

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN KADAR KAFEIN KOMBUCHA KOPI [ANTIOXIDANT ACTIVITY AND CAFFEINE CONTENT OF COFFEE KOMBUCHA]

Adolf J.N. Parhusip^{1*}, Christopher Setiawan², Veronica Poetri Effendi³
^{1,2,3}Program Studi Teknologi Pangan, Universitas Pelita Harapan, Tangerang, Indonesia

*Korespondensi penulis: adolff.parhusip@uph.edu

ABSTRACT

Kombucha is the result of the fermentation of tea and sugar by a kombucha culture starter known as SCOBY (Symbiosis Culture of Bacteria and Yeast). One of the efforts that possible to improve the functional aspects of coffee is by the fermentation process of kombucha. Based on that hypothesis, the goal of this research is to develop the potential of coffee through kombucha fermentation. This research involves two stages that include stage I research with type of coffee (arabica, robusta, liberica) and fermentation time (0, 3, 6, 9 days) as the factors, and stage II research performed on coffee kombucha with selected types of coffee. In stage I research, analysis of antioxidant activity was performed to determine the treatment that produced coffee kombucha with the highest antioxidant activity, supported by analysis of total lactic acid bacteria, total yeast, and pH value. In stage II research, analysis of caffeine content was performed to determine the best fermentation time that produces coffee kombucha with the highest caffeine content. Another supporting analysis carried out in this research is water content analysis of coffee grounds and the identification of microbes in the liquid kombucha starter. The treatment that can produce coffee kombucha with the highest antioxidant activity is arabica coffee with an average IC50 value of 4689,41 ppm and 9 days of fermentation with an average IC50 value of 4988,90 ppm. Analysis of caffeine content carried out on arabica coffee kombucha showed an increment in caffeine content during the fermentation process, as the highest caffeine content is 0,77% on the 9th day of fermentation.

Keywords: *antioxidant; caffeine; coffee; kombucha*

ABSTRAK

Kombucha merupakan hasil fermentasi teh dan gula oleh *starter* kultur kombucha yang disebut sebagai SCOBY (*Symbiosis Culture of Bacteria and Yeast*). Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk meningkatkan aspek fungsional kopi adalah dengan proses fermentasi kombucha. Berdasarkan hipotesis tersebut penelitian ini dilaksanakan guna mengembangkan potensi kopi lewat fermentasi kombucha. Penelitian ini terbagi menjadi 2 tahap yang meliputi penelitian tahap I dengan faktor jenis kopi (arabika, robusta, liberika) dan lama fermentasi (0, 3, 6, 9 hari) serta penelitian tahap II yang dilakukan pada kombucha kopi dengan jenis kopi terpilih. Analisis aktivitas antioksidan dilakukan pada tahap I untuk menentukan perlakuan yang menghasilkan kombucha kopi dengan aktivitas antioksidan tertinggi, didukung dengan analisis total bakteri asam laktat, total khamir, dan nilai pH. Pada tahap II, dilakukan analisis kadar kafein untuk menentukan lama fermentasi terbaik yang menghasilkan kombucha kopi dengan kadar kafein tertinggi. Analisis pendukung lain yang dilakukan adalah analisis kadar air bubuk kopi dan identifikasi mikroba pada *starter* kombucha cair. Perlakuan yang dapat menghasilkan kombucha kopi dengan aktivitas antioksidan tertinggi adalah jenis kopi arabika dengan nilai IC50 rata-rata sebesar 4689,41 ppm dan lama fermentasi 9 hari dengan nilai IC50 rata-rata sebesar 4988,90 ppm. Analisis kadar kafein dilakukan pada kombucha kopi arabika menunjukkan terjadinya peningkatan kadar kafein selama proses fermentasi dengan kadar tertinggi pada fermentasi hari ke-9 yaitu 0,77%.

Kata kunci: antioksidan; kafein; kombucha; kopi

PENDAHULUAN

Kombucha merupakan hasil fermentasi teh dan gula oleh *starter* kultur kombucha yang disebut sebagai SCOBY (*Symbiosis Culture of Bacteria and Yeast*). Aktivitas fungsional kombucha lebih baik daripada teh biasa, hal ini disebabkan mikroorganisme yang berperan dalam proses fermentasi, melakukan serangkaian proses metabolisme untuk bertahan hidup dan menghasilkan berbagai senyawa metabolit serta menyebabkan perubahan biokimia pada media yang digunakan. Potensi tersebut dapat dikembangkan dengan penggunaan jenis media yang berbeda-beda seperti teh hitam, teh hijau, teh bunga rosella, teh daun jambu, teh daun kopi, dan teh daun sirsak (Chakravorty *et al.*, 2016; Falahuddin *et al.*, 2017; Suhardini dan Zubaidah, 2016).

Kandungan gizi pada kopi meliputi asam klorogenat, kafein, lemak, polisakarida, senyawa fenolik, melanoidin, serat pangan larut air, dan mineral. Kandungan kafein pada kopi diasosiasikan sebagai kontributor utama yang memberikan efek positif bagi tubuh. Kafein sendiri memiliki beberapa fungsi farmakologis yang kebanyakan berhubungan dengan sistem saraf pusat. Fungsi farmakologis tersebut biasa dikenal sebagai efek stimulan (Watawana *et al.*, 2015).

Terlepas dari efek stimulan yang dihasilkan, kopi juga memiliki fungsi sebagai sumber antioksidan. Kopi merupakan salah

satu sumber antioksidan terbesar pada pangan. Kandungan antioksidan yang tinggi pada kopi berasal dari senyawa- senyawa aktif seperti asam klorogenat dan senyawa melanoidin yang terbentuk selama proses penyangraian (Bjarnadottir, 2019; Pérez-Jiménez *et al.*, 2010; Watawana *et al.*, 2015).

Aspek fungsional kopi sebagai sumber antioksidan dan kafein memiliki potensi yang sangat besar untuk dikembangkan. Khasiatnya yang baik untuk kesehatan menjadi nilai tambah bagi penikmat kopi.

Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk meningkatkan aspek fungsional kopi adalah dengan proses fermentasi kombucha. Terdapat hipotesis roses fermentasi oleh kultur kombucha dapat meningkatkan aktivitas antioksidan dan kadar kafein pada kopi (Watawana *et al.*, 2015). Kemampuan reduksi pada kombucha dibandingkan teh biasa mengalami peningkatan yang signifikan setelah hari ke-7 (3,7%) hingga hari ke-14 (35%). Peningkatan terus berlangsung secara perlahan hingga hari ke-21 (44,4%). Kemampuan pengangkalan radikal bebas dengan metode DPPH dan ABTS meningkat sebesar 39,7% dan 38,36% setelah 21 hari (Morales, 2020). Tujuan penelitian ini adalah mengembangkan potensi kopi seperti kopi arabika, robusta, dan liberika dengan fermentasi kombucha, menganalisis pengaruh lama fermentasi dan

jenis kopi terhadap aktivitas antioksidan kombucha kopi, serta mengevaluasi pengaruh lama fermentasi terhadap kadar kafein kombucha kopi.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan kombucha kopi adalah bubuk kopi, air, gula pasir "GULAKU", *starter* kombucha cair dan SCOBY yang diperoleh dari pembibit kombucha di Kota Depok, Jawa Barat. Jenis kopi yang digunakan pada penelitian ini adalah arabika, robusta, dan liberika yang dibeli dari produsen kopi "KOPI ASLI JAMBI" di Kabupaten Muaro Jambi, Jambi, Sumatera. Kopi yang dibeli sudah dalam bentuk bubuk dengan penyangraian dilakukan pada suhu 205°C selama 27 menit dan penggilingan menggunakan ayakan 35 *mesh*. Bahan-bahan yang digunakan untuk analisis meliputi etanol absolut "SMART LAB", DPPH bubuk "SIGMA ALDRICH", air demineralisasi "AMIDIS", garam fisiologis "MERCK", MRSA (*De Man, Rogosa, and Sharpe Agar*) "MERCK", PDA (*Potato Dextrose Agar*) "MERCK", spiritus, *buffer* pH 4, *buffer* pH 7, *buffer* pH 9, MgO, H₂SO₄ "MERCK", KOH "MERCK", dan kloroform "MERCK".

Alat yang digunakan dalam pembuatan kombucha kopi adalah timbangan meja "PRECISA", panci *stainless steel*,

termometer, gelas ukur 500 mL, gelas piala 1000 mL, gelas ukur 100 mL, botol sampel, kain penutup, dan benang kasur. Alat yang digunakan dalam analisis meliputi kertas saring "WHATMAN" No.1, *centrifuge* "BOECO M-240R", neraca analitik "SARTORIUS" BP 221 S, labu takar 100 mL, botol kaca gelap, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *vortex mixer* "BARNSTEAD THERMOLYNE", spektrofotometer UV-Visible "THERMO SCIENTIFIC GENESYS 20", kuvet kuarsa "MECASYS QUARTZ CELL", mikropipet "THERMO SCIENTIFIC FINNPIPETTE", *colony counter*, tabung reaksi tutup ulir, cawan petri plastik, *laminar air flow*, *autoclave*, *erlenmeyer* 500 mL, pH meter "METROHM", cawan penguapan, desikator "DURAN", oven "MEMMERT UNE 200-800", *heater* "CIMAREC".

Metode Penelitian

Penelitian tahap I dilakukan untuk mengetahui pengaruh jenis kopi dan lama fermentasi terhadap aktivitas antioksidan kombucha kopi. Rancangan percobaan penelitian tahap I menggunakan pola Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 2 faktor penelitian yaitu lama fermentasi yang memiliki 4 tingkat perlakuan dan jenis kopi yang memiliki 3 tingkat perlakuan sehingga terdapat jumlah total 12 perlakuan (t), dan 2 kali pengulangan. Model matematika yang digunakan dalam pola Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktor dan 2 kali

pengulangan. Penelitian tahap II dilakukan untuk mengetahui pengaruh lama fermentasi terhadap kadar kafein kombucha kopi dengan jenis kopi terbaik berdasarkan hasil penelitian tahap I.

Pada penelitian tahap I dilakukan analisis aktivitas antioksidan (AOAC, 2012) yang didukung dengan penghitungan total BAL (SNI 7552:2009), total khamir (Atma, 2016), dan pengukuran pH (AOAC, 2005). Pada penelitian tahap II dilakukan analisis kadar kafein. Analisis pendukung lain yang dilakukan adalah analisis kadar air bubuk kopi (AOAC, 2005) dan identifikasi mikroba *starter* kombucha cair.

Prosedur Pembuatan Kombucha Kopi

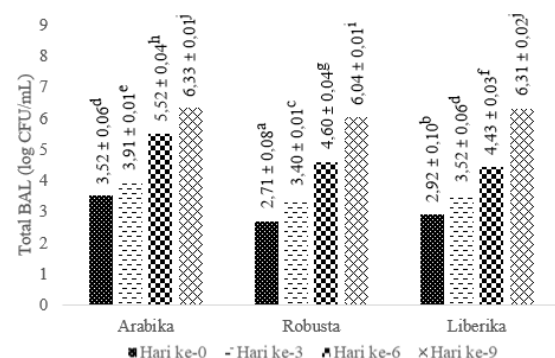
Prosedur pembuatan kombucha kopi diadaptasi dari penelitian Watawana *et al.* (2015) dengan modifikasi. Penyeduhan bubuk kopi dilakukan sesuai standar yang ditetapkan SCA (2018), yaitu sebanyak 55 gram bubuk kopi diseduh dengan 1 liter air bersuhu 92,2 – 94,4°C dan dibiarkan selama 5 menit, setelah itu difiltrasi menggunakan kain saring. Gula pasir sebanyak 100 gram (10% w/v) dilarutkan kedalam seduhan kopi yang masih panas, kemudian dibiarkan hingga mencapai suhu ruang. Larutan kopi kemudian dipindahkan ke botol sampel masing-masing sebanyak 100 mL dan ditambahkan SCOBY berukuran 1 cm x 1 cm x 0,5 cm serta *starter* kombucha cair sebanyak 10 mL (10% v/v). Botol sampel ditutup dengan kain penutup dan diikat dengan

benang kasur. Fermentasi berlangsung pada suhu ruang (20-25°C) selama waktu yang ditentukan sesuai perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total Bakteri Asam Laktat (BAL) Kombucha Kopi

Hasil uji identifikasi bakteri menunjukkan bahwa *Lactobacillus* sp. dan *Lactococcus* sp. berhasil terdeteksi pada *starter* kombucha cair, dimana menurut Villarreal-soto *et al.*, (2018) merupakan genus bakteri yang berperan dalam proses fermentasi kombucha. Variasi jenis kopi dan lama fermentasi menghasilkan kombucha kopi dengan total bakteri asam laktat yang berkisar dari 2,92 – 6,33 log CFU/mL (Gambar 1).



Keterangan: Perbedaan notasi *superscript* pada label data menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$)

Gambar 1. Pengaruh jenis kopi dan lama fermentasi terhadap total bakteri asam laktat kombucha kopi

Berdasarkan BSN (2009) kombucha kopi hari ke-9 untuk ketiga jenis kopi sudah memenuhi standar total bakteri asam laktat

dengan jumlah berkisar dari 6,04 – 6,33 log CFU/mL. Rata-rata jumlah bakteri asam laktat kombucha kopi pada hari ke-9 adalah 6,23 log CFU/mL, sedangkan pada hari ke-0 memiliki rata-rata jumlah sebanyak 3,05 log CFU/mL. Jenis kopi arabika menghasilkan kombucha kopi dengan jumlah bakteri asam laktat tertinggi pada hari ke-9 yaitu 6,33 log CFU/mL, sedangkan yang terendah pada jenis kopi robusta dengan jumlah 6,04 log CFU/mL. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa jenis kopi, lama fermentasi, dan interaksi keduanya memiliki pengaruh yang signifikan ($p < 0,05$) terhadap total bakteri asam laktat kombucha kopi.

Pertumbuhan bakteri asam laktat dipengaruhi oleh beberapa faktor meliputi suhu fermentasi (optimal pada 37-42°C), nilai pH, dan ketersediaan nutrisi sebagai penunjang pertumbuhan dan perkembangbiakan sel bakteri (Widodo *et al.*, 2015). Ketersediaan nutrisi untuk pertumbuhan bakteri asam laktat didukung dengan adanya khamir pada kombucha, dimana khamir akan menghidrolisis sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa. Glukosa kemudian akan digunakan dalam proses metabolisme BAL sehingga dihasilkan asam laktat melalui jalur Embden–Meyerhof–Parnas (EMP) oleh BAL homofermentatif, atau melalui jalur pentosa fosfat oleh BAL heterofermentatif (Laureys *et al.*, 2020).

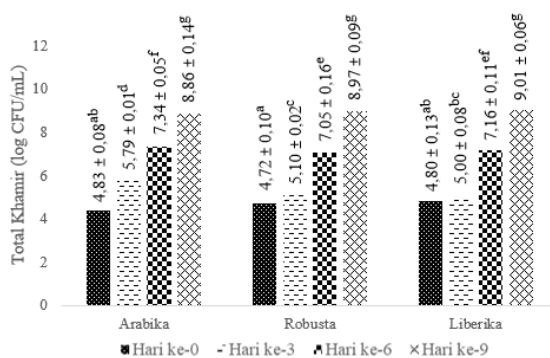
Total Khamir Kombucha Kopi

Hasil uji identifikasi khamir menunjukkan bahwa *Saccharomyces* sp. berhasil terdeteksi pada *starter* kombucha cair, dimana menurut Villarreal-soto *et al.*, (2018) merupakan genus khamir yang berperan dalam proses fermentasi kombucha. Variasi jenis kopi dan lama fermentasi menghasilkan kombucha kopi dengan total khamir yang berkisar dari 4,72 – 9,01 log CFU/mL (Gambar 2).

Berdasarkan Codex (2003), kombucha kopi pada hari ke-9 untuk ketiga jenis kopi sudah memenuhi standar total khamir. Rata-rata jumlah khamir kombucha kopi pada hari ke-9 adalah 8,94 log CFU/mL, sedangkan pada hari ke-0 memiliki rata-rata jumlah sebanyak 4,78 log CFU/mL. Jenis kopi liberika menghasilkan kombucha kopi dengan jumlah khamir tertinggi pada hari ke-9 yaitu 9,01 log CFU/mL, sedangkan yang terendah pada jenis kopi arabika dengan jumlah 8,86 log CFU/mL. Hasil uji statistik yang terlampir pada Lampiran D menunjukkan bahwa jenis kopi, lama fermentasi, dan interaksi keduanya memiliki pengaruh yang signifikan ($p < 0,05$) terhadap total khamir kombucha kopi.

Peningkatan jumlah khamir (Gambar 2) pada fermentasi kombucha mengikuti kurva pertumbuhan eksponensial hingga lama fermentasi mencapai 8-10 hari dan setelah itu

akan mengalami penurunan karena kematian akibat keterbatasan nutrisi dan pH yang semakin rendah (Essawet *et al.*, 2015). Pertumbuhan optimal khamir pada suhu sekitar 20-30°C dan pH 4,5-7, namun beberapa khamir masih dapat tumbuh pada pH 2,5. Ketahanan khamir selama fermentasi kombucha didukung dengan kemampuannya memproduksi gliserol sebagai respon terhadap tingginya tekanan osmosis dan penyeimbangan redoks. Senyawa lain yang dapat diproduksi oleh khamir untuk menjaga keseimbangan redoks adalah asam asetat, dimana peningkatan konsentrasi asam asetat dapat diketahui lewat penurunan pH selama fermentasi alkohol oleh khamir (Laureys *et al.*, 2020).



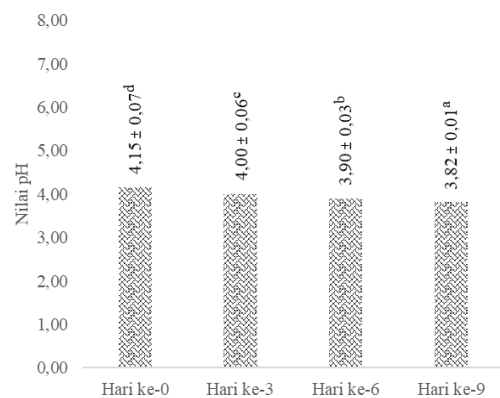
Keterangan: Perbedaan notasi *superscript* pada label data menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$)

Gambar 2. Pengaruh jenis kopi dan lama fermentasi terhadap total khamir kombucha kopi

Nilai pH Kombucha Kopi

Hasil pengukuran nilai pH menunjukkan terjadinya penurunan nilai pH kombucha kopi dari 4,15 – 3,82 seiring berjalannya proses fermentasi (Gambar 3). Hasil uji statistik membuktikan bahwa lama fermentasi

memiliki pengaruh yang signifikan ($p < 0,05$) terhadap nilai pH kombucha kopi.

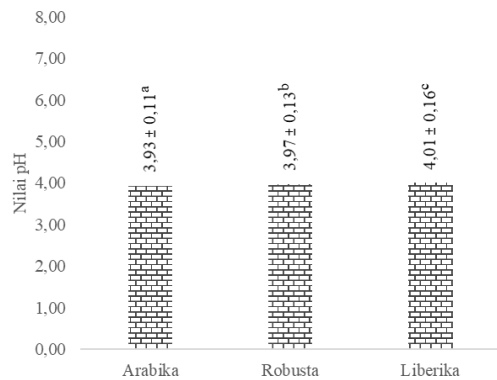


Keterangan: Perbedaan notasi *superscript* pada label data menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$)

Gambar 3. Pengaruh lama fermentasi terhadap nilai pH kombucha kopi

Penurunan nilai pH (Gambar 3) disebabkan bakteri tahan asam dan khamir yang terdapat pada kombucha akan memproduksi asam-asam organik selama berlangsungnya proses fermentasi. Khamir akan menghidrolisis sukrosa menjadi gula yang lebih sederhana (glukosa dan fruktosa) dengan enzim invertase, serta memproduksi etanol, karbondioksida, dan asam-asam organik melalui glikolisis. Lalu bakteri asam laktat dan asam asetat mulai bekerja dengan aktif mengubah glukosa dan etanol menjadi asam laktat, asam asetat, asam glukonat, dan asam-asam organik lainnya. Proses fermentasi tersebut akan meningkatkan konsentrasi asam pada kombucha sehingga terjadi penurunan nilai pH (Coton *et al.*, 2017; Jayabalan *et al.*, 2014; Laureys *et al.*, 2020). Kesimpulan tersebut juga sejalan dengan hasil perhitungan total BAL dan khamir

kombucha kopi yang menandakan peningkatan jumlah BAL dan khamir yang terjadi menyebabkan jumlah asam organik yang dihasilkan semakin banyak seiring berjalannya proses fermentasi.



Keterangan: Perbedaan notasi *superscript* pada label data menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$)

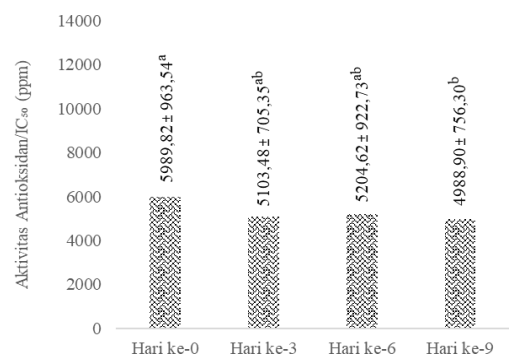
Gambar 4. Pengaruh jenis kopi terhadap nilai pH kombucha kopi

Berdasarkan Gambar 4, dapat dilihat bahwa jenis kopi arabika menghasilkan kombucha kopi dengan nilai pH 3,93 merupakan yang terendah dibandingkan jenis kopi lainnya, sedangkan nilai pH tertinggi terdapat pada jenis kopi liberika dengan nilai 4,01. Hasil uji statistik membuktikan bahwa jenis kopi memiliki pengaruh yang signifikan ($p < 0,05$) terhadap nilai pH kombucha kopi. Perbedaan nilai pH yang terjadi dapat disebabkan masing-masing kombucha kopi memiliki nilai pH awal yang berbeda-beda sebelum terjadinya proses fermentasi (hari ke-0), dimana nilai pH terendah juga terdapat pada jenis kopi arabika, sedangkan yang tertinggi juga pada jenis kopi liberika. Nilai pH kombucha kopi pada semua perlakuan sudah memenuhi standar menurut FDA

(2009) namun belum sesuai menurut KBI (2020) dengan batas maksimal pH 3,8.

Aktivitas Antioksidan (IC₅₀) Kombucha Kopi

Berdasarkan Gambar 5 dapat dilihat bahwa terjadi penurunan nilai IC₅₀ kombucha kopi dari 5989,82 – 4988,90 ppm seiring berjalannya proses fermentasi. Hasil uji statistik pengaruh lama fermentasi terhadap nilai IC₅₀ kombucha kopi masih belum signifikan ($p > 0,05$) secara keseluruhan, namun uji lanjut menyatakan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kombucha kopi hari ke-0 dengan hari ke-9. Hal ini menunjukkan bahwa proses fermentasi dapat memberikan pengaruh yang signifikan terhadap aktivitas antioksidan kombucha kopi setelah fermentasi berlangsung selama 9 hari.

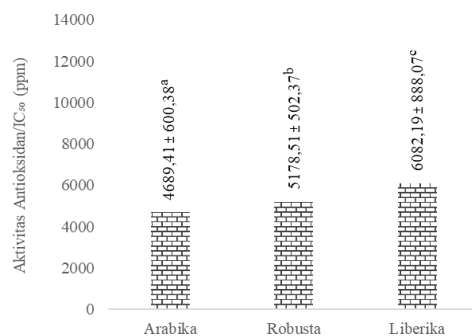


Keterangan: Perbedaan notasi *superscript* pada label data menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$)

Gambar 5. Pengaruh lama fermentasi terhadap aktivitas antioksidan (IC₅₀) kombucha kopi

Peningkatan aktivitas antioksidan dapat diasosiasikan dengan peningkatan total polifenol dan flavonoid selama proses

fermentasi proses fermentasi kombucha. Mikroorganisme yang berperan dalam proses fermentasi akan mendegradasi senyawa-senyawa polifenol dan flavonoid kompleks menjadi senyawa fenolik yang lebih sederhana sehingga jumlahnya bertambah secara keseluruhan dan meningkatkan potensinya sebagai antioksidan (Morales, 2020). Hasil analisis total BAL (Gambar 6), total khamir, dan nilai pH yang telah dibahas sebelumnya juga dapat dihubungkan dengan peningkatan aktivitas antioksidan yang terjadi selama proses fermentasi. Peningkatan total BAL dan khamir yang terjadi dapat menyebabkan peningkatan jumlah senyawa fenolik hasil degradasi enzimatis senyawa polifenol dan flavonoid kompleks (Chakravorty *et al.*, 2016).



Keterangan: Perbedaan notasi *superscript* pada label data menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$)

Gambar 6. Pengaruh jenis kopi terhadap aktivitas antioksidan (IC₅₀) kombucha kopi

Berdasarkan Gambar 6 dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan nilai IC₅₀ kombucha kopi pada tiap jenis kopi. Jenis kopi arabika menghasilkan kombucha kopi dengan nilai IC₅₀ terendah, sedangkan nilai

IC₅₀ tertinggi terdapat pada jenis kopi liberika. Hasil uji statistik membuktikan bahwa jenis kopi memiliki pengaruh yang signifikan ($p < 0,05$) terhadap nilai IC₅₀ kombucha kopi.

Perbedaan aktivitas antioksidan yang terjadi (Gambar 6) dapat diasosiasikan dengan jumlah mikroorganisme yang berperan dalam proses fermentasi. Kombucha kopi dengan jenis kopi arabika memiliki total BAL dan total khamir tertinggi dibandingkan jenis kopi lainnya. Tingginya jumlah BAL dan khamir pada kombucha kopi arabika selama proses fermentasi menyebabkan jumlah senyawa fenolik yang didegradasi semakin banyak dan meningkatkan aktivitas antioksidan dari kombucha kopi yang dihasilkan (Chakravorty *et al.*, 2016).

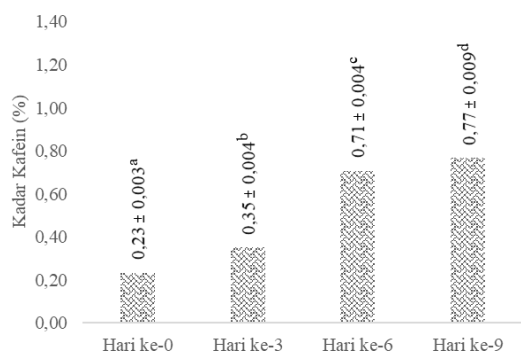
Penentuan Lama Fermentasi dan Jenis Kopi Terbaik

Kombucha kopi hari ke-9 untuk ketiga jenis kopi sudah memenuhi standar total BAL berdasarkan BSN (2009), serta standar total khamir berdasarkan Codex (2003). Nilai pH kombucha kopi semua perlakuan sudah sesuai standar nilai pH berdasarkan FDA (2009). Hasil analisis aktivitas antioksidan kombucha kopi (Gambar 6) menunjukkan nilai IC₅₀ terendah setelah 9 hari fermentasi dengan nilai IC₅₀ rata-rata 4988,90 ppm, dan pada jenis kopi arabika dengan nilai IC₅₀ rata-rata 4689,41 ppm. Hasil penelitian tersebut menunjukkan

bahwa perlakuan yang menghasilkan kombucha kopi terbaik adalah lama fermentasi 9 hari dan jenis kopi arabika. Oleh karena itu, jenis kopi terpilih untuk dianalisis lebih lanjut pada penelitian tahap II adalah jenis kopi arabika.

Kadar Kafein Kombucha Kopi Arabika

Berdasarkan Gambar 7 dapat dilihat bahwa terjadi peningkatan persen kadar kafein kombucha kopi arabika dari 0,23% – 0,77% seiring berjalannya proses fermentasi. Kadar kafein tertinggi pada kombucha kopi arabika dapat tercapai setelah 9 hari fermentasi dengan konsentrasi sebesar 0,77%. Hasil uji statistik membuktikan bahwa lama fermentasi memiliki pengaruh yang signifikan ($p < 0,05$) terhadap kadar kafein kombucha kopi arabika.



Keterangan: Perbedaan notasi *superscript* pada label data menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$)

Gambar 7. Pengaruh lama fermentasi terhadap kadar kafein kombucha kopi

Peningkatan kadar kafein pada kombucha (Gambar 7) dapat terjadi karena proses biosintesis kafein melalui fermentasi khamir. Jalur biosintesis kafein meliputi

empat reaksi utama, yaitu metilasi *xanthosine* pada atom N7 oleh enzim *xanthosine N-methyltransferase* yang terdapat pada kopi, sehingga dihasilkan *7-methylxanthosine*. Selanjutnya enzim *nucleosidase* yang dihasilkan oleh khamir akan memotong ribosa dari *7-methylxanthosine*, sehingga menghasilkan *7-methylxanthine* yang merupakan substrat untuk enzim *theobromine synthase* dalam memproduksi *theobromine*. Reaksi terakhir berlangsung pada atom N1 yang dikatalisasi oleh *caffeine synthase* untuk menghasilkan kafein sebagai produk akhir (Jin *et al.*, 2014; McKeague *et al.*, 2016).

KESIMPULAN

Proses fermentasi dapat meningkatkan aktivitas antioksidan dan kadar kafein kombucha kopi. Aktivitas antioksidan mengalami peningkatan setelah fermentasi selama 9 hari. Variasi jenis kopi yang digunakan dapat memengaruhi terhadap total bakteri asam laktat (BAL), total khamir, nilai pH, dan aktivitas antioksidan kombucha kopi. Perlakuan yang dapat menghasilkan kombucha kopi dengan aktivitas antioksidan tertinggi adalah jenis kopi arabika dengan nilai IC50 rata-rata sebesar 4689,41 ppm dan lama fermentasi 9 hari dengan nilai IC50 rata-rata sebesar 4988,90 ppm. Analisis kadar kafein kombucha kopi terpilih dengan jenis kopi arabika menunjukkan terjadinya peningkatan kadar kafein selama proses

fermentasi berlangsung. Fermentasi selama 9 hari menghasilkan kombucha kopi arabika dengan kadar kafein tertinggi yaitu 0,77%.

SARAN

Saran selanjutnya adalah dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh lama fermentasi dan jenis kopi terhadap kadar turunan senyawa kafein (*theobromine, theophylline, methylxanthine*) dan kadar polifenol untuk memberikan gambaran yang lebih jelas terhadap proses fermentasi kombucha kopi.

DAFTAR PUSTAKA

- Association of Official Analytical Chemist (AOAC). (2005). *Official methods of analysis of the association analytical chemists*. AOAC International.
- Association of Official Analytical Chemist (AOAC). (2012). *Estimation of antioxidant activity in foods and beverages by reaction with 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)*. AOAC International.
- Atma, Y. (2016). Angka lempeng total (ALT), angka paling mungkin (APM) dan total kapang khamir sebagai metode analisis sederhana untuk menentukan standar mikrobiologi pangan olahan posdaya. *Jurnal Teknologi*, 8(2), 77-82.
<https://doi.org/10.24853/jurtek.8.2.7-83>
- Badan Standarisasi Nasional (BSN). (2009). *Minuman susu fermentasi Berperisa*. SNI 7552:2009. Badan Standarisasi Nasional.
- Bjarnadottir, A. (2019). *Coffee and antioxidants: everything you need to know*. Retrieved July 14, 2019, from <https://www.healthline.com/nutrition/coffee-worlds-biggest-source-of-antioxidants>
- Chakravorty, S., Bhattacharya, S., Chatzinotas, A., Chakraborty, W., Bhattacharya, D., & Gachhui, R. (2016). Kombucha tea fermentation: microbial and biochemical dynamics. *International Journal of Food Microbiology*, 220, 63-72.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.12.015>
- Codex Alimentarius Commission (Codex). (2018). *Codex standard for fermented milks* (Rev. ed). Codex Alimentarius Commission.
- Coton, M., Pawtowski, A., Taminiau, B., Buragud, G., Deniel, F., Labarthe, L. C., Fall, A., Daube, G., & Coton, E. (2017). Unraveling microbial ecology of industrial-scale kombucha fermentation by metabarcoding and culture-based methods. *FEMS Microbiology Ecology*, 93(5), 1-16.
<https://doi.org/10.1093/femsec/fix048>
- Essawet, N. A., Cvetkovic, D., Velicanski, A., Brunet, J. C., Vulic, J., Maksimovic, V., & Sinisa, M. (2015). Polyphenols and antioxidant activities of kombucha beverage enriched with coffeeberry extract. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, 21(3), 399-409.
<https://doi.org/10.2298/CICEQ140528042E>
- Falahuddin, I., Apriani, I., & Nurfadilah. (2017). Pengaruh proses fermentasi kombucha daun sirsak (*Annona Muricata* L.) terhadap kadar vitamin c. *Biota*, 3(2), 90.
<https://doi.org/10.19109/biota.v3i2.1323>
- Food and Drug Administration (FDA). (2009). *Food code*. Food and Drug Administration.

- International Coffee Organization (ICO). (2020). *Historical data on the global coffee trade. Statistics*. Retrieved from http://www.ico.org/new_historical.asp?section=Statistics
- Jayabalan, R., Malbasa, R. V., Loncar, E. S., Vitas, J. S., & Sathishkumar, M. (2014). A review on kombucha tea-microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4), 538-550. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12073>
- Jin, L., Bhuiya, M. W., Li, M., Liu, X., Han, J., Deng, W., Wang, M., Yu, O., & Zhang, Z. (2014). Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for caffeine and theobromine production. *PLoS ONE*, 9(8), e105368. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105368>
- Kombucha Brewers International (KBI). 2020. *Kombucha code of practice* (2nd ed). Retrieved from <https://kombuchabrewers.org/kombucha-code-of-practice/>
- Laureys, D., Britton, S. J., & Clippeeler, J. D. (2020). Kombucha tea fermentation: a review. *Journal of the American Society of Brewing Chemist*, 78(3), 165-174. <https://doi.org/10.1080/03610470.2020.1734150>
- McKeague, M., Wang, Y. H., Cravens, A., Win, M. N., & Smolke, C. D. (2016). Engineering a microbial platform for de novo biosynthesis of diverse methylxanthines. *Metabolic Engineering*, 38, 191-203. <https://doi.org/10.1016/j.ymben.2016.08.003>
- Morales, D. (2020). Biological Activities of Kombucha beverages: the need of clinical evidence. *Trends in Food Science & Technology*, 105, 323-333. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.09.025>
- Pérez-Jiménez, J., Neveu, V., Vos, F., dan Scalbert, A. (2010). Identification of the 100 richest dietary sources of polyphenols: an application of the Phenol-Explorer database. *European Journal of Clinical Nutrition*, 64, S112-S120. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2010.221>
- Specialty Coffee Association (SCA). (2018). *Coffee standards*. Specialty Coffee Association.
- Suhardini, P. N., & Zubaidah, E. N. (2016). Studi aktivitas antioksidan kombucha dari berbagai jenis daun selama fermentasi. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 4(1), 221-229.
- Villarreal-soto, S. A., Beaufort, S., Bouajila, J., Souchard, J. P., & Taillandier, P. (2018). Understanding kombucha tea fermentation: a review. *Journal of Food Science*, 83(3), 580-588. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14068>
- Watawana, M. I., Jayawardena, N., & Waisundara, V. Y. (2015). Enhancement of the functional properties of coffee through fermentation by “tea fungus” (kombucha). *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 2596-2603. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12509>
- Widodo, T.S., Sulistiyanto, B., & Utama, C.S. (2015). Jumlah bakteri asam laktat (bal) dalam digesta usus halus dan sekum ayam broiler dan diberi pakan ceceran pabrik pakan yang difermentasi. *Agripet*, 15(2), 98-103. <https://doi.org/10.17969/agripet.v15i2.2376>