan berpengaruh nyata, maka dilakukan uji Duncan. Hasil penelitian menunjukkan total asam, total fenol, alkohol dan IC50 kombucha cascara semakin meningkat dengan waktu fermentasi 4-14 hari yaitu total asam berkisar 1,02-1,51% peningkatan total asam terjadi karena metabolisme sukrosa oleh bakteri dan kapang yang akan menghasilkan sejumlah asam organik dan alkohol yang diproduksi secara anaerob oleh khamir Saccharomyces cerevisiae sehingga terjadi kenaikan alkohol berkisar 48,41-2377,55 ppm. Total fenol berkisar 13,31-22,37 mg GAE/mL, kenaikan total fenol diduga karena terbentuknya senyawa fenolik akibat aktivitas enzimatis oleh mikroba SCOBY kombucha dalam mendegradasi komponen matriks lainnya dan mengakibatkan kenaikan IC50 berkisar 52,021-262,298 mg/L. Total gula dan nilai pH kombucha cascara yang dihasilkan semakin lama fermentasi akan menurun dengan total gula berkisar 2,85-6,15% dan nilai pH berkisar 1,46-2,98, gula yang ada digunakan sebagai sebagai nutrisi oleh kultur kombucha selama fermentasi dan menghasilkan alkohol dan asam organik hal ini mengakibatkan adanya penurunan total gula dan pH pada kombucha cascara.

Kata-kata kunci: aktivitas antioksidan; cascara; karakteristik kimia; kombucha

PENDAHULUAN

Tahun 2020 hasil perkebunan kopi arabika Provinsi Bali mencapai 4.189 ton, dengan penghasil terbesar pada Kabupaten Bangli pada tahun 2020 mencapai 2.249 ton (BPS Bali, 2022). Pengolahan kopi menghasilkan kulit buah kopi yang belum dimanfaatkan secara optimal. Menurut Nuraini dkk. (2015) buah kopi terdiri dari biji kopi 40%, *mucigale* 10%, kulit biji 5% dan bagian terbanyaknya adalah kulit buah 45. Kulit buah kopi yang dikeringkan (cascara) telah mulai dikembangkan sebagai minuman yang menyegarkan (Pabari, 2014).

Pemanfaatan cascara menjadi minuman terfermentasi yang dikenal sebagai kombucha perlu dikembangkan. Minuman ini sering dikonsumsi oleh masyarakat karena bermanfaat bagi kesehatan tubuh dan menyegarkan. Kombucha adalah suatu ramuan minuman kuno yang berasal dari Asia Timur merupakan hasil dari simbiosis murni dari bakteri dan ragi *Saccharomyces cerevisiae*. Kombucha diperoleh dari pemeraman larutan teh manis yang ditambahkan jamur kombucha. Jamur kombucha terdiri dari beberapa mikroba golongan bakteri dan ragi (Hartoyo, 2003). Pemanfaatan cascara dalam pembuatan kombucha didasari oleh kandungan nutrisi pada cascara yang dapat mendukung pertumbuhan mikroba starter atau kultur saat fermentasi kombucha berlangsung dan diharapkan dapat meningkatkan nilai mutu kombucha.

Waktu fermentasi, konsentrasi teh jumlah gula dan jumlah stater yang ditambahkan akan berpengaruh pada perubahan sifat fisik dan kimia selama fermentasi. Pertumbuhan mikroorganisme kultur kombucha, kandungan asam, fenol, gula, nilai pH, dan alkohol akan terpengaruh dengan lamanya waktu fermentasi (Falahuddin dkk., 2017) dan aktivitas antioksidan (IC50) (Kusuma & Fibrianto, 2018). Kombucha

memiliki potensi yang besar sebagai minuman fungsional maka perlu dilakukan penelitian yang mendasar untuk mengetahui karakteristik kimia kombucha cascara yang dihasilkan dari proses fermentasi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui total asam, total fenol, total gula, nilai pH, alkohol dan aktivitas antioksidan (IC50) pada kombucha cascara selama waktu fermentasi yang bervariasi yaitu 4, 8, 10, 14 hari. Analisa yang dilakukan meliputi total asam, total fenol, total gula, nilai pH, alkohol dan aktivitas antioksidan (IC50).

EKSPERIMEN

Alat dan Bahan

Starter kombucha (SCHOBY) diperoleh dari Wikikombucha, Sading, Badung, Bali. Cascara menggunakan hasil dari kelompok petani kopi arabika desa Catur Kabupaten Bangli, Bali. Bahan lainnya meliputi gula pasir putih (Gulaku), akuades, air mineral dalam kemasan, indikator pp 1%, NaOH 0,1N, larutan asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS) 1%, reagen *Folin-Ciocalteu*, etanol 10%, asam asetat (Merck), dan 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH). Peralatan yang digunakan meliputi panci berbahan steinless steal, stoples kaca, magnet stirrer, gelas beaker, aluminium foil, thermometer, pH meter, kompor atau bunsen, gelas ukur, saringan, timbangan analitik, pipet tetes, labu titrasi, kertas saring, kromatografi gas, dan *spektrofotometer UV-Vis Shimadzu UV-1201*.

Instrumen

Metode penelitian ini adalah eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan faktor perlakuan waktu fermentasi yang digunakan dalam pembuatan kombucha cascara yaitu F0= kontrol (tanpa fermentasi), F4= waktu fermentasi 4 hari, F8= waktu fermentasi 8 hari, F10= waktu fermentasi 10 hari, F14= waktu fermentasi 14 hari. Masing-masing perlakuan dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan sehingga akan diperoleh 18 unit percobaan. Metode yang digunakan untuk analisa kimia dan aktivitas antioksidan meliputi: Analisa total asam menggunakan metode titrasi asam-basa (AOAC, 2000), Total feno dengan menggunakan metode *follin-cioceltau*, Total gula menggunakan Spektrofotometri dengan pereaksi DNS (*Dinitrosalisilic acid*) (AOAC, 1995), pH menggunakan alat pH meter (AOAC, 1990), Kadar alkohol dengan metode kromatografi Gas dan Aktivitas antioksidan IC50) dengan metode DPPH. Analisis sidik ragam untuk pengaruh perlakuan dilakukan pada data yang diperoleh. Menurut Gomes & Gomes (1995) bila hasil menunjukkan berpengaruh nyata, maka dilakukan uji Duncan.

Prosedur Kerja

Pembuatan Kombucha Cascara (Nurhayati dkk., 2020)

Stater kombucha (SCHOBY) diperoleh dari Wikikombucha, Sading, Badung, Bali. Cascara dari kelompok petani kopi arabika Desa Catur Kabupaten Bangli, Bali. Air bersih 3 Liter didihkan, setelah mendidih tambahkan sebanyak 10 gram cascara sambil diaduk selama 5 menit sampai warna cascara keluar, selanjutnya disaring sehingga menghasilkan larutan cascara. Larutan teh ditambahkan gula 300 gram atau 10% (b/v) aduk sampai gula terlarut. Dinginkan larutan cascara sampai menyamai suhu ruang 40°C. Kemudian dilakukan inokulasi dengan menuangkan SCOBY dan larutan starter pada larutan yang sudah disiapkan di dalam toples. Inkubasi pada suhu ruang selama 4, 8, 10, 12, dan 14 hari dalam stoples kaca. Pada proses fermentasi tempatkan toples pada tempat yang bersih, kering, tidak terkena sinar matahari secara langsung dan aman sehingga proses fermentasi berjalan baik. Setelah waktu fermentasi selesai, dilakukan pemisahan larutan cascara terfermentasi dari kultur kombucha dan dilanjutkan proses pasteurisasi pada suhu 85°C selama 15 menit.

Analisa Karakteristik Kimia (Total Asam, Fenol, Gula, pH, Alkohol) dan IC50

Kombucha cascara yang terfermentasi selama 4, 8, 10, 12 dan 14 hari dilakukan analisa terhadap karakterstik kimia dan IC50 mengikuti dengan penelitian (Nurhayati dkk., 2020) setelah melalui dilakukan analisis total asam (AOAC, 2000), total fenol (metode *follin-cioceltau*), total gula dengan DNS (metode *spektrofotometer*, Apryantono., dkk 1989), pH (metode *colour reader*, Fardias 1992), alkohol (AOAC, 1990) dan IC50 (Molyneux, 2004).

Total Asam (AOAC, 2000)

Metode titrasi asam-basa digunakan dalam pengukuran total asam kombucha cascara. Tahapan pengukuran adalah 20 mL kombucha cascara ditempatkan dalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan aquades sebanyak 2 kali volume, lalu dilakukan penambahan indikator pp 1% sebanyak 2-3 tetes dilanjutkan dengan titrasi dengan NaOH 0,1 N hingga warna merah muda terbentuk. Warna merah muda yang timbul tidak akan berubah selama 30 detik. Rumus perhitungan total asam tertitrasi sebagai berikut:

$$\text{Total asam tertitrasi (\%)} = \frac{V1 \times N \times B \times Fp}{V2} \times 100\%$$

Keterangan:
V1 = Volume NaOH (ml)
V2 = Berat Sampel (gram)
N = Normalitas NaOH 0,1 N
B = Berat setara asam asetat
Fp = Faktor pengenceran

Total Fenol (metode *follin-cioceltau)*

Total fenol dilakukan dengan menggunakan metode *follin-cioceltau*. Perhitungan total fenol diawali dengan pembuatan kurva standar dengan cara 5 mg pelarutan asam galat dalam 10 mL methanol, masing-masing dipipet 0 µL, 25 µL, 50 µL, 75 µL, 100 µL, 125 µL, 150 µL, 175 µL, 200 µL dan 225 µL. Peneraan dilakukan dengan aquades dan 0,5 ml *follin-cioceltau*, selanjutnya dihomogenkan dengan votex. Tahapan selanjutnya larutan didiamkan 5 menit lalu ditambahkan 1 mL Na_2CO_3 dan dilakukan homogenasi dengan vortex. Larutan dalam tabung reaksi didiamkan 60 menit. Nilai absorbansi diukur dalam panjang gelombang 756 nm. Nilai absorbansi yang diperoleh dihubungkan dengan konsentrasi asam galat (µg/mL). Kadar fenol diukur dengan 0,05 mL kombucha cascara lalu ditera hingga 5 mL dengan menggunakan aquades. Setelah tercapai 5 ml ditambahkan 1 mL Na_2CO_3 lalu dihomogenkan dengan vortex. Larutan dalam tabung reaksi didiamkan selama 60 menit. Pengukuran absorbansi sampel yang diplotkan dalam kurva asam galat akan menghasilkan konsentrasi fenol yang diperoleh pada sampel.

Total Gula dengan DNS (Spektrofotometer) (Apryantono dkk, 1989)

Pembuatan larutan Asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS) 1% dilakukan dengan ditimbang 1,0 g NaOH dilarutkan dalam 100 mL aquades, kemudian dihomogenkan, selanjutnya tambahkan 18,2 g natrium kalium tartrat tetrahidrat, sambil diaduk dan ditambahkan 1 gram DNS serta 0,15 g Na_2SO_3. Pengadukan dilakukan hingga homogen.

Pengujian total gula dilakukan dengan menimbang sebanyak 1 g sampel dan dihidrolisis dengan HCl 4 N sebanyak 50 mL pada suhu 80°C selama 2 jam menggunakan *waterbath*. Didinginkan dan dinetralkan dengan NaOH 50% hingga pH menjadi 7. Diencerkan menjadi 100 ml dan disaring. Filtrat dipipet 1 ml dan diencerkan menjadi 100 mL dengan aquades. 1 mL filtrat ditambahkan 1 mL pereaksi DNS 1%. dipanaskan selama 10 menit. Hasil reaksi didinginkan dan dibaca pada panjang gelombang 540 nm.

Standar glukosa dipersiapkan dengan konsentrasi 100-500 ppm. Masing-masing standar dipipet 1 mL dan diperlakukan sama seperti pengerjaan sampel, dan dibuat kurva regresi linier, hubungan konsentrasi glukosa dengan nilai absorbansi pada persamaan regresi linier y = ax + b. gunakan aquades sebagai blanko.

Kadar Alkohol (AOAC, 1990)

Kadar Alkohol diperoleh dengan Metode Kromatografi Gas (GC). Sejumlah 10 mL kombucha cascara diencerkan dengan *aquabidest* dalam labu takar ukur 50. Selanjutnya, destilasi dilakukan hingga diperoleh destilat sebanyak 75% dari volume awal. Destilat yang diperoleh dipindahkan secara kuantitatif ke labu takar 10 mL dan ditambahkan *aquabidest* hingga tanda batas. Larutan diambil sedikit kemudian dituangkan dalam tabung evendoff untuk diijeksikan ke dalam injector GC dengan *micro syringe* sebagai alat suntik ke *injector* GC. Larutan standar yang digunakan standar etanol 10% kemudian dibandingkan dengan larutan sampel dan larutan standar.

Nilai pH (Metode *Colour Reader*, Fardias 1992)

Pengukuran derajat keasaman (pH) menggunakan alat pH meter. Langkah pengukuran derajat

keasaman dilakukan dengan pH meter dinyalakan dan distabilkan selama 15-30 menit, pH meter dengan menggunakan buffer pH 4,0 dan pH 7,0 dikalibrasi sebelum digunakan dan kemudian dibilas dengan aquades. Setiap kali akan mengukur pH sampel yang lain dilakukan pembersihan alat dengan menggunakan *aquadest*.

Penentuan aktivitas antioksidan (Metode DPPH, Molyneux, 2004)

Reagen DPPH dibuat dengan cara melarutkan 0,0394 gram 1,1 *diphenyl-2-picrylhydrazyl* dengan etanol 97 % hingga mencapai 250 mL. Penentuan daya antioksidan ini menggunakan metode DPPH dengan cara 10 µL sampel ditambah dengan 1 mL DPPH didiamkan 20 menit ditambahkan etanol 97 % sampai 5 mL, kemudian divorteks dan diabsorbansi dengan panjang gelombang λ=517 menggunakan *spektrofotometer UV-Vis Shimadzu UV-1201*. Perlakuan yang sama juga dilakukan untuk larutan blanko (larutan DPPH yang tidak mengandung bahan uji). Data hasil pengukuran absorbansi dianalisa persentase aktivitas antioksidannya menggunakan persamaan berikut.

$$\%\ \text{Inhibisi} = \frac{A\ blanko - Asampel}{A\ blanko}\ x\ 100\%$$

Keterangan:
A= Nilai Absorbansi

HASIL DAN DISKUSI

Karakteristik Kimia

1. Total Asam

Kandungan total asam kombucha cascara berkisar 1,02-1,51% (**Tabel 1**). Pada kombucha cascara total asam yang diperoleh semakin meningkat selama proses fermentasi berlangsung dengan waktu 4-14 hari. Diketahui bahwa total asam berhubungan dengan petumbuhan mikroba terutama bakteri asam laktat. Cascara memiliki kandungan senyawa aktif seperti senyawa fenolik, tanin dan kafein (Heeger *et al.,* 2017; Velicanski *et al.,* 2014). Keberadaan senyawa-senyawa aktif ini dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme, karena bersifat sebagai antimikroba (Simanjuntak & Mutiara, 2016; Ngajow *et al*., 2013).

Peningkatan total asam selama fermentasi terjadi karena pada proses fermentasi sukrosa dimetabolisme oleh bakteri dan kapang yang akan menghasilkan sejumlah asam-asam organik seperti asam asetat, asam glukonat dan asam glukoronat. Hal tersebut yang memicu terjadinya peningkatan kadar asam-asam organik dan dapat disimpulkan bahwa tingginya asam organik dalam kombucha cascara akan meningkatkan total asamnya. Semakin lama waktu fermentasi, maka akan semakin banyak asam asetat yang terbentuk sebagai hasil metabolisme *Acetobacter xylinum*. Semakin lama fermentasi, maka hasil fermentasi akan semakin asam.

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa lama fermentasi berpengaruh nyata (P<0,005) terhadap total asam kombucha cascara. Total asam tertinggi diperoleh pada fermentasi hari ke-14 yaitu 1,51%, sedangkan total asam terendah diperoleh pada fermentasi hari ke 10 yaitu 1,02%. Total asam pada kombucha cascara menentukan cita rasa kombucha.

2. Total Fenol

Senyawa fenol banyak ditemukan pada tumbuhan dapat ditunjukkan dengan adanya cincin aromatik yang mengadung satu atau dua gugus OH. Menurut Heeger *et al.* (2016) cascara mengandung senyawa fenolik seperti protocatechuic dan asam klorogenat. Pada kombucha cascara terdapat senyawa fenolk dengan total senyawa fenolik berkisar antara antara 13,31-22,37 mg GAE/mL (**Tabel 1**).Hasil menunjukkan bahwa semakin lama waktu fermentasi kenaikan nilai total fenol kombucha cascara berbeda. Total fenol mengalami peningkatan pada waktu fermentasi hari ke-4 dan ke-8 dan mengalami penurunan pada waktu fermentasi hari ke-10 dan ke-12, dan mengalami peningkatan kembali pada waktu pernurunan fermentasi hari ke-14. Adanya kenaikan dan penurunan total fenol pada kombucha cascara diduga karena terbentuknya senyawa fenolik akibat aktivitas enzimatis oleh mikroba SCOBY kombucha dalam mendegradasi komponen matriks lainnya (Bhattacharya *et al.,* 2011). Pada penelitian Primurdia & Kusnadi (2014) dan Hernandez *et al.,* (2007) diketahui bahwa senyawa fenolik dapat terbentuk dari degradasi matriks komponen bahan lainnya akibat aktivitas enzimats bakteri dan yeast pada kultur kombucha.

Protocatechuic dan asam klorogenat merupakan senyawa fenolik dari kelompok asam fenolat (Sakakibara *et al.,* 2003). Vollmer *et al* (2017) menyatakan degradasi asam klorogenat oleh mikroba mengubah asam klorogenat menjadi asam kafeat dan asam kafeat diuraikan menjadi asam sinamat. Asam kafeat merupakan senyawa fenolik golongan flavonoid. *S. cerevisiae* pada kultur kombucha mampu menghasilkan enzim fenol reduktase dan melakukan dekarboksilasi asam sinamat (Ayuratri & Kusnadi, 2017). Asam sinamat seperti asam trans-4hidroksi metoksinamat (asam firulat) dan asam trans-4hidroksinamat (asam p-kaumarat) mengalami dekarboksilasi membentuk senyawa fenol yaitu 4-vinyl guaiakol (4-VG) dan 4-vinyl fenol (4-VP).

Aktivitas enzim yang dihasilkan oleh mikroba yang digunakan sebagai starter dalam proses fermentasi, senyawa fenolik yang terikat dengan komponen struktur dinding sel seperti selulosa, lignin dan protein melalui ikatan ester akan terlepas menjadi senolik bebas, sehingga dapat menyebabkan peningkatan senyawa fenolik.

3. Total Gula

Hasil analisis menunjukkan lamanya fermentasi berpengaruh terhadap total gula kombucha cascara yang dihasilkan. Fermentasi berkisar antara 2,85% hingga 6,15% sukrosa yang digunakan pada kombucha tidak berfungsi sebagai pemanis melainkan sebagai sumber energi bagi bakteri untuk tetap bertahan hidup melalui proses fermentasi dan respirasi.

Berdasarkan **Tabel 1.** dapat dijelaskan bahwa semakin lama fermentasi maka total gula akan semakin menurun, hal ini disebabkan gula yang ada digunakan sebagai sebagai nutrisi oleh kultur kombucha dimana pada akhir fermentasi menghasilkan alkohol, asam-asam organik serta metabolit lainnya. Penurunan gula selama fermentasi bukan hanya disebabkan oleh aktivitas khamir dalam metabolisme gula menjadi alkohol, namun juga adanya aktivitas *Acetobacter xylinum* yang mampu mengoksidasi glukosa menjadi asam glukonat dan asam organik lain pada waktu bersamaan. Selan itu *Acetobacter xilynum* juga dapat mensintesis glukosa menjadi polisakarida atau selulosa yang berupa serat-serat putih.

Pada hasil analisis diketahui bahwa terjadi penurunan total gula akibat penambahan starter kombucha pada seduhan. Proses naik dan turunnya total gula dipengaruhi oleh bakteri *Acetobacter xylinum* dan khamir yang terdapat pada media. Penurunan total gula disebabkan oleh hidrolisis sukrosa menjadi glukosa oleh enzim invertase. Hidrolisis terjadi karena pH media sangat rendah dimana pada kondisi pH tersebut, sukrosa sangat mudah untuk dihidrolisis oleh enzim invertase (Apriyantono dkk*.,* 1989).

Mikroba membutuhkan gula sebagai sumber karbon. Gula pada media akan digunakan oleh mikroba sebagai nutrisi yang kemudian akan diubah menjadi alkohol, CO_2 dan asam karbonat (Suprapti, 2003 dalam Silaban, 2005). Energi diperlukan untuk mempertahankan kehidupan stater kombucha dan untuk perkembangbiakan stater serta untuk pergerakan organisme yang bersifat motil. Menurut Rahayu dan Kuswanto (1987), total gula semakin menurun dikarenakan khamir (*Saccharomyces cereviseae*) menguraikan sukrosa menjadi alkohol sehingga kadar alkohol kombucha semakin meningkat.

4. Nilai pH

Nilai pH kombucha cascara berkisar antara 1,46 sampai 2,98. Secara umum nilai pH kombucha yang aman untuk dikonsumsi yaitu tidak boleh <3. Apabila nilai pH<3 maka minuman kombucha perlu diencerkan terlebih dahulu sebelum dikonsumsi. Pada hasil penelitian diperoleh nilai pH kombucha cascara dalam batas aman untuk dikonsumsi dan dapat diterima oleh tubuh.

Pada **Tabel 1**, menunjukkan bahwa selama fermentasi pH mengalami penurunan. Penurunan pH terjadi akibat adanya perubahan substrat gula menjadi produk yang berupa alkohol dan asam organik. Penerunan pH juga terjadi karena semakin tingginya asam-asam organik sebagai hasil metabolit dari bakteri dan khamir yang digunakan sebagai stater dalam pembuatan kombucha cascara. Menurut Greenwalt *et al.,* (1998) adanya aktivitas bakteri dan membentuk asam-asam yang dapat menyebabkan penurunan pH. Diketahui konsentrasi asam asetat mengalami peningkatan selama proses fermentasi, asam asetat akan melepaskan proton, hal ini diduga dapat menyebabkan penurunan pH. Penurunan pH selama fermentasi juga akan mendukung perkembangbiakan bakteri *Acetobacter xylinum* yang terdapat pada stater kombucha untuk melangsungkan aktivitas metabolismenya.

Semakin lama fermentasi menunjukkan terjadinya penurunana pH kombucha cascara. Penurunan pH selama fermentasi mengindikasikan adanya aktivitas metabolisme dari bakteri dan khamir. Selama fermentasi terjadi perombakan sukrosa menjadi alkohol dan juga terbentuknya asam-asam organik lainnya oleh bakteri. Asam yang terbentuk akan melepas proton sehingga nilai pH menjadi rendah (Al-Yousef *et al.,*

2017).

5. Kadar Alkohol

Kandungan alkohol kombucha cascara berkisar 84,556-2.377.5500 ppm atau 0,008-0,238% (**Tabel 1**). Pada fermentasi kombucha cascara terdapat dua kali proses fermentasi, yang pertama adalah fermentasi alkohol dan selanjutnya fermentasi asam asetat. Proses fermentasi alkohol dimulai dari sel-sel khamir akan menghidrolisis sukrosa untuk membentuk glukosa dan fruktosa yang digunakan untuk memproduksi etanol (Jayabalan *et al*., 2014). Kultur akan mendegradasi glukosa melalui tahap glikolisis menjadi asam piruvat. Kemudian asam piruvat akan dikarboksilasi oleh enzim piruvat dekarboksilase menjadi asetildehid dan CO_2. Selanjutnya asetildehid diubah menjadi etanol oleh enzim alkohol dehydrogenase (Mehta *et al*., 2012).

Selama proses fermentasi kadungan alkohol mengalami kenaikan yang disebabkan adanya produksi alkohol secara anaerob oleh khamir *Saccharomyces cerevisiae*. Adanya alkohol akan menstimulasi pertumbuhan *Acetobacter xylinum* untuk memproduksi asam asetat secara aerob. Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* juga distimulus dengan adanya asam asetat. Kemudian alkohol digunakan oleh bakteri *Acetobacter* untuk pembentukan asam asetat, sehingga menyebabkan kadar alkohol mengalami penurunan dengan semakin panjang waktu fermentasi.

6. Aktivitas Antioksidan (IC50)

Pada hasil kombucha cascara selama fermentasi memiliki nilai IC50 yang bervariasi selama fermentasi. Nilai IC50 adalah bilangan yang menunjukkan kemampuan menghambat proses oksidasi sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC50, berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan.

Hasil penelitian menunjukkan adanya kenaikan dan penurunan aktivitas antioksidan kombucha cascara selama fermentasi dikarenakan adanya perubahan nilai pH, dimana semakin lama fermentasi akan menurunkan nilai pH kombucha. Hal tersebut dapat berdampak pada terjadinya kerusakan fenol yang berperan sebagai antioksidan.

Menurut Pratama (2015), adanya ketidaksetabilan antioksidan pada suasana asam dikarenakan adanya senyawa-senyawa yang memiliki gugus aktif yaitu gugus hidroksil yang dapat bersifat sebagai antiradikal bebas, dengan cara mendonorkan elektron yang tidak berpasangan kepada senyawa radikal sehingga radikal bebas menjadi stabil. Pada **Tabel 1**, aktivitas antioksidan (IC50) kombucha cascara berkisar antara 52.021-128.308 mg/L.

Tabel 1. Karakteristik Kimia dan Aktivitas Antioksidan Kombucha Cascara

Lama Fermentasi	Parameter					
	Total Asam (%)	Total Fenol (mg GEA/100ml)	Total Gula (%)	pH	Alkohol (ppm)	Aktivitas Antioksidan (IC50) (mg/L)
F0 (0 hari)	$0,06^{a}$±0,00	$4,28^{a}$±0,28	$7,49^{e}$±0,44	$6,30^{f}$±0,02	$48,41^{a}$±0,00	$262.298.5000^{e}$±11656
F4 (4 hari)	$1,30^{c}$±0,00	$21,88^{e}$±0,49	$4,96^{c}$±0,45	$2,87^{c}$±0,01	$84,56^{b}$±0,00	$55.294.4067^{a}$±102
F8 (8 hari)	$1,34^{d}$±0,01	$22,37^{e}$±0,61	$4,44^{c}$±0,10	$2,98^{e}$±0,01	$998,70^{c}$±0,00	$82.955.8333^{c}$±212
F10 (10 hari)	$1,02^{b}$±0,00	$17,32^{c}$±0,63	$6,15^{d}$±0,35	$2,94^{d}$±0,01	$1.462,25^{d}$±0,00	$128.308.8900^{d}$±364
F12 (12 hari)	$1,46^{e}$±0,01	$13,31^{b}$±0,09	$3,60^{b}$±0,05	$2,80^{b}$±0,01	$1.306,82^{d}$±0,00	$65.170.6200^{b}$±197
F14 (14 hari)	$1,51^{f}$±0,01	$18,62^{d}$±0,51	$2,85^{a}$±0,07	$1,46^{a}$±0,00	$2.377,55^{e}$±0,00	$52.021.1100^{a}$±715

*Angka merupakan rata-rata ± standard deviasi

*Huruf notasi yang berbeda menunjukkan adanya beda nyata pada taraf signifikasi (P<0,05)

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisa menunjukkan total asam, total fenol, alkohol dan IC50 kombucha cascara semakin meningkat dengan waktu fermentasi 4-14 hari yaitu total asam berkisar 1,02-1,51%, total fenol berkisar 13,31-22,37 mg GAE/mL, alkohol berkisar 48,41-2377,55 ppm dan IC50 berkisar 52,021-262,298 mg/L. Total gula dan nilai pH kombucha cascara yang dihasilkan semakin lama fermentasi akan semakin menurun dengan total gula berkisar 2,85-6,15% dan nilai pH berkisar 1,46-2,98.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada LPPM Universitas Dhyana Pura atas dukungan dana dari Hibah Unggulan Perguruan Tinggi Tahun 2021.

DAFTAR PUSTAKA

Ayuratri, M.K & Kusnadi, J. (2017). Aktivitas Antibakteri Kombucha Jahe (*Zingiber officinale*) (Kajian Varietas Jahe dan Konsistensi Madu). J Pangan Agroind 5:95-107.

Al-Yousef, H.M., Sawab, A., & Alruhimi, M. (2017). Pharmacognotic Studies on Coffee Arabica L. Husks: a Brilliant Source Of Antioxidant Agents. European J Pharm Med Res 4:86-92.

AOAC. (1990). Official Methods of Analysis of The Association of Official Analytical Chemists. AOAC Inc. Washington, DC.

AOAC. (1995). Official Methods of Analysis, 16th ed. AOAC International. Gaithersbug. University of Maryland, USA.

AOAC. (2000). Official Methods of Analysis of AOAC International. Sixteenth Edition, 5th Revision, 1999. Vol. 2.USA : AOAC Inc.

Apriyantono, A., Fardiaz, D., Puspitasari, N.L., Sedamawati, & Budiyanto, S. (1989) Analisis Pangan. PAU Pangan dan Gizi. IPB Press, Bogor.

Bhattacharya. S, Gachhui. R, & Sil. P. C. (2011). Hepatoprotective properties of kombucha tea against TBHP-induced oxidative stress via suppression of mitochondria dependent apoptosis. Pathophysiology, vol. 18, no. 3, pp. 221–234.

BPS Bali. (2022). Produksi Kopi Arabika Menurut Kabupaten/Kota di Provinsi Bali (Ton), 2018-2020. https://bali.bps.go.id/indicator/54/349/1/produksi-kopi-arabika-menurut-kabupaten-kota-di-provinsi-bali.html. Diakses Januari 2022

Falahuddin, I., A. R. P. Rahajeng., & L. Harmeni. (2016). Pengaruh Pupuk Organik Limbah Kulit Kopi (Coffea Arabika L.) terhadap Pertumbuhan Bibit Kopi. Jurnal Bioilmi. 2(2): 108-120.

Fardias, D., Fardias, S., & Winarno F.G 1992. Teknik Analisa Sifat Kimia dan Fungsional Komponen Pangan. Bogor: Pusat Antar Universitas IPB.Gomes, K. A. dan A. A. Gomes. 1995. Prosedur Statistik untuk Penelitian Pertanian. UI Press. Jakarta.

Greenwalt, C.J., Ledford, R.A., & Steinkraus, K.H. (1998). Determination and Characterization of The Antimicrobial Activity of The Fermented Tea Kombucha. Lebensm-Wiss. Technol. 31:291-296.

Hartoyo, A. (2003). Teh dan Khasiatnya bagi Kesehatan. Kansius. Yogyakarta.

Heeger, A., Konsinska-Cagnazzo A., Cantergini E., & Andlauer W. (2017). Bioactives of Coffee Cherry Pulp and Its Utilisation for Production Of Cascara Beverage. Food Chemistry. 221: 969-975

Hernandez, A., Martin A., Aranda E., Perez-Nevado F., & Cordoba M.G. (2017). Identification and Characterization of Yeast Isolated From The Elaboration of Seasoned green Table Olive. Food Microbiol 24:346-351.

Jayabalan, R. V. Malbaˇsa, E. S. Lonˇcar, J. S. Vitas, & M. Sathishkumar. (2014). A review on kombucha tea—microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and teafungus. Comprehensive Reviews in Food Science and FoodSafety, vol. 13, no. 4, pp. 538–550.

Kusuma, G.S.P & Fibrianto, K. (2018). Pengaruh Optimasi Lama Fermentasi Terhadap Karakteristik Kombucha Daun Tua Kopi Robusta Dampit Metode Oksidatif Dan Non-Oksidatif. Jurnal Pangan dan Agroindustri. Vol (6) No.4: 87-97.

Metha, B.M, Kamal-Eldin, A, & Iwanski, R.Z. (2012). Fermentation Effects on Food Properties. Boca Raton, London, New York: CRC Press and Taylor & Francis Group.

Molyneux, P. (2004). The Use of The Stable Free Radikal Diphenyl pircylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. Journal Science of Technologu 26(2):211-219

Ngajow, M., Jemmy, A., & Vanda S,K. (2013). Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (Pometia pinnata) terhadap Bakteri Staphylococcus aureus secara in vitro. J MIPA Unsrat 2: 128-132

Nuraini. N, Marlid. Y, Mirzah. M, Disafitri. R, & Febrian. R. (2015). Peningkatan kualitas limbah buah kopi dengan phanerochaete chrysosporium sebagai pakan alternative. Jurnal Peternakan Indonesia 17:143-150.

Nurhayati., Yuwanti, S., & Urbahillah, A. (2020). Karakteristik Fisikokimia dan Sensoris Kombucha Cascara (Kulit Kopi Ranum). J. Teknologi Dan Industri Pangan. Vol (31) 1: 38-49

Pabari, S. (2014). Cascara, The Coffee Cherry Tea with a How to Brew Guide Roasters Pack.

Primurdia, E.G & Kusnadi, J. (2014). Aktivitas Antioksidan Minuman Probiotik Sari Kurma (Phoenix dactilyfera L.) dengan isolate L. plantarum dan L. casei. J Pangan Agroind 2:98-109.

Rahayu E.S, & Kuswanto, K.R. (1987). Teknologi Pengolahan Pangan Beralkohol. PAU Pangan dan Gizi, Yogjakarta.

Sakakibara, H., Honda, Y., Nagakawa, S., & Ashida, H. (2003). Simulataneous Determintation of All Polyphenols in Vagetables, Fruits, and teas. J AgricFood Chem 51:571-581.

Suprapti, M.L. (2003). Teh Jamsi dan Manisan Nata. Yogyakarta: Kanisius

Silaban, M. (2005). Pengaruh Jenis Teh dan Lama Fermentasi Pada Proses Pembuatan Teh Kombucha. Skripsi. Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan. Fakultas Pertanian. Universitas Sumatra Utara, Medan.

Simanjuntak, R.J.D., & Mutiara, H. (2016). Pengaruh Pemberian The Kombucha Terhadap Pertumbuhan Salmonella typhi. Med J. Lampung University 5:48-54

Velicanski, S.A., Cvetkovic, D.D., Saponjac, V.T.T., & Vulic, JJ. (2014). Antioxidant and Antibacterial Activity Of The Beverage Obtained by fermentation of Sweetened Lemon Balm (Melissa officinalis L.) Tea With Symbiotic Concortium Of Bacteria and Yeasts. J Food Tech Biotech 52: 420-429.

Vollmer, M., Schroter, D., Esders, S., Neugart, S., Farqu-Maul, R., & Rohn, S. (2017). Chlorogenic Acid Versus Amaranth's Caffeoylisocitric Acid-Gut Microbial Degradation of Caffeic Acid Derivatives. J Food Res Int 100: 375-384.