

Karakteristik Kombucha dengan Penambahan Ekstrak Kayu Manis dan Kayu Secang pada Proses Fermentasi Sekunder

Ikwan Wahyudi¹, Lisdiana^{2*}, Budi Astuti³

¹Program Studi Pendidikan IPA, ²Jurusan Biologi Fakultas MIPA

³Jurusan Fisika Fakultas MIPA Universitas Negeri Semarang

Jl. Kampus Sekaran Gunungpati Semarang 50229 Jawa Tengah

*lisdiana@mail.unnes.ac.id

DOI: <https://doi.org/10.21107/rekayasa.v16i3.17791>

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik kombucha yang dihasilkan dari proses fermentasi sekunder dengan penambahan ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan kayu secang (*Caesalpinia sappan*). Penelitian menggunakan desain RAK dengan 2 faktor perlakuan dan 4 kali ulangan. Faktor perlakuan meliputi penambahan bahan (kontrol, kayu manis, dan kayu secang) dan lama fermentasi sekunder (24, 48, dan 72 jam). Karakteristik yang diamati meliputi analisis pH, massa jenis, dan warna (Lab). Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan pada nilai pH, massa jenis, dan warna akibat perlakuan variasi penambahan bahan. Nilai pH dan massa jenis kombucha tidak berbeda signifikan akibat perlakuan variasi lama fermentasi sekunder, namun terdapat perbedaan signifikan pada warna kombucha berdasarkan lama fermentasi sekunder.

Kata Kunci : fermentasi sekunder, fisikokimia, kayu manis, kayu secang, kombucha

Abstract

*This study aims to determine the characteristics of kombucha produced from a secondary fermentation process with the addition of extracts of cinnamon (*Cinnamomum burmannii*) and secang wood (*Caesalpinia sappan*). The study used a RAK design with 2-factor treatments and 4 replications. Treatment factors included the addition of ingredients (control, cinnamon, and secang wood) and secondary fermentation time (24, 48, and 72 hours). Characteristics observed include analysis of pH, density, and color (Lab). The results showed that there were significant differences in the pH value, density, and color due to the various treatments of adding ingredients. The pH value and density of kombucha did not differ significantly due to the variation in secondary fermentation time, but there were significant differences in the color of kombucha based on the secondary fermentation time.*

Key words : secondary fermentation, physicochemistry, secang wood, cinnamon, kombucha

PENDAHULUAN

Kombucha merupakan produk minuman fermentasi berbahan dasar teh yang dibuat dengan kultur simbiosis bakteri dan ragi yang disebut dengan SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*) (Soares *et al.*, 2021). Fermentasi pada kombucha melibatkan mikroba utama dari kelompok ragi, bakteri asam asetat, dan bakteri asam laktat yang bekerja secara simbiosis dalam menghasilkan produk utama berupa asam-asam organik dan etanol. Di samping itu, fermentasi kombucha juga menghasilkan biofilm selulosa mikroba yang akan mengambang selama proses

fermentasi primer berlangsung (Laureys *et al.*, 2020). Kandungan utama dalam kombucha terdiri atas asam-asam organik, seperti asam asetat, asam glukonat, dan asam laktat, serta flavonoid, katekin, dan tanin sebagai hasil metabolit mikroba yang dikaitkan dengan manfaat kesehatan, seperti efek terapeutik dalam mengurangi perkembangan penyakit (Coton *et al.*, 2017; Kapp & Sumner, 2019).

Pertumbuhan di sektor minuman probiotik mendorong perkembangan yang signifikan dalam pasar produksi dan konsumsi kombucha pada skala industri (Dutta & Paul, 2019). Saat ini, kombucha tidak hanya berupa teh fermentasi berbahan dasar teh hijau atau teh hitam saja, namun kombucha juga dapat dijumpai dengan berbagai rasa dan aroma yang bervariasi, bergantung pada bahan tambahan yang digunakan dalam proses fermentasi (Soares *et al.*, 2021). Fermentasi kombucha dapat dilakukan melalui dua tahapan, di mana pada tahap fermentasi sekunder merupakan proses lanjutan

Article History:

Received: September, 29th 2023; **Accepted:** Nov, 14th 2023

Cite this as :

Wahyudi, I., Lisdiana., Astuti, B. 2023. Karakteristik Kombucha dengan Penambahan Ekstrak Kayu Manis dan Kayu Secang pada Proses Fermentasi Sekunder. *Rekayasa*. Vol 16(3). 351-358.

dari hasil fermentasi primer yang telah dipisahkan dari SCOBY. Pada fermentasi sekunder dilakukan pada wadah tertutup yang merangsang pertumbuhan mikroba anaerobik fakultatif dapat mengubah nutrisi/substrat tambahan untuk membuat kombucha dengan varian rasa dan aroma (Majidah *et al.*, 2022).

Hasil fermentasi kombucha pada umumnya memiliki karakteristik yang khas bergantung pada penggunaan bahan. Selain itu, juga terdapat faktor-faktor yang berkontribusi pada proses fermentasi kombucha yang berlangsung, baik fermentasi primer dan sekunder. Purnami *et al.* (2018) mengungkapkan bahwa perbedaan konsentrasi teh, lama fermentasi, dan konsentrasi cairan starter dapat mengakibatkan terjadinya perbedaan aroma, rasa, serta komposisi dan jumlah kandungan kimia dalam kombucha. Lebih lanjut, Leal *et al.* (2018) juga menyatakan bahwa variabel proses fermentasi seperti suhu, pH, dan konsentrasi sukrosa akan menentukan konsentrasi asam-asam organik yang dihasilkan yang berakibat pada nilai pH di akhir fermentasi.

Fermentasi kombucha dengan bahan baku selain teh telah banyak dilakukan. Penelitian terdahulu melaporkan bahwa kombucha dapat dibuat dengan menggunakan ekstrak jahe merah (Rizqika *et al.*, 2021), jahe (Ayuratri & Kusnadi, 2017), temulawak (Rizqika *et al.*, 2021), kopi (Kusuma & Fibrianto, 2018), rumput laut (Pratiwi *et al.*, 2012), dan kayu manis (Buang *et al.*, 2019). Berdasarkan hal tersebut, diketahui bahwa rempah-rempah memiliki potensi sebagai bahan baku utama dalam fermentasi kombucha yang bukan dari teh. Namun, kombucha yang memanfaatkan rempah-rempah pada proses fermentasi sekunder dengan teh sebagai bahan baku utama belum banyak diteliti, termasuk penambahan ekstrak kayu manis dan kayu secang. Sebagaimana diungkap Soares *et al.*, (2021) bahwa salah satu inovasi kombucha adalah varian penggunaan kombinasi bagian tumbuhan herbal dengan teh fermentasi yang dihasilkan dari proses sebelumnya.

Kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) memiliki kandungan antioksidan alami yang berfungsi untuk menangkal radikal bebas (Kusumawati *et al.*, 2019). Beberapa kandungan dalam kayu manis di antaranya tanin, eugenol, sinamaldehida, flavonoid, dan alkanoid (Buang *et al.*, 2019). Sementara itu, kayu secang (*Caesalpinia sappan*) diketahui juga berkhasiat sebagai antioksidan dan biasa dikonsumsi sebagai minuman herbal. Beberapa

kandungan dalam kayu secang di antaranya flavonoid, fenol, dan brazilin yang memberi warna merah pada ekstrak kayu secang (Aderthi *et al.*, 2022). Kandungan pada kayu manis dan kayu secang tersebut memiliki potensi untuk digunakan sebagai bahan tambahan dalam fermentasi sekunder kombucha. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui karakteristik fisikokimia (pH, massa jenis, dan warna) dari kombucha yang divariasikan penambahan bahan dan lama fermentasi sekunder.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2022. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun teh hijau (*Camellia sinensis*), sukrosa, air mineral, kayu manis (*Cinnamomum burmannii*), kayu secang (*Caesalpinia sappan*), SCOBY, dan starter teh fermentasi. Adapun, alat yang digunakan meliputi stoples kaca, pengaduk kayu, gelas takar, timbangan, saringan, pemanas, panci stainless steel, dan pH meter. Selain itu, alat pengukuran parameter fisikokimia juga berupa aplikasi Color grab. Bahan utama berupa daun teh hijau, kayu manis, dan kayu secang disiapkan dengan cara dikeringkan secara alami melalui penjemuran langsung dan dilanjutkan dengan penggilingan bahan hingga halus dan disimpan dalam stoples kaca.

Prosedur penelitian merujuk pada proses pembuatan kombucha baik saat fermentasi primer dan fermentasi sekunder. Proses fermentasi primer mengacu pada prosedur pembuatan kombucha menurut Nurhayati *et al.* (2020). Tahap awal pembuatan dilakukan dengan merebus air 1.500 mL hingga mendidih kemudian ditambahkan sukrosa 10% (b/v) dan daun teh 2% (b/v) sambil diaduk selama 5 menit. Larutan teh dan gula disaring dan didinginkan pada suhu ruang. Selanjutnya, proses fermentasi primer dilakukan dengan memasukkan larutan teh dan gula ke dalam stoples kaca dan diinokulasi dengan kultur kombucha 10% (b/v). Proses fermentasi primer dilakukan dalam ruangan selama 7 hari. Di akhir fermentasi primer, larutan teh yang terfermentasi dipisahkan dari biofilm SCOBY dan digunakan pada tahap fermentasi sekunder.

Proses fermentasi sekunder diawali dengan pembuatan ekstrak kayu manis dan kayu secang. Prosedur pembuatan ekstrak mengacu pada Buang *et al.* (2019). Kedua ekstrak tersebut dibuat dengan menambahkan kayu manis atau kayu secang sebanyak 3% (b/v) dalam air panas sebanyak 100

mL dan didiamkan selama 15 menit. Setelah itu, ekstrak kayu manis atau kayu secang ditambahkan dengan kombucha yang dihasilkan pada proses sebelumnya. Perbandingan penambahan ekstrak dan kombucha adalah 1 : 3. Semua sampel dikemas dalam wadah 25 mL dalam kondisi anaerobik untuk proses fermentasi sekunder dengan variasi 24 jam, 48 jam, dan 72 jam.

Penelitian ini dirancang dengan 2 faktor perlakuan yang terdiri atas 3 taraf perlakuan dan 4 kali ulangan dengan desain RAK. Faktor perlakuan pertama adalah bahan tambahan, yang terdiri atas kontrol/tanpa bahan tambahan (K), penambahan ekstrak kayu manis (M), dan penambahan ekstrak kayu secang (S). Faktor perlakuan kedua adalah lama fermentasi sekunder, yang terdiri atas fermentasi sekunder 24 jam (1), 48 jam (2), dan 72 jam (3). Desain faktorial tersebut adalah 3×3 yang disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Desain RAK faktorial penelitian

Faktor Perlakuan	24 jam	48 jam	72 jam
Kontrol (K)	K1	K2	K3
Kayu manis (M)	M1	M2	M3
Kayu secang (S)	S1	S2	S3

Parameter karakteristik kombucha yang diukur pada penelitian ini adalah pH, massa jenis, dan warna. Nilai pH kombucha diukur untuk mengetahui tingkat keasamannya menggunakan pH meter (Chakravorty *et al.*, 2016). Massa jenis kombucha dilakukan dengan persamaan massa jenis, yaitu membagi massa larutan per volume. Analisis warna dilakukan dengan Color grab untuk mengetahui nilai kecerahan (L^*), koordinat merah-hijau (a^*), dan koordinat kuning-biru (b^*) (Nurhayati *et al.*, 2020). Semua data yang diperoleh dianalisis dengan analisis Anova (uji F) untuk mengetahui pengaruh perlakuan menggunakan program SPSS pada taraf signifikansi 5%. Persamaan matematika untuk uji statistik Anova disajikan dalam persamaan 1 dengan hipotesis uji untuk faktor perlakuan bahan dirumuskan sebagai berikut.

- H_0 : tidak ada perbedaan pH/massa jenis/warna signifikan antara kombucha kontrol, kombucha kayu manis, dan kombucha kayu secang
- H_1 : ada perbedaan pH/massa jenis/warna signifikan antara kombucha kontrol, kombucha kayu manis, dan kombucha kayu secang

Sedangkan rumusan hipotesis uji untuk faktor perlakuan lama fermentasi dirumuskan sebagai berikut.

- H_0 : tidak ada perbedaan pH/massa jenis/warna signifikan antara lama fermentasi 24 jam, 48 jam, dan 72 jam
- H_1 : ada perbedaan pH/massa jenis/warna signifikan antara lama fermentasi 24 jam, 48 jam, dan 72 jam

HASIL PEMBAHASAN

Kadar pH Kombucha

Hasil analisis nilai pH kombucha dari proses fermentasi sekunder pada penelitian ini berkisar antara 2,50 sampai 2,75 (Tabel 2). Sesuai dengan standar mutu kombucha, rentang nilai pH produk akhir kombucha di antara 2,50 hingga 3,50. Nilai pH yang terlalu rendah menandakan kadar asam yang dihasilkan terlalu tinggi, sehingga kombucha memiliki rasa yang kuat seperti cuka dan perlu diencerkan sebelum dikonsumsi. Kombucha yang memiliki nilai pH sesuai standar aman untuk dikonsumsi oleh tubuh dan memungkinkan mikroorganisme asing tidak dapat tumbuh dalam kombucha tersebut, sehingga tidak memerlukan bahan pengawet untuk penyimpanan jangka panjang (Torre *et al.*, 2021). Hasil analisis Anova menunjukkan adanya perbedaan signifikan nilai pH kombucha yang disebabkan penambahan bahan yang berbeda ($p < 0,05$) yang ditunjukkan notasi huruf a, b, c. Sementara itu, nilai pH tidak berbeda signifikan jika ditinjau dari lama fermentasi sekunder ($p \geq 0,05$) yang ditunjukkan notasi huruf a.

Tabel 2. Nilai pH kombucha

Penambahan Bahan	Lama Fermentasi			Rata-rata \pm SD
	24 jam	48 jam	72 jam	
Kontrol	2,53	2,53	2,50	2,52 \pm 0,04 ^c
Ekstrak kayu manis	2,63	2,58	2,58	2,59 \pm 0,07 ^b
Ekstrak kayu secang	2,75	2,73	2,70	2,73 \pm 0,05 ^a
Rata-rata \pm SD	2,63 \pm 0,12 ^a	2,61 \pm 0,10 ^a	2,59 \pm 0,09 ^a	-

Notasi huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata ($p < 0,05$); SD = standar deviasi

Berdasarkan Tabel 2. diketahui bahwa nilai pH tertinggi pada kombucha dengan ekstrak kayu secang pada fermentasi sekunder 24 jam, sebaliknya nilai pH terendah diketahui pada kombucha kontrol dengan lama fermentasi 72 jam. Meningkatnya kandungan asam dalam fermentasi kombucha akan menyebabkan penurunan pH yang disebabkan dari peningkatan konsentrasi asam-

asam organik hasil metabolisme kultur bakteri dan ragi (Pratiwi *et al.*, 2012). Penambahan ekstrak kayu manis dan kayu secang akan secara langsung meningkatkan kandungan senyawa bioaktif dalam kombucha. Senyawa bioaktif tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri dalam proses fermentasi sekunder yang dilakukan. Ekstrak kayu manis dan kayu secang mengandung golongan senyawa flavonoid, tanin, dan alkanoid yang memiliki aktivitas antioksidan dan antimikroba (Buang *et al.*, 2019; Kusumawati *et al.*, 2019). Oleh karena itu, adanya penambahan ekstrak kayu manis dan kayu secang secara tidak langsung berpengaruh pada banyaknya asam-asam organik yang dihasilkan lebih sedikit, sehingga pH yang dihasilkan lebih tinggi dibandingkan dengan kombucha kontrol tanpa penambahan ekstrak kayu manis dan kayu secang.

Hal penelitian ini sejalan dengan Rizqika *et al.* (2021) bahwa menambahkan ekstrak rempah-rempahan dalam fermentasi kombucha akan menyebabkan terjadinya kenaikan pH. Penghambatan metabolisme bakteri oleh keberadaan senyawa bioaktif menyebabkan proses perombakan substrat menjadi asam organik juga melambat (Nur *et al.*, 2018). Nurhayati *et al.* (2020) melaporkan hasil bahwa pertumbuhan mikroorganisme dalam kombucha juga terhambat ketika keberadaan senyawa bioaktif semakin tinggi akibat penambahan konsentrasi bahan. Oleh karena itu, tak jarang dilakukan penambahan asam asetat terlarut yang dapat melepas proton dan menurunkan pH dalam proses fermentasi kombucha (Lestari & Sa'diyah, 2020). Penurunan pH tersebut dapat merangsang pertumbuhan mikroorganisme, terutama bakteri secara optimal dalam degradasi substrat menjadi asam-asam organik (Laureys *et al.*, 2020).

Berkaitan dengan lama fermentasi sekunder, hasil penelitian ini menunjukkan adanya penurunan pH seiring dengan meningkatnya lama fermentasi. Meski demikian, tidak terjadi perbedaan signifikan nilai pH kombucha hasil fermentasi sekunder pada 24 jam, 48 jam, dan 72 jam. Penurunan pH selama fermentasi kombucha umumnya signifikan pada proses fermentasi primer. Hal tersebut dikarenakan adanya aktivitas bakteri dan ragi dalam kondisi aerobik yang merombak sukrosa menjadi etanol dan asam-asam organik, di mana asam organik dalam larutan melepas proton sehingga pH mengalami penurunan (Al-Yousef *et al.*, 2017). Namun, hal tersebut tidak berlaku pada kondisi

anaerobik, yaitu saat fermentasi sekunder. Pada proses fermentasi sekunder kondisi yang terjadi adalah oksigenasi yang rendah, sehingga produksi asam-asam organik oleh bakteri asam asetat juga rendah (Laureys *et al.*, 2020). Oleh karena itu, meskipun ada penurunan pH dari variasi lama fermentasi sekunder, penurunan tersebut tidak signifikan

Massa Jenis Kombucha

Hasil analisis massa jenis kombucha dari proses fermentasi sekunder pada penelitian ini berkisar antara 1,02 gr/mL sampai 1,06 gr/mL (Tabel 3). Massa jenis kombucha dengan penambahan ekstrak kayu manis dan kayu secang lebih tinggi dibandingkan kombucha kontrol pada fermentasi sekunder. Massa jenis berkaitan dengan total padatan terlarut dalam kombucha yang juga berhubungan dengan konsentrasi bahan yang ditambahkan (Nurhayati *et al.*, 2020). Oleh karena itu, pada fermentasi sekunder kombucha, penambahan ekstrak kayu manis dan kayu secang akan meningkatkan padatan terlarut yang berasal glukosa, fruktosa, dan senyawa metabolit lainnya ke dalam kombucha. Hasil analisis Anova menunjukkan adanya perbedaan signifikan massa jenis kombucha yang disebabkan penambahan bahan yang berbeda ($p < 0,05$) yang ditunjukkan notasi huruf a, b, ab. Sementara itu, massa jenis tidak berbeda signifikan jika ditinjau dari lama fermentasi sekunder ($p \geq 0,05$) yang ditunjukkan notasi huruf a.

Tabel 3. Massa Jenis Kombucha

Penambahan Bahan	Lama Fermentasi			Rata-rata \pm SD
	24 jam	48 jam	72 jam	
Kontrol	1,03	1,03	1,02	1,03 \pm 0,02 ^b
Ekstrak kayu manis	1,06	1,06	1,04	1,05 \pm 0,03 ^a
Ekstrak kayu secang	1,03	1,05	1,05	1,04 \pm 0,02 ^{ab}
Rata-rata \pm SD	1,04 \pm 0,02 ^a	1,05 \pm 0,02 ^a	1,04 \pm 0,02 ^a	-

Notasi huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata ($p < 0,05$); SD = standar deviasi. Massa jenis dinyatakan dalam satuan g/mL

Meskipun dalam fermentasi sekunder tidak menggunakan SCOBY dalam bentuk biofilm selulosa, namun keberadaan mikroorganisme bakteri dan ragi masih terdapat dalam kombucha. Oleh karena itu, proses fermentasi terus berjalan meski tidak seefektif pada fermentasi primer (Laureys *et al.*, 2020). Selama ada kecukupan

substrat untuk metabolisme bakteri dan ragi, substrat tersebut akan diubah menjadi etanol dan asam-asam organik sekalipun dalam kondisi anaerobik (Soares *et al.*, 2021). Penambahan ekstrak kayu manis dan kayu secang meningkatkan kandungan substrat dalam proses fermentasi sekunder, sehingga total padatan terlarut akan semakin tinggi yang menyebabkan massa jenis kombucha dengan penambahan ekstrak kayu manis dan kayu secang lebih tinggi daripada kontrol.

Selama fermentasi sekunder, mikroorganisme akan terus mendegradasi substrat seperti sukrosa dan zat terlarut lainnya. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa massa jenis kombucha tidak berbeda signifikan jika ditinjau dari lama fermentasi sekunder. Hal ini sesuai dengan Laureys *et al.* (2020) bahwa efektivitas fermentasi kombucha dalam kondisi anaerobik tidak lebih baik daripada kondisi aerobik. Fermentasi sekunder kombucha yang terjadi dalam kondisi anaerobik yang justru membatasi konversi etanol dan glukosa menjadi asam asetat dan asam glukonat. Kelompok bakteri asam asetat, seperti *Acetobacter* dan *Gluconacetobacter* merupakan bakteri anaerobik obligat, sehingga keberadaan oksigen sangat mempengaruhi pertumbuhannya (Gomes *et al.*, 2018). Nurhayati *et al.* (2020) mengungkapkan bahwa pembentukan asam-asam organik dari proses degradasi substrat dalam fermentasi kombucha akan menyebabkan massa jenis kombucha menurun. Oleh karena itu, kurang efektifnya metabolisme bakteri asam asetat dalam fermentasi sekunder ini dapat menjelaskan tidak adanya perbedaan signifikan massa jenis kombucha pada lama fermentasi sekunder yang berbeda.

Warna Kombucha

Hasil analisis warna kombucha dari proses fermentasi sekunder pada penelitian ini dinyatakan dalam nilai warna Lab, yang terdiri atas kecerahan (L^*), nilai warna a^* (koordinat merah-hijau), dan nilai warna b^* (koordinat kuning-biru). Berdasarkan Tabel 4. dengan variasi penambahan bahan, kombucha kontrol memiliki tingkat kecerahan warna tertinggi dibandingkan kombucha dengan ekstrak kayu manis dan kayu secang. Penurunan kecerahan warna kombucha pada kombucha dengan ekstrak kayu manis dan kayu secang berkaitan dengan adanya tambahan pigmen warna yang utamanya berasal dari sinamaldehyd pada

kayu manis (Emilda, 2018) dan brazilin pada kayu secang (Aderthi *et al.*, 2022). Hasil analisis Anova pada tingkat kecerahan warna kombucha menunjukkan adanya perbedaan signifikan ditinjau dari variasi penambahan bahan dan lama fermentasi sekunder ($p < 0,05$) yang ditunjukkan notasi huruf a, b, dan c pada Tabel 4.

Tabel 4. Nilai warna *lightness* (L^*) kombucha

Penambahan Bahan	Lama Fermentasi			Rata-rata \pm SD
	24 jam	48 jam	72 jam	
Kontrol	97,13	97,98	98,30	97,80 \pm 0,62 ^a
Ekstrak kayu manis	90,18	93,95	94,48	92,87 \pm 2,03 ^c
Ekstrak kayu secang	97,25	97,23	97,63	97,37 \pm 0,21 ^b
Rata-rata \pm SD	94,85 \pm 3,47 ^c	96,38 \pm 1,84 ^b	96,80 \pm 1,75 ^a	-

Notasi huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata ($p < 0,05$)

Berdasarkan hasil analisis warna kombucha dapat diketahui bahwa semakin lama fermentasi sekunder menyebabkan peningkatan kecerahan warna kombucha yang dihasilkan. Hal ini sejalan dengan Nurhayati *et al.* (2020) bahwa lama fermentasi dapat menyebabkan tingkat kecerahan warna kombucha semakin tinggi. Selain senyawa sinamaldehyd dan brazilin yang dijumpai pada kombucha dengan penambahan ekstrak kayu manis dan kayu secang, senyawa lain yang berperan dalam pembentukan warna kombucha adalah kandungan tanin (Mawardi *et al.*, 2016). Selama proses fermentasi kombucha, senyawa-senyawa yang memberikan warna tersebut akan mengalami kerusakan akibat pH kombucha yang rendah, sehingga akan terbentuk warna yang semakin cerah. Kultur simbiosis antara bakteri asam laktat, bakteri asam asetat, dan ragi dapat memproduksi enzim tannase yang mampu mendegradasi tanin (Anwar, 2013). Lebih lanjut, degradasi warna juga berkaitan dengan pemanfaatan substrat terlarut sebagai sumber energi bagi mikroba, sehingga seiring berjalannya waktu substrat dalam media akan habis (Pratiwi *et al.*, 2012). Degradasi warna dalam fermentasi kombucha tersebut berakibat pada nilai warna a^* dan b^* yang juga mengalami tren bergerak ke arah nilai nol.

Penambahan ekstrak kayu manis dan kayu secang pada fermentasi sekunder kombucha meningkatkan kandungan warna dalam kombucha, sehingga berkontribusi pada nilai warna a^* dan b^* . Selain itu, kandungan utama dalam kayu manis dan

kayu secang yang berbeda juga memengaruhi nilai warna kombucha yang dihasilkan. Berdasarkan Tabel 5. penambahan ekstrak kayu manis memperoleh nilai warna a^* yang positif dan lebih tinggi dibandingkan sampel kombucha yang lainnya. Hal tersebut dicerminkan dari warna kombucha dengan ekstrak kayu manis yang tampak kemerahan daripada jenis kombucha yang lainnya. Sementara itu, pada kombucha kontrol dan penambahan ekstrak kayu secang memperoleh nilai warna a^* yang negatif. Ditinjau dari lama fermentasi sekunder terjadi kenaikan nilai warna a^* yang semakin menuju positif. Hasil analisis Anova pada nilai warna a^* kombucha menunjukkan adanya perbedaan signifikan ditinjau dari variasi penambahan bahan dan lama fermentasi sekunder ($p < 0,05$) yang ditunjukkan notasi huruf a, b, dan c pada Tabel 5.

Tabel 5. Nilai warna a^* (derajat merah-hijau) kombucha

Penambahan Bahan	Lama Fermentasi			Rata-rata \pm SD
	24 jam	48 jam	72 jam	
Kontrol	-15,83	-14,38	-12,45	-14,22 \pm 1,67 ^b
Ekstrak kayu manis	2,90	0,65	0,43	1,33 \pm 1,49 ^a
Ekstrak kayu secang	-20,55	-20,30	-17,60	-19,48 \pm 1,44 ^c
Rata-rata \pm SD	-11,16 \pm 10,60^a	-11,34 \pm 9,25^a	-9,88 \pm 7,94^b	-

Notasi huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata ($p < 0,05$)

Selain nilai warna a^* , analisis terhadap warna kombucha juga merujuk pada nilai b^* yang menyatakan koordinat warna kuning-biru. Nilai warna a^* dan b^* yang kemudian membentuk warna tampak yang diterjemahkan secara visual sistem penglihatan manusia. Berdasarkan Tabel 6. penambahan ekstrak kayu secang menyebabkan nilai warna b^* lebih tinggi dibandingkan jenis sampel kombucha yang lainnya. Hal tersebut dicerminkan dari warna kombucha dengan ekstrak kayu secang yang tampak lebih kuning. Kombucha dengan ekstrak kayu manis menyebabkan nilai warna b^* lebih rendah daripada kontrol. Hal ini dikarenakan kombucha dengan kayu manis secara adalah satu-satunya yang memiliki nilai warna a^* positif, sehingga penampakan fisiknya berwarna kemerahan. Sementara itu, ditinjau dari lama fermentasi sekunder terjadi penurunan nilai warna b^* yang mengindikasikan bahwa nilai warna kuning dari kombucha semakin menurun. Hasil analisis Anova pada nilai warna b^* kombucha menunjukkan

adanya perbedaan signifikan ditinjau dari variasi penambahan bahan dan lama fermentasi sekunder ($p < 0,05$) yang ditunjukkan notasi huruf a, b, dan c pada Tabel 6.

Tabel 6. Nilai warna b^* (derajat kuning-biru) kombucha

Penambahan Bahan	Lama Fermentasi			Rata-rata \pm SD
	24 jam	48 jam	72 jam	
Kontrol	61,45	48,98	41,03	50,48 \pm 9,64 ^c
Ekstrak kayu manis	33,28	20,65	19,35	24,43 \pm 6,80 ^b
Ekstrak kayu secang	85,70	83,83	75,98	81,83 \pm 4,90 ^a
Rata-rata \pm SD	60,14 \pm 22,54^a	51,15 \pm 27,17^b	45,45 \pm 24,50^c	-

Notasi huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata ($p < 0,05$)



Gambar 1. Sampel kombucha dari kiri ke kanan: kontrol, ekstrak kayu manis, dan ekstrak kayu secang

Berkaitan dengan karakteristik warna yang dihasilkan, penambahan ekstrak kayu secang meningkatkan kandungan pigmen brazilin. Dalam pH netral, brazilin memberikan warna merah, namun akan berubah menjadi kuning dalam kondisi asam (Meutia *et al.*, 2019). Hal ini yang menyebabkan nilai warna b^* pada kombucha dengan ekstrak kayu secang memiliki nilai yang paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Sementara itu, penambahan ekstrak kayu manis menyebabkan semua nilai warna kombucha paling rendah. Wang *et al.*, (2019) bahwa peningkatan sinamaldehyd mempengaruhi perbedaan warna, di mana semakin besar kandungan sinamaldehyd akan menyebabkan nilai perubahan warna yang semakin besar pula. Sementara itu, karakteristik warna kombucha juga berkaitan dengan pigmen warna yang terkandung dalam teh sebagai bahan baku utama. Thearubigin adalah pigmen coklat dan theaflavin adalah pigmen kuning dalam teh (Laureys *et al.*, 2020). Selama fermentasi kombucha, konsentrasi thearubigin menurun sedangkan theaflavin meningkat yang dapat menjelaskan karakteristik warna kombucha

yang lebih terang daripada seduhan teh yang tidak difermentasi (Kallel *et al.*, 2012).

KESIMPULAN

Fermentasi sekunder kombucha dengan penambahan ekstrak kayu manis dan kayu secang menyebabkan perbedaan signifikan pada karakteristik pH, massa jenis, dan nilai warna kombucha. Penambahan ekstrak dalam kombucha mengakibatkan terjadinya kenaikan pH dan massa jenis kombucha. Tingkat kecerahan warna (L) kombucha menurun dengan adanya penambahan ekstrak kayu manis dan kayu secang. Adanya pigmen warna pada ekstrak kayu manis dan kayu secang secara positif mempengaruhi nilai warna a dan b. Sementara itu, karakteristik pH dan massa jenis kombucha tidak berbeda signifikan jika ditinjau dari lama fermentasi sekunder. Metabolisme SCOBY dalam fermentasi sekunder kombucha berkaitan erat dengan peningkatan tingkat kecerahan warna kombucha dan penurunan nilai warna a dan b seiring dengan lama fermentasi sekunder.

Saran penelitian selanjutnya diharapkan dapat mengeksplorasi lebih dalam terkait pengaruh variasi penambahan ekstrak rempah yang dikombinasikan dengan berbagai perbandingan. Lebih lanjut, pemeriksaan parameter biologis dan kimia juga dapat dieksplorasi lebih lanjut untuk memperkaya informasi terkait karakteristik kombucha dengan penambahan ekstrak kayu manis dan kayu secang pada proses fermentasi sekunder. Selain itu, penelitian dengan variasi lama fermentasi primer dan sekunder juga dapat menjadi pertimbangan sebagai faktor perlakuan dalam memperoleh kombucha sesuai standar baku mutu untuk keperluan konsumsi.

DAFTAR PUSTAKA

- Aderthi, S. A. D., Anggraini, Y., & Mahrani, M. (2022). Kualitas organoleptik susu sapi pasteurisasi dengan penambahan kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.). *Journal Of Animal Center (JAC)*, 4(1), 60-71.
- Al-Yousef, H. M., Sawab, A., & Alruhimi, M. (2017). Pharmacognostic studies on coffee Arabica L. husk: a brilliant source of antioxidant agents. *European J. Pharm. Med. Res.*, 4, 86-92.
- Anwar, Y. A. S. (2013). Prospek enzim tanase dalam pengembangan industri di Indonesia. *J. Pijar MIPA*, 8, 32-36. <https://doi.org/10.29303/jpm.v8i1.58>
- Ayuratri, M. K., & Kusnadi, J. (2017). Aktivitas antibakteri kombucha jahe (*Zingiber officinale*) (kajian varietas jahe dan konsentrasi madu). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 5(3), 95-107.
- Buang, A., Aris, M., & Rahmat, M. I. (2019). Uji efek penurunan kadar glukosa darah teh kombucha (*Camelia sinensis*) kombinasi kayu manis (*Cinnamomum burmannii* L) pada mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Kesehatan Yamasi Makassar*, 3(2).
- Coton, M., Pawtowski, A., Taminiau, B., Burgaud, G., Deniel, F., Coulloume-Labarthe, L., et al. (2017). Unraveling microbial ecology of industrial-scale kombucha fermentations by metabarcoding and culture-based methods. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 93, 1–16. <https://doi.org/10.1093/femsec/fix048>
- Dutta, H., & Paul, S. (2019). Kombucha drink: production, quality, and safety aspects. *Production and Management of Beverages*, 1, 259–288. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815260-7.00008-0>
- Emilda, E. (2018). Efek senyawa bioaktif kayu manis (*Cinnamomum burmannii* NEES EX.BL.) terhadap diabetes melitus: kajian pustaka. *JFFI*, 5(1), 246-252.
- Gomes, R. J., de Fatima Borges, M., de Freitas Rosa, M., Castro-Gomez, R. J. H., & Spinosa, W. A. (2018). Acetic acid bacteria in the food industry: systematics, characteristics and applications. *Food Technol. Biotech.*, 56, 139–151. <https://doi.org/10.17113/ftb.56.02.18.5593>
- Kallel, L., Desseaux, V., Hamdi, M., Stocker, P., & Ajanndouz, E. H. (2012). Insights into the fermentation biochemistry of kombucha teas and potential impacts of kombucha drinking on starch digestion. *Food Res. Int.*, 49, 226-232. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.08.018>
- Kapp, J. M., & Sumner, W. (2019). Kombucha: A systematic review of the empirical evidence of human health benefit. *Ann. Epidemiol.*, 30, 66–70. <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2018.11.001>
- 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*, 6(4), 87-97.
- Kusumawati, I., Purwanti, R., & Afifah, D. N. (2019). Analisis kandungan gizi dan aktivitas antioksidan pada yoghurt dengan penambahan nanas madu (*Ananas comosus* Mer.) dan ekstrak kayu manis (*Cinnamon burmanni*). *Journal of Nutritional College*, 8(4), 196-206.
- Laureys, D., Britton, S. J., & Clippeleer, J. D. (2020). Kombucha tea fermentation: A review. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*. <https://doi.org/10.1080/03610470.2020.1734150>
- Leal, J. M., Oros, J. H., Jayabalan, R., Aburto, A. E., dan Suarez, L. V. (2018). A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. *CyTA – Journal of Food*, 16(1), 390-399. <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1410499>
- Lestari, K. A. P., & Sa'diyah, L. (2020). Karakteristik kimia dan fisik teh hijau kombucha pada waktu pemanasan yang berbeda. *Journal of Pharmacy and Science*, 5(1), 15-20.
- Majidah, L., Gadizza, C., & Gunawan, S. (2022). Analisis pengembangan produk halal minuman kombucha. *Halal Research*, 2(1), 36-51.
- Mawardi, Y. S. A., Yoyok, B. P., & Bhakti, E. S. (2016). Kadar air, tanin, warna, dan aroma off-flavour minuman fungsional daun sirsak (*Annona muricata*) dengan berbagai konsentrasi jahe (*Zingiber officinale*). *J. Aplikasi Teknologi Pangan*, 5, 94-98. <https://doi.org/10.17728/jatp.179>
- Meutia, Y. R., Susanti, I., & Siregar, N. C. (2019). Uji stabilitas warna hasil kopigmentasi asam tanat dan asam sinapat pada pigmen brazilin asal kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.). *Journal of Agro-Based Industry*, 36(1), 30-39.
- Nur, Y. M., Indrayati, S., Penadnadi, P., & Nurmiat, N. (2018). Pengaruh penggunaan beberapa jenis ekstrak tanaman beralkaloid terhadap produk teh kombucha. *J. Biol. UA.*, 6, 55-62. <https://doi.org/10.25077/jbioua.6.1.55-62.2018>
- Nurhayati, N., Yuwanti, S., & Urbahillah, A. (2020). Karakteristik fisikokimia dan sensori kombucha cascara (kulit kopi ranum). *J. Teknol. dan Industri Pangan*, 31(1), 38-49. <https://doi.org/10.6066/jtip.2020.31.1.38>
- Pratiwi, A., Elfita, E., Aryawati, R. (2012). Pengaruh waktu fermentasi terhadap sifat fisik dan kimia pada pembuatan minuman kombucha dari rumput laut *Sargassum* sp. *Maspari Journal*, 4(1), 131-136.
- Purnami, K. I., Jambe, A., & Wisaniyasa, N. W. (2018). Pengaruh jenis teh terhadap karakteristik teh kombucha. *Itepa*, 7(2), 1-10.
- Rizqika, A. H., Yulianto, W. A., Tamaroh, S. (2021). Karakteristik kombucha rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) dan temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* roxb) selama fermentasi. *Naskah Publikasi Program Studi Teknologi Hasil Pertanian*, Universitas Mercu Buana.
- Soares, M. G., de Lima, M., & Schmidt, V. C. R. (2021). Technological aspects of kombucha, its applications and the symbiotic culture (SCOBY), and extraction of compounds of interest: A literature review. *Trends in Food Science & Technology*, 110, 539-550. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.017>
- Torre, C. L., Fazio, A., Caputo, P., Plastina, P., Caroleo, M. C., Cannataro, R., & Cione, E. (2021). Effects of long-term storage on radical scavenging properties and phenolic content of kombucha from black tea. *Molecules*, 26(18), 5474. <https://doi.org/10.3390/molecules26185474>
- Wang, Y., Li, R., Lu, R., Xu, J., Hu, K., & Liu, Y. (2019). Preparation of chitosan/corn starch/cinnamaldehyde films for strawberry preservation. *Foods*, 8(9), 423. <https://doi.org/10.3390/foods8090423>