

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 TEH HIJAU**

*Camelia sinensis* adalah tanaman yang bagian daunnya sering digunakan untuk membuat teh. Berdasarkan proses pengolahannya, teh terbagi menjadi tiga jenis yaitu teh hitam (fermentasi), teh oolong (semi fermentasi), dan teh hijau (non fermentasi) (Dewi et al., 2023). Teh hijau memiliki potensi aktivitas kesehatan yang paling baik dibandingkan teh lainnya karena diperoleh tanpa mengalami oksidasi enzimatis (menginaktifkan enzim felonase) sehingga oksidasi terhadap katekin dapat dicegah. Pengolahan teh hijau diproses dengan pelayuan pada suhu ruang kemudian daun teh langsung digulung, dikeringkan, dan siap untuk dikemas sehingga warna hijau dan senyawa polifenolnya terjaga (Oktavia et al., 2021).

Salah satu senyawa polifenol terbanyak dan bermanfaat dalam kesehatan yaitu katekin (Eviza et al, 2021). Katekin merupakan senyawa yang larut dalam air, tidak berwarna dan memberikan rasa pahit contohnya epikatekin (EC), Epigallocatekin (EGC), epitekin-3-gallat (EGC), dan epigallocatekin gallat (EGCG). Diantara beberapa senyawa katekin tersebut yang paling aktif pada teh hijau yaitu epigallocatekin gallat (EGCG). Senyawa tersebut memiliki khasiat menyetatkan apabila di konsumsi secara teratur seperti mengatur nafsu makan, regulasi enzim, antioksidan, antibakteri, antiinflamasi dan antikarsiogenik (Trivana & Nur, 2023).

#### **2.2 TEH KOMBUCHA**

##### **2.2.1 Pengertian Teh Kombucha**

Teh kombucha merupakan produk minuman hasil fermentasi larutan teh dan gula dengan menggunakan kultur SCOBY (*Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast*) yang terdiri dari bakteri golongan *Acetobacter xylinum* dan khamir golongan *Saccharomyces cerevisiae* (Antolak et al., 2021). Teh kombucha memiliki bau dan rasa yang khas, manis serta asam. Kombucha memiliki beberapa efek kesehatan seperti antioksidan, antibakteri, memperbaiki mikroflora usus, dan dapat meningkatkan ketahanan tubuh (Mahadewi et al., 2022)

Pembuatan kombucha secara umum melalui fermentasi selama 7 sampai 12 hari pada suhu 18 °C hingga 20 °C, sedangkan pada suhu yang lebih tinggi (22 °C hingga 26 °C) waktu fermentasi kombucha berkisar antara 4 sampai 6 hari. Lama waktu fermentasi teh kombucha mempengaruhi kualitas fisik, kimia, dan organoleptik kombucha.

### **2.2.2 SCOBY (Syimbiotic Culture of Bacteria and Yeast)**

Kultur simbiotik yang digunakan dalam teh kombucha biasa disebut dengan SCOBY (*Syimbiotic Culture of Bacteria and Yeast*) (Khaerah & Akbar, 2019). Jamur kombu bukanlah jamur dalam arti sebenarnya tumbuhan jamur, melainkan organisme yang berbentuk seperti pancake berwarna putih (pucat) dengan tekstur kenyal seperti karet dan menyerupai gel (Dewi, Lestari, et al., 2023). Bakteri yang berperan pada kombucha yaitu bakteri asam laktat (BAL) dan bakteri asam asetat (BAA). Contoh bakteri asam laktat (BAL) yaitu *Lactobacillus* dan *Lactococcus* (Karyantina, 2019). Sedangkan, jenis bakteri asam asetat (BAA) yaitu *Komagataeibacter*, *Glucanobacter*, dan *Acetobacter*. Mekanisme pembentukan selulosa, yaitu mula-mula sukrosa yang terdapat dalam medium fermentasi terhidrolisis dalam medium menjadi glukosa dan fruktosa, kemudian *Acetobacter xylinum* mengubah glukosa menjadi *glukosa 6-fosfat*, *glukosa 1-fosfat*, *uridin difosfoglukosa* (UDPG), dan kemudian menjadi selulosa (Malvianie & Pratama, 2014)

### **2.2.3 Fermentasi Kombucha**

Proses dari fermentasi teh kombucha menggunakan kultur SCOBY (*Syimbiotic Culture of Bacteria and Yeast*) umumnya diawali pada hari ke-4 sampai seterusnya, pada awal fermentasi dihari pertama dilakukannya aerasi untuk memaksimalkan larutan teh dan gula dengan udara yang bertujuan menambah oksigen yang menyebabkan pertumbuhan dari bakteri dan jamur yang berarti pada pembuatan fermentasi teh kombucha harus terdapat oksigen (Majidah et al., 2022).

Pada proses fermentasi di hari ke-14 dan seterusnya, bakteri akan mengoksidasi etanol yang dihasilkan oleh jamur dan akan membentuk jaringan selulosa pada SCOBY (*Syimbiotic Culture of Bacteria and Yeast*). Proses

fermentasi alkohol diawali dengan khamir merombak Sukrosa kemudian dihidrolisis menjadi glukosa dan fruktosa diluar membrane oleh enzim ekstra seluler intertase (Santosa et al., 2019) menjadi asam piruvat melalui proses glikolisis. Hidrolisis terjadi karena pH media sangat rendah sehingga sukrosa mudah dihidrolisis oleh enzim intertase. Hasil dari hidrolisis yang disebabkan oleh jamur (*Saccharomyces cerevisiae*) tersebut akan menghasilkan alkohol, sedangkan bakteri (*Acetobacter xylinum*) akan mengoksidasi etanol yang dihasilkan oleh jamur menjadi asam asetat.

Asam piruvat tersebut melalui proses dekarboksilasi diubah oleh enzim dekarboksilase piruvat menjadi asetaldehid. Asetaldehid kemudian diubah dengan bantuan enzim alkohol dehydrogenase menjadi etanol (Wulandari et al., 2021). *Acetobacter xylinum* mampu mensintesis selulosa dari gula yang di konsumsi (Najri et al., 2022). Namun, semakin lama waktu fermentasi maka tingkat keasaman akan terus bertambah (Lestari et al., 2018). Peningkatan ini disebabkan oleh jamur mensintesis gula menjadi etanol dan akan diubah oleh bakteri menjadi asam organik.

## **2.3 PENGHAMBATAN FERMENTASI**

### **2.3.1 Pemanasan**

Pemanasan sering digunakan dalam pengawetan maupun dalam pengolahan pangan yang berdasarkan kenyataan bahwa pemberian panas yang cukup dapat membunuh sebagian besar mikroba dan menginaktifkan enzim (Yuswita, 2014). Lamanya pemberian panas dan tingginya suhu pemanasan ditentukan oleh sifat dan jenis bahan serta tujuan dari prosesnya. Pemilihan suhu pemanasan juga disesuaikan dengan sifat optimal pertumbuhan bakteri. Selama proses pemanasan, aktivitas mikroba akan berkurang sehingga pertumbuhan dari mikroba dan reaksi kimia yang tidak diinginkan dapat dicegah.

Menurut Sadiyah & Puji Lestari (2020) pemanasan pada suhu 60 °C hingga 70 °C pada rentang waktu 3 menit dan 5 menit berpengaruh terhadap nilai ALT (Angka Lempeng Total) dimana nilai ALT (Angka Lempeng Total) kombucha yang dipanaskan selama 5 menit lebih rendah dibandingkan dengan yang dipanaskan selama 3 menit. Karena pemanasan dapat merusak berbagai zat nutrisi

(protein, vitamin dan enzim) yang dibutuhkan bakteri untuk tumbuh. Namun, pemanasan tidak dapat membunuh khamir akan tetapi dapat melemahkan metabolisme struktural khamir karena khamir hanya sedikit resisten terhadap pemanasan dan dapat terbunuh pada suhu 77 °C (Johnly Alfreds Rorong, 2020).

### **2.3.2 Penambahan BTP Natrium Benzoat**

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 722/Menkes/Per/IX/88 bahan tambahan pangan merupakan bahan yang umumnya tidak dipergunakan sebagai makanan serta biasanya bukan merupakan bahan khas makanan, memiliki atau tidak memiliki nilai gizi, yang sengaja ditambahkan ke dalam makanan untuk tujuan teknologi (termasuk organoleptik) pada pembuatan, penyediaan, pewadahan, penyimpanan, pengolahan, perlakuan, pembungkusan, atau pengangkutan makanan bertujuan menghasilkan atau diharapkan menghasilkan (langsung atau tidak langsung) suatu komponen yang mempengaruhi sifat khas makanan.

Natrium benzoat merupakan garam dari senyawa asam benzoat yang dibuat dengan sintesis kimia dan memiliki karakteristik fisik berwarna putih, tanpa bau, dan berbentuk bubuk kristal. Senyawa ini juga dikenal sebagai lemak tidak jenuh ganda yang telah disetujui penggunaannya oleh FDA (*Food And Drug Administration*) dalam menghambat pertumbuhan ragi (Wahyuningsih & Nurhidayah, 2021). Jika natrium benzoat ditambahkan ke dalam suatu produk akan lebih efektif apabila produk tersebut dalam suasana asam (pH 2,5 hingga 4) (Jumiyati & Larasati, 2021). Mekanisme kerja natrium benzoat sebagai bahan pengawet yaitu berdasarkan permeabilitas membrane sel mikroba terhadap molekul-molekul benzoat (Adriani et al., 2021). Penggunaan natrium benzoat sebagai bahan pengawet telah diatur oleh Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan No. 36 Tahun 2013 yang menyatakan bahwa pada produk teh batas maksimum natrium benzoat yaitu 600 mg/kg (BPOM, 2013).

## 2.4 ANTIOKSIDAN

Radikal bebas dapat berasal dari luar tubuh seperti polusi, debu, asap rokok maupun dari dalam tubuh yang diproduksi secara terus-menerus sebagai hasil dari metabolisme normal. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mencegah kerusakan oksidatif senyawa molekuler biologis tubuh. Sebagian besar antioksidan alami berasal dari tumbuhan yaitu vitamin C, vitamin D, vitamin E, *β-carotene*, *tocopherols*, *tocotrienols*, dan garam mineral yang berasal dari makanan yang kita konsumsi.

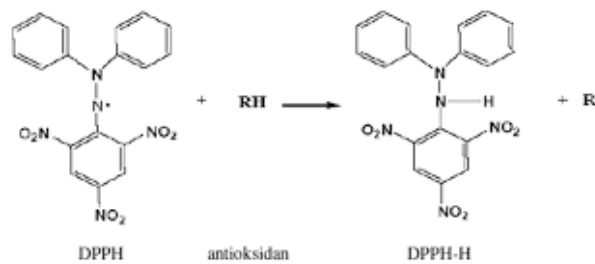
Proses fermentasi berpengaruh terhadap peningkatan sifat antioksidan yang mengacu pada teh, dengan lama fermentasi dan jenis tehnya (Febriella et al., 2021). Aktivitas antioksidan pada teh kombucha bisa meningkat disebabkan karena terdapat fenolik bebas yang dihasilkan selama proses fermentasi, semakin lama fermentasi maka semakin tinggi pula aktivitas antioksidannya. Aktivitas yang terdapat dalam teh kombucha memiliki lebih banyak manfaat dibandingkan teh yang tidak difermentasi, karena proses fermentasi menggunakan mikroba membuat perubahan kandungan di dalamnya (Khaerah & Akbar, 2019).

Pengukuran antioksidan dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa metode yang dapat menghasilkan mekanisme kerja antioksidan berbeda seperti ABTS (*2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat)*), FRAP (*Ferric Reducig Antioxidan Power*) dan DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*). Ketiga metode tersebut menggunakan prinsip yang sama yaitu kemampuan senyawa antioksidan mereduksi radikal bebas (oksidator). Perbedaannya yaitu senyawa radikal bebas yang digunakan yaitu ABTS dan DPPH, sedangkan FRAP menguji kemampuan senyawa antioksidan mereduksi Ferri yang merupakan katalis oksidasi (oksidator) (Maesaroh et al., 2018). Dari beberapa metode pengujian aktivitas antioksidan tersebut, DPPH *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* merupakan metode pengujian yang sering digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan.

## 2.5 METODE DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Senyawa DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) merupakan radikal bebas yang biasa digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan dari suatu sampel uji. Prinsip metode pengujian DPPH didasarkan pada reduksi dari larutan radikal bebas DPPH oleh senyawa antioksidan yang terkandung dalam suatu tanaman (Susylowati et al., 2022). Radikal bebas yang bereaksi dengan komponen biologis akan menghasilkan senyawa teroksidasi yang dapat digunakan sebagai penanda kerusakan oksidatif (Wahyu Bagio Leksono, 2018).

Ketika larutan DPPH berinteraksi dengan larutan pendonor elektron (antioksidan), elektron tunggal pada radikal bebas larutan DPPH menjadi berpasangan dan akan membentuk DPPH tereduksi yang ditandai dengan perubahan warna larutan dari ungu tua menjadi kuning pucat, seiring dengan banyaknya DPPH yang tereduksi. Untuk mengukur aktivitas antioksidannya maka sampel perlu dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-vis yang berkisar antara panjang gelombang 515-520 nm (Azhar et al., 2021).



Gambar 2.1 Reaksi Antioksidan dengan Molekul DPPH (Rizkayanti et al., 2017)

Spektrofotometri berfungsi untuk mengukur besarnya energi yang diserap atau diteruskan pada panjang gelombang 200-400 nm (UV) dan 400-800 nm (UV-Vis) (Cahyani & Hadriyati, 2020). Prinsipnya apabila senyawa mempunyai gugus kromofor dan aoksokrom akan menyerap sinar radiasi pada daerah UV atau UV-Vis. Gugus kromofor adalah gugus fungsi yang mengandung ikatan kovalen tidak jenuh seperti C=C, C=O, N=O dan N=N dan mempunyai spektrum absorpsi pada daerah UV atau UV-Vis. Sedangkan gugus aoksokrom adalah gugus yang dapat meningkatkan absorpsi molekul namun tidak memberikan pengaruh yang besar pada absorpsi dimana gugus tersebut terikat, seperti OH, NH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>. Terikatnya gugus aoksokrom pada gugus kromofor akan meningkatkan absorbansi dan menggeser puncak serapan ke panjang gelombang lebih panjang (Kristiana, 2004)

Interaksi antara senyawa yang memiliki gugus kromofor dengan sinar radiasi pada daerah UV atau UV-Vis akan menyebabkan transisi elektronik dan menghasilkan spektra absorpsi elektronik. Transisi elektronik yang terjadi berlainan strukturnya maka spektra absorpsinya dapat digunakan untuk analisis kualitatif, sedangkan jumlah radiasi elektromagnetik yang diabsorpsi berhubungan dengan jumlah molekul yang megabsorpsi maka spektra absorpsi dapat digunakan untuk analisa kuantitatif (Kristiana, 2004).

Nilai  $IC_{50}$  (Inhibitor Concentration) merupakan konsentrasi larutan sampel yang mampu mereduksi aktivitas DPPH sebesar 50%. Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat jika  $IC_{50} < 50$  ppm, dikatakan kuat jika nilai  $IC_{50}$  50-100 ppm, lemah jika nilai  $IC_{50}$  100-150 ppm dan sangat lemah jika nilai  $IC_{50} > 200$  ppm (Wahyu Bagio Leksono, 2018).

## **2.6 UJI ORGANOLEPTIK**

Uji organoleptik sangat berpengaruh terhadap produk pangan karena dengan adanya uji organoleptik dapat mengetahui mutu pada produk tersebut. Suatu produk berhubungan erat dengan konsumen agar produk yang diproduksi dapat diterima oleh masyarakat. Pengujian organoleptik meliputi warna, aroma, dan rasa. Uji hedonik merupakan bagian dalam analisa sensori organoleptik yang dilakukan untuk mengukur tingkat kesukaan konsumen atau penguji terhadap suatu produk (Tarwendah et al., 2017). Skala yang tersedia pada uji hedonik adalah mulai dari sangat tidak suka sampai sangat suka terhadap sampel yang diberikan.

Uji ini biasanya dilakukan oleh panelis umum, yang sudah maupun yang belum terlatih. Penilaian uji hedonik dilakukan secara spontan. Dalam penganalisan, skala hedonik ditransformasi menjadi skala numerik dengan angka menaik menurut tingkat kesukaan. Dengan data numerik ini dapat dilakukan analisis statistik (Qamariah et al., 2022) .

## **2.7 UJI DERAJAT KEASAMAN (pH)**

Segala sesuatu yang berhubungan dengan air membutuhkan pengukuran pH. pH dapat diartikan sebagai “*Power of Hydrogen*” dan dari beberapa sumber menyebutkan “*Potential of Hydrogen*”, namun yang perlu digarisbawahi disini adalah pH merupakan ukuran konsentrasi ion hidrogen pada suatu larutan, cairan atau apapun yang masih mengandung air di dalamnya (Tarigan, 2019). Jangkauan pH berada mulai dari 0-14 dimana titik tengah di nilai 7 dan ini adalah titik netral. Lebih dari pH 7 dikategorikan basa dan kurang dari pH 7 dikategorikan asam. Nilai pH menunjukkan derajat keasaman suatu larutan atau senyawa. Dimana nilai nya semakin kecil menyatakan nilai keasaman yang semakin kuat. Pengukuran nilai pH dapat dengan bantuan alat seperti pH meter dan kertas dengan cara menyentuh larutan secara langsung (Hana Kholid, 2015).