Penetapan Kadar Tanin dan Etanol pada Kombucha Bunga Telang (Clitoria ternatea L.)

Adita Silvia Fitriana[1]*, Nur Rahmawati[1]

[1]*Program Studi Farmasi, Universitas Harapan Bangsa*

ABSTRAK

Bunga telang mengandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid, dan alkaloid yang terbukti dapat menghasilkan beberapa efek farmakologis sehingga dapat bermanfaat untuk Kesehatan. Pemanfaatan bunga telang saat ini terbatas pada bentuk seduhan atau rebusan sehingga perlu dilakukan diversifikasi, salah satunya yaitu dalam bentuk kombucha. Kandungan kimia kombucha sangat dipengaruhi oleh lama waktu dan suhu fermentasi. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kandungan tanin dan etanol pada kombucha bunga telang dengan lama waktu fermentasi 3, 6, 9, 12, dan 15 hari pada suhu ruang. Penentuan kadar tanin dilakukan dengan metode spektrofotometri UV-Vis menggunakan reagen Follin-Ciocalteu dan penentuan kadar etanol dengan metode piknometer. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar tannin dan etanol mengalami perubahan selama waktu fermentasi. Kadar tanin tertinggi yaitu pada fermentasi hari ke-12 dengan kadar 2,48%. Kadar etanol kombucha bunga telang yang memenuhi persyaratan kehalalan dari MUI (<0,5%) yaitu pada fermentasi hari ke-12 dan 15 dengan kadar sebesar 0,44% dan 0,33%.

Kata kunci: Bunga Telang; Etanol; Kombucha; Tanin

ABSTRACT

Butterfly pea flowers contain secondary metabolite compounds, including flavonoids, tannins, saponins, triterpenoids, and alkaloids, which have been proven to produce several pharmacological effects that can be beneficial for health. The use of butterfly pea flowers is currently limited to steeping or decoction, so it needs to be diversified, one of which is kombucha. The chemical content of kombucha is greatly influenced by the length of time and temperature of fermentation. This research aims to analyze the tannin and ethanol content in butterfly pea flower kombucha with fermentation times of 3, 6, 9, 12 and 15 days at room temperature. The determination of tannin content was carried out using the UV-Vis spectrophotometric method with Folin-Ciocalteu reagent, and ethanol content was determined using the pycnometer method. The results showed that tannin and ethanol levels changed during fermentation. The highest tannin content was on the 12th day of fermentation, with a level of 2.48%. The ethanol content of Butterfly pea flower kombucha meets the halal requirements of the MUI (<0.5%) on the 12th and 15th days of fermentation, with levels of 0.44% and 0.33%.

Keywords: *Butterfly pea; Ethanol; Kombucha; Tanin*

Received: 29-08-2023, **Accepted**: 10-01-2024, **Online**: 2-09-2024

PENDAHULUAN

Salah satu minuman probiotik yang sedang populer saat ini adalah kombucha. Kombucha merupakan hasil fermentasi air teh dan gula dengan bantuan Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast (SCOBY) selama satu sampai dua minggu (Leal et al., 2018; Tan et al., 2020). Kombucha memiliki beberapa manfaat, seperti antimikroba, antiinflamasi, antioksidan, hepatoproktetif, antikanker, antitumor, imunostimulan dan detoksifikasi (Jayabalan et al., 2014;

***Corresponding author:**
aditasilvia@uhb.ac.id

Kapp & Sumner, 2019; Bishop et al., 2022).

Beberapa penelitian yang telah dilakukan menyebutkan bahwa penggunaan teh pada proses pembuatan kombucha dapat diganti dengan bahan lain, seperti daun salam (Yuningtyas et al., 2021), daun jambu, daun sirih, daun sirsak, daun kopi (Suhardini & Zubaidah, 2016), sari buah belimbing wuluh (Fajriyah et al., 2017), dan sari buah apel (Rosita, 2021). Bunga telang merupakan salah satu bahan alam yang dapat dibuat kombucha, sebagai pengganti teh (Rezaldi et al., 2021).

Proses fermentasi pada pembuatan kombucha sangat berpengaruh terhadap kandungan kimia dari kombucha yang dihasilkan. Kadar tanin pada teh kombucha rosela mengalami penurunan selama delapan hari proses fermentasi (Rusmarilin, 2018). Kadar alkohol dari kombucha teh hijau dan teh hitam semakin meningkat dengan semakin lamanya waktu fermentasi (Sulistiawaty & Solihat, 2022). Hal yang sama juga diperkirakan terjadi pada proses fermentasi kombucha bunga telang.

Tanin merupakan salah satu metabolit sekunder yang terkandung pada bunga telang dan berpotensi sebagai antioksidan (Khasanah et al., 2021). Untuk mendapatkan minuman kombucha bunga telang dengan kandungan tanin yang optimal sehingga dapat memberikan aktivitas antioksidan maksimal, perlu dilakukan optimasi terhadap lama waktu fermentasi pada pembuatan kombucha bunga telang.

Fermentasi kombucha juga menghasilkan alkohol, dalam hal ini yaitu etanol. Glukosa atau gula akan dirubah menjadi etanol selama proses fermentasi. Kandungan etanol dalam produk minuman sangat berhubungan dengan tingkat kehalalannya. Menurut Fatwa Majelis Ulama Indonesia (MUI) No. 10 Tahun 2018 menjelaskan bahwa minuman fermentasi dikategorikan halal jika mengandung alkohol atau etanol di bawah 0,5%. Oleh karena itu, perlu dilakukan analisis kadar etanol selama proses fermentasi.

Oleh karena itu, perlu dilakukan optimasi terhadap lama waktu fermentasi pada proses pembuatan kombucha bunga telang agar diperoleh kombucha dengan kandungan kimia dan manfaat yang optimal serta dijamin kehalalannya. Analisis kadar tannin pada kombucha bunga telang dilakukan dengan metode spektrofotometri UV-Vis dan analisis kadar etanol dengan metode piknometer.

METODE PENELITIAN

Alat dan bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu alat-alat gelas, timbangan analitik, dan Spektrofotometer UV-Vis. Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu simplisia bunga telang, bibit kombucha, gula pasir, air, asam tanat, natrium karbonat, dan Reagen Folin-Ciocalteu.

Pembuatan Starter Kombucha

Sebanyak 2 L air dipanaskan hingga suhu 70 oC, ditambahkan 10% (b/v) gula pasir dan diaduk hingga larut sempurna. Ke dalam air panas ditambahkan 10% (b/v) simplisia bunga telang. Campuran disaring setelah dingin. Bagian air dimasukkan ke dalam toples kaca kemudian ditambahkan kultur kombucha atau SCOBY. Toples ditutup dengan rapat menggunakan kain selama 14 hari pada suhu ruang.

Pembuatan Kombucha Bunga Telang

Sebanyak 3 L air dipanaskan hingga suhu 70 ^{0}C , ditambahkan 0,5% (b/v) simplisia bunga telang dan 10% (b/v) gula pasir. Campuran didinginkan hingga mencapai suhu 30 ^{0}C kemudian disaring dan bagian airnya dimasukkan ke dalam toples kaca. Ke dalam toples ditambahkan 3% (b/v) SCOBY dan 10% (v/v) starter kombucha. Toples ditutup rapat dengan

kain dan dilakukan proses fermentasi pada suhu ruang selama 3, 6, 9, 12, dan 15 hari (Jayabalan et al., 2010).

Penetapan Kadar Tanin

Pembuatan larutan standar asam tanat : Sebanyak 100 mg asam tanat dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, dilarutkan dengan akuades sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan stok asam tanat konsentrasi 1000 ppm. Larutan pembanding konsentrasi 80, 100, 120, 140, dan 160 ppm dibuat melalui pengenceran larutan stok (Nofita & Dewangga, 2022).

Pengukuran kadar tanin: Sebanyak 0,5 mL larutan kombucha dan setiap konsentrasi larutan standar asam tanat dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan 7,5 mL akuades dan 0,5 mL reagen Folin-Ciocalteu, didiamkan selama 5 menit. Larutan ditambahkan 1,5 mL natrium karbonat 20%, didiamkan selama 65 menit di tempat gelap. Larutan diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (±765 nm). Kadar tanin dihitung dari kurva baku larutan standar asam tanati (Nofita & Dewangga, 2022).

Penetapan Kadar Etanol

Destilasi kombucha: Sebanyak 100 mL kombucha ditambah dengan 100 mL akuades kemudian didestilasi pada suhu 80 ^{0}C .

Kalibrasi piknometer: Piknometer kosong ditimbang pada suhu ruang. Piknometer diisi dengan akuades, dimasukkan ke dalam penangas air dengan suhu 15 ^{0}C . Setelah 30 menit, tepatkan volume akuades hingga tanda batas. Piknometer dibiarkan pada suhu ruang selama 15 menit kemudian ditimbang. Dihitung berat akuades (SNI 3565:2009).

Pengukuran kadar etanol: Piknometer yang sama diisi dengan larutan kombucha hasil destilasi, dimasukkan ke dalam penangas air dengan suhu 15 ^{0}C . Setelah 30 menit, tepatkan volume kombucha hingga tanda batas. Piknometer dibiarkan pada suhu ruang selama 15 menit kemudian ditimbang. Dihitung berat larutan kombucha. Hasil bagi antara berat larutan sampel dengan berat akuades adalah berat jenis etanol pada 15 ^{0}C. Kadar etanol ditentukan dengan melihat tabel hubungan berat jenis pada berbagai temperatur terhadap kadar etanol (SNI 3565:2009).

HASIL DAN PEMBAHASAN

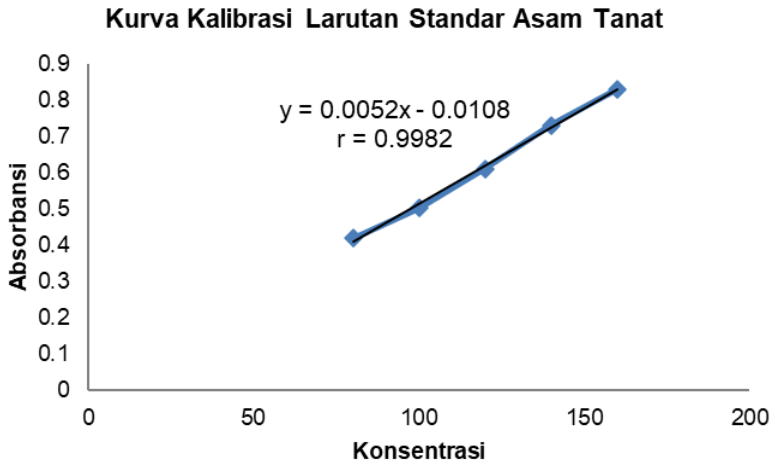
Pengukuran Kadar Tanin

Pengukuran kadar tanin pada kombucha bunga telang dengan metode spektrofotometri UV-Vis diawali dengan pengukuran panjang gelombang maksimum asam tanat yang telah diraksikan dengan reagen Folin-Ciocaleu. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa panjang gelombang asam tanat yaitu 765 nm. Panjang gelombang maskimum yang diperoleh sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya (Nofita & Dewangga, 2022). Panjang gelombang ini yang selanjutnya digunakan untuk pengukuran kadar tanin karena pada panjang gelombang maksimum kemungkinan terjadinya kesalahan serapan minimal sehingga hasil yang diperoleh akurat (Anngela et al., 2021).

Larutan seri konsentrasi standar asam tanat direaksikan dengan Reagen Folin-Ciocalteu membentuk kompleks molybdenum tugsten yang berwarna biru sehingga serapannya dapat dideteksi dengan spektrofotometer UV-Vis (Mulyani et al., 2022). Asam tanat digunakan sebagai standar atau pembanding pada penelitian ini karena asam tanat merupakan salah satu senyawa golongan tanin terhidrolisis (Hartati & Noer, 2020). Hasil absorbansi larutan seri standar asam tanat selanjutnya dibuat kurva kalibrasi (absorbansi vs konsentrasi) dan

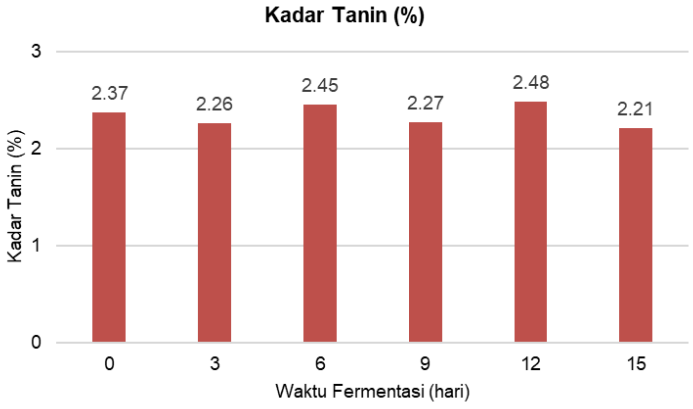
persamaan regresi linearnya.

Kurva kalibrasi yang diperoleh menunjukkan adanya hubungan linear antara absorbansi dan konsentrasi mengikuti persamaan regresi linear yang ditunjukkan dengan nilai koefisien korelasi (r) mendekati 1. Nilai r = 0,9982 artinya sebesar 99,82% absorbansi yang diperoleh dipengaruhi oleh konsentrasi, sedangkan 0,12% dipengaruhi oleh faktor lain, seperti cahaya, temperatur, zat kimia, dll (Nofita & Dewangga, 2022). Kurva kalibrasi ini digunakan untuk menentukan kadar tanin pada sampel kombucha.



Gambar 1. Kurva kalibrasi larutan standar asam tanat pada panjang gelombang 765 nm

Hasil analisis kadar tanin pada kombucha bunga telang menunjukkan adanya perubahan selama waktu fermentasi. Kadar tanin terbesar yaitu pada fermentasi hari ke-12 (2,48%) sedangkan kadar terkecil yaitu pada fermentasi hari ke-15 (2,21%). Perubahan kadar tanin selama proses fermentasi kombucha dapat disebabkan oleh adanya oksidasi tanin menjadi senyawa teaflavin, tearubigin, dan tehnaphtoquinone (Rachmawati et al., n.d.).

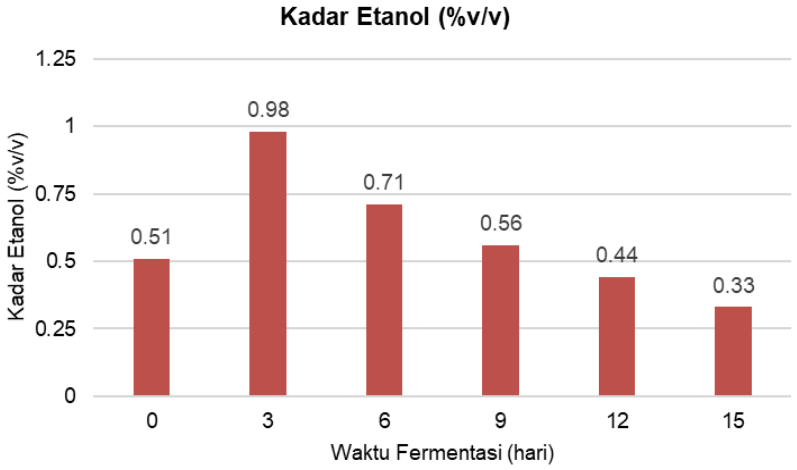


Gambar 2. Kadar etanol kombucha bunga telang selama waktu fermentasi

Pengukuran Kadar Etanol

Pengukuran kadar etanol pada kombucha bunga telang dilakukan dengan metode piknometer, yaitu dengan menghitung berat jenis kombucha bunga telang dengan piknometer. Nilai berat jenis yang diperoleh selanjutnya dikonversi menggunakan Reference Table AOAC 1990 untuk menentukan kadar etanol.

Hasil analisis menunjukkan terjadinya perubahan kadar etanol selama waktu fermentasi. Kadar etanol mengalami peningkatan pada tiga hari pertama proses fermentasi. Hal ini disebabkan oleh aktivitas SCOBY seperti Saccharomyces cerevisiae yang mengkonversi substrat gula menjadi etanol dan karbon dioksida (Ihsani et al., 2021). Kadar etanol tertinggi yaitu pada fermentasi hari ke-3 sebesar 0,98% (v/v). Setelah mencapai maksimum pada hari ke-3, kadar etanol pada kombucha bunga telang mengalami penurunan sampai hari ke-15. Hal ini disebabkan oleh terjadinya proses fermentasi asam asetat yang merubah alkohol (etanol) menjadi asam asetat oleh bakteri asam asetat (Chakravorty et al., 2016).



Gambar 3. Kadar etanol kombucha bunga telang selama waktu fermentasi

Kandungan etanol pada kombucha bunga telang menentukan tingkat kehalalannya. Menurut Fatwa MUI Nomor: 10 Tahun 2018 tentang Produk Makanan dan Minuman yang Mengandung Alkohol/Etanol menyatakan bahwa produk minuman hasil fermentasi yang mengandung alkohol/etanol kurang dari 0,5% hukumnya halal jika secara medis tidak membahayakan (Priyono & Riswanto, 2021). Berdasarkan hasil analisis kadar etanol pada kombucha bunga telang, kadar etanol kurang dari 0,5% mulai hari ke-12 fermentasi. Oleh karena itu, untuk memproduksi kombucha bunga telang disarankan menggunakan waktu fermentasi minimal 12 hari agar diperoleh kombucha yang memenuhi kualifikasi kehalalan berdasarkan Fatwa MUI.

SIMPULAN

Kadar tanin dan etanol kombucha bunga telang selama proses fermentasi mengalami perubahan. Semakin lama proses fermentasi, kadar etanol pada kombucha bunga telang semakin menurun dan mencapai nilai kurang dari 0,5% sesuai standar kehalalan mulai pada hari ke-12 fermentasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Yayasan Pendidikan Dwi Puspita dan LPPM Universitas Harapan Bangsa yang telah mendanai penelitian ini dan kepada semua pihak yang telah berkontribusi pada penelitian inil.

DAFTAR RUJUKAN

Anngela, O., Muadifah, A., & Nugraha, D. P. (2021). Validasi Metode Penetapan Kadar Boraks pada Kerupuk Puli Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 3(4), 375–381. https://doi.org/10.25026/jsk.v3i4.258

Chakravorty, S., Bhattacharya, S., Chatzinotas, A., Chakraborty, W., Bhattacharya, D., & Gachhui, R. (2016). Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. *International Journal of Food Microbiology*, 220(2016), 63–72. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.12.015

Fajriyah, Y. D. N., Wahyuni, D., & Murdiyah, S. (2017). Pengaruh kombucha sari buah belimbing wuluh (Averrhoa bilimbi L.) terhadap pertumbuhan bakteri Escherichia coli. *Bioedukasi,* 13(2), 32–36.

Hartati, M., & Noer, S. (2020). Penetapan Kadar Senyawa Tanin Kulit Bawang Merah (Allium ascalonicum L.). *Sinasis*, 1(1), 165–168.

Ihsani, N., Hernahadini, N., & Fauzi, M. (2021). The variation of ethanol concentration and kombucha characterization on several incubation periods. *Journal of Physics: Conference Series*, 1764(1), 1–5. https://doi.org/10.1088/1742-6596/1764/1/012008

Jayabalan, R., Malbaša, R. V., Lončar, E. S., Vitas, J. S., & Sathishkumar, M. (2014). A review on kombucha tea-microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4), 538–550. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12073

Jayabalan, R., Malini, K., Sathishkumar, M., Swaminathan, K., & Yun, S. E. (2010). Biochemical characteristics of tea fungus produced during kombucha fermentation. *Food Science and Biotechnology,* 19(3), 843–847. https://doi.org/10.1007/s10068-010-0119-6

Kapp, J. M., & Sumner, W. (2019). Kombucha: a systematic review of the empirical evidence of human health benefit. *Annals of Epidemiology*, 30(February 2019), 66–70. https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2018.11.001

Khasanah, S. N., Sutaryono, & Addin, Q. (2021). Analisis Kadar Tanin Ekstrak MetanolBunga Telang (Clitoria ternatea L .) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. CERATA *Jurnal Ilmu Farmasi,* 12(2), 31–35. http://ejournal.stikesmukla.ac.id/index.php/cerata/article/view/307

Leal, J. M., Suárez, L. V., Jayabalan, R., Oros, J. H., & Escalante-Aburto, A. (2018). A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. *CYTA - Journal of Food*, 16(1), 390–399. https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1410499

Mulyani, E., Herlina, H., & Suci, K. (2022). Penetapan Kadar Tanin Ekstrak Daun Pagoda (Clerodendrum Paniculantum) Dengan Metode Spektrofotometri Visible Dan Titrasi Permanganometri. *Lumbung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian,* 3(1), 7. https://doi.org/10.31764/lf.v3i1.7034

Nofita, D., & Dewangga, R. (2022). Optimasi Perbandingan Pelarut Etanol Air Terhadap Kadar Tanin pada Daun Matoa (Pometia pinnata J.R & G. Forst)

Secara Spektrofotometri. *Chimica et Natura Acta*, 9(3), 102–106. https://doi.org/10.24198/cna.v9.n3.36768

Priyono, P., & Riswanto, D. (2021). Studi Kritis Minuman Teh Kombucha: Manfaat Bagi Kesehatan, Kadar Alkohol dan Sertifikasi Halal. *International Journal Mathla'ul Anwar of Halal* Issues, 1(1), 9–18.

Rachmawati, N. F., S, S. T. M., Adharani, N., Erza, M., Yulianto, D., & Maulidha, A. (n.d.). Analysis of Chemical Characteristics of Kombucha Tea Seaweed Eucheuma cottonii (Issue 4).

Rezaldi, F., Ningtyas, R. Y., Anggraeni, S. D., Ma'ruf, A., Fatonah, N. S., Pertiwi, F. D., Fitriyani, F., A, L. D., US, S., Fadillah, M. F., & Subekhi, A. I. (2021). Pengaruh Metode Bioteknologi Fermentasi Kombucha Bunga Telang (Clitoria ternatea L) Sebagai Antibakteri Gram Positif Dan Negatif. *Jurnal Biotek*, 9(2), 169. https://doi.org/10.24252/jb.v9i2.25467

Rosita, D. H. dan M. A. (2021). Pengaruh Konsentrasi Starter Scoby (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast) Terhadap Mutu Kimia, Mikrobiologi Dan Organoleptik Kombucha Sari Apel. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan*, 7(2), 12–22.

Rusmarilin, H. (2018). Studi Karakteristik Mutu Teh Kombucha Rosela Instan Kaya Antioksidan Alami Secara Mikroenkapsulasi. *Agrintech: Jurnal Teknologi Pangan Dan Hasil Pertanian*, 1(2), 86–94. https://doi.org/10.30596/agrintech.v1i2.2008

SNI 3565:2009

Suhardini, P. N., & Zubaidah, E. (2016). Studi Aktivitas Antioksidan Kombucha Dari Berbagai Jenis Daun Selama Fermentasi Study of Antioxidant Activity on Various Kombucha Leaves During Fermentation. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 4(1), 221–229.

Sulistiawaty, L., & Solihat, I. (2022). Kombucha: Fisikokimia dan Studi Kritis Tingkat Kehalalan. *Warta Akab,* 46(1). https://doi.org/10.55075/wa.v46i1.80

Tan, W. C., Muhialdin, B. J., & Meor Hussin, A. S. (2020). Influence of Storage Conditions on the Quality, Metabolites, and Biological Activity of Soursop (Annona muricata. L.) Kombucha. *Frontiers in Microbiology,* 11(December), 1–10. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.603481

Yuningtyas, S., Masaenah, E., & Telaumbanua, M. (2021). Aktivitas Antioksidan, Total Fenol, Dan Kadar Vitamin C Dari Kombucha Daun SalamDAUN SALAM (Syzygium polyanthum (Wight) Walp.). Jurnal Farmamedika, 6(1), 10–14. https://doi.org/10.47219/ath.v6i1.116