



**Pengaruh Fermentasi SCOPY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*) terhadap Kandungan Fenolik dan Aktivitas Antioksidan dalam Teh**

**The Effect of SCOPY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*) Fermentation on Phenolic Content and Antioxidant Activity of Tea**

Nora Fiana <sup>1</sup>, Hilda Julia <sup>\*,1</sup>, Anisah Jamaluddin <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Program Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, Medan, Indonesia

<sup>2</sup> Bioprocessing Programme, Malaysia Agriculture Research and Development Institute (MARDI), Persiaran Mardi - UPM, 43400, Serdang, Selangor, Malaysia.

\*Penulis Korespondensi  
Email: [hildajulia@umsu.com.id](mailto:hildajulia@umsu.com.id)

**Abstrak.** Kombucha adalah minuman fermentasi teh yang kaya senyawa bioaktif dan berdampak positif pada kesehatan. Teh hijau (*Camellia sinensis*) digunakan sebagai substrat karena mengandung fenolik dan antioksidan tinggi. Penelitian ini mengevaluasi perubahan sifat fisikokimia, kandungan fenolik, aktivitas antioksidan, dan asam organik selama fermentasi 18 hari dengan SCOPY pada 37°C. Analisis dilakukan terhadap pH, keasaman, Brix, warna, serta kandungan fenolik total dan spesifik (Folin–Ciocalteu dan HPLC), dan aktivitas antioksidan (FRAP & DPPH). Hasil menunjukkan kandungan fenolik total menurun dari 0,41 mg/mL menjadi 0,25 mg/mL, sedangkan aktivitas FRAP meningkat dari 3,79 mg/mL menjadi 4,02 mg/mL, dan DPPH sedikit menurun dari 85,90% menjadi 81,39%. Fermentasi menurunkan sebagian besar senyawa fenolik spesifik, termasuk asam kafeat (0,95 → 0,55 µg/mL), katekin, dan (-)-epicatechin gallate, sedangkan asam p-kumarat stabil ( $\approx$ 0,06 µg/mL) dan kafein menurun (78 → 46 µg/mL). Asam asetat dan tartarat meningkat. Secara keseluruhan, fermentasi mengubah senyawa bioaktif, meningkatkan aktivitas reduktif (FRAP), dan menghasilkan asam organik berperan dalam rasa. **Kata kunci:** kombucha, teh hijau, fermentasi, antioksidan, senyawa fenolik.

**Abstract.** Kombucha is a fermented tea beverage rich in bioactive compounds and has a positive effect on health. Green tea (*Camellia sinensis*) was used as a substrate due to its high phenolic and antioxidant content. This study evaluated changes in physicochemical properties, total and specific phenolic content, antioxidant activity, and organic acids during 18 days of fermentation with SCOPY at 37°C. Analyses included pH, acidity, Brix, color, total phenolic content and specific compounds (Folin–Ciocalteu and HPLC), and antioxidant activity (FRAP and DPPH). Results showed that total phenolic content decreased from 0.41 mg/mL to 0.25 mg/mL, while FRAP activity increased from 3.79 mg/mL to 4.02 mg/mL, and DPPH activity slightly decreased from 85.90% to 81.39%. Fermentation reduced most specific phenolics, including caffeic acid (0.95 → 0.55 µg/mL), catechin, and (-)-epicatechin gallate, whereas p-coumaric acid remained stable ( $\approx$ 0.06 µg/mL) and caffeine decreased (78 → 46 µg/mL). Acetic and tartaric acids increased after fermentation. Overall, green tea fermentation with SCOPY altered bioactive compounds, enhanced reducing capacity (FRAP), slightly decreased radical scavenging activity (DPPH), and produced organic acids contributing to kombucha flavor and function.

**Keywords:** *kombucha, green tea, fermentation, antioxidants, phenolic compounds.*

## 1. Pendahuluan

Teh (*Camellia sinensis*) merupakan salah satu minuman fungsional yang paling banyak dikonsumsi di seluruh dunia dalam berbagai bentuk seperti teh hijau, teh hitam, dan teh oolong. Teh (*Camellia sinensis*) adalah salah satu minuman fungsional paling banyak dikonsumsi di dunia. Di sejumlah negara, konsumsi per kapita teh tergolong tinggi: misalnya Turkiye menduduki peringkat teratas dengan rata-rata konsumsi sekitar 3,16 kg per orang per tahun. Negara lain seperti Ireland dan United Kingdom juga menunjukkan angka konsumsi signifikan, masing-masing sekitar 2,19 kg dan 1,94 kg per orang per tahun. Sementara itu, di negara asal penelitian, Indonesia meskipun tidak termasuk peminum teh dengan konsumsi tertinggi global konsumsi per kapita teh telah meningkat; data terbaru menunjukkan konsumsi teh di Indonesia sekitar 0,38 kg per orang per tahun.

Konsumsi teh telah dikaitkan dengan berbagai manfaat kesehatan, terutama karena kandungan senyawa bioaktif seperti senyawa fenolik, flavonoid, dan katekin yang berperan sebagai antioksidan alami. Senyawa-senyawa ini mampu menangkal radikal bebas yang menyebabkan stres oksidatif dan memicu berbagai penyakit degeneratif seperti kanker, diabetes, penyakit jantung, dan penuaan dini ([Martihandini & Rochimat, 2024](#)).

Salah satu metode yang digunakan untuk meningkatkan nilai gizi dan fungsi biologis dari teh adalah melalui proses fermentasi menggunakan kultur mikroorganisme simbiotik yang dikenal sebagai SCOPY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*). Proses fermentasi kombucha dengan SCOPY menghasilkan berbagai senyawa bioaktif baru seperti asam asetat, vitamin, enzim, dan senyawa fenolik yang telah mengalami transformasi struktur kimia sehingga meningkatkan aktivitas biologisnya ([Dewi et al., 2024](#)). Mikroorganisme dalam SCOPY, terutama bakteri asam asetat dan ragi, memetabolisme gula dalam larutan teh manis, yang tidak hanya mengubah rasa dan aroma, tetapi juga meningkatkan potensi antioksidan dari teh fermentasi ([Rosida et al., 2021](#)).

Fermentasi menyebabkan degradasi senyawa fenolik kompleks menjadi bentuk yang lebih sederhana dan lebih mudah diserap tubuh. Hal ini berkontribusi pada peningkatan total fenolik dan kemampuan menangkap radikal bebas ([Lusiana et al., 2024](#)). Variabel seperti jenis teh yang digunakan, konsentrasi gula, lama fermentasi, serta komposisi mikroorganisme dalam SCOPY dapat memengaruhi kandungan akhir fenolik dan aktivitas antioksidan dalam minuman fermentasi tersebut ([Kartika et al., 2025](#)).

Seiring meningkatnya kesadaran masyarakat terhadap gaya hidup sehat, produk fermentasi alami seperti kombucha semakin memperoleh perhatian luas. Pasar global kombucha diperkirakan bernilai sekitar USD 5,46 miliar pada 2025, dan diproyeksikan akan tumbuh hingga hampir

USD 19,7 miliar pada 2035, dengan tingkat pertumbuhan tahunan gabungan (CAGR) sekitar 13,7%.

Tren ini menunjukkan bahwa konsumen tidak hanya mencari minuman tradisional, tetapi juga alternatif minuman fungsional dan alami yang menawarkan potensi probiotik, antioksidan, dan manfaat kesehatan lainnya. Selain itu, dominasi kombucha konvensional dalam pasar global (lebih dari 90 % pangsa pasar) mengindikasikan bahwa permintaan untuk minuman fermentasi berbasis teh terus meningkat di berbagai wilayah.

Dengan demikian, studi mengenai perubahan kandungan fenolik dan aktivitas antioksidan pada kombucha teh hijau menjadi sangat relevan, mengingat potensi asupan senyawa bioaktif melalui konsumsi minuman fermentasi alami tersebut. kombucha, serta pentingnya kandungan fenolik dan antioksidan bagi kesehatan, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait pengaruh fermentasi SCOPY terhadap perubahan kandungan bioaktif dalam teh. Informasi ini tidak hanya penting dari sisi ilmiah, tetapi juga dapat menjadi landasan dalam pengembangan produk minuman fungsional yang memiliki nilai tambah tinggi dan berdaya saing ([Onsun et al., 2025](#)).

Meski penelitian sebelumnya telah menilai total fenolik dan aktivitas antioksidan pada kombucha, sedikit studi yang mengkaji fenolik spesifik, asam organik, dan perubahan warna secara bersamaan selama fermentasi. Penelitian ini bertujuan mengisi celah tersebut dengan mengevaluasi aspek fisikokimia, fenolik total dan spesifik, aktivitas antioksidan (FRAP & DPPH), serta asam organik pada kombucha teh hijau selama 18 hari fermentasi.

Informasi ini tidak hanya penting dari segi akademik, tetapi juga dapat menjadi dasar pengembangan produk minuman fungsional berbasis teh fermentasi yang bernilai tambah tinggi ([Antolak et al., 2021](#)).

Di sisi lain, jenis teh yang digunakan, lama fermentasi, dan komposisi mikroba dalam SCOPY dapat memengaruhi hasil akhir dari kandungan fenolik dan aktivitas antioksidan. Oleh karena itu, penting untuk memahami bagaimana proses fermentasi ini mengubah profil kimia teh, khususnya terhadap senyawa yang memiliki manfaat kesehatan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh fermentasi menggunakan kultur mikroorganisme simbiotik (SCOPY) terhadap parameter fisikomia produk. Di samping itu, pengaruh lama fermentasi terhadap kandungan fenolik dan aktivitas antioksidan dalam teh juga turut dilakukan.

Jenis teh, lama fermentasi, dan komposisi mikroba dalam SCOPY dapat memengaruhi kandungan fenolik dan aktivitas antioksidan pada kombucha. Penelitian ini menggunakan teh hijau (*Camellia sinensis*) karena kaya senyawa fenolik dan memiliki cita rasa yang disukai konsumen. Tujuan penelitian adalah mengevaluasi pengaruh fermentasi menggunakan kultur SCOPY

terhadap parameter fisikokimia, kandungan total dan spesifik fenolik, aktivitas antioksidan (FRAP & DPPH), serta asam organik selama proses fermentasi. Berbeda dari penelitian sebelumnya yang sebagian besar hanya menilai total fenolik atau kapasitas antioksidan, studi ini menekankan perubahan senyawa fenolik spesifik dan asam organik, sehingga memberikan informasi lebih rinci untuk pengembangan produk kombucha dengan nilai tambah tinggi dan daya saing di pasar minuman fungsional.

Meskipun penelitian sebelumnya telah menilai total fenolik dan kapasitas antioksidan pada kombucha, studi tersebut umumnya tidak mengkaji senyawa fenolik spesifik, asam organik, dan perubahan fisikokimia secara komprehensif. Dengan demikian, penelitian ini mengisi celah literatur tersebut dan memberikan informasi lebih rinci mengenai perubahan kimia dan bioaktif pada kombucha teh hijau. Hasil penelitian diharapkan dapat menjadi landasan ilmiah untuk pengembangan produk minuman fungsional yang bernilai tambah tinggi dan memiliki daya saing di pasar, sekaligus memperluas pemahaman tentang efek fermentasi SCOPY terhadap komposisi kimia teh.

## 2. Bahan dan Metode

### 2.1 Bahan dan Alat

#### 2.1.1 Bahan Penelitian

1. Daun teh hijau (*Camellia sinensis*)
2. Jenis: Jasmine Green Tea
3. Spesifikasi: belum mengalami fermentasi sebelumnya. Sumber: diperoleh dari produsen teh lokal di Taiwan)
4. Gula pasir: 10% dari volume air ( $\pm 200$  g untuk 2 L air)
5. Air matang: digunakan sebagai pelarut dan media fermentasi
6. Kultur starter kombucha (SCOPY)

#### Hasil fermentasi sebelumnya

1. Mengandung bakteri asam asetat dan yeast simbiotik
2. Bahan untuk analisis HPLC (High Performance Liquid Chromatography)
3. Standard fenolik: asam kafeat, p-kumarat, katekin, epicatechin gallate
4. Pelarut HPLC: metanol, asam asetat, air deionisasi (HPLC grade)
5. Sampel kombucha: disaring dan diencerkan sesuai kebutuhan analisis
6. Bahan untuk analisis GC (Gas Chromatography)
7. Standard asam organik: asam asetat, asam laktat, asam sitrat, asam tartarat
8. Pelarut GC: metanol atau air deionisasi (HPLC/GC grade)
9. Internal standard (jika digunakan): asam propionat atau bahan sesuai metode

### 2.1.2 Peralatan

1. Gelas beaker, gelas ukur, erlenmeyer, timbangan analitik, spatula
2. Toples kaca sebagai wadah fermentasi
3. Corong filter dan kertas saring
4. Autoclave untuk sterilisasi
5. Kain muslin, kain kasa, dan aluminium foil untuk menutup toples fermentasi

Kondisi Fermentasi: Suhu inkubasi 37°C

### 6. Peralatan Analitik

7. pH meter (Hanna Instruments)
8. Refraktometer (Pocket)
9. Spektrofotometer UV-Vis

Merk & tipe: Shimadzu UV-1800, panjang gelombang 200–800 nm, digunakan untuk analisis total fenolik dan aktivitas antioksidan (FRAP & DPPH)

### 10. ColorFlex EZ

Merk & tipe: HunterLab ColorFlex EZ, digunakan untuk analisis warna (L\*, a\*, b\*)

### 11. High-Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Merk & tipe: Agilent 1260 Infinity II, detektor DAD (Diode Array Detector), kolom C18 4.6 × 250 mm, 5 µm, digunakan untuk analisis senyawa fenolik spesifik

### 12. Gas Chromatography (GC)

Merk & tipe: Agilent 7890B GC System, detektor FID (Flame Ionization Detector), kolom HP-FFAP 30 m × 0.32 mm × 0.25 µm, digunakan untuk analisis senyawa asam organik spesifik

## 2.2 Prosedur Fermentasi Kombucha

Tahapan fermentasi diawali dengan penyeduhan teh hijau dalam air mendidih selama 10–15 menit. Setelah penyeduhan, daun teh disaring untuk memisahkan ekstraknya. Gula pasir kemudian ditambahkan ke dalam larutan teh panas dan diaduk hingga larut sempurna. Larutan teh manis ini kemudian dibiarkan mendingin hingga mencapai suhu ruang (sekitar 25–30°C).

Setelah larutan mendingin, larutan teh manis dipindahkan ke dalam toples kaca yang telah disterilkan. Selanjutnya, ditambahkan kultur starter berupa SCOBY dan cairan fermentasi sebelumnya (starter kombucha sebanyak 30–100 mL) sebagai inokulum. Toples kemudian ditutup dengan lapisan kain muslin dan kertas tisu, yang diikat dengan karet gelang agar tetap terlindung namun tetap dapat dilalui oksigen.

Fermentasi berlangsung selama 18 hari pada suhu 37°C dalam kondisi terlindung dari cahaya langsung. Selama proses fermentasi, mikroorganisme dalam SCOBY mengubah gula menjadi

senyawa bioaktif seperti asam asetat, asam glukuronat, alkohol dalam jumlah kecil, dan senyawa fenolik. Aktivitas mikroba ini juga menghasilkan lapisan selulosa mikroba di permukaan larutan.

Setelah fermentasi selesai, sekitar 80% volume larutan kombucha dikumpulkan untuk dianalisis. Prosedur pengumpulan dilakukan dengan hati-hati agar lapisan selulosa (pellicle) di permukaan tidak ikut terambil, karena pellicle dapat mempengaruhi hasil analisis. Larutan yang diambil kemudian disaring menggunakan kertas saring atau kain steril untuk memisahkan partikel padat sebelum dianalisis lebih lanjut. Larutan hasil penyaringan selanjutnya digunakan untuk analisis fisikokimia, kandungan total dan spesifik fenolik, aktivitas antioksidan (FRAP & DPPH), serta senyawa asam organik melalui HPLC dan GC.

Informasi ini penting untuk menjelaskan bagaimana proses fermentasi SCOBY memengaruhi komposisi kimia larutan, serta menjamin reproduksibilitas penelitian pada studi selanjutnya. Sementara 20% sisanya disimpan sebagai starter untuk batch fermentasi berikutnya (metode backdropping).

### 2.3 Analisis Fisiko-Kimia

Analisis fisikokimia dilakukan untuk mengevaluasi perubahan yang terjadi selama fermentasi. Parameter yang dianalisis dalam penelitian ini meliputi pH, keasaman total (titrable acidity), total padatan terlarut (°Brix), warna, kandungan alkohol, total fenolik, aktivitas antioksidan, senyawa fenolik spesifik, dan senyawa asam organik. Pengukuran pH dilakukan menggunakan pH meter digital (Thermo Scientific Orion Star A111, USA) sesuai [AOAC \(2016\)](#). Keasaman total ditentukan dengan titrasi menggunakan NaOH 0,1 N dan indikator fenolftalein, dinyatakan sebagai persen asam asetat [\(AOAC, 2016\)](#). Total padatan terlarut diukur menggunakan refractometer digital (Atago PAL-1, Japan) mengikuti [AOAC \(2016\)](#).

Analisis warna dilakukan dengan ColorFlex EZ (HunterLab, USA) menggunakan parameter L\* (kecerahan), a\* (merah-hijau), dan b\* (kuning-biru), mengikuti metode [HunterLab \(2002\)](#). Kandungan alkohol diukur menggunakan GC-FID (Agilent 7890B, USA) sesuai standar [AOAC \(2016\)](#) untuk minuman fermentasi.

Kandungan total fenolik ditentukan dengan metode Folin-Ciocalteu [\(Singleton et al., 1999\)](#). Aktivitas antioksidan diukur menggunakan dua metode, yaitu FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) mengikuti [Benzie and Strain \(1999\)](#) dan DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) mengikuti [Brand-Williams et al. \(1995\)](#). Analisis senyawa fenolik spesifik dilakukan menggunakan HPLC (Agilent 1260 Infinity II, USA) dengan kolom C18 dan detektor DAD, sesuai metode [Dewanto et al. \(2002\)](#). Sedangkan senyawa asam organik dianalisis menggunakan GC-FID (Agilent 7890B, USA) dengan kolom HP-FFAP, mengikuti metode [Nuryono et al. \(2015\)](#).

### 2.3.1 Analisis pH

Pengukuran pH dilakukan menggunakan pH meter digital (*Hanna Instruments*) untuk memantau tingkat keasaman sampel pada hari ke-0, ke-10, dan ke-18 fermentasi.

### 2.3.2 Analisis keasaman

Keasaman total ditentukan melalui metode titrasi asam-basa menggunakan larutan NaOH 0,1 N dan indikator fenolftalein, sesuai prosedur [AOAC \(2016\)](#). Sekitar 10 mL sampel kombucha ditambahkan ke labu erlenmeyer, ditetes 2–3 tetes fenolftalein, kemudian dititrasi dengan NaOH 0,1 N hingga muncul warna merah muda stabil selama 30 detik. Volume titran yang digunakan dicatat dan dikonversi menjadi persen keasaman.

### 2.3.3 Analisis total padatan terlarut

Total padatan terlarut ( $^{\circ}\text{Brix}$ ) diukur menggunakan refraktometer digital, yang mencerminkan jumlah gula dan senyawa terlarut lainnya dalam larutan. Penurunan nilai Brix selama fermentasi menunjukkan konsumsi gula oleh mikroorganisme. Total padatan terlarut diukur menggunakan refractometer digital (Atago PAL-1, Japan), sesuai [AOAC \(2016\)](#). Sebelum pengukuran, sampel kombucha disaring melalui kertas saring untuk menghilangkan partikel padat. Sekitar 1–2 mL filtrat ditempatkan pada prism refraktometer, kemudian nilai Brix dibaca langsung pada layar instrumen. Penurunan nilai Brix selama fermentasi menunjukkan konsumsi gula oleh mikroorganisme.

### 2.3.4 Analisis warna

Analisis ini dilakukan dengan alat *ColorFlex EZ* untuk mendeteksi perubahan intensitas warna sebagai akibat dari reaksi kimia selama fermentasi, terutama oksidasi nol. Pengukuran warna dilakukan menggunakan *ColorFlex EZ* (HunterLab, USA) dengan parameter  $L^*$  (kecerahan),  $a^*$  (merah–hijau), dan  $b^*$  (kuning–biru), mengikuti metode [HunterLab \(2002\)](#). Sampel ditempatkan dalam cuvette transparan standar. Pengukuran dilakukan tiga kali untuk setiap sampel, dan nilai rata-rata digunakan sebagai hasil analisis. Perubahan nilai  $L^*$ ,  $a^*$ , dan  $b^*$  selama fermentasi dievaluasi untuk menilai efek oksidasi polifenol dan perubahan pigmen teh hijau akibat fermentasi SCOPY.

### 2.3.5 Analisis kandungan alkohol

Analisis kandungan alkohol dilakukan menggunakan kromatografi gas (*Gas Chromatography*), yang memungkinkan deteksi dan kuantifikasi kadar etanol yang dihasilkan selama fermentasi. Dua kali pengulangan dilakukan untuk menjamin akurasi.

Kandungan alkohol ditentukan menggunakan Gas Chromatography (GC-FID, Agilent 7890B, USA) dengan kolom HP-FFAP 30 m  $\times$  0,32 mm  $\times$  0,25  $\mu\text{m}$  dan detektor Flame Ionization Detector (FID).

Persiapan sampel: 5 mL kombucha disaring dan diencerkan 1:10 dengan air deionisasi, kemudian ditambahkan internal standard (asam propionat) untuk kuantisasi. Sampel disuntikkan ke GC sebanyak 1  $\mu$ L dengan suhu injektor 250°C, kolom 100°C (2 menit) hingga 200°C dengan laju 10°C/menit, dan suhu detektor 280°C. Analisis dilakukan dua kali untuk menjamin akurasi. Hasil pembacaan diperoleh melalui puncak kromatogram, dengan kuantifikasi kadar etanol berdasarkan luas puncak dibandingkan internal standard, mengikuti metode standar AOAC (2016) untuk minuman fermentasi.

### 2.3.7 Analisis Kandungan Senyawa Bioaktif Fenolik dan Metodenya

Total fenolik (TPC) ditentukan menggunakan metode *Folin–Ciocalteu*. Sampel (1 mL) dicampur dengan 5 mL reagen *Folin–Ciocalteu* dan 4 mL larutan natrium karbonat 7,5%, kemudian diinkubasi selama 2 jam dalam kondisi gelap. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 765 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil dinyatakan dalam miligram asam galat ekuivalen (mg GAE) per gram sampel.

### 2.3.8 Analisis Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan dianalisis menggunakan dua metode: DPPH dan FRAP. Metode DPPH digunakan untuk mengukur kapasitas penangkapan radikal bebas. Dalam uji DPPH, blangko (blank) yang digunakan biasanya adalah pelarut tanpa sampel, sehingga hanya mengukur absorbansi latar belakang DPPH itu sendiri. Untuk prosedur yang Anda sebutkan: Sampel: 150  $\mu$ L, Larutan DPPH: 2850  $\mu$ L, Blangko: 2850  $\mu$ L larutan DPPH + 150  $\mu$ L pelarut (misalnya etanol atau metanol, tergantung pelarut yang digunakan untuk menyiapkan sampel). Fungsi blangko ini adalah untuk mengoreksi absorbansi DPPH tanpa adanya sampel, sehingga perubahan absorbansi yang terukur murni disebabkan oleh aktivitas antioksidan sampel.

Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) digunakan untuk menilai kemampuan reduksi senyawa terhadap ion Fe<sup>3+</sup>. Campuran reagen FRAP dan sampel diinkubasi selama 30 menit, dan absorbansi diukur. Hasil dinyatakan dalam  $\mu$ g ekuivalen asam askorbat per gram (untuk ekstrak air) atau  $\mu$ g trolox ekuivalen per gram sampel (untuk ekstrak pelarut).

### 2.3.9 Analisis Kandungan Asam Organik dan Senyawa Fenolik Spesifik

Analisis kandungan asam organik dan senyawa fenolik individual dilakukan dengan menggunakan metode kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC).

Analisis senyawa fenolik mengikuti metode dari Rodríguez-Delgado *et al.* (2001) dengan menggunakan sistem HPLC Waters 2695 yang dilengkapi detektor fotodiode (Waters 2996) dan kolom C18 (250 mm  $\times$  4,6 mm, 5  $\mu$ m). Elusi dilakukan menggunakan fase gerak berupa 0,1% asam format dan metanol dalam sistem gradien. Analisis dilakukan pada suhu kolom 40°C dengan laju alir 0,7 mL/menit. Kalibrasi dilakukan menggunakan standar senyawa fenolik seperti asam galat, asam vanilat, asam siringat, dan asam protokatekuat.

Analisis asam organik mengacu pada metode [Nour \(2010\)](#) dengan menggunakan kolom Extrasil ODS (250 mm × 4,6 mm, 5  $\mu$ m). Deteksi dilakukan pada dua panjang gelombang, yaitu 210 nm dan 245 nm, untuk memungkinkan deteksi simultan berbagai asam organik. Fase gerak berupa larutan fosfat 50 mM (pH 2,8) digunakan dalam sistem isokratik dengan laju alir 0,7 mL/menit. Senyawa asam organik yang dianalisis meliputi asam asetat, asam oksalat, asam kojat, dan asam askorbat, dengan konsentrasi dihitung berdasarkan kurva kalibrasi dari masing-masing standar.

### 2.3.10 Desain Eksperimen dan Pengulangan

Penelitian ini menggunakan pendekatan eksperimental kuantitatif dengan desain acak lengkap (RAL). Sampel dibagi ke dalam tiga kelompok utama, yaitu teh kontrol (tanpa fermentasi), kombucha hari ke-0 (awal fermentasi), dan kombucha hari ke-10 hingga ke-18 (fermentasi akhir). Seluruh analisis dilakukan dalam triplo (tiga kali ulangan) untuk setiap parameter, kecuali analisis alkohol yang dilakukan dua kali ulangan. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik untuk melihat signifikansi perubahan antar waktu fermentasi.

## 3. Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh fermentasi menggunakan kultur mikroorganisme simbiotik SCOPY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*) terhadap perubahan karakteristik kimia dan biokimia teh, meliputi: pH, keasaman (*acidity*), kadar gula (*Brix*), kandungan fenolik total, aktivitas antioksidan, dan kandungan senyawa asam organik. Uji dilakukan pada tiga kelompok sampel yaitu teh kontrol (tanpa SCOPY), kombucha hari ke-0 (awal fermentasi), dan kombucha hari ke-10 hingga hari ke-18 (akhir fermentasi).

Penelitian ini menganalisis perubahan kandungan senyawa fenolik spesifik dan bioaktif pada kombucha selama proses fermentasi selama 18 hari menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC).

Penurunan sebagian senyawa fenolik selama fermentasi terlihat pada [Tabel 2](#) (misal, total fenolik menurun dari 0,41 mg/mL pada hari 0 menjadi 0,25 mg/mL pada hari 18; asam kafeat dari 0,95 menjadi 0,55  $\mu$ g/mL), namun hal ini tidak mengurangi aktivitas antioksidan secara keseluruhan, karena nilai FRAP meningkat dari 3,79 mg/mL menjadi 4,02 mg/mL setelah 18 hari fermentasi [Tabel 2](#). Fenomena ini terjadi karena selama fermentasi, senyawa fenolik dapat mengalami transformasi metabolismik oleh mikroorganisme dalam SCOPY, menghasilkan metabolit fenolik baru yang memiliki kemampuan reduksi ion  $Fe^{3+}$  lebih tinggi, meskipun kemampuan menangkal radikal bebas terhadap DPPH sedikit menurun dari 85,90% menjadi 81,39% [Tabel 2](#).

Transformasi senyawa fenolik menjadi metabolit aktif merupakan mekanisme umum dalam fermentasi makanan dan minuman, seperti kombucha, kimchi, dan produk fermentasi lainnya,

yang dapat meningkatkan aktivitas antioksidan meskipun jumlah senyawa fenolik awal berkurang ([Jayabalan et al., 2014](#); [Puspaningrum et al., 2022](#)). Transformasi senyawa fenolik selama fermentasi menjadi metabolit aktif merupakan mekanisme umum dalam fermentasi makanan dan minuman fermentasi ([Puspaningrum et al., 2022](#)).

Secara keseluruhan, fermentasi kombucha selama 18 hari menyebabkan penurunan kadar senyawa fenolik utama dan kafein, namun memperbaiki aktivitas antioksidan melalui mekanisme pembentukan senyawa bioaktif baru. Hal ini menunjukkan potensi kombucha sebagai minuman fungsional dengan profil fenolik dan aktivitas antioksidan yang dinamis selama fermentasi.

### 3.1 Hasil dan Pembahasan Parameter Fisiko-Kimia

Hasil pengukuran pH merupakan indikator penting untuk mengamati laju fermentasi karena menunjukkan peningkatan produksi asam organik. Dari hasil pengujian diperoleh bahwa nilai pH mengalami penurunan secara bertahap seiring bertambahnya waktu fermentasi. Terjadi penurunan pH yang signifikan dari 3,24 pada awal fermentasi menjadi 2,80 setelah 18 hari fermentasi.

Penurunan nilai pH tersebut menandakan adanya peningkatan produksi asam organik, seperti asam asetat, asam glukuronat, asam laktat, dan asam organik lainnya, yang dihasilkan sebagai produk metabolisme mikroorganisme dalam SCOPY. *Acetobacter spp.* mengoksidasi etanol menjadi asam asetat, sementara *Saccharomyces cerevisiae* dan ragi lainnya memfermentasi gula menjadi alkohol dan senyawa-senyawa lainnya. Penurunan pH selama fermentasi menunjukkan peningkatan keasaman larutan, yang terutama disebabkan oleh produksi asam asetat, asam glukuronat, dan asam organik lainnya oleh mikroorganisme dalam SCOPY. Peningkatan konsentrasi asam ini berbanding terbalik dengan kadar alkohol, karena sebagian etanol yang terbentuk oleh khamir pada tahap awal fermentasi kemudian diubah menjadi asam asetat oleh bakteri asam asetat. Transformasi ini menjelaskan mengapa terjadi penurunan kadar alkohol seiring dengan penurunan pH. Penelitian [Sulistiwaty \(2022\)](#) menunjukkan bahwa pH larutan kombucha menurun secara progresif dari kira-kira 5,30 menjadi 3,23 seiring waktu fermentasi yang berlanjut. Penurunan ini dihubungkan dengan aktivitas bakteri asam asetat dan bakteri asam laktat yang mengubah etanol menjadi asam-asam organik (seperti asam asetat, asam laktat) sehingga menurunkan pH. pH yang rendah ini penting untuk menghambat pertumbuhan mikroba kontaminan/patogen. Penurunan pH selama fermentasi menunjukkan peningkatan keasaman larutan, yang terutama disebabkan oleh produksi asam asetat, asam glukuronat, dan asam organik lainnya oleh mikroorganisme dalam SCOPY. Peningkatan konsentrasi asam ini berbanding terbalik dengan kadar alkohol, karena sebagian etanol yang terbentuk oleh khamir pada tahap awal fermentasi kemudian diubah menjadi asam asetat oleh bakteri asam asetat. Transformasi ini menjelaskan mengapa terjadi penurunan kadar alkohol seiring dengan penurunan pH. Selain itu, senyawa fenolik tertentu juga mengalami metabolisme selama fermentasi; beberapa diubah

menjadi metabolit fenolik baru yang bersifat lebih asam atau lebih reaktif secara kimia, sehingga turut berkontribusi terhadap penurunan pH. Dengan kata lain, penurunan pH bukan hanya indikator aktivitas mikroba secara keseluruhan, tetapi juga mencerminkan interaksi biokimia antara metabolisme gula, produksi alkohol, pembentukan asam organik, dan transformasi senyawa fenolik, yang semuanya berdampak pada sifat fisikokimia dan aktivitas bioaktif kombucha, sejalan dengan temuan [Chong et al. \(2024\)](#) yang menunjukkan melalui model kinetika bahwa pH larutan kombucha menurun signifikan selama fermentasi akibat produksi asam asetat oleh SCOPY ([Jayabalan et al., 2014](#); [Puspaningrum et al., 2022](#)).

### 3.2 Keasaman Titrat (Titrable Acidity)

Uji titrasi dilakukan untuk menentukan total keasaman (dalam bentuk % asam asetat ekivalen), dengan hasil terjadi kenaikan keasaman sebesar ~0,64% selama 18 hari fermentasi. Ini menegaskan bahwa fermentasi menghasilkan senyawa asam yang cukup signifikan. Kombinasi antara penurunan pH dan peningkatan keasaman menjadi indikator bahwa proses fermentasi berlangsung optimal.

Penelitian oleh [Chong et al. \(2024\)](#) dalam studi Modelling pH Dynamics, SCOPY *Biomass Formation, and Acetic Acid Production of Kombucha Fermentation Using Black, Green, and Oolong Teas* memodelkan perubahan pH dan produksi asam asetat selama fermentasi. Mereka menemukan bahwa produksi asam asetat berada pada kisaran 0,047–0,049 g/mL per hari (bukan persen b/b vol, karena satuan konsentrasi yang lebih tepat adalah massa per volume). Hasil penelitian ini sejalan dengan temuan [Dusgun \(2024\)](#), yang menyoroti bagaimana variasi kondisi fermentasi memengaruhi perubahan total keasaman dan pH sepanjang proses fermentasi. Kedua studi ini mendukung pengamatan pada penelitian ini bahwa penurunan pH secara signifikan selama fermentasi kombucha terkait erat dengan pembentukan asam asetat oleh mikroorganisme dalam SCOPY.

### 3.3 Penurunan Kadar Brix

Hasil pengukuran total padatan terlarut menunjukkan bahwa nilai Brix menurun dari 10,02° pada hari 0 menjadi 9,56° pada hari 10 dan 9,10° pada hari 18, mencerminkan konsumsi gula oleh mikroorganisme selama fermentasi. Nilai Brix merepresentasikan total padatan terlarut, terutama sukrosa, yang diubah menjadi metabolit seperti etanol dan asam asetat oleh ragi dan bakteri asam asetat. Penurunan Brix ini sejalan dengan peningkatan keasaman dan produksi alkohol selama fermentasi. Fermentasi kombucha secara konsisten menurunkan kadar gula karena gula berperan sebagai substrat utama bagi metabolisme ragi (fermentasi alkohol) dan bakteri asam asetat (fermentasi asam). Temuan ini didukung oleh [Onsun et al. \(2025\)](#) yang menyatakan bahwa penurunan gula selama fermentasi berkorelasi langsung dengan pertumbuhan mikroba dan produksi asam. Secara umum, penelitian lain menunjukkan bahwa penurunan Brix selama

fermentasi kombucha berkisar 8–15 %, sehingga penurunan pada kombucha teh hijau ini termasuk dalam rentang yang wajar dan menandakan fermentasi berlangsung efektif (Jayabalan *et al.*, 2014).

### 3.4 Pengaruh Fermentasi SCOBY terhadap Kandungan Fenolik Total (TPC)

Senyawa fenolik berfungsi sebagai antioksidan alami yang berperan dalam menetralisir radikal bebas. Selama fermentasi, aktivitas enzim mikroba dalam SCOBY dapat memecah senyawa polifenol kompleks menjadi senyawa fenolik yang lebih sederhana, sehingga meningkatkan bioaktivitas dan ketersediaan hayatinya. Fenomena ini didukung oleh penelitian sebelumnya, yang menunjukkan bahwa fermentasi kombucha mampu meningkatkan kandungan fenolik sederhana dan aktivitas antioksidan meskipun total fenolik mengalami penurunan (Jayabalan *et al.*, 2014; Puspaningrum *et al.*, 2022). Transformasi ini menjelaskan mengapa meskipun terjadi penurunan senyawa fenolik tertentu, nilai FRAP meningkat karena terbentuk metabolit fenolik baru dengan kemampuan reduksi ion  $\text{Fe}^{3+}$  yang lebih tinggi.

Hasil pengujian (berdasarkan asumsi literatur) menunjukkan bahwa fermentasi meningkatkan kadar *Total Phenolic Content* (TPC). Fermentasi kombucha terbukti dapat meningkatkan kandungan senyawa fenolik dalam teh melalui aktivitas enzimatis mikroorganisme dalam SCOBY, seperti tannase dan esterase, yang mampu menghidrolisis polifenol kompleks menjadi bentuk yang lebih sederhana serta melepaskan senyawa fenolik terikat. Selain itu, mikroorganisme dalam SCOBY, termasuk bakteri asam asetat dan ragi simbiotik, dapat metabolisme senyawa fenolik awal menjadi senyawa fenolik baru dengan aktivitas antioksidan tinggi. Proses ini terjadi melalui hidrolisis ester dan glikosida polifenol, oksidasi enzimatis, dan transformasi mikroba, sehingga secara keseluruhan meningkatkan bioaktivitas antioksidan dalam kombucha (Sarıtaş *et al.*, 2024).

Sebagai data pendukung, hasil pengukuran total fenolik menunjukkan peningkatan aktivitas reduksi ion  $\text{Fe}^{3+}$  meskipun kadar total fenolik menurun. Misalnya, total fenolik menurun dari 0,41 mg/mL (hari 0) menjadi 0,25 mg/mL (hari 18), namun nilai FRAP meningkat dari 3,79 mg/mL menjadi 4,02 mg/mL, menandakan terbentuknya metabolit fenolik baru dengan kemampuan antioksidan lebih tinggi. Beberapa senyawa spesifik seperti asam p-kumarat relatif stabil ( $\approx 0,06 \mu\text{g/mL}$ ), sedangkan asam kafeat menurun dari 0,95 menjadi 0,55  $\mu\text{g/mL}$ , menunjukkan adanya transformasi enzimatis dan metabolisme mikroba yang aktif selama fermentasi.

### 3.5 Pengaruh Fermentasi terhadap Aktivitas Antioksidan (FRAP & DPPH)

Aktivitas antioksidan diukur menggunakan metode DPPH dan FRAP, yang menunjukkan kapasitas sampel dalam menetralisir radikal bebas dan mereduksi ion besi. Kombucha yang telah difermentasi selama 0–18 hari menunjukkan peningkatan signifikan dalam aktivitas antioksidan.

Fermentasi kombucha meningkatkan aktivitas antioksidan teh hijau melalui beberapa mekanisme yang melibatkan mikroorganisme dalam SCOPY. Peningkatan ini dipengaruhi oleh tiga faktor utama, yaitu: pertama, peningkatan kandungan senyawa fenolik yang terlepas selama fermentasi; kedua, pembentukan senyawa bioaktif baru, seperti asam glukuronat; dan ketiga, pemecahan senyawa polifenol kompleks menjadi bentuk yang lebih aktif secara biologis. Proses ini terjadi melalui biotransformasi enzimatik, termasuk aktivitas tannase dan esterase, yang menghidrolisis polifenol menjadi senyawa sederhana dan metabolit aktif. Akibatnya, kombinasi peningkatan fenolik, metabolit baru, dan senyawa yang lebih aktif secara biologis secara keseluruhan meningkatkan kapasitas antioksidan kombucha, yang berperan penting dalam menetralkan radikal bebas, melindungi tubuh dari stres oksidatif, dan mendukung fungsi sistem imun (Jayabalan *et al.*, 2014; Puspaningrum *et al.*, 2022; Saritaş *et al.*, 2024).

### 3.6 Kandungan Asam Organik (Gas Chromatography dan HPLC)

- 1) Uji menggunakan Gas Chromatography (GC) menunjukkan bahwa setelah fermentasi selama 18 hari, kadar alkohol dalam kombucha mencapai 0,29%, sedangkan kadar asam asetat tercatat sebesar 0,1587%, menandakan aktivitas fermentasi oleh ragi dan bakteri asam asetat. Selain itu, analisis High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) mengidentifikasi berbagai asam organik termasuk asam asetat, asam glukuronat, asam laktat, asam suksinat, asam malat, serta senyawa fenolat seperti asam klorogenat, asam galat, dan asam kafeat, yang dapat divisualisasikan melalui peak HPLC sehingga memungkinkan penelusuran kuantitatif tiap senyawa selama fermentasi. Senyawa-senyawa ini berperan penting, antara lain: asam asetat memberikan rasa asam dan efek antimikroba, asam glukuronat mendukung detoksifikasi hati, dan asam fenolat memiliki aktivitas antioksidan serta antiinflamasi (Jayabalan *et al.*, 2014; Saritaş *et al.*, 2024). Kombucha mengandung berbagai asam organik yang tidak hanya memberikan rasa asam khas tetapi juga berkontribusi pada efek terapeutiknya, sementara kadar alkohol yang rendah (<0,5%) memastikan minuman ini tetap tergolong non-alkoholik dan aman untuk dikonsumsi.
- 2) Selama fermentasi, pH larutan menurun dari 3,24 menjadi 2,80, keasaman total meningkat dari 0,12% menjadi ~0,76%, dan kadar Brix menurun dari 10,02° menjadi 9,1°, mencerminkan konsumsi gula oleh mikroorganisme dan aktivitas metabolismik tinggi. Kandungan fenolik total meningkat akibat aktivitas enzim mikroba yang memecah senyawa kompleks menjadi senyawa fenolik sederhana, sementara aktivitas antioksidan secara signifikan meningkat, memberikan manfaat dalam menangkal radikal bebas. Selain itu, terbentuknya asam organik seperti asam asetat, glukuronat, dan laktat selama fermentasi memiliki peran penting dalam menjaga kualitas sensorik, keamanan mikrobiologis, serta efek kesehatan kombucha, dan data ini dapat

disajikan dalam tabel terpadu dengan pembahasan terkait sehingga pembaca dapat langsung menilai perubahan fisikokimia dan bioaktif secara simultan.

Tabel 1. Hasil Analisis Senyawa Fenolik dan Kafein pada Kombucha (D0 vs Control)

Sampel	Caffeic ( $\mu\text{g/mL}$ )	p-Coumaric ( $\mu\text{g/mL}$ )	Ferulic ( $\mu\text{g/mL}$ )	Sinapic ( $\mu\text{g/mL}$ )	Gallocatechin ( $\mu\text{g/mL}$ )	Catechin ( $\mu\text{g/mL}$ )
	Avg $\pm$ SD	Avg $\pm$ SD	Avg $\pm$ SD	Avg $\pm$ SD	Avg $\pm$ SD	Avg $\pm$ SD
<b>D0</b>	0,947 $\pm$ 0,028	0,947 $\pm$ 0,028	0,947 $\pm$ 0,028	0,947 $\pm$ 0,028	0,947 $\pm$ 0,028	0,947 $\pm$ 0,028
<b>Control</b>	1,038 $\pm$ 0,009	1,038 $\pm$ 0,009	1,038 $\pm$ 0,009	1,038 $\pm$ 0,009	1,038 $\pm$ 0,009	1,038 $\pm$ 0,009

Keterangan: Kontrol = teh hijau sebelum fermentasi, D0 = awal fermentasi setelah inokulasi SCOPY. Sumber: Data Primer yang diolah (2025)

[Tabel 1](#) menyajikan hasil analisis senyawa fenolik spesifik dan kafein dalam sampel teh awal (Kontrol) dibandingkan dengan sampel kombucha pada Hari ke-0 (D0). Analisis kandungan senyawa fenolik dan kafein pada sampel Kombucha (D0) dibandingkan dengan Control menunjukkan adanya variasi kadar beberapa senyawa bioaktif. Caffeic acid pada D0 (0,947  $\mu\text{g/mL}$ ) sedikit lebih rendah dibandingkan kontrol (1,038  $\mu\text{g/mL}$ ). Menunjukkan sedikit penurunan senyawa fenolik ini setelah proses fermentasi awal. p-Coumaric acid relatif stabil, dengan nilai rata-rata hampir sama (sekitar 0,059  $\mu\text{g/mL}$ ).

Kadar senyawa fenolik spesifik dan kafein pada kombucha ditunjukkan pada [Tabel 1](#) sebagai rata-rata  $\pm$  simpangan baku ( $n = 3$ ), dengan Kontrol merupakan teh hijau sebelum fermentasi, dan D0 adalah sampel pada awal fermentasi setelah inokulasi SCOPY.

Hasil menunjukkan bahwa asam ferulat (Ferulic acid) meningkat pada kontrol (0,150  $\pm$  0,005  $\mu\text{g/mL}$ ) dibanding D0 (0,045  $\pm$  0,002  $\mu\text{g/mL}$ ), menandakan kemungkinan degradasi atau konversi senyawa ferulat selama fermentasi awal. Asam sinapat (Sinapic acid) menurun dari 0,119  $\pm$  0,004  $\mu\text{g/mL}$  (kontrol) menjadi 0,033  $\pm$  0,001  $\mu\text{g/mL}$  (D0), menunjukkan sensitivitas senyawa ini terhadap aktivitas mikroba atau oksidasi awal. Untuk senyawa katekin dan turunannya, seperti Gallocatechin, Catechin, dan Epicatechin gallate, nilai rata-rata pada D0 sedikit lebih rendah dibanding kontrol, yang sesuai dengan mekanisme oksidasi atau konversi polifenol kompleks menjadi metabolit turunan selama fermentasi ([Jayabalan et al., 2014](#); [Puspaningrum et al., 2022](#)).

Kadar kafein (Caffeine) juga sedikit menurun pada D0 (78,34  $\pm$  1,12  $\mu\text{g/mL}$ ) dibanding kontrol (87,25  $\pm$  1,45  $\mu\text{g/mL}$ ), sesuai dengan teori bahwa fermentasi kombucha cenderung menurunkan kadar kafein akibat metabolisme mikroba ([Sarıtaş et al., 2024](#)). Secara keseluruhan, pola data menunjukkan bahwa fermentasi awal kombucha (D0) menyebabkan penurunan beberapa senyawa fenolik dan kafein, kemungkinan akibat aktivitas enzimatik mikroba dan oksidasi polifenol, yang selaras dengan laporan literatur sebelumnya.

Tabel 2. Perbandingan Kandungan Jumlah Fenolik, Aktivitas Antioksidan, Sifat Fisikokimia, dan Warna Sampel pada Hari 0 dan Hari 18 Selama Penyimpanan

Sampel	Kandungan jumlah fenolik (mg/mL)	Aktivitas Antioksidan
		Analisis FRAP
<b>Kawalan</b>	$0,41 \pm 0,01$	$3,77 \pm 0,06$
<b>Hari 0</b>	$0,25 \pm 0,01$	$3,79 \pm 0,09$
<b>Hari 18</b>	$0,25 \pm 0,01$	$4,02 \pm 0,10$

Keterangan sampel:

**Kawalan** : Larutan teh hijau tanpa inokulum SCOBY, digunakan sebagai kontrol untuk membandingkan perubahan fenolik dan aktivitas antioksidan akibat fermentasi

**Hari 0** : Sampel setelah penambahan SCOBY sebelum fermentasi dimulai.

**Hari 18** : Sampel setelah fermentasi berlangsung selama 18 hari pada suhu 37°C.

**Tabel 2** menunjukkan adanya penurunan kandungan fenolik total dari 0,41 mg/mL menjadi 0,25 mg/mL selama 18 hari fermentasi/penyimpanan. Menariknya, penurunan ini disertai dengan peningkatan aktivitas antioksidan (FRAP) dari 3,79 menjadi 4,02, dan nilai DPPH tetap tinggi. Hal ini mengindikasikan bahwa fermentasi mengubah polifenol menjadi metabolit yang lebih aktif secara biologis, meskipun jumlah total fenolik menurun.

Tabel 3. Perubahan pH, Keasaman, Total Padatan Terlarut, dan Warna Kombucha Selama Proses Fermentasi SCOBY

Sampel	pH	Acidity(%)	Total suble	warna		
				L*	a*	b*
<b>Kawalan</b>	$5,69 \pm 0,13$	$0,12 \pm 0,00$	$10,00 \pm 0,00$	$5,78 \pm 0,00$	$-3,61 \pm 5,36$	$0,92 \pm 0,00$
<b>Hari 0</b>	$3,24 \pm 0,07$	$0,12 \pm 0,00$	$10,02 \pm 0,01$	$4,13 \pm 0,09$	$-2,39 \pm 5,60$	$-0,71 \pm 1,05$
<b>Hari 18</b>	$2,87 \pm 0,01$	$0,76 \pm 0,07$	$9,01 \pm 0,00$	$3,47 \pm 0,14$	$0,70 \pm 0,84$	$-0,30 \pm 1,24$

**Tabel 3** ini menunjukkan aktivitas fermentasi melalui perubahan sifat fisiko-kimia. Terjadi penurunan pH yang signifikan dari 5,69% menjadi 2,87% yang sejalan dengan peningkatan keasaman dari 0,12% menjadi 0,76%. Perubahan ini menegaskan produksi asam organik yang tinggi. Total padatan terlarut hanya menurun sedikit (10,02 menjadi 9,01%), menunjukkan konsumsi gula. Nilai L\* menurun selama fermentasi, menunjukkan larutan kombucha menjadi lebih gelap, yang disebabkan oleh oksidasi polifenol, pembentukan senyawa pigmen baru, dan pengaruh pH serta asam organik terhadap warna senyawa fenolik.

Tabel 4. Perubahan pH, Keasaman, Total Padatan Terlarut, dan Warna Kombucha

Kombucha	Organic acid			
	ug/ml	Tartaric	Acetic	Citric
<b>Control</b>	nd	nd		94,41
<b>0 h</b>		$160,7 \pm 0,5$	nd	nd
<b>18 h</b>		$285,5 \pm 02,8$	$3883,6 \pm 211$	nd

**Tabel 4** ini mengonfirmasi produksi asam, dengan peningkatan paling menonjol pada asam asetat (*Acetic acid*) yang melonjak drastis (tidak terdeteksi) menjadi 3.883,6 pada 18 jam. Peningkatan ini adalah penyebab langsung dari penurunan pH dan kenaikan keasaman yang dicatat

pada [Tabel 3](#), menunjukkan proses fermentasi yang optimal oleh bakteri asam asetat dalam SCOPY.

fenolik total pada hari ke-18 dibandingkan awal fermentasi, yaitu dari 0,41 menjadi 0,25 mg/mL. Meskipun demikian, aktivitas antioksidan tidak menurun secara seiring; nilai FRAP justru meningkat sedikit dari 3,77 menjadi 4,02 mg/mL, sedangkan persentase DPPH tetap tinggi walaupun mengalami sedikit penurunan dibanding hari ke-0. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun sebagian senyawa fenolik mengalami degradasi, fermentasi menghasilkan senyawa bioaktif baru yang tetap memberikan kemampuan antioksidan, sesuai dengan mekanisme biotransformasi polifenol oleh enzim mikroba dalam SCOPY ([Sarıtaş et al., 2024](#)).

Nilai pH menurun dari 3,24 menjadi 2,80, sementara keasaman total meningkat dari 0,12% menjadi sekitar 0,76%, mencerminkan peningkatan produksi asam organik, terutama asam asetat dan asam glukuronat, oleh mikroorganisme SCOPY selama fermentasi ([Chong et al., 2024](#)). Penurunan total padatan terlarut (°Brix) dari 10,02 menjadi 9,1° menunjukkan bahwa gula larut dikonsumsi sebagai substrat oleh ragi dan bakteri selama metabolisme.

Perubahan warna juga diamati, di mana nilai  $L^*$  menurun, menunjukkan sampel menjadi lebih gelap karena oksidasi polifenol, pembentukan senyawa metabolit baru, dan pengaruh pH rendah membuat sampel menjadi lebih gelap. Pergeseran nilai  $a^*$  dan  $b^*$  menunjukkan perubahan komposisi pigmen akibat oksidasi polifenol, pembentukan senyawa pigmen baru, dan pengaruh penurunan pH terhadap ionisasi senyawa fenolik ([Onsun et al., 2025](#)). Secara keseluruhan, perubahan ini konsisten dengan aktivitas mikroba yang mengubah komposisi kimia teh selama fermentasi kombucha.

Semua ini menunjukkan bahwa selama penyimpanan (18 hari), terjadi proses kimia dan biokimia dalam sampel yang mengubah komposisi fenolik, pigmen, dan kesetimbangan zat terlarut. Selama proses ini, mikroorganisme dalam SCOPY mengubah gula menjadi senyawa bioaktif seperti asam asetat, asam glukuronat, alkohol dalam jumlah kecil, dan senyawa fenolik. Proses ini juga menghasilkan lapisan selulosa mikrobial di permukaan larutan. Setelah fermentasi selesai, sekitar 80% dari larutan dikumpulkan untuk dianalisis,

Selama penyimpanan selama 18 hari, terjadi penurunan kandungan total fenolik pada sampel dari 0,41 mg/mL menjadi 0,25 mg/mL. Penurunan ini diduga disebabkan oleh proses degradasi, oksidasi, atau polimerisasi senyawa fenolik yang umum terjadi selama penyimpanan, terutama apabila sampel terpapar oksigen atau melibatkan aktivitas enzim seperti polifenol oksidase. Meskipun kandungan total fenolik mengalami penurunan, aktivitas antioksidan berdasarkan analisis FRAP menunjukkan peningkatan yang relatif kecil, sementara hasil analisis DPPH tetap menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi, meskipun mengalami sedikit penurunan setelah hari ke-18. Hal ini mengindikasikan bahwa senyawa antioksidan hasil degradasi atau transformasi

senyawa fenolik masih memiliki kemampuan yang efektif dalam menangkap radikal bebas atau berperan sebagai agen pereduksi. Temuan ini sejalan dengan hasil penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa aktivitas antioksidan tidak selalu berbanding lurus dengan kandungan total fenolik, karena adanya senyawa lain yang turut berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan ([Aini et al., 2024; Putri, 2022](#)).

Dari segi parameter fisikokimia, nilai pH menurun secara signifikan dari 5,69 pada kontrol menjadi 2,87 pada hari ke-18, sementara keasaman meningkat dari 0,12% menjadi 0,76%. Penurunan pH ini terkait dengan aktivitas fermentasi oleh mikroorganisme dalam SCOPY yang mengubah gula menjadi asam organik, terutama asam asetat dan asam glukuronat. Perkembangan asam organik ini tidak hanya menurunkan pH tetapi juga meningkatkan keasaman total larutan. Pada saat yang sama, total padatan terlarut (°Brix) menurun dari 10,00 menjadi 9,10°, menandakan konsumsi gula oleh mikroba sebagai substrat untuk metabolisme, termasuk fermentasi alkohol dan asam, serta kemungkinan reaksi kimia awal seperti Maillard yang memengaruhi kandungan gula terlarut. Perubahan ini menunjukkan hubungan langsung antara fermentasi, peningkatan produksi asam organik, dan penurunan pH dalam kombucha teh hijau.

Dari aspek warna, terjadi penurunan nilai L\* yang menunjukkan sampel menjadi lebih gelap, sejalan dengan proses pencoklatan yang dapat terkait dengan degradasi senyawa fenolik atau aktivitas enzimatik. Nilai a\* meningkat, menunjukkan adanya pergeseran warna menuju merah, sedangkan nilai b\* mengalami perubahan, mencerminkan perubahan dalam komposisi pigmen seperti antosianin, karotenoid, atau flavonoid. Perubahan warna ini mendukung hipotesis bahwa senyawa fenolik dan pigmen mengalami pengoksidasi atau transformasi selama penyimpanan.

Secara keseluruhan, hasil ini menunjukkan bahwa penyimpanan memengaruhi kestabilan senyawa fenolik, warna, pH, dan aktivitas antioksidan. Meskipun kandungan fenolik menurun dari 0,41 mg/mL pada Hari 0 menjadi 0,25 mg/mL pada Hari 18, aktivitas antioksidan tetap tinggi. Nilai FRAP bahkan meningkat dari 3,79 menjadi 4,02, sedangkan aktivitas DPPH sedikit menurun dari 85,90% menjadi 81,39%, tetapi masih lebih tinggi dibandingkan kontrol (76,71%).

Dari segi sifat fisikokimia, pH turun dari 3,24 menjadi 2,87, dan keasaman meningkat dari 0,12% menjadi 0,76%, menunjukkan produksi asam organik selama fermentasi atau degradasi senyawa. Total padatan terlarut (°Brix) sedikit menurun dari 10,02 menjadi 9,01, menandakan sebagian gula dikonsumsi mikroba.

Perubahan warna juga terlihat: nilai L\* menurun sehingga sampel tampak lebih gelap; nilai a\* berubah dari negatif ke positif, menunjukkan pergeseran dari hijau ke kemerahan; sedangkan nilai b\* hampir tetap, menandakan perubahan kekuningan yang minimal.

Hasil penelitian ini menunjukkan kandungan fenolik dan aktivitas antioksidan kombucha selama fermentasi 18 hari menunjukkan pola yang kompleks dan memerlukan perbandingan

dengan studi lain. Penurunan nilai pH yang drastis dari 5,69 (kontrol) menjadi 2,87 pada Hari 18 dan peningkatan keasaman dari 0,12% menjadi 0,76% sangat konsisten dengan temuan dari beberapa peneliti tentang kombucha, seperti yang dilaporkan oleh [Sulistiwaty \(2022\)](#) dan [Chong et al. \(2024\)](#), yang menegaskan bahwa perubahan ini adalah indikator utama keberhasilan proses fermentasi dan pembentukan asam organik. Namun, terkait TPC dan antioksidan, penelitian ini menunjukkan penurunan TPC seiring penyimpanan/fermentasi lanjutan, sementara aktivitas FRAP justru meningkat (dari 3,79 menjadi 4,02). Pola ini sejalan dengan studi [Astuti et al. \(2025\)](#) dan [Rupadani et al. \(2013\)](#) yang mengemukakan bahwa tidak ada korelasi sempurna antara jumlah fenolik total dan kapasitas antioksidan.

Fenomena peningkatan aktivitas antioksidan (FRAP) meskipun menurun dapat dijelaskan melalui biotransformasi yang terjadi selama fermentasi. [Puspaningrum et al. \(2022\)](#) menekankan bahwa fermentasi menyebabkan transformasi senyawa fenolik kompleks menjadi metabolit bioaktif baru dengan kemampuan reduksi (FRAP) yang lebih tinggi, bahkan jika jumlah total fenolik menurun akibat degradasi atau polimerisasi. Dalam kasus ini jauh lebih efektif dalam mereduksi ion besi (FRAP) dan menetralkan radikal bebas (DPPH) per unit massa dibandingkan polifenol kompleks awal dalam teh. Oleh karena itu, hasil penelitian ini memperkuat hipotesis bahwa kualitas fungsional kombucha lebih banyak ditentukan oleh metabolit sekunder yang terbentuk daripada kandungan fenolik total awal.

#### 4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa fermentasi teh hijau menggunakan kultur SCOPY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*) secara signifikan memengaruhi sifat fisikokimia, kandungan bioaktif, dan aktivitas antioksidan kombucha. Proses fermentasi menyebabkan penurunan pH dan kadar gula, serta peningkatan keasaman akibat pembentukan berbagai asam organik oleh mikroorganisme. Aktivitas enzimatis selama fermentasi turut meningkatkan kandungan total fenolik dan aktivitas antioksidan, sebagaimana dibuktikan melalui uji FRAP dan DPPH. Analisis HPLC dan *Gas Chromatography* menunjukkan terbentuknya senyawa seperti asam asetat, asam glukuronat, dan asam fenolat yang berperan dalam cita rasa teh hijau aktivitas antimikroba, dan potensi kesehatan. Secara keseluruhan, fermentasi dengan SCOPY meningkatkan nilai fungsional dan potensi pengembangan teh kombucha sebagai minuman kesehatan.

#### Singkatan yang Digunakan

SCOPY	Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
DPPH	2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl
HPLC	High Performance Liquid Chromatography

## Pernyataan Ketersediaan Data

Data akan tersedia berdasarkan permintaan.

## Kontribusi Para Penulis

**Nora Fiana:** konseptualisasi, metodologi, investigasi, kurasi data, analisis data, dan penulisan draf awal. **Hilda Julia:** pengawasan, konseptualisasi, validasi, serta penelaahan dan penyuntingan naskah. **Anisah Jamaluddin:** investigasi, kurasi data, analisis data, serta penelaahan dan penyempurnaan naskah.

## Pernyataan Konflik Kepentingan

Tidak adanya konflik kepentingan yang berarti dari penulis.

## Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Institut Penyelidikan dan Kemajuan Pertanian Malaysia (MARDI), Serdang, Selangor, Malaysia, atas dukungan pendanaan, fasilitas penelitian, serta bimbingan teknis yang diberikan selama proses penelitian ini berlangsung. Penghargaan juga disampaikan kepada Pusat Food Science & Technology (FT), yang telah menyediakan sarana laboratorium serta membantu dalam pelaksanaan analisa Dukungan dari kedua lembaga tersebut sangat berperan penting dalam keberhasilan dan kelancaran pelaksanaan penelitian ini.

## Daftar Pustaka

- Aini, A. N., W. A. A., Ginting, D. G., Aminulloh, G. A., M, O. P., & Rahmandah, S. R. (2024). Karakteristik dan Aktivitas Antioksidan Permen Jeli Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn). *Warta Akab*, 48(1). <https://doi.org/10.55075/wa.v48i1.215>
- Antolak, H., Piechota, D., & Kurcharska, A. (2021). Teh Kombucha—Kekuatan Ganda Senyawa Bioaktif dari Teh dan Kultur Simbiotik Bakteri dan Ragi (SCOBY). *Antioksidan (Basel)*, 10(10), 1541. <https://doi.org/10.3390/antiox10101541>
- AOAC. (2016). *Official Methods of Analysis of AOAC International*. AOAC International. [https://www.aoac.org/wp-content/uploads/2019/08/app\\_f.pdf](https://www.aoac.org/wp-content/uploads/2019/08/app_f.pdf).
- Astuti, D. A. D., Aprilia Anjarwati, & Saiful Muttaqin. (2025). Uji Aktivitas Antioksidan Kombucha Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) sebagai Upaya Pencegahan Penyakit Diabetes Melitus (DM). *Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan Indonesia*, 5(1), 138–148. <https://doi.org/10.55606/jikki.v5i1.6033>
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1999). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Chong, A. Q., Chin, N. L., Talib, R. A., & Basha, R. K. (2024). Modelling pH Dynamics, SCOBY Biomass Formation, and Acetic Acid Production of Kombucha Fermentation Using Black, Green, and Oolong Teas. *Processes*, 12(7), 1301. <https://doi.org/10.3390/pr12071301>
- Dewanto, V., Wu, X., Adom, K. K., & Liu, R. H. (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(10), 3010–3014. <https://doi.org/10.1021/jf0115589>
- Dewi, A. J., Saati, E. A., & Husna, A. (2024). Formulasi Teh Hijau Kombucha dengan

- Penambahan Limbah Kulit Carica (*Carica pubescens*) Berdasarkan Lama Fermentasi Terhadap Aktivitas Antioksidan. *Food Technology and Halal Science Journal*, 7(1), 15–27. <https://doi.org/10.22219/fths.v7i1.28384>
- Dusgun, C. (2024). An Investigation of the Impact of Fermentation Conditions and Total Acid Contents on the Kombucha Tea. *Biotechnology Journal International*, 28(5), 1–7. <https://doi.org/10.9734/bji/2024/v28i5735>
- HunterLab. (2002). *The Basics of Color Perception and Measurement*. Hunter Associates Laborator. <https://www.hunterlab.com/media/documents/basics-of-color-theory.pdf>.
- Jayabalan, R., Malbaša, R. V., Lončar, E. S., Itas, J. S., & Sathishkumar, M. (2014). A review on kombucha tea: Microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4), 538–550. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12073>
- Kartika, D. A., Leswana, N. F., & Taufiqurrahman, M. (2025). Antioxidant activity in kombucha (SCOBY) tea based on fermentation duration with DPPH method. *JSTI: Jurnal Sains Dan Teknologi Farmasi Indonesia*, 14(1), 84–90. <https://doi.org/10.58327/jstfi.v14i1.89>
- Lusiana, A., Darma, Y., Ningrum, A., & Putri, C. N. (2024). Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Pada Variasi The Kombucha Dengan Metode ABTS. *Jurnal Ilmiah Sultan Agung*, 1–12. <https://jurnal.unissula.ac.id/index.php/JIMU/article/view/38587/10060>
- Martihandini, N., & Rochimat, I. (2024). Characteristics of Four Variants of Kombucha Tea as Candidate of Functional Health Drink. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 10(1), 227–237. <https://doi.org/10.35311/jmp.i.v10i1.519>
- Nour, N., Trandafir, I., & Ionica, M. E. (2010). HPLC organic acid analysis in different citrus juices under reversed phase conditions. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 38(1), 44–48. <https://doi.org/10.15835/nbha3814569>
- Nuryono, N., Fatmawati, I., & Harjono, H. (2015). Analysis of organic acids using gas chromatography with flame ionization detection. *Indonesian Journal of Chemistry*, 15(1), 1–7. <https://doi.org/10.22146/ijc.21215>
- Onsun, B., Toprak, K., & Sanlier, N. (2025). Kombucha Tea: A Functional Beverage and All its Aspects. *Current Nutrition Reports*, 14(1), 69. <https://doi.org/10.1007/s13668-025-00658-9>
- Puspaningrum, D. H. D., Sumadewi, N. L. U., & Sari, N. K. Y. (2022). Karakteristik Kimia dan Aktivitas Antioksidan Selama Fermentasi Kombucha Cascara Kopi Arabika (Coffea arabika L.) Desa Catur Kabupaten Bangli. *Jurnal Sains Dan Edukasi Sains*, 5(2), 44–51. <https://doi.org/10.24246/juses.v5i2p44-51>
- Putri, S. G. (2022). Pengaruh Variasi Konsentrasi Gula Terhadap Derajat Keasaman dan Aktivitas Antioksidan Kombucha Daun Kakao (*Theobroma cacao L.*). *Jurnal Inovasi Pendidikan Dan Sains*, 3(2), 37–40. <https://download.garuda.kemdikbud.go.id/article.php?article=2954791&val=18905&title=PENGARUH%20VARIASI%20KONSENTRASI%20GULA%20TERHADAP%20DERAJAT%20KEASAMAN%20DAN%20AKTIVITAS%20ANTIOKSIDAN%20KOMBUCHA%20DAUN%20KAKAO%20Theobroma%20cacao%20L>
- Rodríguez-Delgado, M. Á., Stoica, R.-M., Doncea, S. M., & Trandafir, I. (2010). An HPLC method for identification and separation of phenolic acids in the Coffee. *Bulletin of the Petroleum-Gas University of Ploiesti*, 3A, 143–148. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)00598-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)00598-2)
- Rosida, D. F., Sofiyah, D. L., & Putra, A. Y. T. (2021). Aktivitas Antioksidan Minuman Serbuk Kombucha Dari Daun Ashitaba (Angelica keiskei), Kersen (Muntingia calabura), dan Kelor (Moringa oleifera). *Jurnal Teknologi Pangan*, 15(1). <https://doi.org/10.33005/jtp.v15i1.2726>
- Rupadani, N. L. D., Susanti, N. M. P., & Leliqia, N. P. E. (2013). Uji Aktivitas Antioksidan Minuman Kombucha Lokal di Bali dengan Substrat Gambir. *Jurnal Farmasi Udayana*, 2(3). <https://media.neliti.com/media/publications/279860-iji-aktivitas-antioksidan-minuman-kombuc-dd1975fc.pdf>

- Saritaş, S., Portocarrero, A. C. M., López, J. M. M., Lombardo, M., Koch, W., Raposo, A., ..., & Witkowska, A. M. (2024). The Impact of Fermentation on the Antioxidant Activity of Food Products. *Molecules* (Basel, Switzerland), 29(16). <https://doi.org/10.3390/molecules29163941>
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152–178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Sulistiaty, L., & Solihat, I. (2022). Kombucha: Fisikokimia dan Studi Kritis Tingkat Kehalalan. *Warta Akab*, 46(1). <https://doi.org/10.55075/wa.v46i1.80>