

KARAKTERISTIK MIKROORGANISME PADA TEH ROSELLA KOMBUCHA LOKAL
BALI

Sumartini, N.W.E.¹, Leliqia, N.P.E.¹, Ramona Y.²

¹Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana

²Program Studi Magister Ilmu Biologi Universitas Udayana

Korespondensi: Sumartini, N.W.E.

Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana

Jalan Kampus Unud-Jimbaran, Jimbaran-Bali, Indonesia 80364 Telp/Fax: 0361-703837

Email: sumartini26@gmail.com

ABSTRAK

Teh rosella kombucha lokal Bali dibuat dengan memfermentasikan teh rosella dengan bantuan simbiosis bakteri dan yeast. Diketahui bahwa teh kombucha memiliki aktivitas antioksidan dan aktivitas tersebut dipengaruhi oleh mikroorganisme yang terdapat di dalamnya. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui karakteristik mikroorganisme yang terdapat dalam teh rosella kombucha lokal Bali.

Penentuan karakteristik mikroorganisme dalam teh rosella kombucha lokal Bali dilakukan dengan metode pewarnaan, uji sifat biokimia, motility, pengamatan sifat morfologi dan koloni mikroorganisme serta cellular arrangement. Diketahui bahwa dalam teh rosella kombucha lokal Bali terdapat mikroorganisme yang memiliki kemiripan ciri dengan bakteri genus *Acetobacter* dan yeast genus *Schizosaccharomyces*, *Saccharomyces*, *Torulospora* dan *Zygosaccharomyces*.

Kata kunci : Teh rosella kombucha, bakteri, yeast

1. PENDAHULUAN

Tanaman rosella (*Hibiscus sabdariffa*) merupakan tanaman daerah tropis asli Afrika dan Asia yang termasuk ke dalam keluarga *Malvaceae* (Mahadevan et al., 2009). Kelopak bunga rosella mengandung senyawa polifenol seperti flavonoid, gopipitrin, antosianin, hibiscitrin, hibiscetin, kuersetin dan sabdaretin (Rao dan Seshadri, 1941; Anokwuru et al., 2011; Ali dan Blunden, 2004). Rosella diketahui memiliki khasiat sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidan tersebut disebabkan oleh adanya polifenol pada rosella (Anokwuru et al., 2011). Pengolahan rosella menjadi minuman dapat dilakukan dengan menyeduh langsung atau difermentasikan terlebih dahulu menjadi kombucha. Menurut Velicanski et al. (2007), aktivitas antioksidan teh kombucha lebih tinggi dibandingkan teh seduh biasa. Peningkatan aktivitas antioksidan pada teh kombucha diakibatkan oleh hasil metabolisme mikroorganisme pada kombucha selama proses fermentasi (Goh et al., 2012).

Kombucha merupakan cairan teh dan gula yang difermentasi dengan bantuan simbiosis antara bakteri dan yeast sehingga membentuk suatu "teh jamur". Beberapa jenis bakteri yang

umumnya berperan dalam proses fermentasi kombucha yaitu *Acetobacter* spp, khususnya *Acetobacter* yang mampu menghasilkan selulosa seperti *Acetobacter xylinum*. Sedangkan jenis yeast yang terdapat dalam kombucha lebih bervariasi seperti *Brettanomyces/Dekkera*, *Candida*, *Kloeckera*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Saccharomycoides*, *Shizosaccharomyces*, *Torulospora* dan *Zygosaccharomyces* (Teoh et al., 2004).

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui karakteristik mikroorganisme yang terdapat pada teh rosella kombucha lokal Bali dengan menggunakan metode pewarnaan sel bakteri, pengamatan morfologi dan sifat biakan pada media tanam, motility, sifat biokimia dan cellular arrangement.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Bahan Penelitian

Teh rosella[®] Bali Gendis, selulosa kombucha lokal Bali, gulaku[®], akuades, media bakteri (PCA (Pronadisa) dan Nutrient Agar), media yeast (MEA (Pronadisa) dan GYP), pewarna Gram (Bioanalitika), pewarna Ziehl Neelsen (Bioanalitika) dan larutan hijau melakit (Bioanalitika).

2.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kertas saring, kertas perkamen, kain mory, botol kaca, karet gelang, aluminium foil, batang pengaduk, sendok tanduk, pinset, skalpel, batang bengkok, jarum ose, corong gelas, gelas objek dan penutup, pipet mikro, neraca analitik (Shimadzu), hot plate (Maspion), pH-meter (TOA), vortex, mikroskop (Olympus) serta LAF (Laminar Air Flow) (ELCO).

3. METODE PENELITIAN

3.1 Pembuatan Kultur Starter dan Kultur Uji Teh Rosella Kombucha Lokal Bali

Akuades sebanyak 500 mL dipanaskan hingga mendidih, ditambahkan 4 gram rosella secara perlahan, pemanasan dilanjutkan hingga 5 menit dan disaring sehingga diperoleh filtrat. Filtrat sebanyak 400 mL ditambahkan gula sebanyak 40 gram, didinginkan hingga suhu kamar, ditambahkan selulosa kombucha sebanyak 20 gram, dan ditutup dengan kain bersih. Penyaringan, penambahan gula dan selulosa kombucha dikerjakan di dalam LAF dan diinkubasi pada suhu 24-27° C di tempat yang terlindung dari cahaya dan bebas guncangan selama 6 hari.

Kultur uji teh rosella kombucha lokal Bali dibuat dengan penambahan 15 mL starter kombucha yang telah dibuat sebelumnya ke dalam teh rosella. Botol ditutup dengan kain bersih dan diinkubasi pada suhu 24-27 °C di tempat yang terlindung dari cahaya dan bebas guncangan.

3.2 Pemiakan Mikroorganisme

Sebanyak 1 mL teh rosella kombucha lokal Bali konsentrasi gula 10% b/v dimasukkan ke dalam vial, ditambahkan 9 mL pepton 0,1% (1:10) dihomogenkan, disebarkan sebanyak 1 mL secara berulang pada medium Plate Count Agar (PCA) dengan pH 5,5 dan medium Malt Extract Agar (MEA) dan diinkubasi selama dua hari pada suhu 30°C dan 25°C berturut-turut untuk bakteri dan yeast.

3.3 Pemurnian Bakteri dan Yeast

Setelah diinkubasi selama dua hari, jumlah koloni bakteri yang telah dibiakkan dihitung. Koloni diambil secara acak kemudian di-streak pada media PCA dan MEA serta

diinkubasi selama satu hari pada suhu 30°C dan 25°C berturut-turut untuk bakteri dan yeast.

3.4 Pengujian untuk Karakterisasi

Koloni yang didapatkan dari hasil pemurnian kemudian dikarakterisasi dengan pewarnaan Gram, pewarnaan Ziehl Neelsen, pewarnaan spora, pengujian katalase, pengujian fermentasi karbohidrat, pengamatan morfologi koloni, motility, dan cellular arrangement menggunakan mikroskop.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Karakteristik Bakteri

Hasil pengamatan sifat biakan dan koloni bakteri rosella kombucha lokal Bali pada media ditunjukkan pada tabel A 4.2 dan tabel A 4.3.

Berdasarkan Bargey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt et al., 1994), ciri-ciri yang ditemukan pada bakteri hasil isolasi dari teh rosella kombucha memiliki kesamaan dengan genus *Acetobacter*. Genus *Acetobacter* memiliki ciri-ciri berbentuk elips hingga batang, lurus, atau ramping dan beberapa strain dapat berbentuk bulat, memanjang, bengkok atau berfilamen. Sel *Acetobacter* memiliki susunan sel tunggal, berpasangan atau rantai, dapat motil atau nonmotil, tidak membentuk endospora, termasuk ke dalam bakteri Gram-negatif (-), bersifat aerob obligat dan tidak pernah memfermentasi. Bakteri *Acetobacter* memiliki sifat katalase positif dan oksidase negatif, dengan pH optimum untuk tumbuh yaitu 5,4-6,3.

4.2 Identifikasi yeast

Isolasi yeast pada teh rosella kombucha lokal Bali pada media padat MEA menghasilkan koloni yang memiliki tekstur yang lembut dengan permukaan koloni cembung dan halus, berwarna putih kecoklatan dan berada pada bagian permukaan dan tengah media. Koloni yeast yang tumbuh pada media cair GYP memiliki karakteristik terbentuknya endapan berwarna putih. Koloni yeast hasil isolasi dari teh rosella kombucha lokal Bali pada media padat MEA dan media cair GYP dapat dilihat pada gambar B 4.1.

Yeast memiliki bentuk bulat, silinder, bulat telur, elips, memanjang triangular, bentuk seperti lemon, dan bentuk botol

(Onions et al., 1981). Bentuk-bentuk yeast yang ditemukan dari isolasi yeast pada teh rosella kombucha lokal Bali memiliki bentuk bulat, bulat telur, memanjang, elips dan bentuk lemon. Yeast hasil isolasi kombucha lokal Bali dapat dilihat pada gambar B 4.2.

Sistem reproduksi yeast yang ditemukan pada yeast yang terdapat pada teh rosella kombucha lokal Bali yaitu dengan pertunasan, pembelahan dan reproduksi dengan spora. Sedangkan jenis pertunasan yeast pada teh rosella kombucha lokal Bali berupa pertunasan monopolar dan multilateral. Sistem reproduksi yeast, bentuk askus dan jumlah askuspora yang ditemukan pada teh rosella kombucha lokal Bali dapat dilihat pada gambar B 4.3 dan gambar B 4.4. Sistem reproduksi yeast dibagi menjadi dua cara reproduksi yaitu dengan reproduksi secara vegetatif dan seksual. Reproduksi vegetatif yeast dapat berupa pertunasan dan pembelahan. Pertunasan pada yeast dapat berupa pertunasan monopolar, bipolar dan multilateral (Rij, 1984). Sedangkan reproduksi seksual yeast dengan pembentukan spora (George, 1955). Spora terbentuk di dalam suatu askus dimana bentuk askus yeast dapat berupa askus terkonjugasi atau tidak terkonjugasi. Jumlah spora dalam askus bervariasi antara 1-4 spora per askus (Rij, 1984).

Menurut *The Yeast a Taxonomic Study* (Rij, 1984), ciri-ciri yeast yang ditemukan dalam teh rosella kombucha memiliki kemiripan dengan dengan genus *Schizosaccharomyces*, *Saccharomyces*, *Torulospora*, dan *Zygosaccharomyces*. Genus bakteri dan yeast pada teh rosella kombucha lokal Bali serupa dengan genus bakteri yang ditemukan pada teh hijau dan teh hitam kombucha lokal Bali (Mira, 2012; Sukmawati, 2012).

5 KESIMPULAN

Mikroorganisme yang terdapat dalam teh rosella kombucha lokal Bali terdiri dari bakteri dan yeast. Bakteri pada teh rosella kombucha lokal Bali memiliki kemiripan ciri dengan genus *Acetobacter*. Sedangkan yeast pada teh rosella kombucha lokal Bali memiliki kemiripan ciri dengan genus *schizosaccharomyces*, *saccharomyces*, *toruluspora*, dan *zygosaccharomyces*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Ibu Ni Kadek Warditiani, S.Farm., M.Sc., Apt., dan Bapak A.A. Rai Yadnya Putra, S.Farm., M.Si., Apt. sebagai reviewer. Wayan Nursini selaku teknisi laboratorium Biosains dan Bioteknologi Universitas Udayana atas bantuan dan bimbingan yang telah diberikan selama penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, B. H., Naser A.W. and Gerald B. 2004. Phytochemical, Pharmacological and Toxicological Aspects of *Hibiscus sabdariffa* L.: A Review. *Phyther. Res.*, Vol 19, Hal. 369-375.
- Anokwuru, C. P., Ijoema E., Alusola A. and Ayobami O. A. 2011. Polyphenolic Content and Antioxidant Activity of *Hibiscus sabdariffa* Calyx. *Res. J. Med. Plant.*, Vol. 5 (5), Hal. 557-566 .
- Goh, W.N., A. Rosma, B. Kaur, A. Fazilah, A.A Karim, and R. Bhat. 2012. Fermentation of Black Tea Broth (Kombucha): I. Effects of Sucrose Concentration and Fermentation Time on Yield of Microbial Cellulose. *IFJR.*, Vol. 19 (1), Hal. 109-117.
- Holt, J. G., N. R. Krieg, P. H. A. Sneath, J. T. Staley, and S. T. Williams. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* 9th ed. Baltimore: Williams and Wilkins.
- Mahadevan, N., Shivali and Pradeep K. 2009. *Hibiscus sabdariffa* Linn.-An overview. *Natural Product Radiance.*, Vol. 8 (1), Hal. 77-83.
- Mira, S.W. 2012. Karakterisasi Mikroorganisme serta Optimalisasi Waktu Fermentasi dan Konsentrasi Gula untuk Peningkatan Aktivitas Antioksidan Teh Hijau Kombucha Lokal Bali. Skripsi. Jurusan Farmasi-Fakultas MIPA-Universitas Udayana, Jimbaran.
- Onions, A.H.S., D. Allsopp, and H.O.W. Eiggins. 1981. *Smith's Introduction to Industrial Mycology* 7th Edition. London: Edward Arnold.
- Rao, P. S. and Seshadri T. R.. 1941. Pigments of The Flower of *Hibiscus sabdariffa*. Department of Chemistry. Waltair: Andhra University. Hlm. 148-159.

- Rij, N. J. W. K. 1984. *The Yeast A Taxonomic Study* 3rd Revised and Enlarged ed. Amsterdam. Hlm. 7-8, 45-46, 52-62, 68-69.
- Sukmawati, P.P.A. 2012. *Penentuan Karakteristik Mikroorganisme serta Optimalisasi Waktu Fermentasi dan Konsentrasi Gula untuk Penetapan Aktivitas Antioksidan Teh Hitam Kombucha Lokal di Bali*. Skripsi. Jurusan Farmasi-Fakultas MIPA-Universitas Udayana, Jimbaran.
- Teoh, L. A., Gillian H. and Julian C. 2004. *Yeast Ecology of Kombucha Fermentation*. *Int. J. Food Microbiol.*, Vol. 95, Hal. 119-126.
- Velicanski, A. S., Dragoljub D. C., Siniša L. M., Vesna T. T and Sladana M. S. 2007. *Antimicrobial And Antioxidant Activity of Lemon Balm Kombucha*. *APTEF.*, Vol. 38, Hal. 165-172.

APENDIKS A.

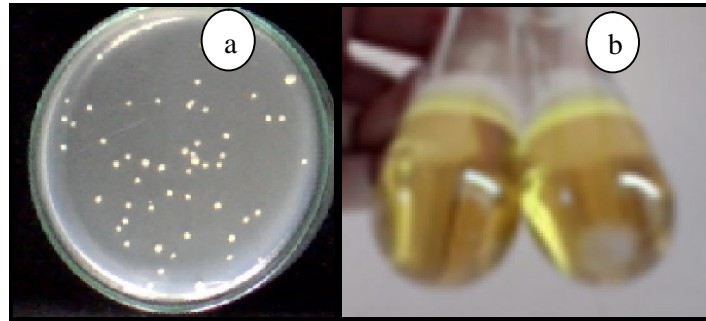
Tabel A 4.1 Hasil Pengamatan Sifat Biakan Bakteri Teh rosella kombucha Lokal Bali

Sifat Biakan Bakteri						
Media padat (pH 5,5)			Media cair (pH 5,5)			
Warna	Pinggiran	Bentuk	Kekeruhan	Sedimen	Pelikel	Berbutir
Putih susu	Cembung dan timbul	Bulat	Keruh	Bersedimen putih	Ada pelikel	Tidak ada butiran

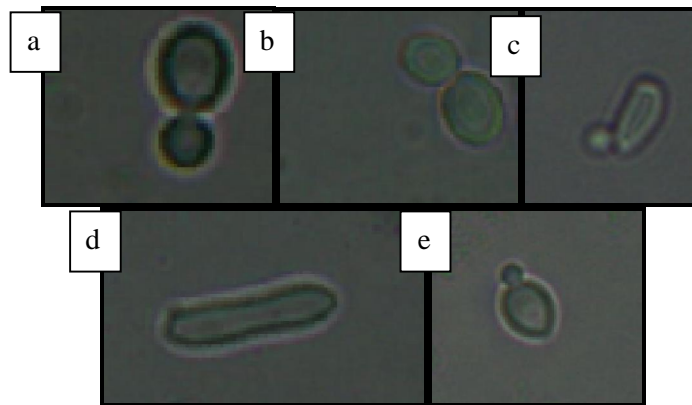
Tabel A 4.2 Hasil Pengamatan Morfologi Bakteri pada Teh rosella kombucha Lokal Bali

Bentuk sel	Susunan koloni	Motility	Gram	Tahan asam	Spora	Katalase	Fermentasi
Kokus, basilus	Tunggal, berpasangan	Motil, non-motil	Negatif	Tidak tahan asam	Tidak memiliki spora	Positif	Negatif

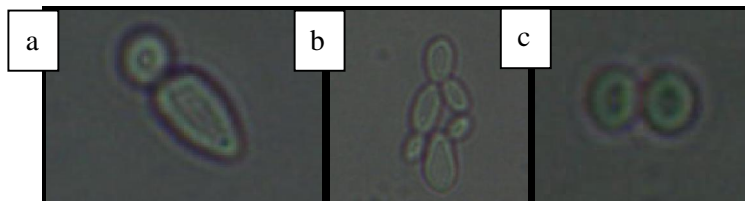
APPENDIKS B



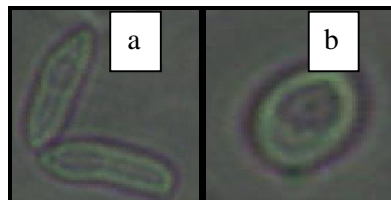
Gambar B 4.1 Koloni yeast dari teh rosella kombucha lokal Bali (a) pada media padat dan (b) media cair



Gambar B 4.2 Morfologi yeast pada teh rosella kombucha lokal Bali (a) bulat, (b) bulat telur, (c) elips, (d) memanjang, (e) lemon



Gambar B 4.3 Sistem reproduksi yeast pada teh rosella kombucha Lokal Bali (a) pertunasan monopolar, (b) pertunasan multilateral, (c) pembelahan



Gambar B 4.4 Bentuk askus yeast pada teh rosella kombucha lokal Bali (a) askus terkonjugasi, (b) askus tak terkonjugasi