EFEK ANTIBAKTERI KOPI ROBUSTA YANG DIFERMENTASI DENGAN *KOMBUCHA* TERHADAP *Salmonella typhi*

(Skripsi)

Oleh:
ROMANNA JULIA DUMA SIMANJUNTAK

UNIVERSITAS LAMPUNG
2017

ABSTRACT

ANTIBACTERIAL EFFECT OF ROBUSTA FERMENTED BY KOMBUCHA AGAINST *Salmonella typhi*

By

ROMANNA JULIA DUMA SIMANJUNTAK

Background: Typhoid fever becomes a complex problem by the enhancement of cases of carrier, relapse, and resistance to multiple drugs. The use of first-line antibiotics for decades causing multi drug resistant *Salmonella typhi* (MDRST). This study aims to determine the effectiveness of *kombucha* coffee as an alternative antibacterial on *Salmonella typhi*.

Methods: This is an experimental research using *Posttest Only Control Group Design* conducted at the Laboratory of Microbiology Faculty of Medicine, University of Lampung. Samples are the isolate of *Salmonella typhi* which is divided into 5 groups: positive control (K (+)), negative control (K (-)), treatment by fermented *kombucha* coffee for 6 days (P1), 12 days (P2), and 18 days (P3). The independent variable is the time variation of fermented *kombucha* coffee 6, 12, and 18 days, while the dependent variable is the diameter of inhibition zone. The data are collected by measuring the inhibition zone formed from each treatment using calipers. The collected data are processed using a data analysis program with One Way Anova test, followed by post hoc test to see which group has significant difference.

Results: The mean of diameter of inhibiton zone is K (+): 42.89 mm, K (-): 0 mm, P1: 30.9 mm, P2: 28.46 mm, and P3: 35.08 mm. The result of analysis is that P3 has antibacterial activity that is similar to K(+).

Conclusion: *Kombucha* coffee fermented for 6, 12, and 18 days have an antibacterial effect against *Salmonella typhi*. *Kombucha* coffee 18 days has the highest diameter of inhibition zone.

Keywords: antibacteri, *kombucha* coffee, *kombucha* culture, *Salmonella typhi*

ABSTRAK

EFEK ANTIBAKTERI KOPI ROBUSTA YANG DIFERMENTASI *KOMBUCHA* TERHADAP *Salmonella typhi*

Oleh:

ROMANNA JULIA DUMA SIMANJUNTAK

Latar belakang: Demam tifoid menjadi masalah yang kompleks dengan meningkatnya kasus *carrier* atau *relaps* dan resistensi terhadap lebih dari satu obat. Penggunaan antibiotik lini pertama selama puluhan tahun menyebabkan terjadinya *multidrug resistant Salmonella typhi* (MDRST). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas kopi *kombucha* sebagai alternatif antibakteri pada *Salmonella typhi*.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan rancangan *Post Test Only Control Group Design* yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi FK Universitas Lampung. Sampel penelitian adalah isolat *Salmonella typhi* yang dibagi ke dalam 5 kelompok, yaitu kontrol postif (K(+)), kontrol negatif (K(-)), perlakuan dengan kopi *kombucha* fermentasi 6 hari (P1), 12 hari (P2), dan 18 hari (P3). Variabel bebas adalah variasi waktu fermentasi kopi *kombucha* 6, 12, dan 18 hari, sedangkan variabel terikat adalah diameter zona hambat. Data dikumpulkan dengan mengukur zona hambat yang terbentuk dari masing-masing perlakuan dengan jangka sorong. Data yang didapat diolah menggunakan program analisis data dengan uji *One Way Anova*, dilanjutkan uji *post hoc* untuk melihat kelompok yang memiliki perbedaan bermakna.

Hasil: Hasil rerata diameter zona hambat yaitu K(+): 42.89 mm, K(-): 0 mm, P1: 30.9 mm, P2: 28.46 mm, dan P3: 35.08 mm. Hasil analisis data yaitu terjadi penurunan efek antibakteri pada waktu fermentasi 12 hari.

Simpulan: Kopi *kombucha* dengan fermentasi 6, 12, dan 18 hari memiliki efek antibakteri terhadap *Salmonella typhi*. Kopi *kombucha* 18 hari memiliki diameter zona hambat tertinggi.

Kata kunci: antibakteri, kopi *kombucha*, kultur *kombucha*, *Salmonella typhi*

EFEK ANTIBAKTERI KOPI ROBUSTA YANG DIFERMENTASI DENGAN *KOMBUCHA* TERHADAP *Salmonella typhi*

(Skripsi)

Oleh:

ROMANNA JULIA DUMA SIMANJUNTAK

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar

SARJANA KEDOKTERAN

pada
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
2017

Judul Skripsi	: **EFEK ANTIBAKTERI KOPI ROBUSTA YANG DIFERMENTASI DENGAN *KOMBUCHA* TERHADAP *Salmonella typhi***
Nama Mahasiswa	: **Romanna Julia Duma Simanjuntak**
Nomor Pokok Mahasiswa	: **1318011145**
Program Studi	: **Pendidikan Dokter**
Fakultas	: **Kedokteran**

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

dr. M. Ricky Banfadhian, S. Ked., M. Sc.	**dr. Evi Kurniawaty, S. Ked., M. Sc.**
NIP 198306152008121001	NIP 197601202003122001

2. Dekan Fakultas Kedokteran

Dr. dr. Muhartono, S. Ked., M. Kes., Sp. PA.
NIP 197012082001121001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : **dr. M. Ricky Ramadhian, S. Ked., M. Sc.** .....

Sekretaris : **dr. Evi Kurniawaty, S. Ked., M. Sc.** .....

Penguji
Bukan Pembimbing : **dr. Ety Apriliana, S. Ked., M. Biomed.** .....

2. Dekan FakultasKedokteran

Dr. dr. Muhartono, S. Ked., M. Kes., Sp. PA.
NIP 197012082001121001

Tanggal Lulus UjianSkripsi: **25 Januari 2017**

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul "**EFEK ANTIBAKTERI KOPI ROBUSTA YANG DIFERMENTASI DENGAN *KOMBUCHA* TERHADAP *Salmonella typhi***" adalah hasil karya saya sendiri dan saya tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiarisme.
2. Hak intelektualitas atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila dikemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 27 Januari 2017
Pembuat pernyataan,

METERAI TEMPEL
8E4F8AEF402762817
6000
ENAM RIBU RUPIAH

Romanna Julia Duma Simanjuntak

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Jakarta, 29 Juli 1995. Penulis merupakan anak pertama dari keluarga Bapak Sopar Maruhum Simanjuntak dan Ibu Melati Leontina Tambunan. Penulis memiliki seorang adik perempuan, bernama Nadia Jasmine Setianty Simanjuntak.

Penulis mengikuti pendidikan nonformal di Play Group Melati Indonesia dan melanjutkan di Taman Kanak-kanan (TK) Santa Lusia. Pada tahun 2001, penulis menempuh pendidikan formal Sekolah Dasar di SD Santa Lusia dan lulus pada tahun 2007. Penulis melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Pertama di SMP Santa Lusia dan lulus pada tahun 2010. Selanjutnya, penulis melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Atas di SMAN 77 Jakarta.

Pada tahun 2013, penulis mengikut Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) dan akhirnya menempuh pendidikan sarjana di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung sampai sekarang. Penulis tergabung dalam LK Pakis Rescue Team sebagai anggota divisi pengabdian masyarakat.

Dengan segala kerendahan hati, kupersembahkan karya ini untuk Tuhan Yesus, papa, mama, dan keluarga..

Terima kasih buat segala ketulusan, kasih sayang, dan doa yang terus menyertaiku…

Sebab Aku ini mengetahui rancangan-rancangan apa yang ada padaKu mengenai kamu, demikialah firman TUHAN, yaitu rancangan damai sejahtera dan bukan rancangan kecelakaan, untuk memberikan kepadamu hari depan yang penuh harapan. – Yeremia 29:11

"I can do all things through Christ who strengthen me."

Philippians 4:13

SANWACANA

Puji syukur kepada Allah, Bapa yang baik atas segala penyertaan dan berkat yang telah dikaruniakan kepada Penulis sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.

Skripsi berjudul "Pengaruh Pemberian Kopi Robusta yang Difermentasi *Kombucha* terhadap Efek Antibakteri pada *Salmonella typhi*" diselesaikan dalam rangka memenuhi syarat untuk mendapat gelar sarjana kedokteran.

Dalam menyelesaikan skripsi ini, Penulis mengalami banyak tantangan selama penelitian dan perampungan penulisan. Namun penulis terus dikuatkan dengan berbagai dukungan dalam bentuk masukan, bimbingan, motivasi, dan doa dari berbagai pihak. Untuk itu Penulis berkenan untuk mengucapkan terimakasih kepada:

1. Tuhan Yesus Kristus, Bapa yang baik yang selalu memberi kekuatan dan menyertai sepanjang hidup Penulis.
2. Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P. selaku Rektor Universitas Lampung.
3. Dr. dr. Muhartono, S. Ked., M. Kes., Sp. PA. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

4. dr. M. Ricky Ramadhian, S. Ked., M. Sc. selaku pembimbing I, atas segala bimbingan, pengetahuan, dan waktu yang telah diberikan selama proses penelitian dan penulisan skripsi.
5. dr. Evi Kurniawaty, S. Ked., M.Sc. selaku pembimbing II, atas koreksi dan sarannya dalam mengerjakan penulisan skripsi.
6. dr. Ety Apriliana, S. Ked., M. Biomed. selaku pembahas, atas koreksi dan masukan yang diberikan dalam penulisan skripsi.
7. Ibu Romiani selaku laboran Lab Mikrobiologi FK Unila, yang telah dengan sabar menyediakan waktu, mendampingi, mengajari Penulis dan teman-teman selama penelitian.
8. Seluruh dosen Fakultas Kedoteran Universitas Lampung atas ilmu, bimbingan, dan motivasi yang telah diberikan.
9. Seluruh staff akademik dan karyawan di FK Unila yang telah membantu, terima kasih atas kerjasamanya.
10. Papa terkasih, Ir. Sopar Maruhum Simanjuntak, M.B.A.; yang selalu menjadi orang pertama yang yakin bahwa Penulis mampu, yang tanpa ia sadari kata-kata dan ketulusannya menjadi motivasi yang besar bagi Penulis.
11. Mama terkasih, Melati Leontina Tambunan, S. E.; ibu yang kuat, yang selalu peduli, mengerti, dan melindungi. Terimakasih atas setiap kasih sayang dan doa yang diberikan.
12. Adik terkasih, Nadia Jasmine Setianty Simanjuntak buat segala doa, semangat, dan inspirasinya.

13. Tim penelitian skripsi, Benny Bredley, Atika Threenesia, dan Satya Agusmansyah yang sudah saling membantu, mendukung, dan tidak pernah menyangka bisa jadi anak Lab Mikro dari pagi sampai sore :D
14. Mbak Mar, yang tetap sabar menunggu Penulis dan teman-teman penelitian meskipun pulang kesorean.
15. Ompung, yang terus mendoakan, menyemangati, menghibur cucumu ini. Tetaplah sehat dan tunggu aku menjadi dokter.
16. Keluarga besar terkasih (tulang, nantulang, bapatua, inangtua, abang, kakak, adik-adik, keponakan) yang menjadi inspirasi, memberi dukungan doa dan materi selama perkuliahan.
17. Sahabat bertahun-tahun, Debora Citra Yuwana, Gracia Emmanuella Tobing, Yessica Chrisandtia Maria, buat dukungan dan doanya. Tetap semangat buat kalian di manapun kalian berada ☺
18. Sahabat terkasih, Dear Apriyani, Desindah Loria, Dea Gratia, Widya Pebriyanti, Christine Yohana, Rachel Junita, dan Erisa Senthya, wanita Batak yang ceria dan gupek yang selalu ada dalam hari-hari di FK Unila. Bang Edgar dan Irfan, pria lucu dan perhatian di sekitaran FK Unila. Siti Nur Indah, teman kosan yang cerewet yang siap sedia membantu. Terimakasih untuk semua dukungan doa dan bantuannya ☺
19. Teman SD dan teman karibku, Wafernanda Raja Mangala Lubis terimakasih telah membantu dalam banyak hal, mendengar keluh kesah, dan mendukung dalam doa ☺

20. Keluarga Permako Medis terima kasih telah membantuku bertumbuh dalam Tuhan Yesus, dan telah menjadi keluarga kedua di Lampung.
21. Keluarga SRK SMAN 77 Jakarta, terkhusus Febriyola Anastasia Tambunan, Septania Romauli, dan Vania Febrina buat dukungannya.
22. Teman-teman CERE13ELLUM yang telah terus sama-sama berjuang, melewati susah dan senang, semoga tetap semangat dan saling menopang. Semangat untuk koasnya!

Terimakasih untuk setiap pihak yang terlibat yang tidak dapat Penulis sebutkan satu persatu.

Akhir kata, Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Akan tetapi, Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat dan menginspirasi bagi para pembacanya.

Bandar Lampung, 27 Januari 2017

Penulis
Romanna Julia Duma Simanjuntak

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR ISI vii
DAFTAR GAMBAR x
DAFTAR TABEL xi
DAFTAR LAMPIRAN xii

BAB 1. PENDAHULUAN 1
1.1. Latar Belakang 1
1.2. Rumusan Masalah 5
1.3. Tujuan Penelitian 5
1.3.1. Tujuan Umum 5
1.3.2. Tujuan Khusus 6
1.4. Manfaat Penelitian 6
1.4.1. Bagi Peneliti 6
1.4.2. Manfaat Ilmiah 6
1.4.3. Manfaat Aplikasi 7

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA 8
2.1. *Kombucha* 8
2.1.1. Definisi *Kombucha* 8
2.1.2. Fermentasi Teh *Kombucha* 11
2.1.3. Manfaat *Kombucha* 16
2.1.4. Aspek Keamanan *Kombucha* 17
2.2. Kopi 19
2.2.1. Jenis-jenis Kopi 20
2.2.2. Kandungan Kopi 23
2.3. Kopi *Kombucha* 26
2.3.1. Pembuatan Kopi *Kombucha* 27
2.3.2. Kandungan Kopi *Kombucha* 28
2.4. *Salmonella typhi* 30
2.4.1. Identifikasi Bakteri *Salmonella typhi* 31
2.4.2. Definisi Demam Tifoid 33
2.4.3. Epidemiologi Demam Tifoid 33
2.4.4. Patogenesis Demam Tifoid 35

2.4.5. Gejala Klinis Demam Tifoid 36
2.5. Antibakteri 37
2.5.1. Inhibitor Sintesis Dinding Sel 37
2.5.2. Obat Antibakteri yang Bekerja pada Membran Sel 38
2.5.3. Inhibitor Sintesis Protein 38
2.6. Kerangka Teori 39
2.7. Kerangka Konsep 41
2.8. Hipotesis 41

BAB 3. METODE PENELITIAN 42
3.1. Desain Penelitian 42
3.2. Tempat dan Waktu 42
3.2.1. Tempat 42
3.2.2. Waktu 42
3.3. Bahan Penelitian 43
3.3.1. Mikroba Uji 43
3.3.2. Starter *Kombucha* 43
3.3.3. Kopi 43
3.3.4. Gula 43
3.3.5 Air 43
3.3.6. Media Agar 44
3.4. Alat 44
3.4.1. Alat Membuat Kopi *Kombucha* 44
3.4.2. Alat Membuat Media Agar 44
3.4.3. Alat Penanaman Bakteri 45
3.4.4. Alat Uji Biokimia dan Uji Daya Hambat 45
3.5. Besar Sampel 45
3.6. Prosedur Penelitian 46
3.6.1. Pengambilan Preparasi Bahan Baku 46
3.6.2. Sterilisasi Alat 46
3.6.3. Pembuatan Ekstrak Kopi *Kombucha* 46
3.6.4. Identfikasi Bakteri Uji 47
3.6.5. Pembuatan Media *Muller Hinton Agar* (MHA) 48
3.6.6. Uji Daya Hambat Kopi *Kombucha* terhadap *Salmonella typhi* 49
3.6.7. Kontrol Positif 50
3.6.8. Kontrol Negatif 50
3.7. Alur Penelitian 51
3.8. Variabel Penelitian 52
3.8.1. Variabel Bebas 52
3.8.2. Variabel Terikat 52
3.9. Definisi Operasional 53
3.10. Analisis Data 53
3.10.1. Analisis Univariat 54
3.10.2. Analisis Bivariat 54

3.11. *Ethical clearance* 55

BAB 4. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN 56
4.1.Hasil Penelitian dan Pembahasan 56
4.1.1. Daya Hambat Kopi *Kombucha* 56
4.1.2. Analisis Data 57
4.2. Pembahasan 61

BAB 5. SIMPULAN DAN SARAN 69
5.1. Simpulan 69
5.2. Saran 69

DAFTAR PUSTAKA 71

LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

Tabel **Halaman**

Tabel 1. Definisi Operasional Penelitian 53
Tabel 2. Diameter Zona Hambat Kopi *Kombucha* terhadap *Salmonella typhi*..... 56
Tabel 3. Hasil Analisis Univariat..... 57
Tabel 4. Hasil Uji Normalitas Data Tiap Perlakuan 58
Tabel 5. Perbandingan Diameter Zona Hambat Antarperlakuan..... 59
Tabel 6. Hasil Analisis *post hoc Bonferroni*……60

DAFTAR GAMBAR

Gambar **Halaman**

Gambar 1. Teh *Kombucha* 8
Gambar 2. Skema Dasar Aktivitas Metabolik yang Penting dari *Acetobacter* dan Z*ygosaccharomyces* 14
Gambar 3. Biji Kopi 19
Gambar 4. Struktur Kimia Kafein 23
Gambar 5. *Salmonella sp* Perbesaran 100x 30
Gambar 6. Kerangka Teori 40
Gambar 7. Kerangka Konsep 41
Gambar 8. Alur Penelitian 51
Gambar 9. Perbedaan Rerata Diameter Zona Hambat 63

LAMPIRAN

Lampiran 1. Bakteri uji dari UPTD Balai Laboratorium Kesehatan Bandar Lampung
Lampiran 2. Identifikasi Bakteri Uji
Lampiran 3. Gambaran Mikroskopik Pewarnaan *Salmonella typhi*
Lampiran 4. Pembuatan media agar, sterilisasi, dan destruksi
Lampiran 5. Uji Biokimiawi (TSIA, SIM, dan SC)
Lampiran 6. Pembuatan kopi *kombucha*
Lampiran 7. Proses pembuatan media uji daya hambat
Lampiran 8. Uji daya hambat yang terkontaminasi, gambaran mikroskopik hifa
Lampiran 9. Daya hambat K(+), K(-), kopi *kombucha* 6, 12, dan 18 hari
Lampiran 10. Tabel analisis deskriptif
Lampiran 11. Tabel uji normalitas
Lampiran 12. Tabel uji homogenitas
Lampiran 13. Tabel uji *One Way Anova*
Lampiran 14. Tabel uji *post hoc Bonferromi*
Lampiran 15. Surat Etik
Lampiran 16. Surat Izin Penelitian
Lampiran 17. Surat Peminjaman Laboratorium

BAB 1
PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Demam tifoid merupakan penyakit yang penularannya diperantarai oleh air (*water borne diseases*) dan makanan (*food borne diseases*) yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Salmonella typhi* (BPOM RI, 2008). Indonesia termasuk ke dalam delapan negara Asia yang menyumbangkan 80% kasus demam tifoid di dunia bersama dengan Bangladesh, China, India, Laos, Nepal, Pakistan, dan Vietnam Tengah (Chau *et al*., 2007). Berdasarkan penelitian dari *The Journal of the American Medical Association*, tercatat bahwa demam tifoid memakan 600.000 nyawa di negara-negara berkembang setiap tahunnya (Vollaard *et al*., 2004). Indonesia merupakan salah satu wilayah endemis demam tifoid dengan mayoritas angka kejadian terjadi pada kelompok umur 3-19 tahun (91% kasus) (Hendarta, 2014).

Bertolak dari data-data tersebut, pemerintah perlu melakukan suatu tindakan untuk meningkatkan derajat kesehatan masyarakat. Namun, dunia kesehatan mengalami beberapa kendala dalam melaksanakan terapi kuratif demam tifoid, salah satunya adalah *Multi Drug Resistant Salmonella typhi* (MDRST). *Multidrug resistant Salmonella typhi* terjadi akibat pemakaian antibiotik lini

pertama untuk demam tifoid (kloramfenikol, ampisilin, dan kotrimoksazol) selama puluhan tahun (Sidabutar dan Satari, 2010). Dalam penelitian *cross-sectional* dari 381 strain serovar Typhi dari 8 negara Asia yang endemis demam tifoid tahun 2002-2004, berbagai tingkat resistensi *multidrug* (16-37%) dan tahan asam nalidiksat (5-51%) ditemukan (Chau *et al*., 2007).

Salah satu upaya kesehatan yang sedang berkembang yaitu pemanfaatan bahan alami sebagai obat-obatan. Salah satunya adalah pemanfaatan kultur *kombucha* yang berdasarkan opini masyarakat efektif dalam meningkatkan derajat kesehatan suatu individu. Di Indonesia, pemanfaatan *kombucha* dikenal sejak tahun 1930-an di sekitar pulau Jawa, tepatnya daerah Jawa Tengah dan Jogjakarta. Masyarakat memiliki kepercayaan bahwa mengkonsumsi teh *kombucha* dapat meningkatkan kesehatan tubuh melalui fungsinya untuk detoksifikasi. Selain itu, kultur *kombucha* digunakan untuk menyembuhkan luka pada kulit. Pada skala internasional, berdasarkan survey di sebuah *mailing list kombucha* beranggotakan 600 orang dari seluruh dunia yang dilakukan pada tahun 1996, konsumen teh *kombucha* meyakini khasiat teh *kombucha* yaitu meningkatkan kekebalan tubuh, menyembuhkan sembelit, menghilangkan nyeri, meringankan masalah pencernaan, menurunkan berat badan, menurunkan tekanan darah tinggi dan kadar kolesterol, meningkatkan libido, dan sebagai antioksidan (Sutandio, 2013).

Kultur *kombucha* adalah sejenis kultur simbiotik antara bakteri asam asetat dan spesies ragi osmofilik (Jayabalan *et al*., 2014). Kombinasi bakteri dan ragi

ini disebut SCOBY (*Simbiotic Culture of Bacteri and Yeast*) yang terdiri dari beberapa bakteri dan ragi (Basak, 2015). SCOBY yang dikultur dalam media teh manis akan melakukan fermentasi sehingga dihasilkan berbagai kandungan yang memilikik efek kesehatan bagi tubuh (Naland, 2008). Beberapa efek kesehatan yang dihasilkan oleh kultur *kombucha* yakni antibakteri, antifungus, antioksidan, dan peningkat antibodi. Efek antibakteri telah diuji dan dinyatakan efektif pada bakteri seperti *Enterobacter coli, Staphylococcus aureus,* dan *Salmonella sp* (Arani *et al*., 2014; Pure dan Pure, 2016; Effendi *et al*., 2013; Rahayu, 2009).

Pada penggunaannya, kultur *kombucha* dibiakkan dalam suatu media cair yang dapat memfasilitasi terjadinya proses fermentasi oleh bakteri dan ragi yang akan menyebabkan terbentuknya senyawa yang berkhasiat. Berdasarkan penelitian terdahulu, media yang paling sering digunakan adalah teh manis karena kandungan glukosa dalam teh manis sangat baik bagi pertumbuhan kultur *kombucha* (Naland, 2008). *Kombucha* akan merubah gula menjadi alkohol serta memproduksi zat-zat penting seperti asam glukoronat, asam asetat, asam laktat, vitamin, asam amino, dan zat-zat antibiotik (Jayabalan *et al*., 2014). Media cair yang telah mengandung zat-zat penting inilah yang akan dikonsumsi.

Teh manis dipilih sebagai media kultur *kombucha* karena mengandung senyawa tannin, saponin, flavonoid, dan beberapa senyawa lain yang memiliki sifat antibakteri (Hamilton-Miller, 1995; Ernawati, 2015). Namun belum diketahui pasti korelasi antara senyawa tersebut dengan fermentasi teh oleh kultur *kombucha* dalam khasiatnya sebagai antibakteri. Sehingga banyak peneliti

yang menguji pembuatan ekstrak *kombucha* dengan media lain seperti teh hijau, kopi, susu, minuman berbahan dasar daun, jus buah, bahkan minuman bersoda untuk mengetahui apakah kultur *kombucha* di media lain dapat menghasilkan efek serupa (Rahayu, 2009; Pure dan Pure, 2016).

Pada penelitian terdahulu (Rahayu dan Rahayu, 2007; Rahayu, 2009) telah dibuktikan bahwa *kombucha* dapat dibiakkan pada media kopi arabika dan telah dibuktikan adanya efek antifungal khususnya pada *Candida albicans* dan *Tricophyton*. Kopi memiliki kandungan senyawa kimia yang hampir sama dengan teh di antaranya kafein dan tannin (Rahayu, 2009). Kandungan tannin dan senyawa polifenol pada kopi juga memiliki efek serupa pada teh yaitu memberi rasa sepet dan kecoklatan. Beberapa manfaat kesehatan dari polifenol adalah sebagai antioksidan, menurunkan risiko diabetes melitus, penyakit kardiovaskuler, kanker, serta menurunkan kadar asam urat darah (Watawana dan Jayawardena, 2004). Penelitian mengenai hubungan lama fermentasi dengan efek antibakteri *kombucha* juga pernah dilakukan dengan media teh manis pada *Escherichia coli* (Aryadnyani, 2012). Lama fermentasi yang berbeda akan mempengaruhi kadar senyawa hasil fermentasi. Peneliti mengasumsikan bahwa hal tersebut akan memengaruhi efek antibakteri kopi *kombucha*. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk mengetahui pengaruh kopi robusta yang difermentasi dengan *kombucha* dalam jangka waktu yang berbeda terhadap *Salmonella typhi*. Kopi robusta dipilih karena merupakan kopi yang banyak terdapat di Lampung dan lebih tahan terhadap penyakit karat daun yang disebabkan oleh patogen

Hemileia vastatrix yang sering menjangkit tanaman kopi arabika (Budiharto *et al*., 2010). Baik *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi* merupakan bakteri gram negatif, namun memiliki struktur dan respons terhadap stress oksidatif yang berbeda (Jawetz *et al*., 2010).

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang penelitian tersebut, maka dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut:

1. Apakah kopi *kombucha* dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*?
2. Apakah terdapat perbedaan daya antibakteri kopi *kombucha* fermentasi 6, 12, dan 18 hari terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi*?
3. Apakah kopi *kombucha* memiliki daya antibakteri terhadap *Salmonella typhi* yang sama dengan antibiotik pilihan?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian kopi *kombucha* terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi*.

1.3.2. Tujuan Khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Mengetahui apakah kopi *kombucha* dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*.
2. Mengetahui apakah terdapat perbedaan daya antibakteri kopi *kombucha* fermentasi 6, 12, dan 18 hari terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi*.
3. Mengetahui apakah kopi *kombucha* memiliki daya antibakteri terhadap *Salmonella typhi* yang sama dengan antibiotik pilihan.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Bagi Peneliti

1. Menambah wawasan, pengetahuan, dan pengalaman peneliti
2. Menumbuhkan rasa ingin tahu dan minat untuk belajar mandiri
3. Menumbuhkan rasa ingin tahu dan minat untuk melakukan penelitian

1.4.2. Manfaat Ilmiah

1. Memberikan kontribusi ilmiah pada bidang *functional food* mengenai mikroorganisme yang memiliki efek antibakteri
2. Memberikan pengetahuan dalam pengembangan obat herbal sebagai pilihan alternatif terapi kuratif khususnya penghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*

1.4.3. Manfaat Aplikasi

1. Menginformasikan kepada masyarakat luas bahwa mengonsumsi kopi *kombucha* dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*
2. Menginformasikan kepada masyarakat waktu fermentasi kopi *kombucha* yang optimal untuk menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*
3. Menjadi landasan untuk penelitian selanjutnya

BAB 2
TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Kombucha*

2.1.1. Definisi *Kombucha*

Gambar 1. Teh *Kombucha* (Dekevich, 2016).

Kombucha berasal dari dua kata yaitu "*kombu*" yang merupakan nama dari tabib Korea pada abad 5 M dan "*cha*" yang berarti "teh" dalam bahasa Cina. *Kombucha* memiliki beragam nama berdasarkan

tempat keberadaannya. Di Cina, teh *kombucha* populer dengan julukan teh *manchuria*. Nama ini tidak terlepas dari sejarah Dinasti Manchuria yang telah mengkonsumsi teh *kombucha* secara teratur pada tahun 1900-an. Di Indonesia, *kombucha* disebut “jamur dipo” yang bermakna jamur benteng (Naland, 2008).

Kombucha adalah suatu simbiosis yang terdiri dari gabungan bakteri asam asetat dan spesies ragi osmofilik (Jayabalan *et al*., 2014). *Kombucha* memiliki bentuk massa gelatinosa atau menyerupai agar-agar biofilm yang berwarna putih dengan ketebalan 0.3-1.2 cm. Prinsip untuk menghasilkan kultur *kombucha* sama seperti prinsip pembuatan *nata de coco*. Media fermentasi pada *nata de coco* adalah air kelapa sedangkan pada *kombucha* adalah cairan bersenyawa karbon, salah satunya glukosa, seperti teh manis. Teh manis kemudian diinokulasi dengan bakteri dan ragi. Bakteri yang sering digunakan ialah *Acetobacter xylinum* dan ragi yang sering digunakan ialah *Saccharomyces cerevisiae* (Naland, 2008; Spedding, 2015). Secara bersamaan, bakteri dan ragi ini mengalami simbiosis dengan memanfaatkan nutrisi yang terkandung dalam teh manis untuk menghasilkan mikrofibril yang membentuk ikatan kovalen di antara keduanya sehingga membentuk selulosa bakteri pelikel atau mat yang mengambang di permukaan teh manis.

Sintesis selulosa bakteri meliputi dua proses yaitu sintesis uridin difosfoglukosa (UDPGIc), diikuti oleh polimerisasi glukosa ke dalam rantai panjang dan tidak bercabang (β-1→4 rantai glukan). Produksi UPDGIc dimulai dengan senyawa karbon (heksosa, gliserol, dihidroksiaseton, piruvat, atau asam karboksilat) yang memasuki siklus Krebs, baik glukoneogenesis atau siklus pentosa fosfat, tergantung pada senyawa karbon yang tersedia. Setelah itu, proses dilanjutkan dengan fosforilasi dan katalisis diikuti isomerisasi menengah dan UPDGIc fosforilase untuk mengubah senyawa tersebut menjadi UPDGIc, yakni prekursor untuk memproduksi selulosa (Basak, 2015).

Kultur *kombucha* dikenal secara komersial dengan istilah SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*) (Spedding, 2015). *Kombucha* tumbuh berlapis-lapis dengan lapisan terbaru berada di paling atas. Produk dari fermentasi tersebut adalah *teh kombucha* yang dikenal sebagai minuman kesehatan dengan rasa khas sedikit manis dan asam *(*Jayabalan *et al*., 2014). Dalam pembuatan teh *kombucha* digunakan kultur *kombucha* yang produktif. Kultur yang tidak produktif ditandai dengan warna coklat tua atau setelah melakukan fermentasi sekitar 5-7 kali. Kultur yang produktif biasanya berwarna lebih cerah dan tidak rapuh ketika

dicubit. Selain itu, kultur yang tidak produktif akan menghasilkan kultur baru yang tipis dalam 8-12 hari dan rasa teh yang belum begitu asam (Sutandio, 2013).

2.1.2. Fermentasi Teh *Kombucha*

Fermentasi adalah produksi etanol dari glukosa oleh suatu spesies ragi, biasanya *Saccharomyces cerevisiae*, namun dapat juga membentuk berbagai senyawa lain seperti asam aseton, butanol, dan asam laktat yang umumnya berlangsung dengan kondisi anaerob dan pembebasan gas. Secara garis besar, pembuatan teh *kombucha* dilakukan dengan menempatkan SCOBY/ *mother culture*/*tea fungus* ke dalam teh manis sehingga teh mengalami proses fermentasi. Prosedur yang benar akan menghasilkan minuman kesehatan yang bernutrisi tinggi (Jayabalan *et al*., 2014).

Tiga faktor penting dalam fermentasi teh *kombucha* yaitu koloni SCOBY, gula, dan lingkungan. Lingkungan yang optimal untuk fermentasi adalah lingkungan udara dengan kadar oksigen rendah, suhu yang tidak terlampau tinggi (20°-23°C), dan kelembapan yang tidak terlampau rendah (Naland, 2008). Mikroorganisme yang terlibat dalam proses fermentasi teh *kombucha* yaitu sebagai berikut:

a. Ragi

Ragi yang berperan dalam fermentasi *kombucha* adalah *Saccharomyces cerevisiae.* Dalam industri pengolahan makanan dan obat yang memerlukan proses fermentasi, ragi ini telah digunakan secara luas untuk menghasilkan vitamin B kompleks, tiamin, berbagai jenis antibiotik, dan hormon steroid. Ragi lain yang terlibat yaitu *Saccharomyces ludwigii*, *S. apiculatus* varietas, dan *Schizosaccharomycespombe* (Naland, 2008).

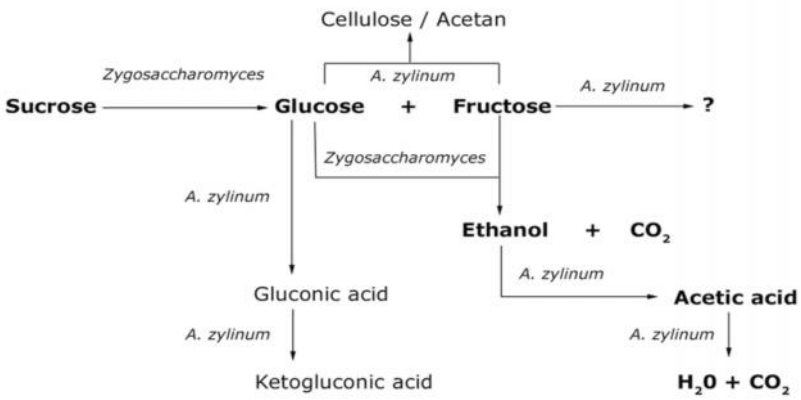
b. Bakteri

Terdapat 5 jenis bakteri yang berhasil diidentifikasi di *kombucha* yakni *Acetobacter xylinum*, *xylinoides*, *gluconicum*, *Acetobacter ketogenum*, *Pichia fermentans*, dan *Torula* varietas. Bakteri-bakteri ini bersimbiosis dengan ragi untuk memproduksi asam glukoronat, asam kondroitin sulfat, asam hialuronik, vitamin B1, B6, B12, serta beberapa enzim yang baik bagi tubuh manusia. Bakteri yang paling berperan adalah *Acetobacter xylinum* yang memproduksi selulosa yang meliputi koloni SCOBY (Jayabalan *et al*., 2014). Namun penelitian lain mengatakan bahwa bakteri dominan pada 5 sampel *kombucha* (2 dari Canada, dan yang lainnya dari Irlandia, Inggris, dan United States) yaitu *Gluconacetobacter* dan *Lactobacillus* s*p* (30%). *Acetobacter*

diidentifikasi paling rendah (kurang dari 2%) (Marsha *et al*., 2014). Simbiosis bakteri dan ragi ini sangat baik dalam membentuk pertahanan dari mikroorganisme yang tidak diharapkan (Naland, 2008).

Pembuatan teh *kombucha* diawali dengan pemilihan kultur *kombucha* yang produktif. Kultur *kombucha* yang tidak produktif biasanya berwarna coklat tua atau setelah melakukan fermentasi sekitar 5-7 kali. Prosedur pembuatan teh *kombucha* yaitu sebagai berikut: air sebanyak 1 L direbus, selama perebusan 100 gram sukrosa dimasukkan ke dalam air dan diaduk. Kemudian ditambahkan 15 gram daun teh. Setelah 5 menit, teh difiltrasi. Setelah itu, teh didinginkan sampai mencapai suhu ruangan (20°C). Setelah itu, 10 gram *kombucha* diinokulasi ke dalam teh manis dan dituangkan ke dalam wadah yang telah disterilisasi. Pertumbuhan mikroorganisme yang tidak diharapkan dihambat dengan menambahkan 0.2 L fermentasi *kombucha* terdahulu sehingga menurunkan pH. Kemudian wadah ditutupi oleh kain bersih untuk melindungi fermentasi kombucha dari serangga terutama lalat buah *Drosophila*. Inkubasi dilakukan pada suhu 20°C sampai 22°C dengan toleransi antara 18°C sampai 26°C (Jayabalan *et al*., 2014).

Setelah beberapa hari fermentasi, organisme akan menghasilkan enzim ekstraselular yang menguraikan gula menjadi alkohol (etanol) dan gas karbon dioksida (Naland, 2008). Teh akan menghasilkan bau khas fermentasi dan terdapat gelembung gas dari produksi asam karbonat selama fermentasi. Proses fermentasi berbanding lurus dengan peningkatan temperatur (Jayabalan *et al*., 2014).



Gambar 2. Skema dasar aktivitas metabolik yang penting dari *Acetobacter* dan *Zygosaccharomyces*, diadopsi dari (Sieversa *et al*., 1995).

Pada skema tersebut, ragi menghidrolisis sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa dengan enzim invertase dan memproduksi etanol melalui glikolisis dengan fruktosa sebagai substrat (Sieversa *et al*., 1995). Bakteri asam asetat menggunakan glukosa untuk

memproduksi asam glukonik dan etanol untuk memproduksi asam asetat. Produksi asam organik selama fermentasi menyebabkan penurunan pH pada minuman *kombucha* (Jayabalan *et al*., 2014).

Waktu optimal dalam pembuatan teh *kombucha* adalah 7-12 hari (Naland 2008). Waktu optimal terbentuknya koloni *kombucha* baru adalah 10-14 hari dengan ketebalan sekitar 2 cm. Teh fermentasi yang sudah jadi disimpan dalam wadah tertutup pada suhu 4°C. Fermentasi yang lebih lama akan menyebabkan semakin tingginya kadar asam yang dapat berisiko untuk dikonsumsi (Jayabalan *et al*., 2014).

Fermentasi akan menimbulkan terjadinya perubahan kandungan senyawa kimia dalam teh. Berdasarkan analisis komposisi kimia dari penelitian sebelumnya diidentifikasi berbagai variasi asam organik seperti asetat, glukonik, gluasetik, glukoronik, sitrat, L-laktat, malat, tartarik, malonik, oxalik, suksinat, piruvat, usnik; juga berbagai macam bentuk gula, seperti sukrosa, glukosa, dan fruktosa; vitamin B1, B2, B6, B12, dan C; 14 asam amino yakni, amino biogenik, purin, pigmen, lipid, protein, beberapa enzim hidrolitik, etanol, zat aktif yang bersifat antibiotik, karbon dioksida, fenol, seperti pada polifenol teh, mineral, anion, DSL, seperti pada produk-produk dari ragi dan bakteri (Sieversa *et al*., 1995; Wang *et al*.,

2010; Yang *et al*., 2010; Velićanski *et al*., 2013). Meskipun begitu berbagai literatur yang mengidentifikasi kandungan senyawa kimia melaporkan hasil yang berbeda-beda. Perbedaan ini dipengaruhi oleh beberapa parameter yaitu waktu fermentasi, konsentrasi gula dan teh di awal pembuatan, serta asal dan komposisi kultur *kombucha* (Watawana dan Jayawardena, 2004; Jayabalan *et al*., 2014).

2.1.3. Manfaat *Kombucha*

Teh *kombucha* telah diakui oleh konsumen di seluruh dunia berkhasiat bagi kesehatan tubuh manusia. Berdasarkan penelitian parah ahli di Rusia, dilaporkan bahwa *kombucha* dapat meningkatkan pertahanan tubuh terhadap kanker, mencegah penyakit kardiovaskular, meningkatkan fungsi digestif, menstimulasi sistem imun tubuh, mengurangi masalah inflamasi, dan banyak manfaat lainnya (Dufresne dan Farnworth, 2000). Di Indonesia, masyarakat percaya bahwa teh *kombucha* memiliki efek mengembalikan keseimbangan metabolisme tubuh melalui detoksifikasi sehingga meningkatkan sistem kekebalan tubuh. Selain itu, *kombucha* juga dipercaya dapat meningkatkan fungsi pencernaan (Sutandio, 2013).

Teh *kombucha* juga dilaporkan memiliki efek sebagai antibakteri. Teh *kombucha* terbukti dapat melawan mikroorganisme patogen pada manusia baik gram positif maupun gram negatif. Aktivitas antibakteri *kombucha* sebagian besar disebabkan adanya asam organik terutama asam asetat, protein besar, dan katekin. Asam asetat dan katekin diketahui menghambat sejumlah bakteri gram positif dan gram negatif (Sreeramulu *et al*., 2000).

2.1.4. Aspek Keamanan *Kombucha*

Fakta bahwa *kombucha* merupakan suatu simbiosis ragi dan bakteri menimbulkan banyak pemikiran apakah *kombucha* sendiri dapat menjadi patogen bagi hospes. Berdasarkan mikroorganisme yang menyusunnya, yakni *Sacharomyces cerevisiae d*an *Acetobacter xylinum*, *kombucha* merupakan suatu probiotik (Kozyrovska *et al*., 2012). Probiotik didefinisikan sebagai mikroorganisme hidup yang jika diberikan dalam jumlah adekuat dapat memberi manfaat kesehatan bagi hospes. Konsep dari probiotik adalah mendukung flora normal tubuh manusia sehingga memberi keuntungan bagi kesehatan melalui kemampuan menghambat adesi dan pertumbuhan patogen, menghilangkan zat nutrien bagi patogen, merangsang respons imun, dan menciptakan lingkungan mikroba yang dapat

menghambat pertumbuhan patogen (Rachmadi, 2009). Tidak hanya sebagai probiotik, *kombucha* juga berperan sebagai prebiotik. Prebiotik merupakan kandungan dari suatu bahan pangan yang secara selektif menstimulasi pertumbuhan dan aktivitas dari mikroorganisme yang menguntungkan pada tubuh hospes (Kozyrovska *et al*., 2012). Dari segi pembuatan, teh *kombucha* dapat terkontaminasi mikroorganisme patogen sebelum pH mencapai 4.2. Oleh karena itu, sangat penting untuk selalu menjaga kehigienisan dalam pembuatan teh *kombucha* ataupun larutan *kombucha* dengan media lain (Watawana & Jayawardena, 2004).

Meskipun kebanyakan literatur menyatakan bahwa *kombucha* aman untuk dikonsumsi, belum ditemukan bukti uji klinis efikasi teh *kombucha* sebagai minuman terapeutik pada manusia (Ernst, 2003). Penelitian di Semarang menyatakan bahwa pemberian teh *kombucha* dengan dosis: 0.26 ml 2x/hari per oral; 0.39 ml 2x/hari per oral; dan 0.52 ml 2x/hari per oral pada mencit; yang masing - masing dilakukan selama 35 hari ditemukan adanya perubahan gambaran struktur histologis hepar berupa degenerasi parenkimatosa, degenerasi hidropik, sampai dengan nekrosis (Kusumah, 2008). Penelitian lain juga menunjukkan bahwa pemberian teh *kombucha* dengan dosis bertingkat dari 0.26 ml; 0.39 ml; 0.59 ml sebanyak 2

kali sehari selama 35 hari pada mencit menyebabkan perubahan bermakna gambaran histologi gaster pada mencit strain balb/c berupa iritasi mukosa gaster. Sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui secara pasti dosis teh *kombucha* yang aman untuk dikonsumsi (Saptani, 2008).

2.2. Kopi

Gambar 3. Biji kopi (National Geographic, 2009).

Kopi merupakan minuman hasil seduhan biji kopi yang telah disangrai dan dihaluskan menjadi bubuk. Secara ilmiah, kopi diklasifikasikan sebagai berikut:

Kerajaan : Plantae
Ordo : *Gentianales*
Famili : *Rubiaceae*
Upafamili: *Ixoroideae*

Bangsa : *Coffeeae*
Genus : *Coffea*

Berdasarkan manfaatnya, kopi dapat merangsang pernapasan, menghilangkan kantuk, dan menyegarkan badan dan pikiran (Rahayu dan Rahayu, 2007). Selain itu, menurut beberapa penelitian kopi dapat menurunkan insiden berbagai macam penyakit di antaranya diabetes melitus tipe 2, penyakit kardiovaskuler, kanker, serta menurunkan kadar asam urat (Lelyana, 2008). Empat varietas kopi yang paling dikenal di dunia yaitu kopi arabika (*Coffea arabica*), kopi robusta (*Coffea canephora*), kopi liberika, dan kopi ekselsa. Namun kopi yang paling sering dikonsumsi ialah kopi arabika dan robusta. Sebanyak 90% tanaman kopi di Indonesia ialah kopi robusta.

2.2.1. Jenis-jenis Kopi

a. Kopi Arabika

Kopi arabika (*Coffea Arabica L.*) termasuk ke dalam genus *Coffea* dengan famili *Rubiaceae* (suku kopi–kopian). Daun kopi arabika berwarna hijau gelap dan dengan lapisan lilin mengkilap. Zona terbaik pertumbuhan kopi arabika adalah antara 20^0 LU dan 20^0 LS. Sebagian besar daerah kopi di Indonesia terletak antara 0-10^0 LS yaitu Sumatera Selatan, Lampung, Bali, Sulawesi Selatan

dan sebagian kecil antara 0-5° LU yaitu Aceh dan Sumatera Utara. Ketinggian tempat yang sesuai untuk pertumbuhan kopi arabika berada pada sekitar 1.000–1.700 meter di atas permukaan laut (dpl). Jika berada pada ketinggian < 1000 meter dpl, kopi arabika akan mudah terserang penyakit *Hemileia vastatrix*, sedangkan jika berada pada > 1.700 meter dpl akan mengakibatkan produksi kopi arabika menjadi tidak optimal karena pertumbuhan vegetatif lebih besar dari generatif. Rata-rata suhu yang ideal berkisar antara 15° C dan 24° C (Munarso 2010).

b. Kopi Robusta

Kopi robusta pertama kali ditemukan di Kongo pada tahun 1898. Kopi robusta memiliki ketahanan yang kuat terhadap penyakit karat daun (*Hemileia vastatrix*) dibanding kopi arabika. Selain itu, kopi robusta lebih mudah untuk bertahan hidup di dataran yang lebih rendah yakni 0-1000 mdpl, dibandingkan kopi arabika sehingga cocok untuk dibudidayakan di Indonesia (Rahardjo, 2012). Saat ini lebih dari 90% dari areal pertanaman kopi Indonesia terdiri atas kopi robusta (Budiharto *et al*., 2010). Berdasarkan wilayah budidayanya, pusat penghasil kopi robusta berada di Sumatera Selatan, Lampung, Bengkulu, Jawa Timur,

Jawa Tengah, Bali, Nusa Tenggara Timur, dan Nusa Tenggara Barat (Aklimawati dan Mawardi, 2014).

c. Kopi Liberika

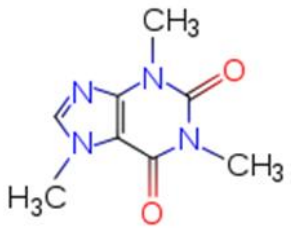
Kopi liberika berasal dari dataran rendah Monrovia di daerah Liberika. Pohon kopi liberika tumbuh dengan subur di daerah yang memilki tingkat kelembapan yang tinggi dan panas. Kopi ini memiliki kualitas yang lebih buruk dari kopi arabika baik dari segi buah dan tingkat rendemennya rendah (Annisa, 2013).

d. Kopi Ekselsa

Kopi ekselsa (*Coffea dewevrei*) ditemukan pertama kali oleh A. Chevalier pada tahun 1905 di Afrika Barat, di sekitar Sungai Char, dekat Danau Chad. Kopi ekselsa sangat mirip dengan kopi liberika (*Coffea liberica*). Kopi ekselsa tidak terlalu peka terhadap penyakit *Hemileia vastatrix* seperti halnya kopi arabika. Kopi ini sangat cocok dibudidayakan di dataran rendah yang basah karena memang daya tahan hidup kopi ini sangat kuat (Annisa, 2013).

2.2.2. Kandungan Kopi

a. Kafein



Gambar 4. Struktur kimia kafein.

Kafein adalah senyawa kimia alkaloid yang banyak terdapat dalam minuman seperti kopi (1-1.5%), teh (1-4.8%), biji kola (2.7-3.6%), dan coklat (A'yunina, 2007). Peranan utama kafein dalam tubuh adalah meningkatkan kerja psikomotor sehingga tubuh tetap terjaga dan memberikan efek fisiologis berupa peningkatan energi (Wildman, 2007). Namun, konsumsi kafein dalam jumlah besar dapat mengakibatkan insomnia, gelisah, pernapasan meningkat, tremor otot, dan diuresis. Dosis aman untuk konsumsi kafein yaitu 100-200 mg dengan pemberian tidak lebih dari tiap 3-4 jam pada anak usia 12 tahun ke atas sampai dewasa. Sedangkan anak usia di bawah 12 tahun tidak direkomendasikan meminum kopi (Dewi *et al.*, 2012).

Kadar kafein dalam kopi tergantung pada tempat pertumbuhan kopi, di mana kopi robusta yang tumbuh di Indonesia dan Afrika memiliki kandungan kafein sebanyak 2.2% sedangkan kopi arabika yang tumbuh di Amerika Selatan mengandung 1.1% kafein (Lelyana, 2008).

b. Polifenol

Kopi mengandung senyawa polifenol total sebanyak 200-550 mg per cangkir (Farah *et al*., 2008). Kopi merupakan golongan tanaman fitokimia atau disebut juga *plant phenols* (*flavonoid polyphenolics*). *Plant phenols* adalah senyawa kimia yang berasal dari tanaman dan mengandung antioksidan yaitu asam *cinnamic*, asam benzoat, flavonoid, *proanthocyanidins, stilbenes, coumarins, lignans, lignins* serta asam klorogenat. Senyawa fenol mempunyai aktivitas biologi sebagai antioksidan sehingga mampu melindungi DNA, lipid, dan protein dengan melawan radikal bebas. Hal ini menyebabkan fenol mampu mengurangi risiko terjadinya penyakit kronik. Senyawa polifenol merupakan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan dari adaptasi tanaman terhadap kondisi stress, lingkungan radiasi sinar ultra violet, atau agresi patogen. Kandungan asam fenol

dari kopi adalah 97mg/100 g sementara kandungan asam fenol pada teh adalah 30-36mg/100 g (Lelyana, 2008).

Senyawa fenolik yang paling tinggi terdapat pada kopi ialah asam klorogenat. Asam klorogenat (CGA)5 adalah senyawa fenolik yang dibentuk oleh esterifikasi asam sinamat, seperti kafein, *ferulic*, dan asam *p-coumaric* dengan asam *quinic* (dos Santos *et al*., 2006). Asam klorogenat selain sebagai antioksidan juga dapat berfungsi sebagai antivirus, antibakteri, antifungi, dan tidak menyebabkan resistensi antimikroba. Asam klorogenat memiliki turunan senyawa yaitu *Caffeoylquinic acids* (CQAs), *feruloylquinic acid* (FQAs), dan *dicaffeoylquinic acids* (diCQAs) (Farah *et al*., 2008).

Senyawa fenolik lain dalam kopi yaitu tannin. Tannin merupakan senyawa fenolik utama pada buah kopi (dos Santos *et al*., 2006). Senyawa fenolik berikutnya pada kopi ialah lignan. Termasuk senyawa ini adalah *secoisolariciresinol, lariciresinol, matairesinol dan pinoresinol*. Lignan merupakan antioksidan larut lemak seperti sesamolinol dan sesamolin. Perannya mencegah terbentuknya radikal bebas, dan membersihkan radikal bebas yang telah siap terbentuk (Lelyana, 2008).

2.3. Kopi *Kombucha*

Pada dasarnya, kultur *kombucha* dapat hidup pada media cair yang berkarbon sekalipun air gula (Spedding, 2015; Sutandio, 2013). Namun yang membedakan hasil akhir fermentasi cairan antara media yang satu dengan yang lain adalah komponen zat dari media perkembangan *kombucha* (Sutandio, 2013). Penelitian terdahulu membuktikan bahwa kultur kombucha juga dapat dikembangbiakkan pada media lain selain teh yaitu kopi (Rahayu & Rahayu, 2007; Aryadnyani 2012; Jayabalan *et al*., 2014). Kopi dipilih sebagai media kultur *kombucha* karena memiliki senyawa bioaktif polifenol yang juga terdapat pada teh, yakni kafein, flavanoid, dan tannin. Kafein juga dilaporkan memiliki kemampuan untuk menstimulasi sintesis selulosa oleh *Acetobacter xylinum* (Dufresne & Farnworth, 2000).

Berdasarkan penelitian di Universitas Andalas, terdapat perbedaan antara hasil fermentasi *nata de coco* yang ditambah dengan 25% larutan *kombucha* media teh hijau, teh, dan kopi. Berat nata yang dihasilkan berturut-turut ialah 24.66 gram, 21.18 gram, dan 20.29 gram. Pada perlakuan teh hijau, nata yang dihasilkan tebal dan berwarna putih. Pada perlakuan teh hitam, nata yang dihasilkan tebal dan berwana putih kecoklatan. Sedangkan pada perlakuan bubuk kopi, nata yang dihasilkan tebal berwarna kecoklatan. Perbedaan berat dan ketebalan nata yang

terbentuk tergantung dari kelengkapan nutrisi dan senyawa bioaktif polifenol yang terkandung dalam media fermentasi (Tri & Permata, 2014).

2.3.1. Pembuatan Kopi *Kombucha*

Langkah pembuatan media kopi yaitu 15 gram kopi robusta dimasukkan ke dalam 1 liter air mendidih kemudian ditambahkan gula pasir 100 gram dan diaduk sampai rata. Cairan kopi disaring dan didinginkan sampai temperatur 30-40° C. Setelah dingin, cairan kopi manis dimasukkan ke dalam toples-toples steril (Rahayu & Rahayu, 2007). Setelah itu 10 gram kultur *kombucha* diinokulasi ke dalam media kopi dengan berat yang sama (Jayabalan *et al*., 2014). Kemudian kopi difermentasi selama kurang lebih 7-10 hari, sama seperti *teh kombucha* (Rahayu & Rahayu, 2007). Toples kemudian ditutup dengan kain bersih selama fermentasi berlangsung (Dewi *et al*., 2012).

2.3.2. Kandungan Kopi *Kombucha*

Berdasarkan penelitian terdahulu, didapatkan bahwa kandungan kopi *kombucha* yaitu:

a. Alkohol

Alkohol terbentuk akibat perubahan dari glukosa menjadi alkohol pada saat proses fermentasi berlangsung.

$$C_6H_{12}O_6 \xrightarrow[\text{Enzim}]{} 2C_2H_5OH + 2CO_2$$

Peningkatan alkohol pada waktu fermentasi yang lebih lama diakibatkan oleh produksi enzim alkohol dehidrogenase oleh ragi yang memecah gula menjadi alkohol. Pembentukan alkohol juga diikuti dengan penurunan pH. Nilai kisaran pH yang masih ditoleransi oleh *Acetobacter xylinum* hanya sekitar 2.5-5. Di bawah itu, *Acetobacter xylinum* tidak dapat melakukan aktivitas metabolisme dengan baik sehingga hasil fermentasi kurang optimal (Silaban, 2005).

b. Tannin

Kandungan tannin pada kopi *kombucha* berasal dari kopi sebelum difermentasi. Pada kopi *kombucha*, tannin mengalami polimerisasi yang disebabkan aktivitas bakteri *Acetobacter xylinum*. Berdasarkan penelitian terdahulu, kadar tannin pada

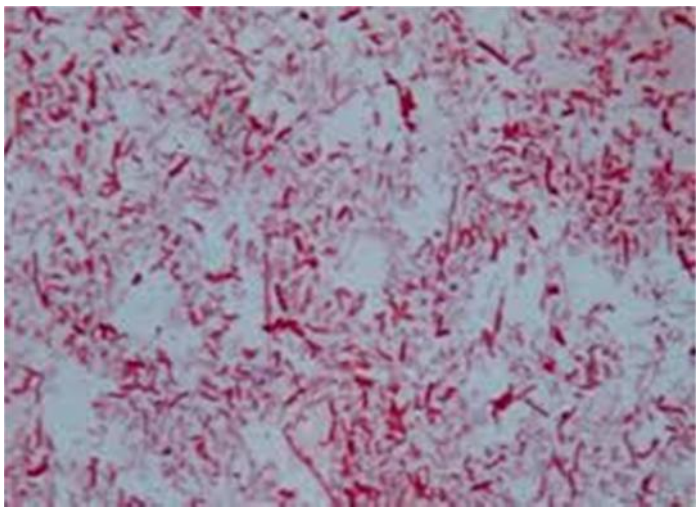
kopi yang difermentasi akan menurun karena adanya degradasi dari mikroba yang mengubah senyawa tannin menjadi epikatekin, galokatekin, epigalokatekin, dan epigalokatekin laktat (Napitupulu dan Lubis, 2015). Tannin akan menyebabkan rasa sepet pada cairan kopi fermentasi. Tannin dilaporkan memiliki efek antioksidan kuat untuk menghambat pertumbuhan sel kanker dan mengurangi penimbunan kolesterol dalam darah dan mempercepat pembuangan kolesterol melalui feses (Lusiawati Dewi *et al*., 2012). Pada penelitian lain, tannin dilaporkan memiliki efek antibakteri melalui penghambatan enzim *reverse* transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Rofiq, 2003).

c. Senyawa Lain

Senyawa lain yang terdapat dalam kopi *kombucha* yaitu vitamin B1 (tiamin), vitamin B2 (riboflavin), vitamin B3 (niasin), vitamin B6 (piridoksin), vitamin B12 (sianokobalamin), vitamin B15, vitamin C, asam folat (*citroforum factor* atau *leucovorin*), asam asetat, asam glukoronat, asam hialuronik, asam kondroitin sulfat, asam laktat, asam askorbat, asam amino esensial, enzim antibiotik, senyawa mirip asetaminofen, dan kandungan lain seperti polifenol dan asam *usnic* sebagai

antivirus dan antibakteri (Hidayat *et al.,* 2006). Selebihnya kopi *kombucha* memiliki mikroorganisme yang sama seperti pada teh *kombucha*.

2.4. *Salmonella typhi*



Gambar 5. *Salmonella sp* Perbesaran 100x (Silaban 2005).

Salmonella adalah bakteri yang termasuk ke dalam kelompok *enterobacteriaceae* yang merupakan suatu kelompok heterogen basil aerob gram-negatif yang komensal di saluran usus manusia (Elliot *et al*., 2013). *Salmonella* diklasifikasi ke dalam spesies *Salmonella enteric* dengan tujuh subspesies. Bakteri patogen *salmonella* diklasifikasikan di

bawah spesies *S. enteric*, subspesies *enteric*. Kemudian *Salmonella* disubklasifikasikan ke dalam 2000 serovar berdasarkan antigen O dan H, yang mana sering disalah terjemahkan sebagai nama spesies (Kaysier *et al*., 2014). Demam tifoid disebabkan oleh serovar Typhi dan Paratyphi A, B, dan C. *Salmonella* tertelan secara oral melalui traktus intestinal, masuk ke jaringan limfatik dan menyebar ke sirkulasi darah. *Salmonella* memiliki perbedaan dibandingkan bakteri gram negatif lainnya yaitu dalam respons terhadap stress oksidatif (Farr dan Kogoma, 1991). Berikut adalah taksonomi *Salmonela typhi*:

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Ordo	: Gamma Proteobacteria
Class	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: Salmonella
Spesies	: Salmonella enteric
Serovar	: Typhi (Brooks *et al*., 2010)

2.4.1. Identifikasi Bakteri *Salmonella* Typhi

Bakteri uji diambil dari Laboratorium Kesehatan Daerah, Bandar Lampung. Sebelum perlakuan, bakteri uji diidentifikasi terlebih dahulu untuk menghindari bias penelitian. Isolat bakteri diidentifikasi dengan ditanam di media diferensial yaitu *Salmonella Shigella Agar* (Brooks *et al*., 2010). Pewarnaan gram juga dilakukan terhadap isolat bakteri dan didapatkan hasil bakteri berbentuk basil

berwarna merah muda yang menunjukkan bakteri gram negatif (Darmawati, 2009).

Identifikasi kemudian dilanjutkan dengan uji biokimia. Uji yang digunakan adalah uji TSIA, SC, dan SIM. Uji TSIA digunakan untuk membantu membedakan *Salmonella* dan *Shigella* dari bakteri gram negatif lainnya. Medium TSIA mengandung glukosa 0.1%, sukrosa 1%, laktosa 1%, ferosulfat (untuk mendeteksi pembentukan H_2S), ekstrak jaringan (substrat pertumbuhan protein), dan indikator pH. Pada uji TSIA dasar medium berubah warna menjadi kuning karena bakteri hanya sedikit menghasilkan asam akibat hanya memfermentasi glukosa sedangkan lereng medium berwarna merah karena pH di lereng alkali akibat tidak difermentasinya laktosa dan sukrosa (Brooks *et al*., 2010). Pada medium TSIA juga terbentuk endapan FeS berwarna hitam akibat reaksi H_2S yang dihasilkan bakteri dengan garam Fe (Darmawati, 2009). Uji yang kedua adalah uji SC yang bertujuan untuk melihat kemampuan bakteri dalam memfermentsi sitrat sebagai sumber karbon. Normalnya, pada uji SC tidak terdapat perubahan warna pada media (tetap hijau). Uji SIM bertujuan untuk melihat motilitas bakteri. Pada uji SIM terlihat gelembung dari dekstrosa yang berarti terbentuk gas dan pertumbuhan bakteri yang tidak mengikuti tempat tusukan yang

berarti bakteri motil karena *Salmonella typhi* memiliki flagella sebagai alat gerak (Brooks *et al*., 2010).

2.4.2. Definisi Demam Tifoid

Demam tifoid merupakan penyakit infeksi sistemik akut yang mengenai sistem retikuloendotelial, kelenjar limfe saluran cerna, dan kandung empedu. Penyakit ini disebabkan oleh bakteri *Salmonella sp* serotipe *typhi*, yang sering disebut *Salmonella typhi*. Penularan demam tifoid terjadi melalui jalur fekal-oral (Sidabutar, 2010). Biasanya, penularan demam tifoid diperantarai oleh air (*waterborne diseases*) dan makanan (*foodborne diseases*) (WHO, 2003). Demam tifoid dapat menyebabkan komplikasi yang serius hingga 10% pada individu yang menderita demam tifoid lebih dari 2 minggu dan tidak mendapatkan pengobatan yang adekuat (Purba *et al*., 2016).

2.4.3. Epidemiologi Demam Tifoid

Berdasarakan studi populasi Crump dkk, prevalensi demam tifoid dibagi ke dalam tiga kategori, yakni wilayah dengan tingkat insidensi demam tifoid yang tinggi, sedang, dan rendah. Wilayah dengan tingkat insidensi yang tinggi yaitu *south-central* Asia dan Asia tenggara (>100/100.000 kasus per tahun). Wilayah dengan

tingkat insidensi sedang yaitu sebagian kecil Asia, Afrika, Amerika Latin dan Caribbean, dan Oceania, kecuali Australia dan New Zealand (10-100/100.000 kasus per tahun). Wilayah dengan tingkat insidensi rendah yaitu Eropa, Amerika Utara, dan wilayah lain yang belum disebutkan (<10/100.000 kasus per tahun) (Crump *et al*., 2004). Indonesia merupakan satu dari lima Negara yang menyatakan bahwa demam tifoid merupakan suatu masalah kesehatan yang sering terjadi, bersama China, India, Pakistan, dan Vietnam. Berdasarkan data insidensi tifoid tahunan di kelima Negara tersebut, 23% dari isolat yang diteliti merupakan *multidrug resistant* (Ochiai *et al*., 2008).

Di Indonesia sendiri, demam tifoid menjadi masalah yang kompleks dengan meningkatnya kasus-kasus *carrier* atau *relaps* dan resistensi terhadap lebih dari satu obat. Pada tahun 2008, angka kesakitan tifoid di Indonesia dilaporkan sebesar 81.7 per 100.000 penduduk, dengan sebaran menurut kelompok umur 0.0/100.000 penduduk (0–1 tahun), 148.7/100.000 penduduk (2–4 tahun), 180.3/100.000 (5-15 tahun), dan 51.2/100.000 (≥16 tahun). Angka ini menunjukkan bahwa penderita terbanyak adalah pada kelompok usia 2-15 tahun (Purba *et al*., 2016). Selain itu, data dari Dinas Kesehatan Provinsi Lampung memperlihatkan bahwa Puskesmas

Kedaton Kota Bandar Lampung memiliki angka rata-rata kejadian demam tifoid paling tinggi dibandingkan dengan 27 Puskesmas lainnya di Kota Bandar Lampung, yaitu 125 pasien per bulan (Riskesdas, 2016).

2.4.4. Patogenesis Demam Tifoid

Bakteri *Salmonella typhi* yang masuk ke lambung akan dimusnahkan oleh asam lambung. Namun sebagian dapat lolos ke dalam usus dan berkembang biak. Dalam usus terdapat imunitas humoral mukosa (IgA) yang akan menjadi pertahanan dari usus terhadap bakteri patogen. Bila tubuh dalam kondisi kurang baik, maka bakteri patogen akan menembus sel epitel (terutama sel M) dan menuju lamina propria. Di lamina propria bakteri patogen difagosit oleh makrofag namun tetap dapat hidup di dalamnya dan dibawa ke plak peyeri ileum distal dan kelenjar getah bening mesentrika. Setelah itu, melalui duktus torakikus, bakteri patogen akan masuk ke sirkulasi darah dan menyebabkan bakterimia pertama yang *silent* (asimtomatik) (*World Health Organization*, 2003). Pada saat ini, bakteri menyebar ke sistem retikuloendotelial seperti limpa, hepar, dan sumsum tulang belakang, mengalami periode inkubasi selama 8-14 hari. Periode inkubasi ditentukan oleh kuantitas dari

inokulum yang mana akan lebih singkat jika inokulum semakin banyak. Berdasarkan laporan kasus, didapatkan bahwa periode inkubasi bervariasi antara 3 sampai lebih dari 60 hari (WHO, 2003). Setelah itu, bakteri patogen kembali masuk sirkulasi darah dan menyebabkan bakterimia kedua disertai tanda klinis (~1-10 bakteri per ml darah) (Sudoyo *et al*., 2009).

2.4.5. Gejala Klinis Demam Tifoid

Masa tunas demam tifoid berlangsung antara 10-14 hari (Sudoyo *et al*., 2009). Berikut adalah gejala klinis berdasarkan keparahan penyakit:

a. *Acute non-complicated disease*:

Demam berkepanjangan, gangguan fungsi usus (sembelit pada dewasa, diare pada anak), sakit kepala, malaise, anoreksia, dan batuk bronkitis pada tahap awal. Pada periode demam, 25% pasien menunjukkan *exanthema* (bintik mawar) di dada anterior, dada posterior, dan abdomen.

b. *Complicated disease*:

Tiga persen pasien dapat mengalami melena akibat perforasi intestinal. Perasaan tidak nyaman di sekitar abdomen akan

semakin meningkat, paling banyak terjadi di kuadran kanan bawah meskipun dapat difus. Kadang disertai gejala dan tanda perforasi usus, kenaikan tiba-tiba denyut nadi, hipotensi, nyeri perut, nyeri lepas, dan kekakuan abdomen. Pada pemeriksaan darah biasanya ditemukan peningkatan jumlah sel darah putih dengan pergeseran kiri dan udara bebas pada radiografi biasanya terlihat.

2.5. Antibakteri

Antibakteri adalah zat kimia yang menghambat pertumbuhan (bakteriostatik) atau mematikan (bakterisidal) mikroorganisme lain. Antibakteri memiliki beberapa jenis yaitu antibakteri yang diproduksi oleh mikrorganisme, antibakteri sintetik dan antibakteri semisintetik yang diubah secara kimia untuk meningkatkan sifatnya (Kaysier *et al*., 2014).

2.5.1. Inhibitor Sintesis Dinding Sel

Kelompok utama antibakteri yang bekerja secara selektif pada dinding sel bakteri adalah golongan β-laktam dan glikopeptida.

a. Antibiotik β-laktam

Merupakan kelompok besar senyawa yang memiliki cincin β-laktam. Antibiotik golongan ini menghambat pembentukan

ikatan silang polimer dinding sel peptidoglikan dengan menghambat karboksipeptidase dan transpeptidase sehingga melemahkan dinding sel dan menyebabkan ruptur (lisis) mikroorganisme.

b. Glikopeptida

Merupakan antibakteri yang mengganggu pembentukan peptidoglikan tetapi pada tempat yang berbeda dari β-laktam sehingga menyebabkan lisis dan kematian sel. Mengganggu sintesis dinding sel dengan mengikat rantai pentapeptida sehingga mencegah penggabungan subunit-subunit baru ke dalam dinding sel.

2.5.2. Obat Antibakteri yang Bekerja pada Membran Sel

Hanya sedikit obat yang membidik membran sel mikroba. Kerja obat ini mirip dengan deterjen dan mengganggu membran sel, menyebabkan keluarnya isi sitoplasma (Kaysier *et al*., 2014).

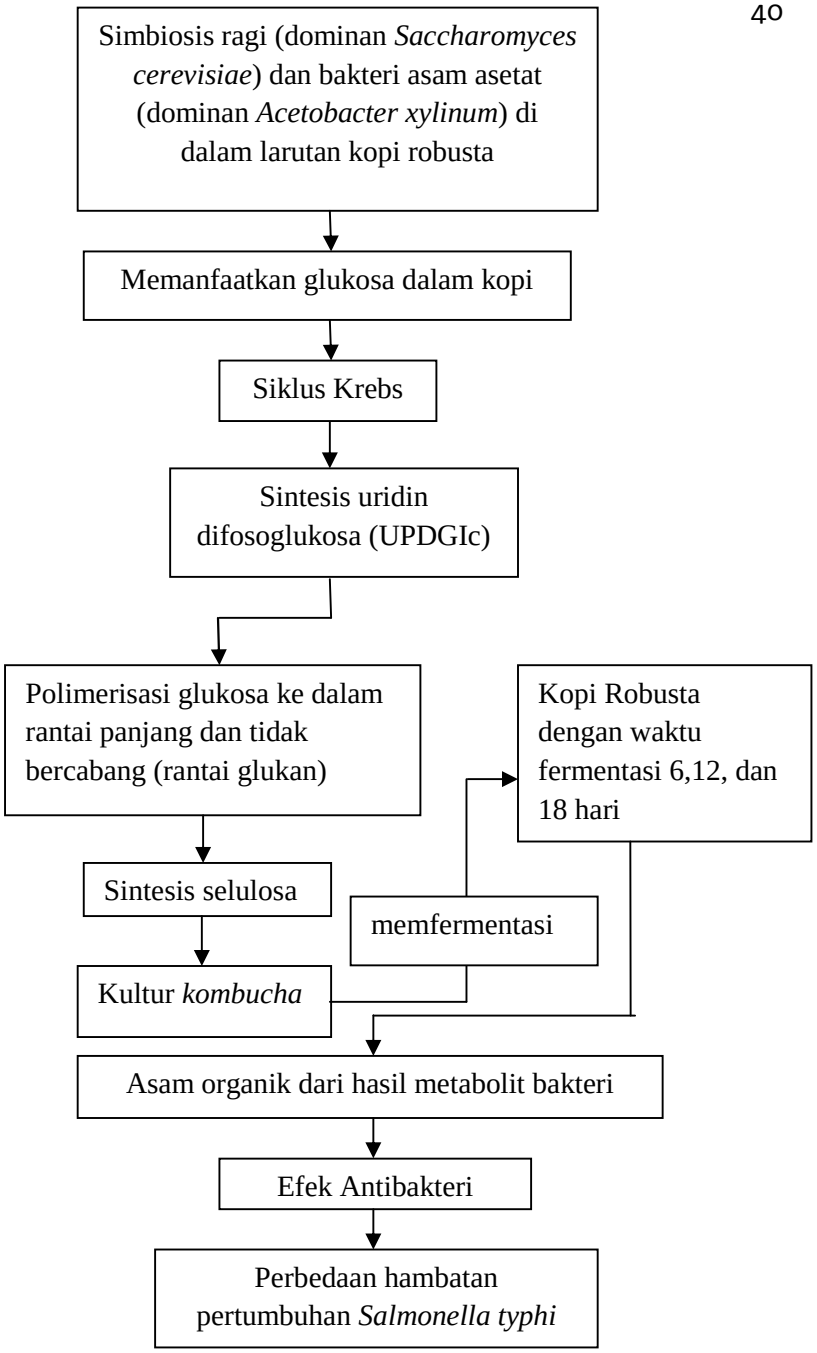
2.5.3. Inhibitor Sintesis Protein

Golongan obat ini menghambat sintesis protein dengan menghambat pembentukan kompleks inisiasi setelah mRNA digunakan. Ada juga

yang mengganggu pengikatan asam amino dalam pembentukan rantai peptida (Kaysier *et al*., 2014).

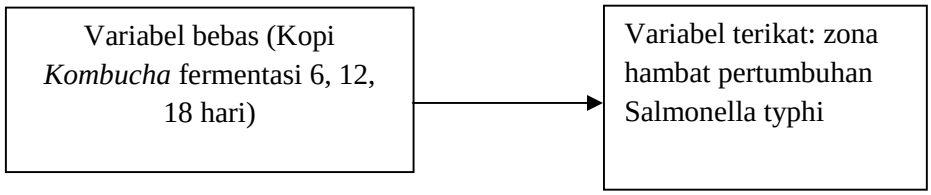
2.6. Kerangka Teori

Kultur *kombucha* dengan kandungan bakteri (didominasi oleh *Acetobacter xylinum*) dan ragi (*Saccharomyces cereviciae*) dibiakkan di dalam larutan kopi robusta sehingga memfermentasi larutan kopi. Fermentasi dilakukan pada kopi dengan tiga wadah terpisah dengan lama waktu yang berbeda, berturut-turut 6 hari, 12 hari, dan 18 hari. Setelah itu larutan kopi *kombucha* telah mengandung asam yang terbentuk akibat fermentasi kopi *kombucha* oleh bakteri. Berdasarkan penelitian sebelumnya, asam asetat merupakan zat yang berfungsi sebagai antibakteri pada larutan kopi *kombucha*. Pada penelitian ini akan dilakukan uji efektivitas antibakteri larutan kopi *kombucha* terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi* (Sreeramulu *et al*., 2000).



Gambar 6. Kerangka Teori Penelitian (Sreeramulu *et al*., 2000; Aryadnyani 2012).

2.7. Kerangka Konsep



Keterangan : ⟶ = mempengaruhi

Gambar 7. Kerangka Konsep Penelitian (Aryadnyani, 2012).

2.8. Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah:

1. Kopi *kombucha* mampu menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*
2. Kopi *kombucha* mampu menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* pada waktu fermentasi 6 hari
3. Kopi *kombucha* mampu menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* pada waktu fermentasi 12 hari
4. Kopi *kombucha* mampu menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* pada waktu fermentasi 18 hari
5. Kopi *kombucha* tidak memiliki daya antibakteri yang sama dengan kontrol positif terhadap *Salmonella typhi*

BAB 3
METODE PENELITIAN

3.1. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian observasional menggunakan rancangan *post test* dengan kelompok kontrol (*Post Test Only Control Group Design*) (Notoatmodjo, 2012). Penelitian dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian kopi *kombucha* terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi*.

3.2. Tempat dan Waktu

3.2.1. Tempat

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

3.2.2. Waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada Oktober sampai Desember 2016.

3.3. Bahan Penelitian

3.3.1. Mikroba Uji

Mikroba uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat bakteri *Salmonella typhi* yang diperoleh dari Laboratorium Kesehatan Daerah Bandar Lampung.

3.3.2. Starter *Kombucha*

Penelitian ini menggunakan kultur *kombucha*/SCOBY (*Symbiotc Culture of Yeast and Bacteri*) bermerk Indokombucha yang dibeli dari perusahaan Indokombucha, Bandung.

3.3.3. Kopi

Kopi digunakan sebagai media kultur *kombucha*/SCOBY. Kopi yang digunakan adalah kopi robusta dari Lampung.

3.3.4. Gula

Gula digunakan sebagai campuran kopi yang berfungsi sebagai sumber nutrisi bagi pertumbuhan kultur *kombucha*.

3.3.5. Air

Air digunakan untuk membuat larutan kopi.

3.3.6. Media Agar

***a.* SSA (*Salmonella Shigella Agar*)**

Media agar yang selektif untuk pertumbuhan dan perkembangan bakteri *Salmonella* dan *Shigella* sehingga cocok untuk perkembangan *Salmonella typhi*.

b. Muller Hinton Agar

Media tempat dilakukannya uji daya hambat *kombucha* terhadap *Salmonella typhi* (Rahayu, 2009).

3.4. Alat

3.4.1. Alat yang digunakan dalam membuat kopi *kombucha*:

a. Kompor listrik
b. *Beaker glass*
c. Toples kaca
d. Saringan teh
e. Kain penutup toples
f. Karet gelang
g. Neraca
h. Pengaduk

3.4.2. Alat yang digunakan dalam pembuatan media agar:

a. Kompor listrik
b. Labu Erlenmeyer
c. Neraca
d. Autoklaf
e. *Petridish*
f. Sumbat kapas

3.4.3. Alat yang digunakan untuk penanaman bakteri:

a. Tabung reaksi

b. Ose

c. Lampu Bunsen

3.4.4. Alat yang digunakan pada uji biokimia dan uji daya hambat:

a. Mikropipet dan tip
b. Pinset
c. Jangka sorong
d. Ose
e. Tabung reaksi
f. Lampu bunsen

3.5. Besar Pengulangan

Untuk menentukan besar pengulangan pada penelitian ini digunakan rumus Federer (Sastroasmoro, 1995):

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

$$(5-1)(r-1) \geq 15$$

$$(r-1) \geq 3{,}75$$

$$r \geq 4{,}75$$

Keterangan:
Jumlah replikasi (r) ≥ 4,75 = 5
Keterangan:
t = Jumlah perlakuan
r = Replikasi/pengulangan

3.6. Prosedur Penelitian

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan yaitu:

3.6.1. Pengambilan dan Preparasi Bahan Baku

Sebelum digunakan, kultur *kombucha* disimpan dalam media teh manis yang berwarna hitam sehingga tetap dapat berkembang biak. Dalam proses penyimpanan, media teh manis diganti tiap 7-10 hari sesuai lama pematangan kultur *kombucha* baru sampai waktunya digunakan untuk penelitian (Rahayu, 2009).

3.6.2. Sterilisasi Alat

Seluruh alat yang digunakan dicuci dengan sabun, kemudian disterilisasi dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121° C dengan tekanan 1,5 atm (Rahayu, 2009).

3.6.3. Pembuatan kopi *kombucha*

a. Kopi robusta sebanyak 15 gram dimasukkan ke dalam 1 liter air mendidih
b. Gula pasir sebanyak 100 gram ditambahkan dan diaduk sampai rata.
c. Cairan kopi disaring dan didinginkan sampai temperatur 30-40° C.

d. Setelah dingin, cairan kopi manis dimasukkan ke dalam toples-toples steril.

e. Kultur kombucha diinokulasi sebanyak 10 gram/L ke dalam media kopi.

f. Toples ditutup dengan kain selama fermentasi berlangsung selama 6, 12, dan 18 hari (Dewi *et al*., 2012). Toples diinkubasi pada suhu ruangan yaitu 23-27° C, terhindar dari sinar matahari dan bebas getaran.

g. Setelah fermentasi selesai, kopi hasil fermentasi disaring, dimasukkan ke dalam botol steril, dan disimpan di lemari es. Untuk menghindari fermentasi lanjutan, kopi dipanaskan dulu sebelum disimpan (Rahayu dan Rahayu 2007).

3.6.4. Identifikasi Bakteri Uji

Identifikasi dilakukan dengan pewarnaan gram dan tes biokimia, yaitu sebagai berikut:

a. Pewarnaan Gram

Dari isolat bakteri dibuat sediaan dari *glass object*, lalu diwarnai dengan pewarnaan Gram dan diamati melalui mikroskop. Bakteri gram positif menunjukkan warna ungu

dan bakteri gram negatif menunjukkan warna merah muda (Brooks *et al*., 2010).

b. Kultur Bakteri

Isolat bakteri sebanyak satu ose dan dikultur pada media yang sesuai yaitu media SSA, dan dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 37° C selama 24 jam (Aryadnyani, 2012).

c. Uji Biokimia

Uji yang dilakukan adalah uji TSIA, SIM, dan SC.

3.6.5. Pembuatan Media *Muller Hinton Agar* (MHA)

Media dibuat dengan melarutkan sebanyak 3.8 gram *Muller-Hinton Agar* dalam akuades sebanyak 100 ml, kemudian dipanaskan hingga mendidih disertai pengadukan sampai bubuk benar-benar larut. Media ini kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 50 menit. Selanjutnya sebanyak 20 ml media ini, dimasukkan ke dalam tiap cawan petri dan dibiarkan memadat, kemudian disimpan dalam lemari pendingin.

3.6.6. Uji Daya Hambat Kopi *Kombucha* Terhadap *Salmonella typhi*

Uji daya antibakteri yang digunakan adalah metode difusi sumuran (*well diffusion method*). Metode sumuran dipilih karena penanaman bakteri yang langsung dicampurkan ke dalam larutan sehingga menyebabkan pertumbuhan bakteri yang lebih merata dibandingkan dengan metode lain. Selain itu substrat uji akan langsung diinjeksikan ke dalam lubang sumuran sehingga diharapkan kerja dari substrat uji lebih efektif dan hasil yang diperoleh lebih maksimal.

Perlakuan diawali dengan membuat media uji, yaitu *Muller Hinton Agar* (MHA). Pada setiap *petridish* dituangkan media MHA hangat sebanyak 20 ml kemudian suspensi bakteri *Salmonella typhi* sebanyak 2 ml sesuai standar kekeruhan 0.5 McFarland diinokulasikan pada media tersebut dan diaduk sampai merata. Setelah itu media dibiarkan memadat. Pada setiap media MHA yang telah diinokulasi *Salmonella typhi* dibuat 5 lubang sumuran di daerah K(-), K(+), P1, P2, P3, dengan diameter 6 mm dan kedalaman 4 mm menggunakan sedotan kaku steril. Kemudian pada masing-masing lubang sumuran dimasukkan 50 µL kopi *kombucha* dengan durasi

fermentasi berbeda, kontrol positif, dan kontrol negatif. Setelah itu dilakukan pengukuran zona hambat yang terbentuk.

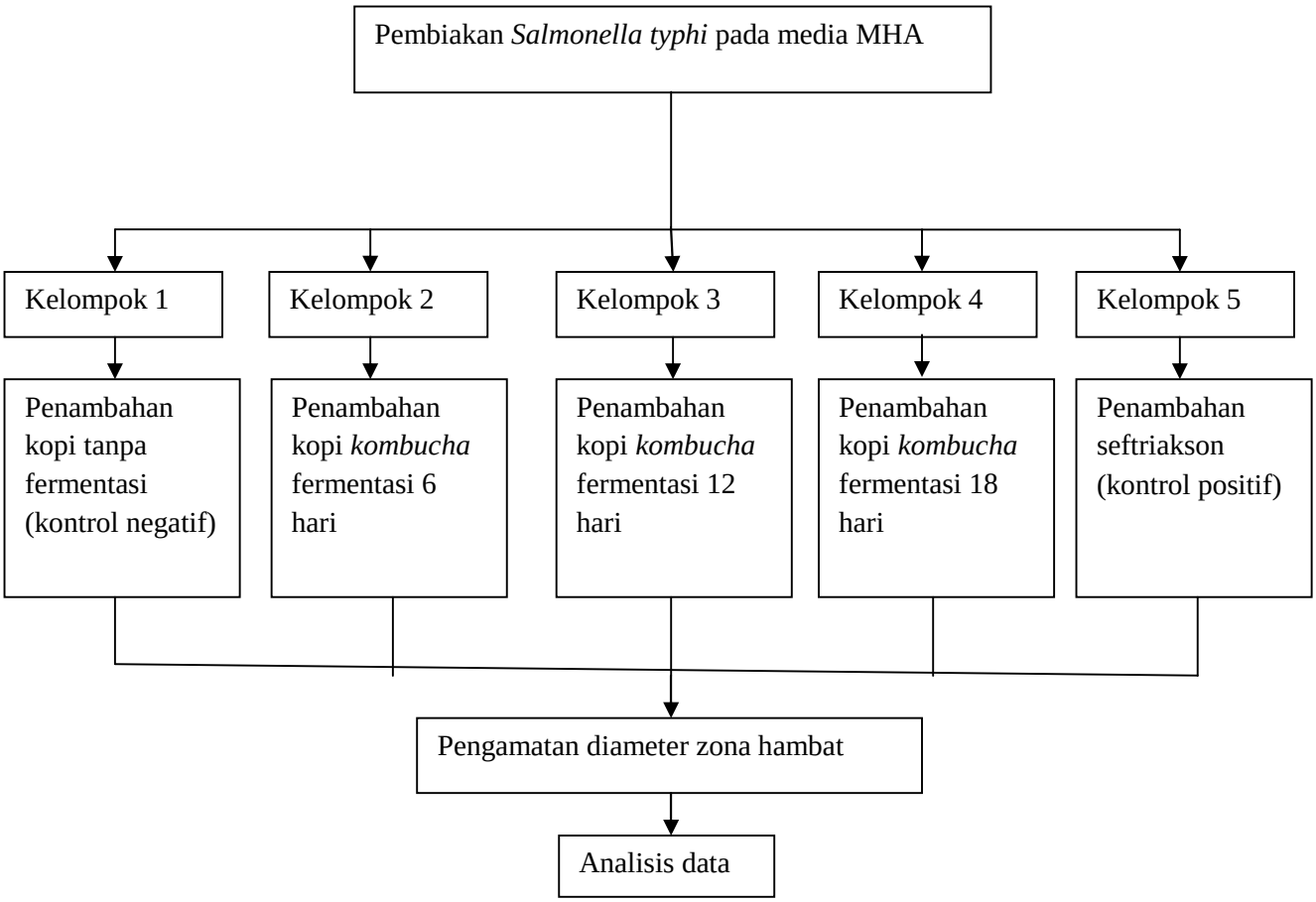
3.6.7. Kontrol Positif

Kontrol positif pada penelitian ini adalah seftriakson. Kontrol positif diperlukan untuk membandingkan perlakuan ekstrak dengan antibiotik murni. Seftriakson merupakan lini pertama pengobatan demam tifoid karena kloramfenikol, ampisilin, dan kotrimoksazol telah resisten terhadap *Salmonella typhi* (Sidabutar dan Satari, 2010). Pada penelitian ini dilakukan pengulangan kontrol positif sebanyak lima kali pada bakteri uji.

3.6.8. Kontrol Negatif

Kontrol negatif pada penelitian ini adalah larutan kopi tanpa fermentasi kultur *kombucha*.

3.7. Alur Penelitian



Gambar 8. Alur Penelitian.

3.8. Variabel Penelitian

3.8.1. Variabel Bebas

Larutan kopi *kombucha* dengan variasi waktu fermentasi 6,12, dan 18 hari.

3.8.2. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah diameter zona hambat kopi *kombucha* dengan waktu fermentasi 6, 12, dan 18 hari terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*.

3.9. Definisi Operasional

Tabel 1. Definisi Operasional Penelitian.

Variabel	Definisi	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
Larutan kopi *kombucha*	Zat yang diperoleh dari hasil fermentasi larutan kopi dengan kultur simbiotik bakteri dan ragi (*kombucha*)	Mengukur lama fermentasi 6 hari, 12 hari, dan 18 hari.	Lama fermentasi: P_1= 6 hari P_2= 12 hari P_3= 18 hari	Ordinal (kategorik)
Diameter zona hambat	Luas daerah zona hambat yang terbentuk setelah diberikan variabel independen	Mengukur diameter zona hambat dengan jangka sorong	Diameter zona hambat (mm)	Rasio (nominal)

Keterangan: P= Perlakuan

3.10. Analisis Data

Analisis data dilakukan secara analisis komparatif yang diolah dengan alat bantu perangkat komputer *software* SPSS (*Statistic Program for Social Science*). Tahapannya dilakukan dengan uji normalitas menggunakan *Saphiro Wilk*. Analisis dilanjutkan dengan uji

homogenitas dengan *Levene's Test* dan didapatkan data terdistribusi normal dan homeogen. Data selanjutnya dianalisis dengan *One Way Anova* dan dilanjutkan dengan uji *post hoc*.

3.10.1 Analisis Univariat

Analisis univariat bertujuan untuk mendeskripsikan karakteristik tiap variabel penelitian. Untuk data numerik digunakan nilai mean dan standar deviasi. Analisis ini hanya memberikan data mengenai distribusi/penyebaran yang diperoleh. Distribusi dikatakan normal bila $p > 0.05$ (memenuhi asumsi normalitas) dan jika $p < 0.05$ distribusi dikatakan tidak normal (Dahlan, 2009).

3.10.2 Analisis Bivariat

Analisis ini digunakan untuk menganalisis dua variabel yaitu variabel independen dan dependen yaitu untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh variasi waktu fermentasi kopi *kombucha* dengna efek antibakterinya pada *Salmonella typhi*. Uji statistik yang akan digunakan adalah *One Way Anova*, dengan interpretasi uji statistik, yaitu:

a. Bila nilai p < 0.05 maka hasil bermakna/signifikan, artinya ada hubungan bermakna antara variabel independen dan dependen, atau Ho ditolak.

b. Bila nilai p > 0.05 maka Ho diterima, artinya data sampel tidak mendukung adanya perbedaan yang bermakna.

Analisis selanjutnya adalah *post hoc untuk* mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan bermakna (Dahlan, 2009).

3.11. Etika Penelitian

Penelitian ini telah diajukan kepada Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran dan telah mendapatkan izin penelitian dengan nomor surat 070/UN26.8/DL/2017.

BAB 5
SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Dari penelitian ini didapatkan simpulan sebagai berikut:

1. Kopi *kombucha* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*.
2. Secara statistik, tidak terdapat perbedaan daya antibakteri yang bermakna antara kopi *kombucha* fermentasi 6, 12, dan 18 hari.
3. Terjadi penurunan efek antibakteri pada kopi *kombucha* fermentasi 12 hari.
4. Secara statistik, kopi *kombucha* fermentasi 6, 12, dan 18 hari tidak memiliki daya antibakteri yang sama dengan antibiotik pilihan (seftriakson).

5.2. Saran

Saran yang dapat disampaikan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui lama fermentasi kopi *kombucha* yang optimal untuk menghasilkan efek antibakteri terhadap *Salmonella typhi*.
2. Perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui zat aktif yang memiliki efek antibakteri pada kopi *kombucha*.

3. Perlu dilakukan pengukuran pH untuk mengetahui apakah ada hubungan antara pH dengan efek antibakteri kopi *kombucha* terhadap *Salmonella typhi*.

4. Perlu adanya keseragaman berat kultur *kombucha* yang lebih akurat sehingga didapatkan hasil fermentasi yang lebih akurat.

5. Perlu adanya pengaturan suhu yang stabil selama fermentasi kopi *kombucha*.

6. Perlu dilakukan penelitian mengenai dosis toksik dan dosis letal kopi *kombucha*.

DAFTAR PUSTAKA

A'yunina K. 2007. Pengaruh waktu inkubasi pada fermentasi cairan kopi dengan inokulum "kultur kombucha" terhadap kadar asam asetat, gula reduksi dan pH [skripsi]. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Aklimawati L, Mawardi S. 2014. Karakteristik mutu dan agribisnis kopi robusta di Lereng Gunung Tambora, Sumbawa. 30(2):159–80.

Annisa. 2013. Kopi dan variannya [diunduh 26 Agustus 2016]. Tersedia dari: http://ditjenbun.pertanian.go.id/bbpptpmedan/berita-209-kopi-dan-variannya-.html.

Anonim. 2010. Suplemen I farmakope herbal Indonesia. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Arani MY, Hemati B, Zarei A. 2014. The effect of using kombucha on blood antibody level and proventriculus and gizzard tissue cells in broiler chicks. Trends in Life Sciences. 4(4):1–11.

Aryadnyani NP. 2012. Peningkatan waktu fermentasi kombucha tea meningkatkan daya hambat pertumbuhan bakteri Escherichia coli penghasil extended spectrum beta lactamases (ESBL) secara in vitro [tesis]. Denpasar: Universitas Udayana.

Basak AK. 2015. Drying characteristics of bacterial cellulose produced from fermentation of black tea by symbiotic colony of yeast and bacteria. International Journal of Science and Research (IJSR). 4(6):2013–6.

BPOM RI. 2008. Pengujian mikrobiologi pangan. Badan POM RI. 9(2):1–9.

Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner TA. 2010. Jawetz, Melnick, and Adelberg medical microbiology ed 25. The McGraw-Hill Companies, Inc.

Chau TT, Campbell JI, Galindo CM, Hoang NVM, Diep TS, Nga TTT *et al*. 2007. Antimicrobial drug resistance of Salmonella Enterica Serovar Typhi in Asia and molecular mechanism of reduced susceptibility to the fluoroquinolones [diunduh 18 Mei 2016]. Antimicrobial agents and Chemotherapy. 51(12):4315–23. Tersedia dari: http://aac.asm.org/cgi/content/long/51/12/4315

Dahlan MS. 2009. Besar sampel dan cara pengambilan sampel ed 2, Salemba Medika. Jakarta.

Darmawati S. 2009. Keanekaragaman genetik *Salmonella typhi*. Jurnal Kesehatan. 2(1):27–33. Tersedia dari: http://jurnal.unimus.ac.id/index.php/Analis/article/view/225.

Dekevich D. 2016. Kombucha [diunduh 29 Mei 2016]. Food Source Information. Tersedia dari: http://fsi.colostate.edu/kombucha/

Dewi L, Hastuti SP, Silana AL. 2012. Aktivitas antioksidan, kadar fenolik total, dan kadar kafein pada fermentasi kombu kopi robusta dalam berbagai konsentrasi gula. Dalam: Keanekaragaman dan pemanfaatan sumberdaya mikroba tropika Indonesia. Makalah Seminar Nasional Mikrobiologi: 2012. Salatiga: Fakultas Biologi UKSW. hlm. 137–47.

Dufresne C, Farnworth E. 2000. Tea, kombucha, and health: a review. Food Research International. 33(6):409–21. Tersedia dari: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996900000673.

Effendi F, Roswiem AP, Stefan E. 2013. Uji aktivitas antibakteri teh kombucha probiotik terhadap bakteri Escherichia coli dan Staphylococcus aureus. Journal of Chemical Information and Modeling. 53(9):1689–99.

Elliot T, Worthington T, Osman H, Gill M. 2013. Lecture notes medical microbiology and infection. EGC.

Ernawati KL. 2015. Kumur-kumur kombucha tea dapat menurunkan jumlah koloni bakteri rongga mulut, menurunkan jumlah bakteri Streptococcus mutans dan meningkatkan pH saliva pada penderita karies gigi [tesis]. Denpasar: Universitas Udayana. Tersedia dari: PM:10827556.

Farah A, Monteiro M, Donangelo CM, Lafay S. 2008. 5-O-caffeoylquinic acid (5-CQA) from green coffee extract are highly bioavailable in humans. Journal of Nutrition; September : 2309–15.

Farr SB, Kogoma T. 1991. Oxidative stress responses in Escherichia coli and Salmonella typhimurium. Microbiol Rev. 55(4):561–85. Tersedia dari: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/htbin-post/Entrez/query?db=m&form=6&dopt=r&uid=1779927.

Frank, G. W. 1995. Kombucha healty beverages and natural remedy from The far east. W. Eenstaler Cosp Germany.

Hamilton-Miller JM. 1995. Antimicrobial properties of tea (Camellia sinensis L.). Antimicrobial agents and chemotherapy. 39(11):2375–7. Tersedia dari: http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=162950&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

Hendarta DS. 2014. Demam tifoid. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia.
Hidayat N, Padaga MC, Suharsini S. 2006. Mikrobiologi industri. hlm. 105-9.

Jayabalan R, Malbaša RV, Lončar ES, Vitas JS, 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):538–50.

Lelyana R. 2008. Pengaruh kopi terhadap kadar asam urat darah [tesis]. Semarang: Universitas Diponegoro.

Marsha AJ, O'Sullivana O; Hillb C; Rossa RP, Cottera PD. 2014. Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple kombucha (tea fungus) samples. Food Microbiology. 38:171–8. Tersedia dari: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002013001846.

Naland H. 2008. Kombucha: teh dengan seribu khasiat. Jakarta: Agromedia.

Napitupulu MOW, Lubis L. 2015. Pengaruh variasi konsentrasi gula sukrosa dan lama fermentasi terhadap pembuatan kopi kombucha (the effect of sugar consentration and the fermentation time of kombucha coffee). Jurnal Rekayasa Pangan dan Pertanian. 3(3):316–22.

Notoatmodjo PDS. 2012. Metodologi penelitian kesehatan. Rineka Cipta.

Pure AE, Pure ME. 2016. Antioxidant and antibacterial activity of kombucha beverages prepared using banana peel, common nettles and black tea infusions. Applied Food Biotechnology. 3(2):125–30.

Prastowo B, Karmawati E, Rubijo, Siswanto, Indrawanto C, Munarso SJ. 2010. Budidaya dan pasca panen kopi. Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan.

Rahardjo P. 2012. Kopi. Penebar Swadaya Grup.

Rahayu T. 2009. Uji antijamur kombucha coffee terhadap Candida albicans dan Tricophyton mentagrophytes. Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi. 10(1):10–7. Tersedia dari: https://publikasiilmiah.ums.ac.id/handle/11617/427.

Rahayu T, Rahayu T. 2007. Optimasi fermentasi cairan kopi dengan inokulan kultur kombucha (kombucha coffee). Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi. 8:15–29.

Rofiq MN. 2003. Potensi suspensi teh fermentasi kombucha (STK) pengaruh kombucha dalam mengontrol infeksi Salmonella sp dan pengaruhnya terhadap performans ayam broiler [tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

dos Santos MD, Almeida MC, Lopes NP, de Souza GE. 2006. Evaluation of the anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of the natural polyphenol chlorogenic acid. Biological & pharmaceutical bulletin. 29(11):2236–40

Sastroasmoro S. 1995. Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Klinis. Jakarta.

Sidabutar S, Satari HI. 2010. Pilihan terapi empiris demam tifoid pada anak: kloramfenikol atau seftriakson?. Sari pediatri. 11(6):434–9.

Sieversa M, Lanini C, Weber A, Schuler-Schmid U, Teuber M. 1995. Microbiology and fermentation balance in a kombucha beverage obtained from a tea fungus fermentation. Systematic and Applied Microbiology. 18(4):590–4. Tersedia dari: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0723202011804200.

Silaban M. 2005. Pengaruh jenis teh dan lama fermentasi pada proses pembuatan teh kombucha [skripsi]. Medan: Universitas Sumatera Utara.

Spedding G. 2015. So what is kombucha? an alcoholic or a non-alcoholic beverage ? a brief selected literature review and personal reflection. Brewing and Distilling Analytical Services. Tersedia dari: www.alcbevtesting.com.

Sreeramulu G, Zhu Y, Knol W. 2000. Kombucha fermentation and its antimicrobial activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 48(6):258–2594. Tersedia dari: http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf991333m.

Tim Karya Tani Mandiri. 2010. Pedoman budidaya secara hidroponik. Bandung: CV. Nuansa Aulia.

Velićanski A, Cvetković D, Markov S. 2013. Characteristics of kombucha fermentation on medicinal herbs from lamiaceae family. Romanian Biotechnological Letters. 18(1):8034–8042.

Vollaard AM, Ali S, van Asten HAGH, Widjaja S, Visser LG, Surjadi C, *et al*. 2004. Risk factors for typhoid and paratyphoid fever in Jakarta, Indonesia. The JAMA

Network. 291:2607–15. Tersedia dari: http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=198844.

Wang K, Yang Z, Zhou F, Ji B, Li B, Luo Y, *et al*. 2010. Determination of d-saccharic acid-1,4-lactone from brewed kombucha broth by high-performance capillary electrophoresis. Journal of Chromatography B. 878(3-4):371–4. Tersedia dari: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S157002320900854X.

Watawana M, Jayawardena N. 2004. Health, wellness and safety aspects of the consumption of kombucha. Hindawi Publishing Corporation Journal of Chemistry. 2015:1–39. Tersedia dari: http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cbdv.200490137/abstract\nhttp://downloads.hindawi.com/journals/jchem/aip/591869.pdf.

Wildman R. 2007. Handbook of Nutraceuticals and Funtional Foods Ed 2. hlm. 453-62.

World Health Organization. 2003. Background document: The diagnosis, treatment and prevention of typhoid fever. hlm.38.

Yang Z, Zhou F, Ji B, Li B, Luo Y, Yang L, *et al*. 2010. Symbiosis between microorganisms from kombucha and kefir: potential significance to the enhancement of kombucha function. Applied Biochemistry and Biotechnology. 160(2):446–55. Tersedia dari: http://link.springer.com/journal/12010.