

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman Tin (*Ficus carica*)

Tanaman Tin (*Ficus carica*) adalah salah satu tanaman yang berasal dari famili Moraceae yang banyak tersebar luas di daerah tropis maupun subtropis (Ahaddin, 2014). Tanaman tin dalam bahasa Inggris disebut *fig* atau yang sering dikenal dengan sebutan tanaman ara. Tanaman ini telah diketahui memiliki manfaat dalam bidang kesehatan, hampir semua bagiannya bermanfaat sebagai obat herbal mulai dari akar, buah, dan daun (Damanik, 2014).

Menurut (Joseph and Raj, 2011), berbagai kandungan yang terdapat pada daun tin seperti alkaloid, saponin, flavonoid, dan polifenol dapat digunakan dalam berbagai aktivitas untuk kesehatan. Menurut (Ahaddin, 2014), aktivitas yang telah dilaporkan ialah sebagai antioksidan (Joseph and Raj, 2011), antimikroba (Jeong et al., 2009), antibakteri (Lee and Cha, 2010), antifungi (Mawa et al., 2013), antipiretik (Patil Vikas et al., 2010), antidiabetes (El-Shobaki et al., 2010), antiradang (Patil and Patil, 2011), dan antikanker (Refli, 2012). Daun tin juga banyak mengandung gizi tertentu, kandungan gizi dalam daun tin dapat dilihat pada tabel 2.1.

Menurut (Joseph and Raj, 2011), Taksonomi tanaman tin adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Magnoliophyta
Class	: Magnolipsida
Ordo	: Rosales
Family	: Moraceae
Genus	: Ficus
Spesies	: <i>Ficus carica</i> L.

**Tabel 2.1 Kandungan Daun Tin per 100 g**

<b>Kandungan</b>	<b>Per 100 g</b>
Protein	4,6 mg
Lemak	0,9 mg
Karbohidrat	16,8 mg
Kalsium	1398,14 mg
Zat besi	75,7 mg
Potassium	117,67 mg
Magnesium	396,36 mg
Mangan	21,9 mg
Vitamin C	21,78 mg
Vitamin E	1,9 mg
Fenol	6,909 mg
Metanol	4,727

(Ghazi et al., 2012)

Ciri – ciri tanaman ini adalah berdaun tunggal, berselang-seling. Daun tanaman ini berwarna hijau, agak tebal dan umumnya bergerigi pada bagian pinggirnya. Permukaan atas daun tanaman ini agak kasar dan mempunyai bulu bulu halus pada permukaan bawahnya (Husaeni, 2008). Panjang daun antara 12-25 cm, lebar 10-18 cm dan berlekuk dalam 3 atau 5 cuping. Daunnya berhadapan atau tersebar, jarang ada yang majemuk. Pohon tin dapat tumbuh hingga mencapai ketinggian 3-10 m. Tanaman tin memiliki getah yang cukup banyak dan dahan yang kurang kokoh (Agung, 2014). Tanaman tin diketahui masih dapat tumbuh pada suhu 21-27°C dengan pH optimum 6,0-6,5, namun masih mampu tumbuh baik pada pH 5,5-8,0 (Sobir and Amalya, 2011). Morfologi daun tin dapat dilihat pada gambar 2.1.



Gambar 2.1 Bentuk Morfologi Tanaman Tin (Rimbawan, 2018)

Menurut (Joseph and Raj, 2011), daun tin mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, dan polifenol. Sedangkan menurut (Sirisha et al., 2010), daun tin mengandung flavonoid, steroid/triterpenoid, alkaloid, dan tanin.

### 1. Flavonoid

Flavonoid, menurut strukturnya merupakan turunan senyawa induk flavon yang terdapat berupa tepung putih pada tanaman dan merupakan senyawa fenol yang larut dalam air. Flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi. Flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan berpembuluh tetapi beberapa kelas lebih tersebar daripada yang lainnya: flavon dan flavonol terdapat semesta, sedangkan isoflavon dan biflavon hanya terdapat dalam beberapa suku tumbuhan. Flavonoid terdapat dalam tumbuhan sebagai campuran, jarang sekali dijumpai sebagai flavonoid tunggal. Selain itu sering terdapat campuran yang terdiri atas flavonoid yang berbeda kelas (Najib, 2009a). Flavonoid berperan pada berbagai aktivitas biologis. Menurut para peneliti kanker di UCLA, perokok yang mengonsumsi makanan yang mengandung flavonoid dapat mengurangi risiko penyakit kanker paru-paru. Menurut (Refli, 2012), sejumlah tanaman obat yang mengandung flavonoid memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antivirus, antiradang, dan antialergi.

### 2. Terpenoid dan Steroid

Terpenoid merupakan bentuk senyawa dengan keragaman struktur yang besar dalam produk alami yang diturunkan dan unit isoprena ( $C_5$ ) yang bergandengan dalam model kepala ke ekor (*head-to-tail*), sedangkan unit isoprena diturunkan dari metabolisme asam asetat oleh jalur asam mevalonat. Secara umum biosintesa dari terpenoid dengan terjadinya 3 reaksi dasar yaitu: pembentukan isoprena aktif berasal dari asam asetat melalui asam mevalonat; penggabungan kepala dan ekor dua unit isoprena akan membentuk mono-, seskui-, di-, sester-, dan poli-terpenoid; serta penggabungan ekor dan ekor dari unit C-15 atau C-20 menghasilkan triterpenoid dan steroid (Najib, 2009b).

Steroid terdiri atas beberapa kelompok senyawa dan pengelompokan ini didasarkan pada efek fisiologis yang diberikan oleh masing – masing senyawa. Kelompok-kelompok itu adalah sterol, asam-asam empedu, hormon seks, hormon

adrenokortikoid, aglikon kardiak dan sapogenin. Percobaan – percobaan biogenetik menunjukkan bahwa steroid yang terdapat di alam berasal dari triterpenoid. Tahap-tahap awal dari biosintesa steroid adalah sama bagi semua steroid alam yaitu pengubahan asam asetat melalui asam mevalonat dan skualen (suatu triterpenoid) menjadi lanosterol dan sikloartenol (Najib, 2009b).

### 3. Tanin

Tanin merupakan substansi yang tersebar luas dalam tanaman, seperti daun, buah yang belum matang, batang, dan kulit kayu. Pada buah yang belum matang, tanin digunakan sebagai energi dalam proses metabolisme dalam bentuk oksidasi tanin. Tanin yang dikatakan sebagai sumber asam pada buah tersebut (Najib, 2009c). Tanin adalah kelompok polifenol yang larut dalam air dengan berat molekul antara 500-3000 g/mol. Berwarna putih kekuning-kuningan sampai coklat terang tergantung sumber tanin tersebut (Rani, 2012).

Menurut (Najib, 2009c), sifat fisika senyawa tanin adalah sebagai berikut :

1. Apabila dilarutkan ke dalam air, tanin akan membentuk koloid dan akan memiliki rasa asam dan sepat. Apabila dicampur dengan alkaloid dan glatin, maka akan terbentuk endapan.
2. Tanin tidak dapat mengkristal.
3. Tanin dapat mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut sehingga tidak dipengaruhi oleh enzim proteolitik.

Tanin merupakan senyawa kompleks yang memiliki bentuk campuran polifenol yang sulit untuk dipisahkan sehingga sulit membentuk kristal. Tanin dapat diidentifikasi dengan menggunakan kromatografi. Senyawa fenol yang ada pada tanin mempunyai aksi adstringensia, antiseptik dan pemberi warna (Najib, 2009c).

### 4. Alkaloid

Alkaloid merupakan golongan suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh senyawa alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Hampir lebih dari 5000 senyawa alkaloid yang ditemukan dalam tumbuhan mempunyai keaktifan fisiologis tertentu. Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen

yang biasanya bersifat basa dan sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Masfufah, 2017).

Alkaloid dapat juga berbentuk cair, misalnya nikotin dan konin. Pada umumnya alkaloid hanya larut dalam pelarut organik. Kebasaan pada alkaloid menyebabkan senyawa tersebut mudah mengalami dekomposisi terutama oleh panas dan sinar dengan adanya oksigen. Hasil dekomposisi seringkali berupa N-oksida (Masfufah, 2017).

Menurut (Najib, 2009d), adapun sifat fisika dan kimia alkaloid sebagai berikut :

1. Tidak bewarna
2. Dominan bentuk kristal pada suhu kamar
3. Tidak larut atau sukar larut dalam air
4. Mempunyai aktifitas fisiologi tertentu
5. Bersifat basa
6. Mudah terdekomposisi (rusak).

## **2.2 Kombucha**

Kombucha merupakan teh yang melalui proses fermentasi yang melibatkan agen pelaku fermentasi (Naland, 2008) dalam (Cahyaningtyas, 2018). Kombucha adalah salah satu minuman tradisional yang merupakan hasil dari fermentasi larutan teh dan gula yang memiliki aroma dan rasa yang khas, yaitu rasa asam dan manis, mengandung berbagai vitamin dan mineral serta asam – asam organik. Kombucha memiliki beberapa efek kesehatan diantaranya sebagai antioksidan, antibakteri, dapat meningkatkan ketahanan tubuh dan dapat menurunkan tekanan darah (Wistiana and Zubaidah, 2014). Menurut (Putra et al., n.d.), selama proses fermentasi berlangsung, maka hal-hal berikut harus diperhatikan :

1. Dijaga agar tidak terguncang guncang.
2. Wadah berikut isinya jangan dipindah pindahkan.
3. Tidak tertimpa sinar matahari.
4. Pada suhu ruangan.
5. Tidak sampai kekurangan udara (aerasi lancar).
6. Tidak dikunjungi semut, kecoak ataupun serangga lainnya.



Gambar 2.2 Teh Kombucha (Indokombucha, 2012)

Kandungan kombucha secara umum menurut (Naland, 2004) dalam (Cahyaningtyas, 2018) yaitu :

1. Vitamin B1, berperan dalam metabolisme karbohidrat untuk pembentukan energi. Kebutuhan vitamin B1 yang dianjurkan yakni 0,4 mg untuk setiap 1000 kalori.
2. Vitamin B2 (Riboflavin), diperlukan oleh tubuh untuk memproses asam amino, lemak dan karbohidrat sehingga menghasilkan energi ATP.
3. Vitamin B3 (Niasin), berfungsi membantu metabolisme dan menghasilkan energi. Niasin juga berperan dalam metabolisme lemak untuk menurunkan kadar kolesterol jahat.
4. Vitamin B6 (Piridoksin), terdapat dalam tiga bentuk, berasal dari tumbuhan (piridoksin), berasal dari hewan (piridoksal) dan (piridoksamin). Ketiganya akan diubah menjadi piridoksal fosfat yang merupakan koenzim dalam metabolisme berbagai asam amino.
5. Vitamin B12 (Sianokobalamin), dengan bantuan asam folat berperan penting didalam metabolisme antar sel didalam tubuh. Kekurangan vitamin B12 membuat perkembangan tubuh menjadi lambat dalam waktu yang cukup lama.
6. Vitamin B15, berperan sebagai oksigenator jaringan tubuh dan sebagai penangkap radikal bebas.
7. Vitamin C, berperan dalam pembentukan substansi antar sel dan berbagai jaringan serta meningkatkan daya tahan tubuh.
8. Asam Folat, berfungsi untuk membantu produksi sel-sel darah, menyembuhkan luka, membentuk otot, serta membantu proses pembelahan sel.

9. Asam Glukoronat, berfungsi mengkonjugasi atau mengikat toksin (racun) dan logam-logam berat sehingga lemak mudah larut dalam air dan mudah dikeluarkan oleh tubuh.
10. Asam Glukonat, berfungsi untuk mengawetkan makanan dalam tubuh.
11. Asam Asetat, asam inilah yang memberikan rasa masam yang terdapat pada minuman Kombucha. Peran utama asam ini adalah mengikat toksin dan bisa menjadi bentuk ester yang mudah larut dalam air sehingga mudah dikeluarkan oleh tubuh.
12. Asam Chondroitin, bagian dari tulang rawan yang melapisi permukaan sendi, berperan menjaga keutuhan dan kesehatan persendian.
13. Asam Hyaluronic, berperan sebagai pelumas sehingga fungsi sendi tetap terjaga dengan baik.
14. Asam Laktat, dapat mencegah penyakit kanker.
15. Acetaminophen, berfungsi sebagai analgetik atau penghilang rasa nyeri yang sangat kuat.
16. Asam Amino Esensial, berperan sebagai bahan untuk membangun protein yang bermanfaat mengganti bagian sel-sel tubuh yang telah rusak.
17. Enzim, senyawa organik berperan memperlancar metabolisme zat-zat didalam tubuh.
18. Antibiotik, antibiotik yang terkandung didalam Kombucha terutama untuk membatasi pertumbuhan bakteri lain yang dapat mencemari koloni jamur kombucha. Dengan adanya antibiotik ini jamur kombucha dapat memproteksi dirinya sendiri.

Proses pemasakan atau pematangan kombucha terjadi setelah 7-10 hari. Pada saat itu, rasa kombucha sudah terasa nikmat. Jika kurang dari 7 hari, kenikmatan kombucha belum terasa dan jika lebih dari 10 hari kombucha sudah terasa cukup asam. Jika mendapatkan pematangan kombucha sudah lebih dari 14 hari, disarankan untuk mengalihkan menjadi produk cuka kombucha untuk campuran masakan atau campuran asinan (Naland, 2008).

### 2.3 Fermentasi Kombucha

Istilah fermentasi diturunkan menjadi fervere, istilah lain yang berarti mendidih. Peristiwa pendidihan tersebut akibatnya terbentuk gelembung CO<sub>2</sub> oleh proses katabolisme gula dan ekstrak (Novitasari, 2018). Fermentasi adalah suatu proses perubahan kimiawi dari senyawa-senyawa organik dengan bantuan aktivitas enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme (Ningtyas, 2015). Hal ini berarti proses fermentasi terjadi penguraian senyawa dari bahan – bahan kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana (Megama, 2016). (Witoyo et al., 2015) mengatakan bahwa tujuan dari fermentasi adalah membentuk rasa atau aroma teh menjadi lebih khas atau enak. Sehingga, hasil dari fermentasi memberikan sifat tertentu yang khas seperti aroma spesifik sehingga menjadi daya tarik konsumen (Megama, 2016)

Fermentasi dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu spontan dan tidak spontan. Fermentasi spontan adalah yang tidak ditambahkan mikroorganisme dalam bentuk starter atau ragi dalam proses pembuatannya, sedangkan fermentasi tidak spontan adalah yang ditambahkan starter atau ragi dalam proses pembuatannya. Mikroorganisme tumbuh dan berkembang secara aktif merubah bahan yang difermentasi menjadi produk yang diinginkan pada proses fermentasi (Suprihatin, 2010)

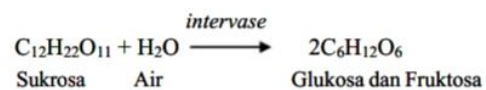
Mikroorganisme yang berperan dalam proses fermentasi adalah golongan khamir, kapang, dan fungi. Berbagai makanan dan minuman fermentasi melibatkan satu macam atau beberapa mikroorganisme yang bekerja secara simbiotik (Ningtyas, 2015). Proses fermentasi dibutuhkan starter sebagai mikroba yang akan ditumbuhkan dalam substrat. Starter merupakan populasi mikroba dalam jumlah dan kondisi fisiologis yang siap diinokulasikan pada media fermentasi (Novitasari, 2018). Salah satu starter yang dapat digunakan adalah kombucha.

Kultur kombucha merupakan lapisan bersifat gelatinoid dan liat seperti nata, berbentuk piringan datar (Rinihapsari, 2008). Kultur kombucha biasa disebut dengan SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*). Bakteri utama berasal dari genus *Acetobacter* misalnya *Acetobacter xylinum* dan komponen khamir misalnya *Saccharomyces cerevisiae* (Afifah, 2010). Komposisi inokulum dalam kultur kombucha adalah khamir dan bakteri asam asetat yang tumbuh bersimbiosis yang mempunyai aktivitas sinergis dan saling melengkapi dalam fermentasi



(Afifah, 2010). Bakteri dan jamur kombucha yang bersimbiosis saat proses fermentasi merombak gula menjadi senyawa-senyawa seperti asam, vitamin, dan alkohol.

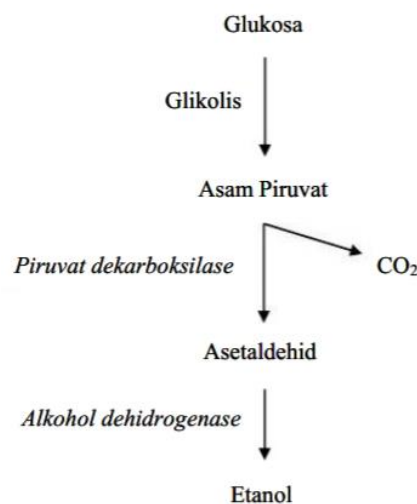
Pada proses fermentasi diawali oleh pemecahan sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa oleh aktivitas khamir. Ningtyas (2015) menjelaskan bahwa jika yang digunakan adalah disakarida seperti sukrosa, reaksi hidrolisis fermentasi sama seperti penggunaan monosakarida. Reaksinya adalah sebagai berikut:



Gambar 2.3 Reaksi Hidrolisis Fermentasi (Ningtyas, 2015)

Fermentasi sukrosa oleh khamir memerlukan kerja enzim intervase atau biasa disebut juga sakarase atau sukrase untuk menghidrolisis sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa. Hasil hidrolisis tersebut akan difermentasi menjadi etanol. Enzim intervase pada *Saccharomyces cerevisiae* terikat pada dinding sel (Ningtyas, 2015). Proses fermentasi pada kombucha lebih detailnya bisa dilihat pada gambar 2.4 dan 2.5.

#### 1. Fermentasi Alkohol

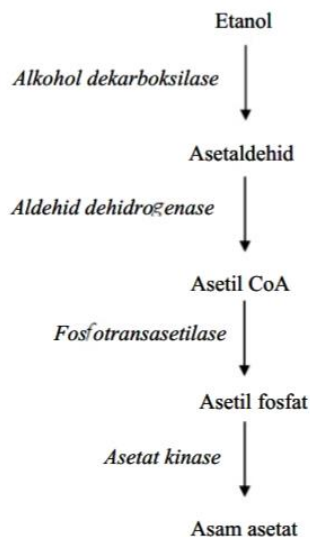


Gambar 2.4 Proses Fermentasi Alkohol (Mehta et al., 2012) dalam (Novitasari, 2018)

Gambar 2.4 menjelaskan tentang fermentasi alkohol yaitu pertama khamir akan mendegradasi heksosa (glukosa, fruktosa) melalui glikolisis menjadi asam piruvat. Asam piruvat tersebut dikarboksilasi oleh enzim dekarboxilase piruvat

menjadi asetaldehid, juga menghasilkan CO<sub>2</sub>. Asetaldehid berubah menjadi etanol oleh enzim alkohol dehidrogenase (Mehta et al., 2012) dalam (Novitasari, 2018).

## 2. Fermentasi Asam Asetat



Gambar 2.5 Proses Fermentasi Asam Asetat (Mehta et al., 2012) dalam (Novitasari, 2018)

Setelah alkohol dihasilkan, maka segera dilakukan fermentasi asam asetat, dimana bakteri asam asetat akan mengubah alkohol menjadi asam asetat secara aerob (Ningtyas, 2015). Etanol diubah menjadi asetaldehid oleh enzim alkohol dehidrogenase, selanjutnya asetaldehid dioksidasi menjadi asetil-koenzim (CoA) oleh enzim aldehid dehidrogenase. Asetil-CoA diubah menjadi asetil-folat oleh enzim fosfotransasetilase, kemudian asetil-folat mengalami defosforilasi menjadi asam asetat oleh enzim asetat kinase (Mehta et al., 2012) dalam (Novitasari, 2018). Asam asetat merupakan produk dari proses fermentasi kombucha oleh aktivitas utama dari *Acetobacter*. Aktivitas lain dari bakteri *Acetobacter* adalah pembentukan asam glukonat yang berasal dari oksidasi glukosa (Nainggolan, 2009).

Kultur kombucha dalam waktu yang bersamaan juga menghasilkan asam-asam organik lainnya. Bakteri *Acetobacter xylinum* mengubah gula menjadi selulosa yang disebut nata dan melayang di permukaan medium. Jika nutrisi dalam medium telah habis dikonsumsi, kultur akan berhenti tumbuh tetapi tidak mati (masuk pada fase tetap atau stasioner). Kultur akan aktif lagi jika memperoleh nutrisi kembali (Ningtyas, 2015). Pada proses fermentasi berlangsung, bakteri

*Acetobacter xylinum* yang terdapat di dalam starter kombucha akan mengubah glukosa menjadi berbagai jenis asam, vitamin, dan alkohol yang berkhasiat bagi tubuh. Pembentukan etanol dilakukan oleh khamir dan selulosa oleh *Acetobacter xylinum*, glukosa dikonversi menjadi asam glukonat melalui jalur fosfat pentosa oleh bakteri asam laktat, sebagian besar fruktosa diubah menjadi asam-asam (Marwati and Ratri, 2013). Kandungan kimia pada kombucha diantaranya adalah vitamin B1, vitamin B2, vitamin B3, vitamin B6, vitamin B12, vitamin B15, vitamin C, asam folat, asam glukoronat, asam glukonat, asam asetat, asam chondroitin sulfat, asam hyaluronic, asam laktat, acetaminophen, asam amino esensial, enzim, antibiotik tertentu (Naland, 2004) dalam (Novitasari, 2018).

Fermentasi kombucha berkisar antara 4-14 hari. Lama fermentasi yang disarankan adalah 14 hari, karena gula telah benar-benar terfermentasi, maka akan semakin asam dan rasa manis akan berkurang (Ningtyas, 2015). Faktor yang mempengaruhi keberhasilan proses fermentasi teh kombucha adalah kualitas bahan yang digunakan, takaran bahan, suhu ruangan, tempat penyimpanan wadah fermentasi dan lama proses fermentasi.

Menurut (Naland, 2004), pembuatan kombucha yaitu pertama kali direbus 1 L air hingga mendidih, lalu tambahkan 4 bungkus teh celup atau 4-8 sendok teh (12 g) teh hitam rajangan. Teh dibiarkan mengembang selama 15 menit, kemudian disaring. Selanjutnya ditambahkan 70-100 g gula pasir dan didinginkan sampai suhunya mencapai 20-25°C. Setelah dingin, larutan teh dimasukkan ke dalam wadah kaca bersamaan dengan starter kombucha. Wadah kemudian ditutup dengan kain bersih lalu difermentasi selama 4-14 hari pada suhu 23-27°C. Jika larutan teh sudah mencapai tingkat keasaman yang benar (pH 2,5-3,5), starter kombucha diangkat dan larutan teh siap untuk dikonsumsi. Selain seduhan teh hitam, terdapat dua komponen penting dalam proses pembuatan kombucha yaitu starter kombucha dan sukrosa (gula pasir).

## **2.4 Stabilitas Sensoris, pH, dan Mikrobiologi Kombucha Daun Tin**

Menurut penelitian (Umami, 2018), produk kombucha daun tin dengan fermentasi selama 12 hari memiliki warna kuning jernih, rasa manis keasaman, dan aroma seperti madu dengan bantuan uji hedonik yang telah dilakukan. Kombucha memiliki tingkat keasaman berkisar antara 3-5 (Naland, 2008) dalam (Umami, 2018). Hasil total mikroba menurut penelitian (Wistiana and Zubaidah, 2014) adalah  $4.40 \times 10^6$  cfu/mL dengan acuan minuman kombucha daun teh.

### **2.4.1 Uji Sensoris**

Pengujian sensoris merupakan cara pengujian menggunakan indera manusia sebagai alat utama untuk menilai mutu produk perikanan yang sudah mengalami proses pengolahan (SNI, 2006). Uji sensoris adalah salah satu cara yang digunakan untuk mengamati tekstur, warna, bentuk, aroma, dan rasa suatu produk makanan, minuman maupun obat. Uji sensoris disebut juga penilaian indera atau penilaian sensorik. Suatu produk makanan, minuman, dan obat dapat diuji menggunakan pengujian organoleptik, cita rasa suatu produk dapat muncul karena adanya rangsangan terhadap indera pengecap dalam tubuh manusia. Makanan yang memiliki nilai produk tinggi adalah makanan yang disajikan menarik, memiliki aroma menarik dan memiliki cita rasa yang lezat dan sedap. Uji sensoris berperan penting dalam pengembangan produk, karena nantinya hasil evaluasi sensoris dapat digunakan untuk mempertimbangkan adanya perubahan formula (resep) produk (Ayustaningwarno, 2014).

Analisa sensoris dilakukan dengan uji hedonik. Uji hedonik adalah penilaian contoh yang diuji berdasarkan tingkat kesukaan panelis. Jumlah tingkat kesukaan bervariasi tergantung dari rentangan mutu yang ditentukan. Dalam uji ini menggunakan 25 orang panelis tidak terlatih pada waktu sebelum penyimpanan yaitu hari ke-0 dan setelah penyimpanan dalam *refrigerator* ke 6 minggu. Panelis akan diberikan produk kombucha daun tin replikasi I, II, dan III kemudian diberikan lembar penilaian uji hedonik serta diminta untuk memberikan nilai terkait dengan warna, rasa, dan aroma dari produk kombucha daun tin yang ditentukan dengan skala nominal sehingga diperoleh data. Nilai yang akan dituliskan panelis yaitu 1 sampai 4 dengan keterangan (1: Sangat Tidak Suka), (2: Cukup Suka), (3: Suka), dan (4: Sangat Suka).

### 2.4.2 Uji Keasaman (pH)

Uji keasaman (pH) ini dilakukan untuk menentukan keasaman dengan menghitung log konsentrasi ion hidrogen (asam) dalam suatu zat. Pada prinsipnya zat murni mempunyai pH netral. Tingkat keasaman zat akan menurun karena fermentasi laktose menjadi asam laktat oleh mikroba (Suardana and Swacita, 2009). Pengukuran pH yang lebih akurat biasa dilakukan dengan menggunakan pH meter. Pada prinsipnya pengukuran suatu pH adalah didasarkan pada potensial elektro kimia yang terjadi antara larutan yang terdapat didalam elektroda gelas.

### 2.4.3 Perhitungan Total Mikroba

Perhitungan bakteri adalah suatu cara yang digunakan untuk menghitung jumlah *colony* bakteri yang tumbuh pada suatu media pembiakan. Secara mendasar ada dua cara penghitungan bakteri, yaitu secara langsung, antara lain adalah dengan membuat preparat dari suatu bahan (preparat sederhana diwarnai atau tidak diwarnai) dan penggunaan ruang hitung (*counting chamber*). Sedangkan perhitungan secara tidak langsung hanya mengetahui jumlah mikroorganisme pada suatu bahan yang masih hidup saja (*viable count*). Dalam pelaksanaannya ada beberapa cara yaitu perhitungan pada cawan, perhitungan melalui pengenceran, perhitungan jumlah terkecil atau terdekat (*MPN methode*), cara kekeruhan atau turbidimetri (Hadietomo, 1990).

Selama ini alat yang berfungsi untuk menghitung *colony* bakteri yang sudah ada di pasaran, namun dalam penggunaannya alat yang sudah beredar masih menggunakan *pen electric* yang terhubung langsung dengan alat sehingga masih kurang efisien dalam penggunaannya. Oleh karena itu, dapat digunakan metode-metode sebagai berikut :

#### 2.4.3.1 Metode *Pour Plate* (Hitung Cawan)

*Colony* bakteri adalah sekumpulan dari bakteri – bakteri yang sejenis yang berkelompok menjadi satu dan membentuk suatu *colony-colony*. Untuk mengetahui pertumbuhan suatu bakteri dapat dilakukan dengan menghitung jumlah *colony* bakteri, salah satunya metode yang dapat digunakan adalah metode *pour plate*. Metode *pour plate* merupakan suatu teknik di dalam menumbuhkan mikroorganisme di dalam media agar-agar dengan cara mencampurkan media agar-agar yang masih cair dengan stok kultur bakteri sehingga sel-sel tersebut tersebar

merata dan diam baik di permukaan agar-agar atau di dalam agar-agar (Setiyono, 2013). Dalam metode ini memerlukan perlakuan pengenceran sebelum ditumbuhkan pada medium agar-agar di dalam cawan petri, sehingga setelah di inkubasi akan terbentuk *colony* pada cawan tersebut dalam jumlah yang dapat dihitung. Pengenceran biasanya dilakukan secara desimal yaitu 1:10, 1:100, 1:1000, dan seterusnya atau 1:100, 1:10000, 1:1000000 dan seterusnya (Dwidjoseputro, 2005).

#### **2.4.3.2 Metode *Standard Plate Count***

Untuk menentukan jumlah bakteri dapat dilakukan melalui penghitungan jumlah bakteri yang hidup (*viable count*). Penghitungan disebut juga sebagai *standard plate count*, yang didasarkan pada asumsi bahwa setiap sel bakteri yang hidup dalam suspensi akan tumbuh menjadi satu *colony* setelah diinkubasi dalam media biakan dengan lingkungan yang sesuai. Setelah masa inkubasi, jumlah *colony* yang tumbuh dihitung dan merupakan perkiraan atau dugaan dari jumlah bakteri dalam suspensi. Jumlah bakteri merupakan salah satu faktor penting untuk diketahui, karena dapat menemukan kinerja dari bakteri tersebut (Suriawiria, 2005).

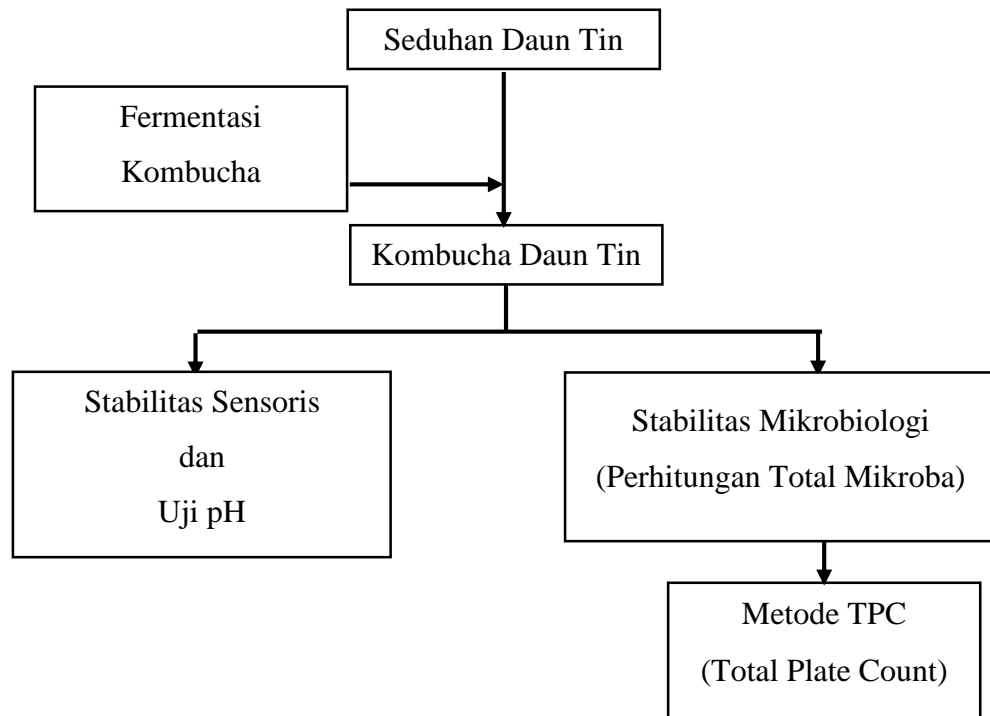
Menurut Hadietomo (1990), syarat *colony* yang ditentukan untuk dihitung adalah sebagai berikut :

1. Satu *colony* dihitung 1 *colony*.
2. Dua *colony* yang bertumpuk dihitung 1 *colony*.
3. Beberapa *colony* yang berhubungan dihitung 1 *colony*
4. Dua *colony* yang berdekatan dan masih dapat dibedakan dihitung 2 *colony*

#### **2.4.3.3 Metode yang digunakan**

Metode yang digunakan dalam melakukan perhitungan bakteri yaitu dengan menggunakan metode *pour plate*. Perhitungan suatu *colony* dengan metode *pour plate* walaupun telah dibantu dengan suatu alat yaitu *colony counter* masih memungkinkan terjadinya kesalahan dikarenakan faktor *human error* dan hasil perhitungan yang kurang akurat. Dikarenakan bentuk *colony* yang relatif kecil dan banyaknya *colony* yang akan dihitung.

## 2.5 Kerangka Konsep dan Kerangka Teori



Gambar 2.6 Bagan Kerangka Konsep

Daun tin (*Ficus carica*) mengandung banyak senyawa metabolit sekunder salah satunya adalah flavonoid. Flavonoid tergolong polifenol kompleks, dapat dilakukan pemecahan senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana (Megama, 2016). Pemecahan senyawa tersebut dapat dilakukan dengan proses fermentasi. Proses fermentasi pada polifenol kompleks akan menghidrolisis menjadi senyawa yang lebih sederhana dan lebih meningkatkan aktivitas biologisnya sehingga menjadi lebih aktif (Megama, 2016). Hal yang dapat dilakukan untuk memperbaiki rasa pada seduhan daun tin adalah dengan cara proses fermentasi. Fermentasi dapat terjadi karena adanya aktivitas mikroba pada substrat organik yang sesuai. Terjadinya fermentasi dapat menyebabkan perubahan sifat bahan pangan akibat pemecahan kandungan bahan pangan tersebut sehingga memungkinkan makanan lebih bergizi, lebih mudah dicerna, lebih aman, dapat memberikan rasa yang lebih baik. Fermentasi daun tin dengan bantuan kultur kombucha menjadi kombucha. Fermentasi dengan kombucha dapat memperbaiki rasa dan warna pada teh daun tin karena daun tin cenderung memiliki rasa pahit. Dari hasil produk kombucha daun tin harus diketahui stabilitasnya agar aman dan

layak dikonsumsi oleh konsumen. Hal ini dapat dilakukan dengan cara pengujian stabilitas sensoris, uji pH, dan mikrobiologi yaitu perhitungan total mikroba pada kombucha daun tin pada penyimpanan suhu rendah ( $<10^{\circ}\text{C}$ ) dalam *refrigerator* selama 6 minggu. Sehingga, hasil produk kombucha daun tin aman untuk dikonsumsi dan memberikan efek bagi tubuh konsumen.