

LAPORAN AKHIR TAHUN
PENELITIAN DASAR UNGGULAN PERGURUAN TINGGI



**KARAKTERISTI GIZI DAN POTENSI TEH WONG
SEBAGAI KANDIDAT MINUMAN PROBIOTIK**

Tahun ke 1 dari rencana 3 Tahun

Ketua/Anggota

**Anak Agung Nanak Antarini,SST.,M.P. (NIDN. 4020086703)
Ni Putu Agustini,SKM.,M.Si. (NIDN. 4007096501)**

POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES DENPASAR

2021

**HALAMAN PENGESAHAN
PENELITIAN PDUPT**

Judul Penelitian	:	Karakteristik Gizi dan Potensi Teh Wong Sebagai Kandidat Minuman Probiotik
Peneliti	:	
a. Nama Lengkap	:	Anak Agung Nanak Antarini,SST.,M.P.
b. NIDN	:	4020086703
c. Jabatan Fungsional	:	Lektor Kepala
d. Program Studi	:	Gizi dan Dietetika Program Sarjana Terapan
e. Nomor HP	:	081999404627
f. Alamat surat (e-mail)	:	Nanaktarini20@gmail.com
Anggota Peneliti (1)	:	
a. Nama	:	Ni Putu Agustini,SKM.,M.Si.
b. NIDN	:	4007096501
c. Program Studi	:	Diploma Tiga Gizi
d. Perguruan Tinggi	:	Politeknik Kesehatan Kemenkes Denpasar
Tahun Pelaksanaan	:	Tahun ke 1 dari rencana 3 Tahun
Biaya Tahun Berjalan	:	Rp 38.250.000
Biaya Keseluruhan	:	Rp149.240.000

Mengetahui,
Kepala Pusat Penelitian dan Pengubmas
Poltelkes Kemenkes Denpasar,

Denpasar, 25 Oktober 2021
Ketua,

Dr. I Putu Suraoka, S.ST., M.Kes.
NIP. 197301241995031001

Anak Agung Nanak Antarini,SST.,M.P.
NIP. 196708201990032002



Mengesahkan,
Direktorat Poltekkes Kemenkes Denpasar
Dr. Anak Agung Ngurah Kusumajaya, SP., MPH
NIP. 196911121992031003

RINGKASAN

Teh wong merupakan salah satu minuman tradisional Bali yang biasa dikonsumsi oleh masyarakat Guwang, Sukawati Gianyar. Teh wong terbuat dari air gula (air teh manis) yang difermentasi menggunakan starter dari jamur (wong) tuak. Jamur (wong) tuak ini hidup di air yang mengandung gula untuk mempertahankan hidupnya dan biasanya dipelihara dalam air teh manis. Air hasil fermentasi inilah yang dikonsumsi, dengan menggunakan air teh manis sebagai bahan dasar fermentasinya, maka air yang dihasilkan disebut dengan teh wong (teh jamur). Fermentasi akan mengubah gula menjadi alkohol dan kemudian bakteri akan mengubah alkohol menjadi asam, maka air teh manis berubah menjadi asam sedikit manis. Teh jamur ini biasanya dikonsumsi oleh masyarakat Guwang Sukawati sebagai minuman. Pembuatan teh wong biasa dilakukan dengan skala rumah tangga, ada untuk dijual diwarung-warung ataupun untuk dikonsumsi di keluarga pada rumah tangga masyarakat Guwang Sukawati Gianyar.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan percobaan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) yaitu 4 perlakuan yaitu dengan 4 jenis teh yang berbeda dan 4 kali ulangan kemudian dilakukan menganalisis aktivitas antioksidan dan kadar fenol, mengidentifikasi total mikroba dan total BAL, menganalisis pH, total asam, total gula serta pengujian organoleptik teh wong. Karakteristik gizi meliputi aktivitas antioksidan, IC50 dan kadar fenol dengan spektrofotometri. Identifikasi mikroba dengan menghitung total mikroba dan Total BAL serta dengan uji katalase dan Cat Gram. Karakteristik kimia dengan analisis pH dengan pH meter, total asam dengan titrasi, total gula dengan refraktometer (Apriantono,dkk. 1989), dan untuk uji organoleptik menggunakan panelis agak terlatih dan analisis data dengan sidik ragam.

Tempat penelitian akan dilakukan di tiga tempat yaitu : pembuatan starter dan pembuatan teh wong selama fermentasi di laboratorium Ilmu Teknologi Pangan di Jurusan Gizi Poltekkes Denpasar, analisis kimia di laboratorium Analitik Unud dan analisis mikrobiologi di laboratorium Pertanian Universitas Warmadewa.

Teh Wong atau teh jamur (Kombucha tea) merupakan produk minuman tradisional hasil fermentasi larutan teh gula dengan menggunakan starter mikroba (*Acetobacter xylinum* dan beberapa jenis khamir) dan difermentasi selama 3 – 12 hari (Antarini, 2017). Cairan teh yang telah mengalami proses fermentasi akan menghasilkan dua macam produk yaitu nata atau selulosa ekstraseluler dan cairan teh hasil fermentasi nata de tea. Mikroba yang berperan dalam fermentasi akan mengubah gula menjadi alkohol serta memproduksi zat-zat penting, diantaranya asam laktat, asam glutamate, asam asetat, vitamin, asam amino dan zat antibiotik (Andrianto,2007). Uji Organoleptik teh wong meliputi rasa, aroma dan warna serta penerimaan secara keseluruhan dengan uji kesukaan (uji hedonik) dengan 5 skala hedonik dan untuk mutu hedonik pada mutu rasa dan mutu aroma dengan 3 skala mutu hedonik. Penilaian organoleptik dengan jumlah panelis sebanyak 25 orang yaitu mahasiswa Jurusan Gizi dan panelis yang familiar dengan produk teh wong.

Derajat Keasaman (pH) pada Teh wong berkisar pada pH 3,28 - pH 3,35 setelah 6 hari lama fermentasi Teh wong. Kadar Total asam pada Teh wong 1,58% - 1,72%. Total Gula pada Teh wong berkisar antara 13,90 -13,95^oBrix. Akaktivitas antioksidan teh wong berkisar 6,5% - 7,3%, dan kadar fenol berkisar berkisar 125,80 mg% - 141,10 mg%.

Total Mikroba dinyatakan dalam Total Plate Count (TPC) pada produk Teh wong, pada penelitian menunjukkan bahwa total mikroba pada Teh wong dengan lama fermentasi selama 6 hari adalah $8,3 \times 10^2$ s/d $3,3 \times 10^4$ cfu/g. Total BAL pada produk Teh wong menunjukkan bahwa total BAL pada Teh wong dengan lama fermentasi selama 6 hari adalah $5,8 \times 10^3$ s/d $5,1 \times 10^4$ cfu/g. Penelitian Antarini, et al, 2017 semakin lama fermentasi teh wong akan semakin meningkat jumlah total BAL kemudian akan terjadi penurunan pada fermentasi selama 9 hr dan 12 hari. Semakin lama fermentasi maka pertumbuhan mikroba akan terhambat dan menurun.

Berdasarkan hasil analisis ragam pada uji organoleptik untuk rasa, aroma, dan warna serta penerimaan secara keseluhan pada teh wong bahwa terdapat perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). Penelitian (Taufik, et al., 2014) teh mengandung ikatan biokimia yaitu polifenol. Senyawa polifenol akan berubah menjadi senyawa yang

menghasilkan warna, rasa dan aroma yang diinginkan. Hasil utama oksidasi polifenol akan memberikan warna yang khas pada seduhan teh, polifenol akan teroksidasi menjadi theaflavin dan thearubigin. Theflavin berpengaruh pada kejernihan dan memberikan warna kuning cerah pada seduhan teh sedangkan thearubigin memberikan warna coklat tua pada seduhan teh

PRAKATA

Puji syukur kami panjatkan kehadapan Tuhan Yang Maha Esa karena atas berkat dan rahmat-Nya Laporan Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi dengan judul“ KARAKTERISTI GIZI DAN POTENSI TEH WONG SEBAGAI KANDIDAT MINUMAN PROBIOTIK” dapat diselesaikan

Pada kesempatan ini kami mengucapkan terimakasih kepada Direktur Poltekkes Denpasar beserta jajarannya dan Ketua Jurusan Gizi beserta jajarannya, yang telah memberikan kesempatan kepada kami untuk melaksanakan penelitian ini. Tak lupa juga kami haturkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada tim Pakar dan reviewer Poltekkes Denpasar yang telah memberikan saran dan masukan sehingga memudahkan kami dalam melaksanakan penelitian ini.

Harapan kami, semoga penelitian ini dapat memberikan informasi dan manfaat yang sebesar-besarnya bagi pengembangan minuman tradisional khas Bali dalam menunjang pariwisata kuliner untuk wilayah Gianyar khususnya dan Bali pada umumnya.

Denpasar, Oktober 2021

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	iv
RINGKASAN PENELITIAN	viii
PRAKATA	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Teh Sebagai Minuman Fungsional	5
B. Minuman Terfermentasi	7
C. Bakteri Asam Laktat	8
D. Probiotik	11
BAB III TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	
A. Tujuan	17
B. Manfaat Penelitian	18
BAB IV METODE PENELITIAN	
A. Rancangan Penelitian	21
B. Prosedur Kerja	21
C. Lokasi dan Waktu Penelitian	22
D. Pengolahan dan Analisis Data	31
E. Etika Penelitian	33
BAB V HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI	
A. Hasil	46
B. Pembahasan	56

BAB VI RANCANA TAHAPAN BERIKUTNYA	62
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan	63
B. Saran	63
DAFTAR PUSTAKA	64
LAMPIRAN	65

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1 Skala Hedonik dan Skala Numerik terhadap Rasa, Aroma, Warna dan Penerimaan Keseluruhan <i>teh wong</i>	36
2 Mutu Hedonik dan Skala Numerik terhadap Rasa <i>teh wong</i>	36
3 Mutu Hedonik dan Skala Numerik terhadap Rasa <i>teh wong</i>	36
4 Nilai rata-rata Uji Organoleptik teh wong.....	51
5 Nilai rata-rata analisis Obyektif teh wong	56

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1 <i>Teh Wong</i>	24
2 Fermentasi Homofermentatif.....	27
3 Fermentasi Heterofermentatif.....	28
4 Bagan Penelitian uji coba tikus	44
5 Diagram alir RAPD.....	48
6 Nilai Rata-rata terhadap Rasa.....	52
7 Nilai Rata-rata terhadap Aroma.....	53
8 Nilai Rata-rata terhadap warna.....	53
9 Nilai Rata-rata terhadap Penerimaan keseluruhan.....	54
10 Nilai Rata-rata terhadap Mutu warna.....	54
11 Nilai Rata-rata terhadap Mutu aroma.....	55
12 Nilai Rata-rata terhadap Mutu rasa.....	55
13 Nilai Rata-rata Kadar pH.....	57
14 Nilai Rata-rata TSS.....	57
15 Nilai Rata-rata Total asam.....	58
16 Nilai Rata-rata Aktifitas antioksidan.....	59
17 Nilai Rata-rata kadar fenol.....	59
18 Nilai Rata-rata Total mikroba.....	60
19 Nilai rata-rata Total BAL.....	61

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1 Form Uji Organoleptik	71
2 Pengolahan Data	75
3 Dokumentasi Cat Gram	97
4 Sertifikat HAKI.....	98
5 Rekapan Realisasi Anggaran Penelitian.....	99
6 Biodata Peneliti.....	101
7 Surat Pernyataan ketua Peneliti	108
8 PSP	109
10 SK Penelitian.....	110

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Teh merupakan salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan daunnya untuk minuman. Pengklasifikasian teh didasarkan pada kualitas dan proses pengolahannya. Terdapat enam jenis teh yaitu, teh hijau, teh kuning, teh putih, teh oolong, teh hitam dan teh pekat (*dark tea*) (Sutarmi, 2005). Perbedaan ini didasarkan pada tingkat oksidasi polifenol yang ada dalam teh. Teh yang diperoleh dari pengolahan daun teh dapat dikatakan sebagai pangan fungsional karena memiliki antioksidan yang tinggi, sifat hypocholesterolemik, dan sebagai antibesitas.

Daun teh merupakan sumber alami kafein, teofilin dan antioksidan dengan kadar lemak, karbohidrat dan protein mendekati nol persen. Penggunaan berbagai daun teh yang mengandung antioksidan sebagai media dalam pembuatan teh wong belum dilakukan penelitian sampai saat ini. Teh wong dengan menggunakan larutan teh dari berbagai jenis daun teh diharapkan mampu menghasilkan sifat fungsional, sebagai antioksidan dan akan mempengaruhi kualitas fisik, kimia organoleptik serta potensinya sebagai minuman Probiotik. (Lobo et al., 2017).

Bakteri asam laktat (BAL) telah banyak digunakan untuk membuat produk fermentasi dan dibuktikan bahwa BAL merupakan bakteri yang aman dalam pengawetan pangan. Bahan makanan fungsional yang mengandung probiotik pada produk pangan seperti makanan terfermentasi. Makanan dan minuman terfermentasi pada yogurt, kefir, kombucha dan lain sebagainya (Agestiawan, I.G.A.M, Swastini, D.A , Ramona, 2015).

Kombucha merupakan produk minuman tradisional dari Korea yang merupakan hasil fermentasi larutan teh yang memiliki citarasa yang khas, yaitu rasa asam manis dengan sensasi *sparkling*. Kombucha mengandung berbagai vitamin dan mineral serta asam-asam organik yang berasal dari larutan teh setelah proses fermentasi. Fermentasi sendiri merupakan perubahan kimiawi dari senyawa-senyawa organik oleh enzim yang dihasilkan oleh mikroba. Kandungan nutrisi dari

kombucha meliputi asam-asam organic seperti asam asetat, asam glukonat, asam glokoronat, asam sitrat dan lain sebagainya. Kombucha juga mengandung vitamin B1,B2,B6, B 12, Vitamin C dan asam amino, enzim hidroloitik, etanol, karbondioksida, polifenol, mineral serta senyawa antimikroba. Kombucha merupakan salah satu contoh minuman probiotik, yaitu minuman yang mengandung mikroba baik untuk menjaga kesehatan saluran pencernaan. (Jasmina S.Vitas. 2018 ; T. Srihari dan U. Satyanarayana, 2012)

Menurut Food and Agriculture Organization/World Health Organization (FAO/WHO, 2002) menyebutkan bahwa probiotik merupakan mikroba hidup yang apabila dikonsumsi dalam jumlah yang memadai akan bermanfaat terhadap kesehatan pejamunya. Efek probiotik dapat dipertahankan jika makanan pembawa minimal mengandung jumlah mikroba probiotik sebanyak 10^6 – 10^8 cfu/ml (Svensson, 1999). Penelitian Antarini et al, 2018, menyatakan bahwa total bakteri pada *Teh wong* dengan lama fermentasi hari ke 6 sebanyak 2.86×10^6 cfu/ml. Hasil Penelitian Kailasapathy et al., (2000) menyatakan bahwa tingkat viabilitas yang tinggi dari probiotik *L. acidophilus* ($1,8 \times 10^6$ cfu/g) dan *Bifidobacterium infantis* ($5,6 \times 10^7$ cfu/g) pada yogurt yang disimpan pada suhu 4°C selama 8 minggu. Beberapa jenis bakteri asam laktat (BAL) diketahui memiliki potensi sebagai probiotik. Teh Kombucha merupakan produk minuman tradisional hasil fermentasi teh dan gula dengan menggunakan starter mikroba kombucha yang terdiri dari bakteri *Acetobacter xylinum* dan kamir *Zygosaccharomyces*, *Candida* sp, *Saccharomyces cereviseae* dan difermentasi selama 8-12 hari. Teh Kombucha memiliki efek kesehatan antara lain sebagai antioksidan, antibakteri dan dapat meningkatkan ketahanan tubuh dan lain-lain. (Lobo, R.O., Dias, F.O. and Shenoy, C.K., 2017).

Pangan fungsional telah menjadi tren tersendiri dalam masyarakat. Kesadaran konsumen akan kandungan nutrisi dan nilai tambah yang diperoleh dari makanan dan minuman yang dikonsumsinya semakin meningkat. Salah satu pangan fungsional tersebut adalah teh wong (jamur) yang merupakan minuman tradisional dari Gianyar Bali yang rasanya sedikit asam.

Bakteri asam laktat (BAL) adalah kelompok bakteri gram-positif yang tidak membentuk spora dan dapat memfermentasikan karbohidrat untuk menghasilkan asam laktat. Berdasarkan taksonomi, terdapat sekitar 20 genus bakteri yang termasuk BAL. Beberapa BAL yang sering digunakan dalam pengolahan pangan adalah *Aerococcus*, *Bifidobacterium*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, dan *Weissella*. Contoh produk makanan yang dibuat menggunakan bantuan BAL adalah yogurt, keju, mentega, *sour cream* (susu asam), dan produk fermentasi lainnya. Dalam pengolahan makanan, BAL dapat melindungi dari pencemaran bakteri patogen, meningkatkan nutrisi, dan berpotensi memberikan dampak positif bagi kesehatan manusia. BAL telah lama digunakan sebagai probiotik, termasuk didalamnya jenis *Lactobacillus bulgaricus*, *L. Acidophilus*, *L. Sporogenes*, *L. Casei*, *L.plantarum*, dan *Streptococcus* (Venkat et al., 2004). Penelitian secara intensif telah banyak dilakukan untuk mengisolasi bakteri asam laktat sebagai probiotik dari bahan pangan (Tamang et al. 2016).

Teh wong merupakan salah satu minuman tradisional Bali yang memiliki citarasa dan aroma yang khas yaitu rasa asam-manis. *Teh wong* terbuat dari air gula (air teh manis) yang difermentasi menggunakan starter dari jamur (*wong*) tuak. Jamur (*wong*) tuak ini hidup di air yang mengandung gula untuk mempertahankan hidupnya dan biasanya dipelihara dalam air teh manis. Air hasil fermentasi inilah yang dikonsumsi, dengan menggunakan air teh manis sebagai bahan dasar fermentasinya, maka air yang dihasilkan disebut dengan *teh wong* (teh jamur). Fermentasi akan mengubah gula menjadi alkohol dan kemudian bakteri akan mengubah alkohol menjadi asam, maka air teh manis berubah menjadi asam sedikit manis. Teh jamur ini biasanya dikonsumsi oleh masyarakat Guwang Sukawati sebagai minuman. Beberapa hasil penelitian bahwa BAL tumbuh maksimal pada fermentasi *teh wong* dengan penyimpanan 6 - 9 hari yaitu Total BAL sebanyak 2.57×10^4 sampai 2.86×10^6 cfu/ml dengan pH 2.88 – 2,59 sesuai penelitian Antarini, et al. 2018 dan Sutarmi, 2005 bahwa BAL tumbuh maksimal pada minggu I.

Berdasarkan hal tersebut peneliti bermaksud untuk mengeksplorasi dan mengidentifikasi kandungan mikroba dan karakteristik Gizi serta mutu organoleptik dalam minuman *teh wong* sebagai mikroba yang berpotensi Probiotik sebagai lokal genus.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut diatas dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

- Karakteristik organoleptik pada *teh wong*
- Menentukan Kapasitas antioksidan *teh wong*
- Derajat Keasaman atau pH pada *teh wong*
- Kadar gula pada *teh wong*
- Kadar total asam pada *teh wong*
- Kadar alkohol pada *teh wong*
- Total Mikroba pada *teh wong*
- Total BAL pada *teh wong*
- Pengujian Katalase pada *teh wong*
- Pengujian ketahanan BAL pada pH rendah
- Pengujian Ketahanan BAL terhadap natrium deoksikolat (NaDC)
- Pengujian aktivitas antioksidan BAL teh wong secara in vitro
- Mengidentifikasi BAL sebagai potensi Minuman Kandidat probiotik pada *teh wong* dengan *PCR* secara in vivo

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Teh Sebagai Minuman Fungsional

Pangan fungsional adalah pangan olahan yang mengandung satu atau lebih komponen panganya yang berdasarkan kajian ilmiah mempunyai fungsi fisiologis tertentu diluar fungsi dasarnya, terbukti tidak membahayakan dan bermanfaat bagi kesehatan. Pangan fungsional dikonsumsi sebagaimana layaknya makanan atau minuman, mempunyai karakteristik sensori berupa kenampakan, warna, tekstur dan cita rasa yang diterima oleh konsumen, tidak memberikan kontradiksi dan efek samping terhadap metabolisme zat gizi lainnya jika digunakan dalam jumlah yang dianjurkan (BPOM RI, 2016).

Produk pangan fungsional yang banyak digemari adalah jenis minuman fungsional karena bersifat praktis. Produk minuman fungsional yang beredar di pasaran tersedia dalam berbagai bentuk, seperti jus (sari buah), serbuk minuman cepat larut (minuman instan), serta dalam bentuk teh herbal/ teh celup. Komponen terbesar dalam minuman fungsional adalah komponen zat non gizi yang terdiri dari senyawa polifenol, alkaloid serta antioksidan (Sunyoto, 2018). Teh (*Camellia sinensis.L*) merupakan salah satu bahan minuman penyegar yang sudah lama dikenal dan banyak dikonsumsi oleh masyarakat umum.

Teh berasal dari pucuk tanaman teh (*Camellia sinensis.L*) melalui proses pengolahan yaitu pemetikan, pelayuan dan pengeringan. Teh dapat dibagi menjadi empat jenis berdasarkan tingkat oksidasi yakni teh putih, teh hijau, teh oolong dan teh hitam atau teh merah. Teh hijau paling banyak dikenal karena memiliki beragam manfaat bagi kesehatan. Teh hijau mengandung 0,34 mg/gram senyawa flavonoid (Lutfiah, 2015). Teh herbal merupakan istilah umum yang digunakan untuk minuman yang bukan berasal dari tanaman teh (*Camellia sinensis*). Teh herbal dapat dibuat dari kombinasi daun kering, biji, kayu, buah, bunga dan tanaman lain yang memiliki manfaat.

Teh herbal memiliki khasiat yang beragam dalam membantu pengobatan suatu penyakit tergantung jenis herbal yang digunakan. Teh herbal lebih aman dikonsumsi karena tidak mengandung alkaloid yang dapat mengganggu kesehatan seperti kafein (Ravikumar, 2014). Teh herbal merupakan produk minuman teh, baik dalam bentuk tunggal atau campuran herbal. Selain dikonsumsi sebagai minuman biasa, teh herbal juga dikonsumsi sebagai minuman yang berkhasiat untuk meningkatkan kesehatan. Khasiat yang dimiliki setiap teh herbal berbeda-beda, tergantung bahan bakunya. Campuran bahan baku yang digunakan merupakan herbal atau tanaman obat yang secara alami memiliki khasiat untuk membantu mengobati jenis penyakit tertentu. Teh herbal dapat dikonsumsi sebagai minuman sehat yang praktis tanpa mengganggu rutinitas sehari-hari (Sunyoto, 2018). Teh herbal mengandung zat antioksidan berupa polifenol yang berperan penting dalam pencegahan berbagai macam penyakit. Polifenol dapat menetralkan radikal bebas yang merupakan suatu produk sampingan dihasilkan dari proses kimia dalam tubuh yang dapat mengganggu kesehatan (Fitrayana, 2014). Teh herbal biasanya disajikan dalam bentuk kering seperti penyajian teh yang berasal dari tanaman teh (*Camellia sinensis*). Kondisi pengeringan harus diperhatikan untuk menghindari hilangnya zat-zat penting. Sehingga, proses pengeringan menjadi kunci penting dalam keberhasilan pembuatan teh herbal (Fitrayana, 2014).

B. Minuman Terfermentasi

1. Kombucha

Kombucha itu sudah dikenal lebih dari 2000 tahun sebelum Masehi – dan masuk ke Indonesia kurang lebih tahun 1930, mayoritas masyarakat Indonesia sama sekali belum pernah mendengarnya. Kombucha, sering orang menyebutnya sebagai Jamur Kombucha, lebih dikenal dengan nama Jamur Dipo atau Jamur Benteng oleh masyarakat Jawa Tengah dan Jawa Timur. Karena kombucha bukanlah Jamur dalam arti kata sebenarnya. Kombucha itu tidak lain adalah kumpulan dari Bakteri (yang menguntungkan tubuh) dan Ragi yang hidup berkoloni membentuk kultur seperti gelatin; atau dalam bahasa Inggrisnya, disingkat dengan nama SCOPY (*Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast*).

Teh kombucha adalah teh hasil fermentasi larutan teh dengan gula yang kemudian ditambahkan starter mikroba, yaitu bakteri *Acetobacter xylinum* dan beberapa ragi, *Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces bailii*, dan *Candida sp.*. Akibat proses fermentasi yang terjadi, teh kombucha mengandung berbagai zat seperti asam asetat, folat, asam amino esensial, vitamin B, vitamin C, dan alkohol. Jamur Kombucha adalah bahan utama dalam membuat teh kombucha, sedangkan Teh Kombucha adalah larutan produk jadi dari hasil fermentasi antara jamur kombucha dengan seduhan teh manis, dan larutan ini sudah siap untuk dikonsumsi.

Banyak yang menyebut teh kombucha sebagai teh jamur karena teh ini yang dibiarkan ‘menjamur’ dulu dalam proses pembuatannya. Waktu yang diperlukan untuk fermentasi teh ini adalah sekitar 8 hingga 12 hari pada suhu 18 hingga 20 derajat celcius, namun pada lingkungan yang suhunya lebih tinggi, maka fermentasi akan berlangsung lebih cepat. Lama fermentasi akan mempengaruhi kualitas fisik, kandungan, dan rasa teh. Dalam teh kombucha 400 ml mengandung total energi sebanyak 60 kalori (Etika, 2017). Bentuk fisiknya seperti tahu Nata Kelapa (Nata De Coco) dan membentuk sebuah lingkaran. Berbentuk seperti Gelatin berwarna putih kecoklatan, kenyal dan mengandung banyak air.

a. Fungsi dari Kombucha

Sebelumnya, saya ingin menjelaskan bahwa Jamur Kombucha ini hidup di air yang mengandung gula untuk mempertahankan hidupnya; dan biasanya kita memeliharanya dalam air teh manis. Selama ada gula yang bisa dikonsumsi oleh Ragi, maka Ragi akan mengolah (memfermentasi) gula menjadi Alkohol, dan kemudian Alkohol ini diolah oleh Bakteri dan diurai menjadi asam. Fungsi Jamur Kombucha yaitu memfermentasi air yang mengandung gula. Air hasil fermentasi ini yang dikonsumsi. Karena kita menggunakan air Teh manis sebagai bahan dasar fermentasinya, maka air yang dihasilkan sebut sebagai “Teh Kombucha”. Rasa dari Teh Kombucha yaitu rasanya asam manis dan sedikit bersoda karena bakteri mengubah alkohol menjadi asam.

b. Proses fermentasi Teh Kombucha

Proses fermentasi dimulai saat kultur mengubah glukosa menjadi alkohol dan karbodioksida. Kemudian bereaksi dengan air membentuk asam karbonat. Alkohol akan teroksidasi menjadi asam asetat. Asam glukonat terbentuk dari oksidasi glukosa oleh bakteri dari genus Acetobacter. Kultur dalam waktu bersamaan juga menghasilkan asam-asam organik lainnya. Jika nutrisi dalam medium telah habis dikonsumsi, kultur akan berhenti tumbuh tetapi tidak mati. Kultur akan aktif lagi jika memperoleh nutrisi kembali. Lama fermentasi berkisar 4-14 hari. Semakin lama fermentasi maka akan semakin asam dan rasa manis semakin berkurang. Lama fermentasi yang disarankan adalah 14 hari karena gula telah benar-benar difermentasi dan minuman memiliki rasa yang kuat seperti anggur (Hidayat et al., 2006).

Cara membuat teh kombucha sangatlah mudah. Pada prinsipnya, dalam membuat teh kombucha, segala peralatan atau media yang kita gunakan haruslah benar – benar bersih atau steril. Selain itu faktor yang mempengaruhi keberhasilan proses fermentasi teh kombucha adalah kualitas bahan yang digunakan, takaran bahan, suhu ruangan, tempat penyimpanan wadah fermentasi dan lama proses ferementasi.

c. Kandungan Asam dan Manfaat Teh kombucha

Kandungan Asam yang terdapat pada Teh Kombucha
yaitu

- Asam aktat

Asam laktat yang ada di dalam kombucha sebagian besar terdapat dalam bentuk L(+)-laktat. Asam laktat penting bagi sistem pencernaan manusia. Asam laktat juga digunakan sebagai indikator penyakit kanker.

- Asam asetat

Asam asetat dapat menghambat bakteri berbahaya sehingga sering digunakan menjadi pengawet. Asam asetat merupakan komponen yang memberi aroma dan rasa khas pada kombucha.

- Asam Malat

Asam malat penting dalam proses detoksifikasi tubuh.

- Asam Oksalat

Asam oksalat dapat berfungsi sebagai pengawet alami dan juga mendukung sel dalam memproduksi energi bagi tubuh.

- Asam Glukonat

Asam glukonat efektif dalam infeksi yeast seperti Candida

- Asam Butirat

Asam butirat diproduksi oleh khamir dan bekerja sama melawan infeksi khamir dengan asam glukonat.

- Asam Nukleat

Asam Nukleat berfungsi meningkatkan regenerasi sel yang baik dan sehat.

- Asam Amino

Asam Amino merupakan sekelompok asam yang berperan dalam pembentukan protein. Asam amino penting dalam pembelahan sel dan memperbaiki jaringan yang rusak. Asam amino juga dapat membentuk antibodi yang dapat melawan bakteri dan virus.

- Asam Folat (Citoforum Factor atau Leucovorin)

Asam folat berfungsi membantu produksi sel-sel darah, menyembuhkan luka, membentuk otot, serta membantu proses pembelahan sel. Asam folat sangat penting untuk pembentukan DNA dan RNA (zat-zat pembentuk dinding inti sel). Kekurangan asam folat bisa menyebabkan kerusakan DNA yang dapat mengarah kepada penyakit kanker. Fungsi yang lain adalah mencegah dan memperbaiki keadaan depresi, meningkatkan konsentrasi, menghambat pertumbuhan sel kanker di usus besar, kanker serviks (kanker mulut atau leher rahim), kanker paru, dan kanker esophagus (saluran yang menghubungkan tekak atau farings dengan cara merangsang enzim-enzim metabolisme homosistein, sehingga terhindar dari kerusakan otak dan penyempitan pembuluh darah. Asam folat juga bisa mengendalikan jumlah homocysteine, yaitu sejenis asam amino yang jika berlebihan dapat melukai dinding pembuluh darah dan memicu pembentukan plak yang bisa menyumbat pembuluh darah. Asam folat bisa menurunkan resiko penyakit jantung dan stroke, serta asam urat dan osteoporosis. Asam folat terbukti secara nyata bisa mengurangi risiko

terjadinya cacat bawaan pada bayi baru lahir, termasuk spina bifida (ruas tulang belakang yang terbelah) dan bibir sumbing. Asam folat adalah keluarga vitamin B. Zat alami ini baru teridentifikasi sebagai vitamin sekitar tahun 1940-an dan ditemukan dari ekstraksi daun bayam. Asam folat larut dalam air, sehingga tidak dapat disimpan oleh tubuh. Asam folat terdiri atas pteridin, asam paraaminobenzoat (PABA), dan asam glutamat.

- Enzim

Enzim adalah bagian dari protein yang bertindak sebagai biokatalis, mempercepat laju reaksi biokimia dalam tubuh. Oleh karena itu, enzim akan meningkatkan fungsi-fungsi kesehatan kombucha dengan tubuh.

- Kombucha juga mengandung beberapa vitamin B dan C, serta bakteri dan khamir yang penting (Anonim, 2016b).

2. Tuak

Minuman keras khas Bali ini adalah minuman hasil fermentasi yang mengandung alkohol. Meski tradisional, kualitasnya tak kalah dengan anggur luar negeri atau yang biasa kita sebut wine. Biasanya arak bali ini dibuat dari tuak kelapa dengan cara penyulingan (destilasi).

Minuman Khas Bali salah satunya adalah tuak. Tuak di buat dari sadapan air bunga pohon jake (enau), nyuh (kelapa) dan ental (lontar/siwalan). Dari sanalah muncul berbagai macam jenis tuak, seperti tuak nyuh, tuak jake dan tuak ental. Tuak jake banyak di buat di daerah Tenganan Gunung dan Bebandem, tuak nyuh banyak di buat di daerah yang banyak pohon kelapanya seperti pikat, pidpid, gunaksa dll. Sedangkan tuak ental di kenal di daerah yang banyak di tumbuhi pohon ental seperti Merita, Culik, Tianyar, Kubu dll. Tuak jake lebih terasa enak, bersifat netral, proses dalam tubuh lebih cepat dan sering kencing, tuak nyuh kadar alkoholnya lebih keras dari tuak jake, sedangkan tuak ental lebih berat kadar alkoholnya di bandingkan dengan tuak nyuh, rasanya lebih gurih akan tetapi akan membuat lebih cepat mabuk (Anonim, 2010).

3. *Teh Wong*

Teh Wong merupakan minuman hasil fermentasi air gula (air teh manis) yang diperlakukan menggunakan starter dari jamur (*wong*) tuak. Bila tuak *jake* didiamkan selama 6 bulan akan terbentuk gumpalan (nata) sehingga dapat digunakan sebagai biang (starter) dalam pembuatan *teh wong*.

Pembuatan Minuman *Teh Wong* (Antarini, et.al. 2018) :

- a. Teh 3 gram diseduh dalam air panas sebanyak 1000 ml selama 3 menit kemudian ditambahkan gula pasir sebanyak 20 % b/v diaduk rata sampai gula mencair seluruhnya
- b. Setelah air teh dingin dengan suhu 30°C (suhu ruangan) kemudian masukkan nata *wong* (jamur) sebagai starter
- c. Kemudian diperlakukan sesuai perlakuan selama 0 hari, 3 hari, 6 hari, 9 hari, 12 hari
- d. Kemudian *teh wong* dilakukan identifikasi mikroba, kimia dan uji organoleptik

Sebelum pembuatan *teh wong* dilakukan pembuatan biang (jamur) sebagai starter yang terbuat dari Tuak *jake* yang disimpan selama 6 bulan. Bentuk starter dari *teh wong* berbentuk gumpalan seperti nata. Pembuatan *teh wong* biasa dilakukan dengan skala rumah tangga, ada untuk dijual diwarung-warung ataupun untuk dikonsumsi di keluarga pada rumah tangga masyarakat Guwang Sukawati Gianyar. Gambar *teh wong* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 1. Gambar *Teh Wong*

3. Kandungan Teh Kombucha

Hingga saat ini, sudah begitu banyak dilakukan penelitian tentang kombucha, baik di luar negeri ataupun di Indonesia sendiri, semua penelitian tersebut mengindikasikan Teh Kombucha mampu menjaga kesehatan dan mencegah penyakit kronis. Kandungan hasil fermentasi teh kombucha menurut Naland (2004) yaitu asam folat, vitamin B1(Tiamin), Vitamin B2 (Riboflavin), Vitamin B3 (Niasin), Vitamin B12 (Sianokobalamin), Katekin, asam glukoronat, asam asetat, asam laktat, dan vitamin C.

4. Khasiat Teh Kombucha

Kombucha sebagai suplemen alami dapat dikonsumsi secara rutin di lingkungan keluarga. Salah satu manfaat kombucha salah satunya sebagai : detoksifikasi zat racun dalam tubuh, baik untuk kesehatan persendian, melancarkan sistem pencernaan, meningkatkan daya tahan tubuh dan meningkatkan stamina. Khasiat Teh Kombucha dari beberapa penelitian Dufresne dan Farnworth,2000. Hasil fermentasi dan oksidasi dari mikroorganisme pada Kombucha tea menghasilkan berbagai macam asam organik, vitamin dan enzim-enzim. Penelitian menunjukkan bahwa Kombucha tea mampu meningkatkan daya tahan terhadap kanker, mencegah penyakit jantung, melancarkan pencernaan, menstimulasi kekebalan tubuh dan mengurangi peradangan. Dipti et al.,2003. Teh kombucha dapat menurunkan stres oksidatif yang terjadi di dalam tubuh, dapat mencegah berbagai macam penyakit seperti rematik, kanker, dan peradangan sendi, juga meningkatkan stamina dan sistem kekebalan tubuh. Kombucha juga dapat berfungsi sebagai penawar racun serta mengandung zat-zat antibiotik yang berperan penting dalam proses biokimia tubuh (Setiawan et al. 2012).

C. Bakteri Asam Laktat (BAL)

1. Pengertian Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat (BAL) adalah kelompok bakteri gram-positif yang tidak membentuk spora dan dapat memfermentasikan karbohidrat untuk menghasilkan asam laktat. Berdasarkan taksonomi, terdapat sekitar 20 genus bakteri yang termasuk BAL.

Beberapa BAL yang sering digunakan dalam pengolahan pangan adalah *Aerococcus*, *Bifidobacterium*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, dan *Weissella*. Contoh produk makanan yang dibuat menggunakan bantuan BAL adalah yogurt, keju, mentega, *sour cream* (susu asam), dan produk fermentasi lainnya. Dalam pengolahan makanan, BAL dapat melindungi dari pencemaran bakteri patogen, meningkatkan nutrisi, dan berpotensi memberikan dampak positif bagi kesehatan manusia.

Sebagian besar BAL dapat tumbuh sama baiknya di lingkungan yang memiliki dan tidak memiliki O₂ (tidak sensitif terhadap O₂), sehingga termasuk anaerob aerotoleran. Bakteri yang tergolong dalam BAL memiliki beberapa karakteristik tertentu yang meliputi: tidak memiliki porfirin dan sitokrom, katalase negatif, tidak melakukan fosforilasi transpor elektron, dan hanya mendapatkan energi dari fosforilasi substrat. Hampir semua BAL hanya memperoleh energi dari metabolisme gula sehingga habitat pertumbuhannya hanya terbatas pada lingkungan yang menyediakan cukup gula atau bisa disebut dengan lingkungan yang kaya nutrisi. Kemampuan mereka untuk mengasilkan senyawa (biosintesis) juga terbatas dan kebutuhan nutrisi kompleks BAL meliputi asam amino, vitamin, purin, dan pirimidin.

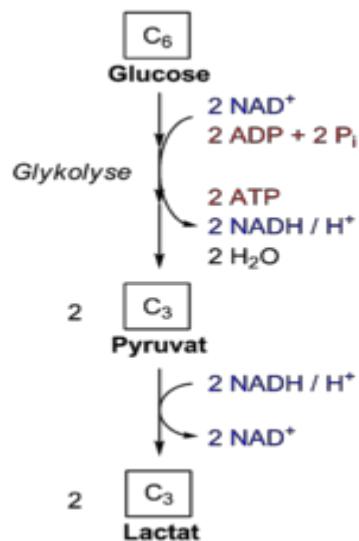
Berdasarkan studi genetika, beberapa sifat BAL yang berhubungan dengan fermentasi cenderung disandikan oleh gen-gen diplasmid (DNA ekstrakromosomal). Sifat-sifat yang dimaksud meliputi produksi proteinase, metabolisme karbohidrat, transpor sitrat, produksi eksopolisakarida, produksi bakteriosin, dan resistensi terhadap bakteriofag. DNA plasmid dapat ditransfer antarbakteri dengan beberapa mekanisme, seperti konjugasi yang umum terjadi pada *Lactococcus* sehingga sifat-sifat tersebut dapat menyebar.

2. Jenis Fermentasi Bakteri Asam Laktat

Fermentasi asam laktat terbagi menjadi dua jenis yaitu fermentasi heterofermentatif dan homofermentatif.

Fermentasi homofermentatif (sebagian besar hasil akhir merupakan asam laktat) dan heterofermentatif (hasil akhir berupa asam laktat, asam asetat, etanol dan CO₂). Secara garis besar, keduanya memiliki kesamaan dalam mekanisme pembentukan asam laktat, yaitu piruvat akan diubah menjadi laktat (atau asam laktat) dan diikuti dengan proses transfer elektron dari NADH menjadi NAD⁺. Pola fermentasi ini dapat dibedakan dengan mengetahui keberadaan enzim-enzim yang berperan di dalam jalur metabolisme glikolisis.

Pada heterofermentatif, tidak ada aldolase dan heksosa isomerase tetapi menggunakan enzim fosfoketolase dan menghasilkan CO₂. Metabolisme heterofermentatif dengan menggunakan heksosa (golongan karbohidrat yang terdiri dari 6 atom karbon) akan melalui jalur heksosa monofosfat atau pentosa fosfat.^[5] Sedangkan homofermentatif melibatkan aldolase dan heksosa aldolase namun tidak memiliki fosfoketolase serta hanya sedikit atau bahkan sama sekali tidak menghasilkan CO₂. Jalur metabolisme dari yang digunakan pada homofermentatif adalah lintasan Embden-Meyerhof-Parnas. Beberapa contoh genus bakteri yang merupakan bakteri homofermentatif adalah *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, dan *Lactobacillus*; sedangkan contoh bakteri heterofermentatif adalah *Leuconostoc* dan *Lactobacillus*.



Gambar 2. Diagram homofermentatif.



Gambar 3. Diagram heterofermentatif

Beberapa contoh produk pangan menggunakan BAL yaitu keju, mentega, yogurt, kimchi, kecap, sosis, wine, kefir (susu fermentasi dari daerah kaukasus), kumiss (hasil fermentasi susu kuda), acar, sauerkraut (hasil fermentasi kubis dengan BAL yang berasal dari Jerman), tarhana (makanan kering hasil fermentasi gandum atau padi-padian dengan susu fermentasi), fermentasi buah dan daun, seperti mangga, daun mustar (buah sawi), dan lain-lain

3. Manfaat Bakteri Asam Laktat

Sebagian bakteri asam laktat berpotensi memberikan dampak positif bagi kesehatan dan nutrisi manusia, beberapa di antaranya adalah meningkatkan nilai nutrisi makanan, mengontrol infeksi pada usus, meningkatkan digesti (pencernaan) laktosa, mengendalikan beberapa tipe kanker, dan mengendalikan tingkat serum kolesterol dalam darah. Sebagian keuntungan tersebut merupakan hasil dari pertumbuhan dan aksi bakteri selama pengolahan makanan, sedangkan sebagian lainnya hasil dari pertumbuhan beberapa BAL di dalam saluran usus saat mencerna makanan yang mengandung BAL sendiri.

Bakteri asam laktat dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain dengan memproduksi protein yang disebut bakteriosin. Salah satu contoh bakteriosin

yang dikenal luas adalah nisin, diproduksi oleh *Lactobacillus lactis* ssp. *lactis*. Nisin dapat menghambat pertumbuhan beberapa bakteri, yaitu *Bacillus*, *Clostridium*, *Staphylococcus*, dan *Listeria*. Senyawa bakteriosin yang diproduksi BAL dapat bermanfaat karena menghambat bakteri patogen yang dapat merusak makanan ataupun membayakan kesehatan manusia, sehingga keamanan makanan lebih terjamin.

Selain bakteriosin, senyawa antimikroba (penghambat bakteri lain) yang dapat diproduksi oleh BAL adalah hidrogen peroksida, asam lemah, reuterin, dan diasetil. Senyawa-senyawa tersebut juga berfungsi untuk memperlama masa simpan dan meningkatkan keamanan produk pangan. BAL menghasilkan hidrogen peroksida (H_2O_2) untuk melindungi selnya terhadap keracunan oksigen. Namun, H_2O_2 dapat bereaksi dengan senyawa lain (contohnya tiosianat endogen dalam susu mentah) hingga menghasilkan senyawa penghambat mikroorganisme lain. Mekanisme ini disebut sebagai sistem antimikroba laktoperoksidase. Asam laktat dan asam lemah lain yang dihasilkan BAL dapat memberikan efek bakterisidal untuk bakteri lain karena pH lingkungan dapat turun menjadi 3-4,5. Pada pH tersebut, BAL tetap dapat hidup sedangkan bakteri lain, termasuk bakteri pembusuk makanan yang merugikan akan mati. Reuterin adalah senyawa antimikrobial efektif untuk melawan berbagai jenis bakteri (bersifat spektrum luas), yang diproduksi oleh *Lactobacillus reuteri* selama pertumbuhan anaerobik terjadi dengan keberadaan glicerol. Diaseteil adalah senyawa yang menentukan rasa dan aroma mentega, serta aktif melawan bakteri gram negatif, khamir, kapang.

Sebagian BAL dapat mengurangi jumlah bakteri patogen secara efektif pada hewan ternak, contohnya bakteri jahat *E. coli* O157 dan *Salmonella*. Di samping itu, BAL juga dikonsumsi manusia dan hewan sebagai bakteri probiotik, yaitu bakteri bakteri yang dimakan untuk meningkatkan kesehatan atau nutrisi tubuh. Beberapa spesies BAL merupakan probiotik yang baik karena dapat bertahan melewati pH lambung yang rendah dan menempel atau melakukan kolonisasi usus. Akibatnya, bakteri jahat di usus akan berkurang karena kalah bersaing dengan BAL.

D. Probiotik

Probiotik adalah sediaan sel mikroba hidup yang memiliki pengaruh menguntungkan terhadap kesehatan dan kehidupan inangnya (Salminen et al., 1999). Efek positif dari aktivitas probiotik terbagi dalam tiga aspek, yaitu nutrisi, fisiologi, dan antimikroba. Aspek nutrisi berasal dari penyediaan enzim yang membantu metabolisme penyerapan laktosa (laktase), sintesis beberapa jenis vitamin (vitamin K, asam folat, piridoksin, asam pantotenat, biotin, dan riboflavin), serta dapat menghilangkan racun hasil metabolit komponen makanan di usus. Aspek fisiologis meliputi kemampuan untuk menjaga keseimbangan komposisi mikrobiota usus sehingga menekan resiko infeksi penyakit dan menstimulasi sistem kekebalan tubuh. Aspek kemampuan antimikroba dinyatakan melalui kemampuan memperbaiki ketahanan terhadap patogen. Namun aktivitas terhadap patogen ini juga dapat berasal dari kemampuan adhesi yang dimiliki probiotik.

Probiotik menurut FAO/WHO (2001) adalah mikroorganisme hidup yang masuk dalam jumlah yang cukup sehingga dapat memberikan manfaat kesehatan bagi inang. Jumlah yang cukup yang dimaksud oleh FAO/WHO (2001) ini adalah 10^6 - 10^8 cfu/g dan diharapkan dapat berkembang menjadi 10^{12} cfu/ g di dalam kolon. International Dairy Federation (IDF) memberikan standar jumlah minimum probiotik hidup sebagai acuan adalah 10^6 koloni/ml pada produk akhir. Jumlah probiotik hidup harus mampu untuk melewati kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan, seperti terekspos asam lambung dan garam empedu, sehingga masih memiliki aktivitas fisiologis. Probiotik dipasarkan dalam bentuk kapsul, tablet, powder, granula, pasta, makanan, dan suplemen (Ray, 1996). Probiotik sering ditambahkan ke dalam produk pangan non- fermentasi, seperti makanan formula bayi, jus buah, dan krim bisuit. Aplikasi probiotik ke dalam produk krim terbukti dapat meningkatkan IgA pada balita Produk yang mengandung probiotik dikategorikan sebagai pangan fungsional dan di Indonesia hal ini telah resmi dinyatakan dalam Peraturan Pangan Fungsional dari BPOM tahun 2005, namun belum secara spesifik dinyatakan regulasi dan jumlah minimal kandungannya.

Probiotik juga dapat menghambat bakteri patogen, melakukan metabolisme terhadap laktosa sehingga bermanfaat bagi penderita intoleran laktosa (Rusilanti,2006). Efek positif dari konsumsi probiotik bagi kesehatan adalah mencegah diare karena dapat melawan rotavirus, menstimulasi sistem imun, mencegah pembengkakan usus (irritable bowel diseases), memberi manfaat bagi penderita intoleran laktosa, membantu mengatasi alergi, menurunkan resiko kanker, mencegah infeksi patogen di saluran pernapasan, mencegah konstipasi, dan menurunkan kadar kolesterol (Schmid et al., 2006). Probiotik dapat merupakan mikroorganisme yang umum ditemukan dapat tumbuh di saluran pencernaan manusia maupun pada beberapa sumber pangan fermentasi yang umumnya merupakan Bakteri Asam Laktat atau BAL (Hamilton- Miller, 2003 dalam Hayouni et al., 2008). Tabel tersebut menunjukkan bahwa pada manusia normal terdapat lima kelompok bakteri utama, dengan kelompok terbesar adalah Enterococcus dan Bacteroides. Tabel 1 menunjukkan isolasi dari feses telah mewakili mikroorganisme yang ada di dalam saluran pencernaan manusia karena jumlahnya tidak berbeda jauh. Perbedaan jumlah diakibatkan kondisi pH dan juga kemampuan menempel mikroorganisme dalam saluran pencernaan.

Probiotik pada umumnya berasal dari BAL, namun tidak semua BAL merupakan probiotik. Golongan BAL dinamakan demikian karena menghasilkan produk utama asam laktat dalam proses metabolismenya. Sumber karbohidrat difermentasi melalui jalur Embden-Meyerhoff Parnas (EMP) menghasilkan 2 molekul asam piruvat yang kemudian diubah menjadi 2 molekul asam laktat. Proses fermentasi ini menghasilkan 2 molekul ATP sebagai sumber energi bagi BAL. Proses ini terjadi apabila tidak ada oksigen, sehingga proses glikolisis tidak dilanjutkan dengan fosforilasi oksidatif, namun perubahan asam piruvat menjadi asam laktat.

Ketahanan BAL terhadap pH rendah karena kemampuannya mempertahankan pH internal lebih alkali dibanding pH eksternal serta dengan mempunyai membran sel yang lebih tahan terhadap kebocoran sel akibat terpapar pH rendah . Kepakaan bakteri terhadap asam dapat tergantung pada kerja simultan dari faktor-faktor

tambahan lain, seperti aktivitas air, kadar garam, potensi redoks, perlakuan panas, dan lain-lain. Ducluzeau et al. (1991) melengkapi dengan pernyataan beberapa probiotik yang telah umum dan aman dipakai, yaitu *Lactobacillus acidophilus*, *L.casei*, *L.plantarum*, *Streptococcus cremoris*, *S. lactis*, *Enterococcus faecium*, *Leuconostoc mesentroides*, *Propionibacterium shermanii*, *Pediococcus acidilactii*, *P. cerevisiae*, *Bifidobacterium adolescentis*, *B. coagulans*, *Bacteroides amylophilus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Torulopsis candida*, *Aspergillus niger*, dan *A. oryzae* (Artanti, 2009).

BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT

A. Tujuan Penelitian

Tujuan Umum : Mengidentifikasi BAL yang berpotensi sebagai kandidat probiotik, karakteristik kimia, Antioksidan dan organoleptik pada *teh wong*

Tujuan Khusus :

- a. Menentukan karakteristik organoleptik (rasa, aroma, warna, dan penerimaan secara keseluruhan) *teh wong*.
- b. Kapasitas antioksidan *teh wong*
- c. Menentukan pH *teh wong*
- d. Menentukan total padatan terlarut *teh wong*.
- e. Menentukan kadar total asam *teh wong*
- f. Menentukan kadar alkohol *teh wong*.
- g. Menentukan Total BAL pada *teh wong*
- h. Menentukan Total mikroba pada *teh wong*
- i. Menentukan uji Katalase BAL pada *teh wong*
- j. Menentukan uji ketahanan BAL pada pH rendah
- k. Menentukan uji Ketahanan BAL terhadap natrium deoksikolat (NaDC)
- l. Menentukan Aktifitas Antibakteri BAL *teh wong*
- m . Menentukan Aktifitas Antioksidan BAL *teh wong*
- n .Mengidentifikasi BAL sebagai potensi Minuman Kandidat probiotik pada *teh wong* dengan PCR secara Uji in vivo pada tikus

B. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini secara teoritis dapat digunakan sebagai tambahan ilmu pengetahuan yang dapat digunakan sebagai bahan rujukan dalam pembuatan *teh wong*.

Secara praktis hasil penelitian ini dapat digunakan untuk pembuatan *teh wong* sebagai minuman tradisional Bali yang mengandung nilai gizi. Adapun target yang ingin dicapai dari hasil penelitian ini adalah keberhasilan fermentasi dalam pembuatan *teh wong* sebagai minuman tradisional Bali berpotensi sebagai minuman probiotik.

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan percobaan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) yaitu 4 perlakuan dan 4 kali ulangan kemudian dilakukan uji organoleptik, menganalisis pH, kadar gula, kadaralkohol, , isolasi dan identifikasi BAL *teh wong*. Analisis pH dengan pH meter, Total padatan terlarut dengan refraktometer, kadar alkohol dengan alkoholmeter, kadar total asam dengan titrasi (Apriantono,dkk. 1989), dan Analisis mikroba yaitu total mikroba(Fardiaz, 1992), Kapasitas Antioksidan dengan spektrofotometer. Untuk konfirmasi isolat BAL sebagai kandidat Probiotik dilakukan uji katalase, uji Ketahanan BAL terhadap pH rendah dan pengecatan Gram serta Ketahanan BAL terhadap natrium deoksikolat (NaDC). Identifikasi Molekuler BAL dengan PCR. Pengolahan dan analisis data dengan sidik ragam (Gaspersz,1995).

Penelitian ini terdiri dari 4 perlakuan yaitu : dengan menggunakan berbagai jenis teh

P1 : Teh hitam (merk x)

P2 : Teh hitam (merk y)

P3 : Teh oolong

P4 : Teh hijau

B. Bagan Alir/Prosedur Kerja

1. Pembuatan Minuman *Teh Wong*

- Daun teh berbagai jenis 3 gram diseduh dalam air panas sebanyak 1000 ml selama 3 menit kemudian ditambahkan gula pasir sebanyak 15 % b/v diaduk rata sampai gula mencair seluruhnya
- Setelah air teh dingin dengan suhu 30°C (suhu ruangan) kemudian masukkan nata *wong* (jamur) sebagai starter sebanyak 8% b/v
- Kemudian difermentasi 6 hari
- Kemudian *teh wong* dilakukan uji organoleptik, kimia dan mikroba

2. Uji Organoleptik

Untuk uji organoleptik dilakukan oleh panelis agak terlatih sebanyak 30 orang yaitu masyarakat desa Guwang Sukawati yang sudah *familiar* dan biasa mengkonsumsi *teh wong* dengan 5 skala hedonik. Uji Organoleptik meliputi rasa, aroma, warna dan penerimaan secara keseluruhan, untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Tabel 1, Tabel 2, Tabel 3

Tabel 1
Skala Hedonik dan Skala Numerik terhadap Rasa, Aroma, Warna
dan Penerimaan Keseluruhan *teh wong*

No	Skala Hedonik	Skala Numerik
1	Sangat suka	5
2	Suka	4
3	Netral	3
4	Tidak suka	2
5	Sangat tidak suka	1

Tabel 2
Mutu Hedonik dan Skala Numerik terhadap Rasa *teh wong*

No	Mutu Hedonik	Skala Numerik
1	Rasa asam	3
2	Rasa agak asam	2
3	Rasa tidak asam	1

Tabel 3
Mutu Hedonik dan Skala Numerik terhadap Aroma *teh wong*

No	Mutu Hedonik	Skala Numerik
1	Aroma Asam	3
2	Aroma agak asam	2
3	Aroma tidak asam	1

3. Analisis Kimia

a. Derajat Keasaman (pH)

- Pengukuran pH *teh wong* dilakukan dengan menggunakan pH meter digital (TOA, ION Meter IM-40S). Sampel sebanyak 10 ml kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu diukur pHnya. Sebelum mengukur larutan pH meter dikalibrasi dengan menggunakan buffer 4 dan 7 (Sudarmadji et al., 1997).

b. Total padatan terlarut dengan *Refraktometer*

Prosedur :

- Sampel diteteskan pada prisma *hand refraktometer*
- Kemudian diatur skala pada alat *hand refraktometer*
- Diarahkan ke cahaya sinar matahari
- Dilihat skala dengan menunjukkan angka pada *hand refraktometer* antara gelap dengan terang. Hitung derajat Brix nya.

c. Kadar Alkohol dengan Alkoholmeter

- Minuman *teh wong* didestilasi sampai mendapatkan destilat kemudian dimasukkan ke dalam gelas ukur 100 ml
- kemudian diukur dengan alkoholmeter

d. Kadar Total Asam

- Bahan diukur dengan volume 5 ml kemudian diencerkan sampai 100 ml
- Kemudian disaring, diambil filtratnya 10 ml
- Titrasi dengan NaOH 0,1 N, kemudian ditambahkan pp 3 tetes
- Titrasi dilanjutkan sampai warna merah muda sampai 30 detik

$$\text{Kadar total asam} = \frac{\text{vol. Titrasi} \times \text{N NaOH} \times \text{BM asam laktat}}{\text{x } 100\% \text{ Volume bahan}}$$

e. Aktivitas Antioksidan

Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH sesuai dengan yang dilakukan oleh Shah dan Modi (2015). Sebanyak 1 ml larutan DPPH 0,1 mM dalam etanol dilarutkan dengan 2 ml ekstrak dalam tabung reaksi. Larutan divortex dan diinkubasi selama 30 menit dalam ruang gelap dan suhu ruang. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer. Blanko yang digunakan adalah etanol. Kontrol dibuat sesuai dengan perlakuan yang diberikan pada proses pengujian sampel namun tanpa menambahkan sampel. Presentase kemampuan menangkal radikal bebas (aktivitas antioksidan) dihitung dengan rumus:

$$\text{Aktivitas Antioksidan \%} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100$$

f. Total Fenol

Penentuan total fenol dengan metode Folin–Ciocalteau (Sakanaka et al., 2005). Sebanyak 0,01 g ekstrak diencerkan ke dalam 5 ml buffer fosfat sitrat sesuai perlakuan. Sampel sebanyak 0,1ml dipipet dan ditambahkan 0,3 ml Etanol 70%. Setelah itu ditambahkan 0,4 ml Folinciaocalteau lalu diinkubasi selama 6 menit. Setelah proses inkubasi ditambahkan 4,2 ml Na₂CO₃ 5% lalu di vortex dan diinkubasi selama 90 menit. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 760 nm.

Hasil pembacaan dibandingkan dengan kurva standar yang dibuat menggunakan asam galat. Perhitungan total fenol dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

$$\text{Total Fenol (mg GAE/g ekstrak)} = \frac{C \times V \times FP}{W}$$

Keterangan:

C = Konsentrasi sampel dari hasil regresi linier (mg/L)

FP = Faktor pengenceran

V = Volume sampel (L)

W= Berat sampel (g)

4. Analisis Mikroba

a. Hitung Total BAL dengan Metode Agar Cawan

- Total bakteri ditentukan dengan metode permukaan (Fardiaz, 1993). Sebanyak 100 μ l sampel dimasukkan ke dalam *Eppendorf* yang telah berisi 900 μ l larutan garam fisiologis (NaCl 0,85%), sehingga diperoleh pengenceran 10⁻¹, kemudian dikocok hingga homogen, selanjutnya dipipet sebanyak 100 μ l dan dimasukkan ke dalam *Eppendorf* yang telah berisi 900 μ l larutan garam fisiologis, sehingga diperoleh pengenceran 10⁻², demikian seterusnya untuk mendapatkan pengenceran yang lebih besar. Dari pengenceran yang dikehendaki, sebanyak 100 μ l dipipet ke dalam cawan petri yang berisi Bakteri kemudian ditumbuhkan dalam media MRS (*de Mann, Rogosa, Sharpe*). Ke dalam media MRS agar yang telah disiapkan sebelumnya ditambahkan 60 ppm *Bromcresol Purple* (BCP) sebagai indikator pH. kemudian disebar ke seluruh permukaan media (*surface spread method*) dengan batang gelas bengkok. Cawan petri yang sudah ditanami selanjutnya dimasukkan ke dalam inkubator dengan cara terbalik dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Koloni BAL akan nampak sebagai koloni yang dikelilingi oleh zone berwarna kuning selanjutnya diisolasi dan digores pada media MRS agar. Isolat murni selanjutnya disimpan pada larutan gliserol dengan konsentrasi akhir 15% dan disimpan sebagai stok kultur pada suhu – 20°C untuk biakan kerja (*working culture*) dibuat dalam bentuk kultur tusuk (stab) (Sujaya dkk, 2008; Suardana dkk, 2007;

Nuryady dkk, 2013; Nur dkk, 2015). Pengamatan dan hitung populasi (total bakteri).

Jumlah Total Bakteri = Jumlah koloni per cawan x 1/faktor pengenceran

- Untuk konfirmasi isolat BAL dilakukan uji katalase dan pengecatan Gram. Satu tetes kultur di atas diteteskan di atas larutan 30%H₂O₂. Katalase positif ditandai dengan terbentuknya gelembung udara (Kozaki et al, 1992 dalam Sujaya, 2008). Pengecatan Gram dilakukan untuk melihat bentuk sel dan sifat Gram. Pembentukan gas dari glukosa dilakukan loop panas yang ditandai dengan terbentuknya buih (Sperber dan Swan, 1976 dalam Sujaya, 2008).

b. Identifikasi mikroba dengan Uji Pengecatan Gram

- Isolat murni sebanyak satu ose ditumbuhkan pada media LB (*Lactose Broth*) kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam
- Kemudian dilakukan uji pengecatan Gram
- setelah kering dilihat pada mikroskop.

c . Uji kekeruhan dengan spektrofotometer

- Isolat murni sebanyak satu ose ditumbuhkan pada media LB (*Lactose Broth*) kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam
- Kemudian dilakukan pengukuran OD (*Optical Density*) dengan spektrofotometer

d. Pengujian Aktivitas Antibakteri

Teh Wong yang telah ditambahkan kultur starter dengan jenis BAL terpilih diuji aktivitasnya terhadap bakteri uji *E. coli* (konsentrasi 10⁵ – 10⁶ CFU/ml) dan *S. aureus* dengan waktu kontak selama 24 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya dilakukan uji total BAL, *Escherichia coli* (Fardiaz, 1989) dan *Staphylococcus aureus* dengan perhitungan koloni berdasarkan metode ISO (Harrigan, 1998). Kombucha yang mampu mereduksi jumlah bakteri uji terbanyak dipilih untuk digunakan pada tahap selanjutnya.

Pengamatan aktifitas antagonis BAL terhadap bakteri patogen menggunakan bakteri uji *E. coli* dan *S. Aureus*.

Prosedur yang digunakan adalah difusi agar (Schillinger dan Lucke, 1989). Satu osemasing masing bakteri uji diinokulasi kedalam 20 ml NB (Nutrient Broth) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Masing-masing bakteri uji diinokulasi sebanyak 25 μ l kedalam NA (Nutrient agar) secara pour plate dan dibiarkan mengeras. Media NA yangtelah mengeras kemudian dibuat sumuran menggunakan alat bor yang telah steril pada bagian tengah cawan petri. Sumuran yangtelah dibuat diisi dengan media MRS Broth yang telah berisi kultur bakteri asam laktat (1 ml kultur kerja bakteri asam laktat dimasukan kedalam 10 ml MRS Broth dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam) sebanyak 60 μ l. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter zona bening yang terbentuk disekitar sumuran diukur sebagai zona penghambat bakteri asam laktat terhadap bakteri pathogen

$$r' = \sqrt{rp^2 + 2.rp.rs} \times Fk + rs^2 - rs$$

$$d' = 2(r')$$

Keterangan:

r' = Jari-jari (mm) zona hambat hasil konversi.

rp = Jari-jari (mm) zona hambat hasil pengujian langsung (pengukuran dengan jangkasorong)

rs = Jari-jari sumur uji (mm) ditambah jari-jari zona hambat kontrol pelarut

Fk = Faktor koreksi pengenceran atau pemekatan

d' = Diameter (mm) zona hambat hasil konversi

e. Pengujian Ketahanan BAL terhadap pH Rendah

- Sebanyak 50 μ l kultur dari stok kultur diinokulasi kedalam 5 ml MRS broth dan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.
- Suspensi bakteri ini diambil masing-masing sebanyak 100 μ l, dimasukkan ke dalam 3 buah eppendorf yang telah berisi 900 μ l media MRS broth dengan variasi pH (ph 2, 3 atau 4), diinkubasi selama 3 jam dalam waterbath pada suhu 37°C, disentrifuse dengan kecepatan 7000 rpm selama 5 menit dan supernatannya dibuang

- Pelet sel pada dasar tabung dicuci dengan 300 μ l normal salin, divortex dan disentrifuse kembali dengan kecepatan 7000 rpm selama 5 menit. Pengerajan tersebut diulang sebanyak 3 kali.
- Pelet sel pada dasar tabung ditambahkan 300 μ lnormal salin, kemudian diambil sebanyak 50 μ l untuk diinokulasikan kedalam 5 ml media MRS broth pH 7, inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Nocianitri, 2011; Agestiawan, 2014).

f. Pengujian Ketahanan BAL terhadap natrium deoksikolat (NaDC)

Uji ketahanan BAL terhadap natrium deoksikolat (NaDC) dilakukan dengan membiakkan BAL isolat 9Adari stok kuman ke dalam 5 ml medium MRS cair dengan pH sebesar 7,2. Masing-masing sebanyak 50 μ L isolat yang ditumbuhkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 mL MRS cair dengan perlakuan masing-masing tabung antara lain kontrol (media MRS cair tidak ditambahkan natrium deoksikolat (NaDC), perlakuan 1, 2, dan 3 masing-masing ditambahkan NaDC sebanyak 10, 20, dan 30 μ L, sehingga pada masing-masing perlakuan diperoleh konsentrasi akhir NaDC sebesar 0,2; 0,4; dan 0,6 mM. Selanjutnya semuatabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam secara anaerob. Ketahanan isolat BAL diukur berdasarkan tingkat kekeruhan (OD 660 nm) menggunakan spektofotometer. Bila nilai absorbansinya (A) < 0,1 maka strain bakteri tersebut dianggap tidak tahan terhadap NaDC, dan bila $A \geq 0,1$ maka strain BAL tahan

terhadap NaDC (Sujaya et al., 2008). Seluruh data yang diperoleh dari hasil penelitian ini dianalisis secara deskriptif kualitatif yang dapat disajikan dalam bentuk tabel atau grafik, yang merupakan hasil dari pengukuran optical density(OD) dari masing-masing uji yang dilakukan (Febrianti, dkk. 2016; Riskiyanto dan L Yuanita, 2013).

g. Pengujian Aktifitas Antioksidan BAL teh wong,

Prosedur Penelitian

1) Persiapan sel lysate strain probiotik

Strain probiotik ditumbuhkan pada MRS broth dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Sel probiotik dipanen dengan centrifugasi pada 5000 g selama 10 menit pada suhu 4°C dan cuci dengan 20 mM sodium phosphat buffer (PBS; 0,85% NaCl, 2,86 mM KCl, 10 mM Na₂HPO₄, dan 1,76 mM KH₂PO₄, pH 7) sebanyak 2 kali. Pellet sel probiotik ditambahkan 20 mM sodium phosphat buffer pH 7, sel probiotik kemudian dihancurkan dengan ultrasonic cell disrupter dalam ice bath. Sel debris dipisahkan dengan sentrifugasi pada 10000 x g selama 10 menit pada suhu 4°C. dan difiltrasi (0,45 µm, Millipore) (Kim et al., 2006^b). Konsentrasi protein untuk masing-masing ekstrak (1 mg/ml) di tentukan dengan metode Bradford.

2) Analisis TBARS

Analisis TBARS dilakukan menurut metode Kim *et al.*, (2006^b). Campuran reaksi dasar mengandung 0,6 ml 20 mM PBS (pH 7,0), 1 ml emulsi asam linoleat (0,1 ml asam linoleat; 99%, Sigma, 0,2 ml Tween 20, dan 19,7 ml aquades) dan 0,2 ml sampel. Reaksi dimulai dengan menambahkan H₂O₂ (0,2 ml, 0,56 mM) dan FeSO₄ (0,2 ml, 0,01%) ke dalam campuran reaksi. Campuran reaksi diinkubasi pada 37°C selama 6 jam, kemudian ditambahkan 0,2 ml TCA 4%, 2 ml TBA 0,8%, dan 0,2 ml BHT 0,4%, dan dipanaskan pada suhu 100°C selama 20 menit. Jumlah peroksidasi lipid ditentukan dengan mengukur absorban dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 532 nm. Level penghambatan proksidasi lipid dinyatakan dalam persen dan dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Penghambatan} = [1 - A_{532} \text{ sampel}/A_{532} \text{ kontrol}] \times 100\%$$

A_{532} = absorban pada panjang gelombang 532 nm

3) Aktivitas penangkapan radikal hidroksi

Aktivitas penangkapan radikal hidroksi ditentukan dengan metode yang dijelaskan oleh Kullisaar *et al.*, (2002). Radikal hidroksi dihasilkan melalui

reaksi Fenton menggunakan asam terephthalat (THA). Larutan THA (2 ml, 10 mM) dalam SPB ditambahkan 0,1 ml sampel. Radikal hidroksil dihasilkan dengan menambahkan 0,1 ml CuSO₄ × 5 H₂O dan 0,1 ml hidrogen peroksida (konsentrasi akhir adalah 0,01 mM). Hasil reaksi THA dengan radikal hidroksi diukur dengan menggunakan fluorescence spektrofotometer pada 312 nm eksitasi dan 426 nm emisi. Aktivitas penangkapan radikal hidroksi dinyatakan sebagai tingkat penghambatan reaksi antara THA dengan radikal hidroksi oleh sampel.

4) Aktivitas pengikatan ion logam Fe

Aktifitas pengikatan Fe²⁺ diuji dengan mengukur pembentukan kompleks ferrous besi-ferrozine (Kim *et al.*, 2005). Campuran reaksi terdiri dari 4,6 ml air deionisasi, besi klorida (0,1 ml, 2 mM, Sigma) dan ferrozine (0,2 ml, 5 mM, Sigma), dan ditambahkan 0,1 ml sampel. Setelah didiamkan 10 menit pada suhu kamar, campuran diukur absorbansinya pada panjang gelombang 562 nm. Persentase aktivitas pengikatan Fe adalah sebagai berikut:
Aktifitas pengikatan (%) = [1 - (absorbansi sampel) / (absorbansi kontrol)] x 100

5) Aktivitas superoksid dismutase (SOD)

Aktivitas superoksid dismutase (SOD) diukur dengan menggunakan kit yang tersedia secara komersial menurut Kim *et al.*, (2005). Sebanyak 50 ml sel lisat ditambahkan ke 1,7 ml substrat campuran, diinkubasi pada suhu 37 ° C dan ditambahkan 250 ml xantin oksidase. Absorbansi awal dibaca setelah 30 detik dan absorbansi akhir setelah 3 menit pada 505 nm. Aktivitas SOD dinyatakan sebagai U/g protein {satu unit adalah derajat penghambatan radikal superoksid yang bereaksi dengan INT (2-4 iodophenyl-3-4-5-nitrophenol-phenyltetrazolium chlrolide) untuk membentuk formazan pewarna merah}.

h. Identifikasi Molekular BAL terhadap 16S Ribosomal DNA (rDNA) dengan

RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) secara In Vivo pada Tikus

1. Pengujian RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) sel lisat hasil isolasi

Bahan yang digunakan adalah: agarose (*Pronadisa*), *PCR mix (Intron)*, primer M13F dengan urutan basa (*sequences*) 5'-CGA CGT TGT AAA ACG ACG GCC AGT-3', *deionize water*, DNA, Tris Acetic EDTA (TAE) 1X, *loading buffer*, *ethidium bromide (Bio rad)*, kit isoplant II (*isoplant code no.* 310-04151, Nippon Gene, Toyama, Japan), dan kertas tissue

2. Pengujian PCR sel lisat hasil isolasi

Bahan yang digunakan 0,2 mM dNTPs, 1 X PCR Buffer 10 X, 0,6 mM MgCl₂, 0,9 U AmpliTaq, primer spesifik *Lactobacillus rhamnosus*; Lu5 – F (5'-CTA GCG GGT GCG ACT TTG TT-3') dan Rhall – R (5'-GCG ATG CGA ATT TCT ATT ATT-3'), masing-masing 10 pmol, *deionize water*, DNA, TAE 1X, *loading buffer*, *ethidium bromide (Bio rad)*, DNA marker (Amresco, Solon, Ohio), dan kertas tissue.

3. Penyegaran Materi Hidup

Stok isolat BAL yang teridentifikasi yang disimpan dalam gliserol 30% pada suhu -20° C, diambil sebanyak satu *loop ose* dan diinokulasikan dalam tabung reaksi yang berisi 5 ml media MRS *broth*. Tabung reaksi diinkubasi pada suasana aerob selama 24 jam pada suhu 37° C. Hasil positif ditunjukkan dengan timbulnya kekeruhan pada tabung reaksi. Selanjutnya dilakukan uji konfirmasi untuk memastikan bahwa isolat tidak mengalami perubahan. Uji ini diantaranya: uji gas, katalase, pengecatan gram, dan morfologi. Bila tidak terjadi perubahan, maka hasil positif ini (kultur) akan dipergunakan untuk tahap pengujian selanjutnya (Portugal *et al.*, 2006).

a) Uji Gas

Uji produksi gas dilakukan untuk mengetahui BAL bersifat homofermentatif atau heterofermentatif. Uji gas dilakukan dengan mencelupkan ose dalam keadaan panas ke dalam kultur BAL yang telah tumbuh pada media MRS broth. Kultur BAL bersifat heterofermentatif jika pada saat ose panas dicelupkan terbentuk buih seperti soda yang dikocok.

b) Uji Katalase

Pengujian katalase dilakukan dengan meneteskan larutan H₂O₂ 3% di atas gelas objek, selanjutnya satu loop ose isolat BAL yang diuji diambil dan dimasukkan ke dalam larutan H₂O₂ 3% yang ada di gelas objek. Hasil positif dinyatakan dengan adanya gelembung-gelembung gas, sedangkan apabila tidak terbentuk gelembung- gelembung gas dinyatakan negatif (Lay, 1994).

c) Uji Morfologi dan Pewarnaan Gram

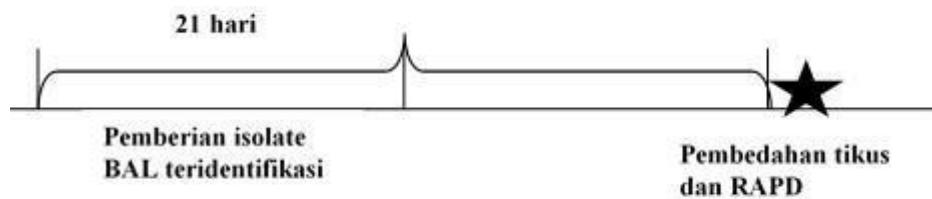
Pewarnaan gram dilakukan dengan membuat preparat ulas pada gelas objek. Gelas objek dibersihkan dengan kapas yang sudah dibasahi dengan alkohol. Tabung reaksi berisi isolat BAL divortek, diambil satu loop ose, kemudian diusapkan pada bagian tengah gelas objek. Preparat difiksasi diatas api untuk membunuh dan melekatkan bakteri pada gerlas objek. Setelah kering diberi larutan kristal violet (sebagai zat warna) selama satu menit, kemudian dicuci dengan air mengalir. Selanjutnya diberi larutan lugol (mordan), selama satu menit, dicuci dengan air mengalir. Preparat kemudian diberi larutan pemucat (aseton alkohol) selama 5-10 detik, kemudian dibilas lagi dengan air mengalir. Setelah itu preparat diberi larutan safranin selama 15 detik, dicuci dengan air mengalir, kemudian dikeringkan dengan cara difiksasi di atas api. Uji morfologi dilakukan dengan pengamatan dengan mikroskop cahaya pada pembesaran 100 kali. Hasil pengamatan berupa morfologi sel dan perbedaan warna, dimana warna ungu kebiruan menunjukkan bakteri bersifat Gram positif, sedangkan warna merah atau merah muda menunjukkan bakteri bersifat gram negatif (Lay, 1994).

d. Perlakuan pada Tikus Putih (*R. norvegicus*)

1) Tahap aklimatisasi tikus putih (*R. norvegicus*)

Pada penelitian ini akan dipergunakan 20 ekor Tikus Putih (*R. norvegicus*) jantan yang berumur 5 minggu dengan bobot 40-50 gram yang diperoleh dari tempat penangkaran di Jalan Ceningan Sari, Gang Anyar Sari, Sesetan, Denpasar (Bapak Minggu). Sebelum diberikan perlakuan, hewan percobaan diaklimatisasi selama 19

hari, yang meliputi; kandang, umur, diet, dan bobot tubuh. Pada tahap aklimatisasi ini, tikus diberikan makanan standar berupa campuran jagung giling, kecambah kacang hijau, minyak dari lemak babi dan kuning telur (50:30:10:10). Tikus diberi tanda dengan cat kuku pada bagian kuku kaki belakang, ekor dan telinga. Tikus ditempatkan pada kandang yang terbuat dari bak plastik dengan ukuran 50 cm x 30 cm x 10 cm. Bak diisi dengan penutup kawat dan pada dasar bak diisi dengan sekam padi sebagai penyerap urin dan kotoran tikus seperti terlihat pada Lampiran 8 (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988). Bagan penelitian dengan hewan coba tikus putih dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 4. Bagan penelitian dengan hewan coba tikus putih

2) Persiapan suspensi bakteri (*BAL teridentifikasi*)

Biakan yang telah tumbuh pada media MRS broth (sub bab 4.5), divortex (untuk mendapatkan biakan yang homogen), kemudian diambil sebanyak 1 ml dengan pipet mikro, dimasukkan ke dalam *eppendorf* dan disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 7 menit untuk memisahkan massa sel dengan supernatan. Supernatan dibuang dan massa sel yang diperoleh dicuci sebanyak 2 kali dengan larutan salin (NaCL 0,85%) untuk menghilangkan sisa-sisa media. Pencucian dilakukan dengan menambahkan 1 ml salin pada massa sel, divortex hingga homogen, disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 7 menit. Pada tahap akhir, massa sel dilarutkan dengan 1 ml salin, sehingga diperoleh konsentrasi suspensi kurang lebih 10^8 cfu/ml (Sujaya, 2009 dalam Nursini, 2010).

3) Perlakuan *in vivo* pada tikus putih (*R. norvegicus*)

Suspensi BAL teridentifikasi yang diperoleh (anak sub bab 4.6.2), diberikan pada tikus putih dengan metode *oral gavage*, yaitu dengan cara memberikan

suspensi masing-masing sebanyak 0,5 ml ($\pm 9,2 \times 10^8$ sel/ml) kepada 10 ekor tikus putih dengan metode sonde. Sebagai kontrol 10 ekor tikus lainnya diberikan salin. Perlakuan ini dilakukan selama 3 minggu dengan frekuensi pemberian sekali dalam sehari (pada jam

13.00 – 13.30 WITA). Perlakuan diberikan setelah pemberian makan pada tikus putih. Setiap hari selama perlakuan, berat makanan yang diberikan dan pertambahan berat badan tikus selalu di timbang (Sujaya, 2009 dalam Nursini, 2010).

4) Pengukuran pH sekum

Isi sekum diukur phnya menggunakan pH meter (TOA ion meter IM 40S) yang sebelumnya telah dikalibrasi dengan buffer pH 4 dan pH 7. Isi sekum yang telah diencerkan sebanyak 1 kali (1:1), kemudian dihomogenkan dengan divortex. Selanjutnya pH isi sekum diukur dengan mencelupkan elektroda pH meter ke dalam sampel dan hasilnya dicatat.

5) Penghitungan populasi bakteri

Setelah 3 minggu perlakuan, tikus putih yang diambil sekumnya dibius dengan kloroform 10%, dibedah dan diambil bagian sekumnya. Sekum yang diperoleh diletakkan pada cawan petri steril, kemudian isinya dikeluarkan dan ditampung dalam tabung steril dan ditambahkan larutan fisiologis (NaCl 0,85%) sesuai dengan berat isi sekum (pengenceran 1:1) dan dihomogenkan. Selanjutnya 0,5 ml suspensi isi sekum dimasukkan ke dalam tabung pengencer yang berisi 4,5 ml salin sehingga diperoleh pengenceran 10^{-1} , divortex hingga homogen, kemudian diencerkan lagi sampai diperoleh pengenceran 10^{-7} . Untuk penentuan total BAL digunakan metode permukaan. Sebanyak 0,1 ml sampel yang telah diencerkan (pengenceran $10^{-3} - 10^{-5}$) disebar pada permukaan media MRS agar yang telah ditambahkan dengan *Bromo Cresol Purple* (BCP), kemudian diinkubasi secara anaerob selama 48 jam pada suhu 37° C. Metode yang sama dilakukan untuk penghitungan total bakteri anaerob, penanaman dilakukan pada media anaerob agar (pengenceran $10^{-4} - 10^{-7}$) dan diinkubasi secara anaerob dengan menggunakan *anaerobic gas pouch* dalam *anaerobic chamber* (Lampiran 10). Setelah diinkubasi selama 48 jam, dilakukan penghitungan jumlah koloni yang tumbuh. Total populasi

bakteri diperoleh dengan mengalikan jumlah koloni yang tumbuh dengan faktor pengencernya dikalikan 10 (Fardiaz, 1993).

1) Analisis Populasi BAL menggunakan teknik PCR

a) Isolasi Genomik DNA

Isolasi Genomik DNA untuk setiap materi hidup digunakan mengacu pada prosedur Sohier et al. (1999). Sebanyak 5 ml kultur dari tiap tabung reaksi yang berisi biakan yang telah disegarkan diambil dan ditampung pada tabung *Eppendorf*. Selanjutnya *Eppendorf* disentrifugasi dengan kecepatan 5.000 rpm selama 10 menit. Massa sel yang diperoleh dibilas dengan 200 μ l larutan buffer TEN (Tris EDTA-NaCl) yang telah didinginkan didalam pecahan es. Massa sel disuspensiakan di dalam 300 μ l larutan lysozim dengan konsentrasi 20 mg/10 ml dalam buffer TE (Tris EDTA) dan diinkubasi dalam *water bath* suhu 37°C selama 2 jam. Ke dalam *Eppendorf* ditambahkan 300 μ l larutan SDS 10% dan diinkubasi kembali pada suhu 37°C selama 1 jam. Kemudian 300 μ l larutan fenol jenuh ditambahkan ke dalam *Eppendorf* tersebut (dalam buffer Tris-HCl, pH 8,0), yang diikuti dengan penambahan 300 μ l kloroform- isoamyl alkohol (24 : 1). Suspensi pada tiap *Eppendorf* disentrifugasi dengan kecepatan 15.000 rpm pada suhu 5°C selama 20 menit. Bagian supernatan tiap biakan diambil sebanyak 150 μ l kemudian dimasukkan ke dalam *Eppendorf* baru. Pada setiap *Eppendorf* ini, kemudian ditambahkan 2,5 kali volume alkohol 99% yang sebelumnya sudah didinginkan dan dibiarkan selama 15 menit dalam es. Selanjutnya *Eppendorf* disentrifugasi pada 15.000 rpm selama 15 menit pada suhu 5°C, untuk mengendapkan DNA. Supernatan dibuang dan DNA disuspensiakan dengan alkohol 70%, kemudian dilanjutkan dengan sentrifugasi pada 15.000 rpm selama 15 menit. Endapan DNA dikeringkan dengan menggunakan aspirator dan selanjutnya disuspensiakan dalam 20 μ l buffer TE pH 7,5. Setelah itu dilakukan tahapan elektroforesis untuk memastikan hasil DNA yang telah diisolasi.

b). PCR Koloni *BAL*

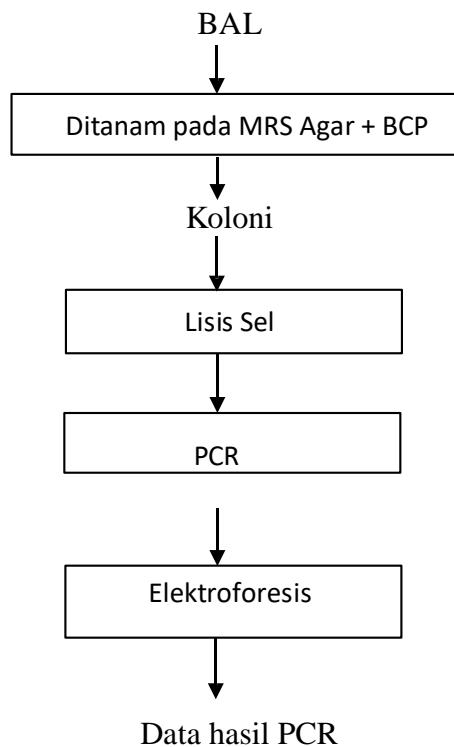
Sebanyak 1 loop ose diambil dari cawan petri biakan *BAL teh wong* kemudian diinokulasikan pada tabung reaksi yang berisi 5 ml media MRS broth. Tabung reaksi ini kemudian diinkubasikan selama 24 – 48 jam pada suhu 37°C, hasil positif

ditunjukkan dengan timbulnya kekeruhan pada dasar tabung. Sebanyak 1 ml media MRS broth dengan hasil positif ini dipindahkan ke dalam tabung *Eppendorf* kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 5.000 rpm selama 10 menit untuk mendapatkan massa sel. Bagian supernatan dibuang lalu massa sel dicuci 2 kali dengan air steril kemudian massa sel yang diperoleh ditambahkan 50 μ l air steril dan 2,5 μ l lysozim, divortex sesaat lalu diinkubasikan dalam *water bath* suhu 37 $^{\circ}$ C selama 1 jam. *Eppendorf* biakan selanjutnya diberikan perlakuan pemanasan pada air mendidih selama 15 menit. Kemudian *Eppendorf* biakan diberikan perlakuan suhu rendah dengan penyimpanan pada suhu -20 $^{\circ}$ C selama 15 menit. Pemanasan dan pendinginan ini dilakukan sebanyak dua kali. Sebanyak 1 μ l cairan dari *Eppendorf* biakan digunakan sebagai sumber DNA. PCR yang dilakukan mengacu pada prosedur Caetano-Anollés and Gresshoff, 1996. Reaksi campuran PCR dilakukan pada total volume 12,5 μ l yang mengandung campuran 6,25 μ l kit (Intron), 1,25 μ l primer 16S, 4 μ l deionized water (DW), 1 μ l DNA (massa sel). Amplifikasi dilakukan pada mesin *Infinigen thermocycler*, dengan kondisi satu siklus pada 95 $^{\circ}$ C selama 4 menit, diikuti dengan 40 siklus pada 95 $^{\circ}$ C selama 30 detik, 55 $^{\circ}$ C selama 30 detik, dan 72 $^{\circ}$ C selama 1 menit. Tahap akhir ditambahkan dengan satu siklus pada suhu 72 $^{\circ}$ C selama 7 menit. Diikuti dengan 8 $^{\circ}$ C selama 10 menit. Setelah reaksi selesai, sebanyak 5 μ l sampel diambil untuk keperluan elektroforesis.

i. Elektroforesis

Sebanyak 1,2 gram agarose disuspensi dalam 100 ml buffer TAE (*Tris-Acetic Acid-EDTA*) 1X, kemudian dipanaskan dalam *mikrowave* sampai larut sempurna. Agarose ini kemudian dituangkan ke dalam cetakan yang sudah dilengkapi dengan sisir (*comb*) untuk membuat sumur (*well*). Agarose kemudian dimasukkan ke dalam bak (*chamber*) elektroforesis yang telah diisi buffer TAE 1X, dengan tinggi permukaan larutan buffer 2-3 mm diatas agar. Setiap suspensi DNA hasil PCR dipipet sebanyak 5 μ l kemudian diteteskan di atas parafilm yang bersih dan ditambahkan dengan 1 μ l *loading buffer* 6X. Sampel-sampel DNA ini dimasukkan secara vertikal tepat di dalam setiap sumur gel. Selanjutnya pada sumur gel yang lain dimasukkan DNA *marker* 100 bp, untuk menentukan panjang pita

yang akan terbentuk. Mesin elektroforesis (Cosmo Bio co ltd) dihidupkan dengan cara menghubungkan tangki elektroforesis pada sumber arus 110 volt dan dijalankan selama 30 menit. Setelah itu mesin dimatikan dan gel diangkat, kemudian gel direndam dalam larutan ethidium bromida ($5 \mu\text{gr/ml}$) dalam buffer 1X TAE selama 10 menit. Gel diangkat dan dicuci dalam aquades selama 10 menit. Pita yang terbentuk pada gel dilihat dibawah sinar UV dan selanjutnya difoto. Untuk lebih jelasnya deteksi BAL potensi Probiotik dengan teknik PCR dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5
Diagram Alir Deteksi Populasi BAL Potensi Probiotik dengan RAPD

4) Lokasi Penelitian dan Waktu Penelitian

Lokasi penelitian akan dilakukan di tiga tempat yaitu : pembuatan teh wong dan Uji Organoleptik minuman terfermentasi (*teh wong*) di laboratorium Ilmu Teknologi Pangan di Jurusan Gizi Poltekkes Denpasar, analisis kimia di laboratorium

Teknologi Pangan Unud dan analisis mikroba di laboratorium Teknologi Pertanian Unud dan Lab. Analitik Unud. Penelitian dilaksanakan tahun 2021- 2023.

C. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam pembuatan *teh wong* (berbagai jenis teh) adalah Daun teh hitam, teh hijau, teh olong (dari daun teh yang diseduh dengan air panas) ditambahkan gula pasir sedangkan untuk bahan kimia adalah media Potatoes Dextrose Agar (PDA), MRSA, NaCl (normal salin), Buffer, biuret, NaOH, aquades, etanol 96%, gliserol, set pengecatan Gram (bioanalitika).

Alat yang digunakan dalam pembuatan *teh wong* adalah kompor, panci dan Toples kaca sedangkan untuk analisis kimia adalah pH meter, tabung reaksi, gelas ukur, vortex mixer, petridish, elenmeyer, hot plate stirer, desikator, inkubator, kuvet, spektrofotometer, Mikroskop dan set PCR.

D. Analisis Data

Data yang diperoleh akan disajikan dalam bentuk tabel, grafik dan gambar yang kemudian, diproses dengan program software komputer dengan analisis statistik sidik ragam jika diperoleh hasil yang berbeda akan dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) (Gaspersz,1995).

E. Etika Penelitian

Penelitian ini menghormati hak-hak subyek, untuk itu prinsip etika diterapkan pada penelitian ini yaitu:

1. *Respect for persons*

Peneliti menghormati harkat dan martabat manusia, otonomi, perbedaan nilai budaya dan menjamin kerahasiaan sebagai subyek peneliti. Untuk itu peneliti melakukan persetujuan setelah pensjelasan (PSP).

2. *Beneficence*

Beneficence yaitu tidak berbuat merugikan subyek. Peneliti telah mempertimbangkan bahwa penelitian ini lebih banyak manfaat daripada kerugian dari penelitian ini. Peneliti juga memaksimalkan manfaat dan

meminimalkan risiko dengan penelaahan hasil penelitian terdahulu.

3. *Justice*

Berlaku adil. Peneliti berlaku adil tanpa membedakan antar subyek penelitian. Semua subyek akan mendapatkan perlakuan yang sama.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Organoleptik

Teh Wong merupakan minuman hasil fermentasi air gula (air teh manis) yang difermentasi menggunakan starter dari jamur (*wong*) tuak. Bila tuak jake didiamkan selama 6 bulan akan terbentuk gumpalan (nata) sehingga dapat digunakan sebagai biang (starter) dalam pembuatan *teh wong*. Nata yang terbentuk digunakan sebagai starter untuk pembuatan *Teh Wong*.

Uji Organoleptik *Teh Wong* meliputi rasa, aroma, warna dan penerimaan secara keseluruhan dengan uji kesukaan (uji hedonik) dengan 5 skala hedonik dan mutu hedonik pada mutu rasa, mutu aroma dan mutu warna *Teh Wong* dengan 3 skala mutu hedonik. Penilaian organoleptik dilakukan oleh panelis agak terlatih sebanyak 25 panelis dengan 4 perlakuan dan 4 kali ulangan. Adapun hasil uji organoleptik meliputi uji hedonik dan mutu hedonic dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4
Nilai rata-rata uji organoleptik *Teh Wong*

Karakter Mutu	P1	P2	P3	P4
1. Hedonik				
Rasa	4,40 ^b	4,68 ^a	4,03 ^c	3,45 ^d
Aroma	3,80 ^a	3,40 ^a	3,19 ^{ab}	2,97 ^b
Warna	3,80 ^{bc}	4,27 ^a	3,66 ^c	3,46 ^c
Penerimaan keseluruhan	3,91 ^a	4,04 ^a	3,44 ^{bc}	3,43 ^c
2. Mutu Hedonik				
Mutu Warna	2,26 ^b	2,94 ^a	2,04 ^c	1,36 ^d
Mutu Aroma	2,22 ^a	2,31 ^a	2,12 ^{ab}	1,48 ^c
Mutu Rasa	2,17 ^a	2,27 ^a	2,22 ^a	1,98 ^b
Total notasi a	4	7	1	0

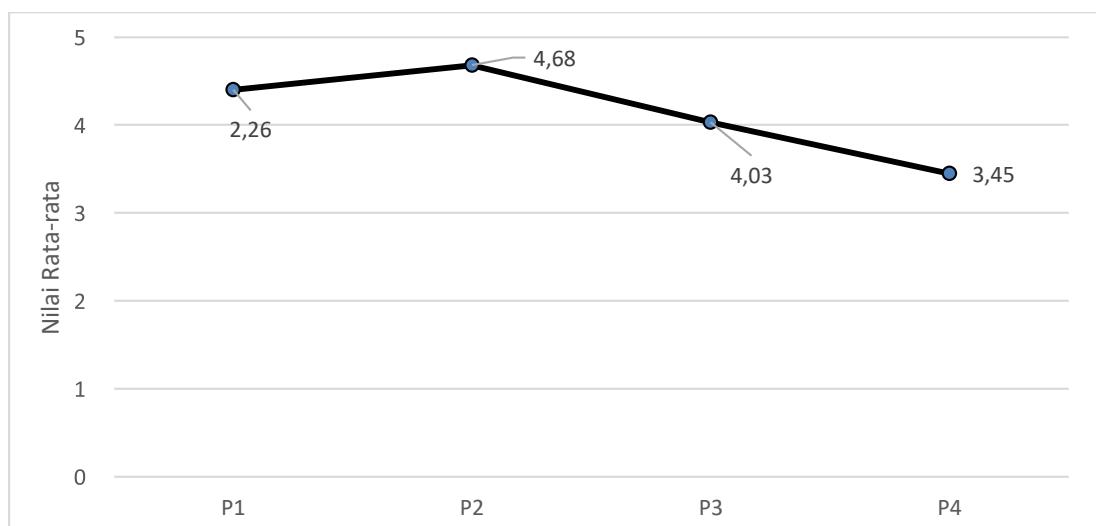
Keterangan : huruf yang berbeda-beda dibelakang nilai rata-rata menunjukkan berbeda signifikan dengan taraf uji 5% dan 1%

Dari Tabel 4 menunjukkan bahwa nilai tertinggi terdapat pada perlakuan P2 berdasarkan penilaian panelis dengan perlakuan berbagai jenis teh. Untuk lebih

jelasnya dari uji organoleptik terhadap uji kesukaan meliputi rasa, aroma, warna, penerimaan keseluruhan dan mutu hedonic meliputi mutu rasa, mutu aroma dan mutu warna.

a. Rasa

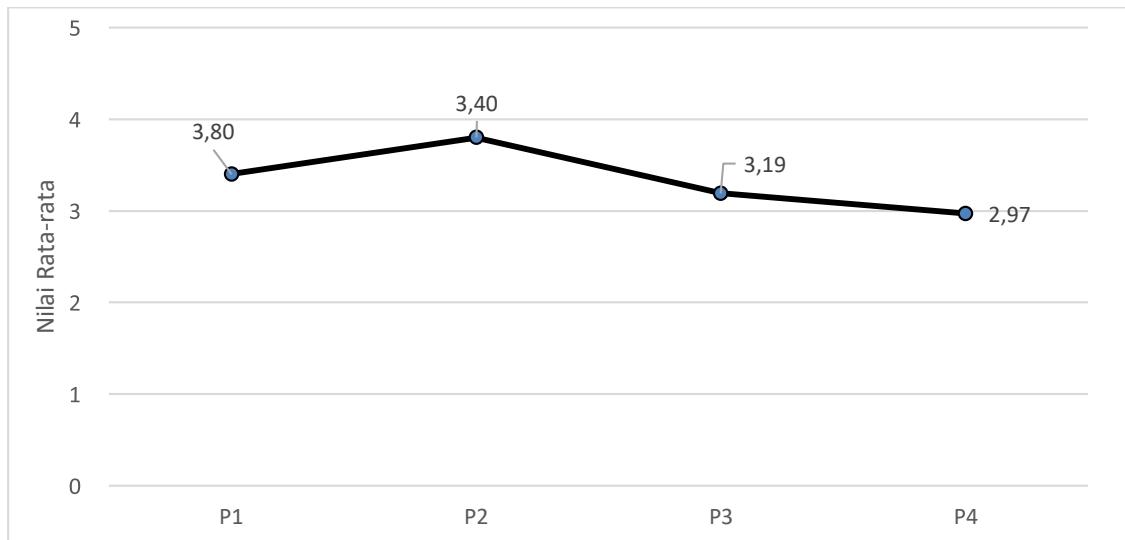
Berdasarkan hasil uji sidik ragam diperoleh hasil bahwa nilai signifikansi (0,000) $<0,05$ yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan. Nilai rata-rata rasa teh wong dapat dilihat pada Gambar 6



Gambar 6. Nilai rata-rata terhadap Rasa

b. Aroma

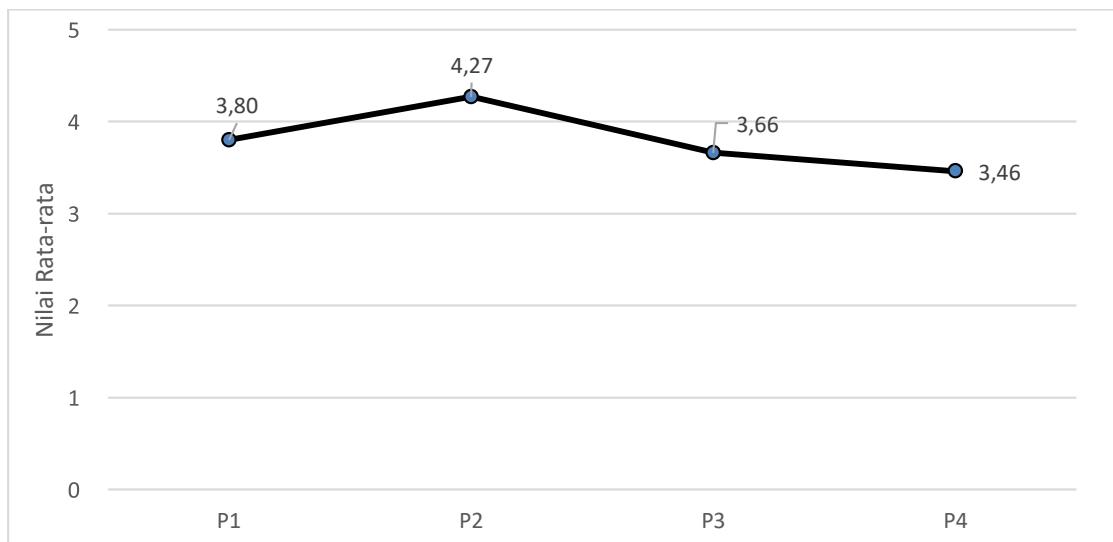
Berdasarkan hasil uji sidik ragam diperoleh hasil bahwa nilai signifikansi (0,000) $<0,05$ yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan. Nilai rata-rata rasa aroma teh wong dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Nilai rata-rata terhadap Aroma

c. Warna

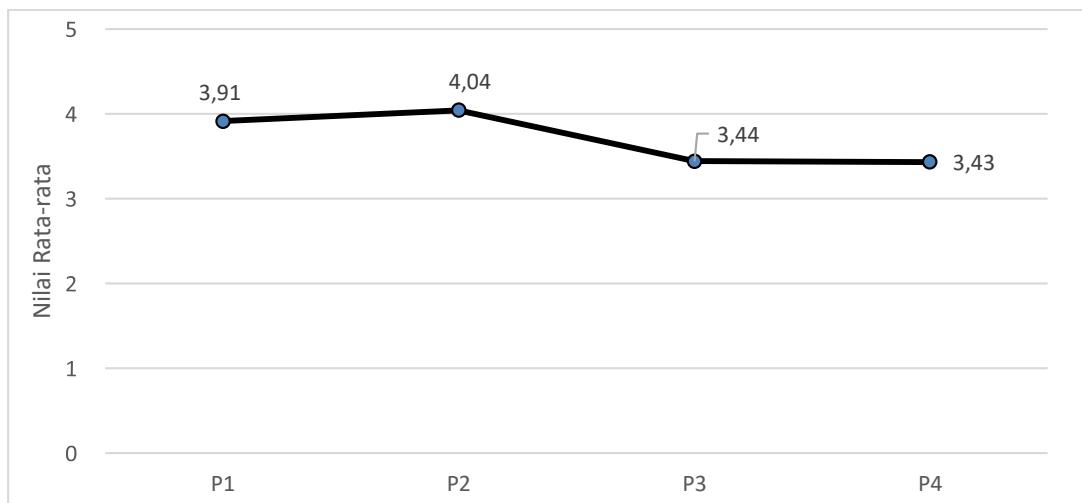
Berdasarkan hasil uji sidik ragam diperoleh hasil bahwa nilai signifikansi (0,000) <0,05 yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan. Nilai rata-rata warna teh wong dapat dilihat pada Gambar 8



Gambar 8. Nilai rata-rata terhadap Warna

d. Penerimaan Keseluruhan

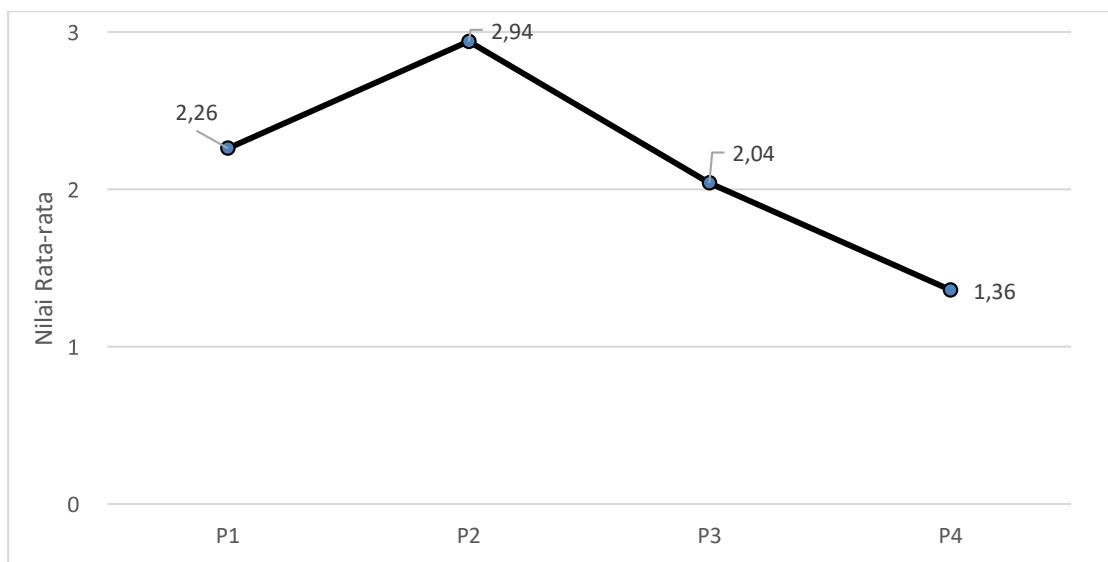
Berdasarkan hasil uji sidik ragam diperoleh hasil bahwa nilai signifikansi (0,000) <0,05 yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan. Nilai rata-rata penerimaan keseluruhan teh wong dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Nilai rata-rata terhadap Penerimaan keseluruhan

e. Mutu Warna

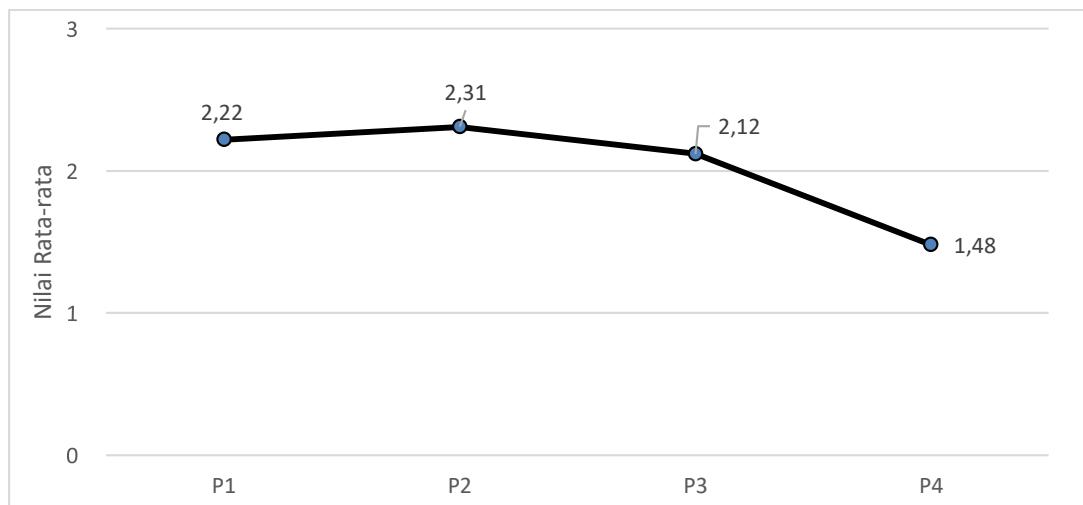
Berdasarkan hasil uji sidik ragam diperoleh hasil bahwa nilai signifikansi (0,000) <0,05 yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan. Nilai rata-rata mutu warna teh wong dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Nilai rata-rata terhadap Mutu Warna

f. Mutu Aroma

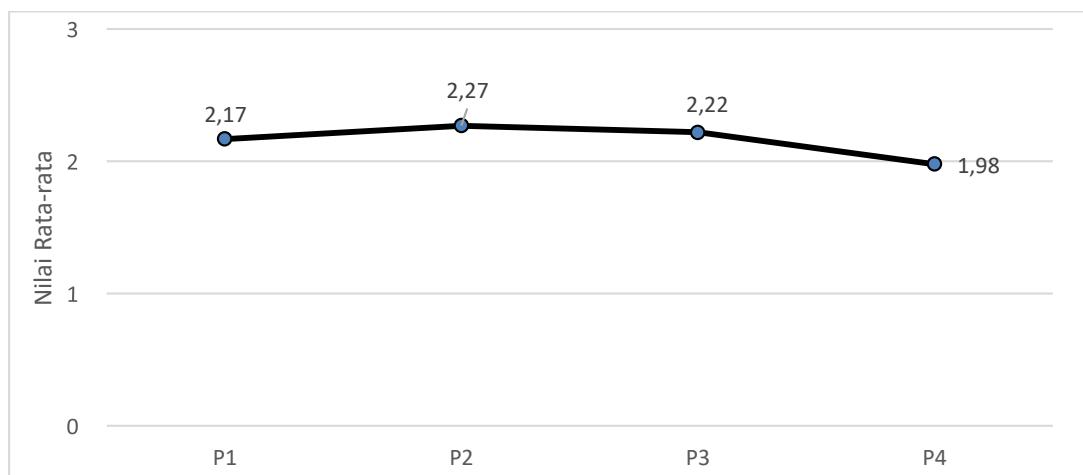
Berdasarkan hasil uji sidik ragam diperoleh hasil bahwa nilai signifikansi (0,000) <0,05 yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan. Nilai rata-rata rasa teh wong dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Nilai rata-rata terhadap Mutu Aroma

g. Mutu Rasa

Berdasarkan hasil uji sidik ragam diperoleh hasil bahwa nilai signifikansi (0,000) <0,05 yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan. Nilai rata-rata mutu rasa teh wong dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Nilai rata-rata terhadap Mutu Rasa

2. Karakteristik Kimiawi

Analisis kimiawi yang dilakukan pada *teh wong* yaitu pH, total asam, total solid, kadar alcohol, kapasitas antioksidan dan kadar fenol . Berdasarkan Tabel 3, diperoleh hasil bahwa pH, TSS, total asam, teh wong dengan penggunaan jenis teh yang berbeda menghasilkan perbedaan yang tidak signifikan ($P > 0,05$), sedangkan aktivitas antioksidan dan kadar fenol pada teh wong menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P \leq 0,05$). Nilai Rata-rata Analisis karakteristik kimiawi dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Nilai rata-rata analisis Obyektif *teh wong*

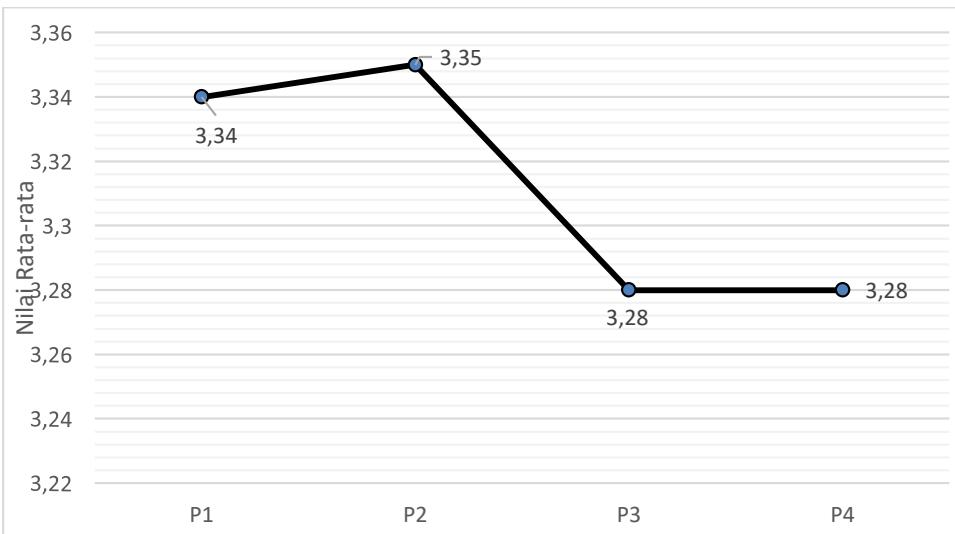
Nilai Rata-rata Analisis Karakteristik kimiawi *teh wong*

Perlakuan	Nilai Rata-rata			
	pH	TSS (Brix)	Total Asam (%)	Kadar alkohol (%)
P1	3.34 ^a	13.95 ^a	1.68 ^a	0.40 ^a
P2	3.35 ^a	13.90 ^a	1.72 ^a	0.33 ^a
P3	3.28 ^a	13.95 ^a	1.58 ^a	0.40 ^a
P4	3.28 ^a	13.95 ^a	1.65 ^a	0.41 ^a

Keterangan : huruf yang berbeda-beda dibelakang nilai rata-rata menunjukkan berbeda signifikan dengan taraf uji 5%

a. Derajat Keasaman (pH) Pada *Teh wong*

Derajat Keasaman (pH) pada *Teh wong* berdasarkan penggunaan jenis teh yaitu pH 3.28 - pH 3,35 setelah 6 hari difermentasi. Hasil analisis ragam menunjukkan penggunaan berbagai jenis teh bahwa pH teh wong tidak bermakna ($P>0,05$) . PH *Teh wong* dapat dilihat pada Tabel 5.

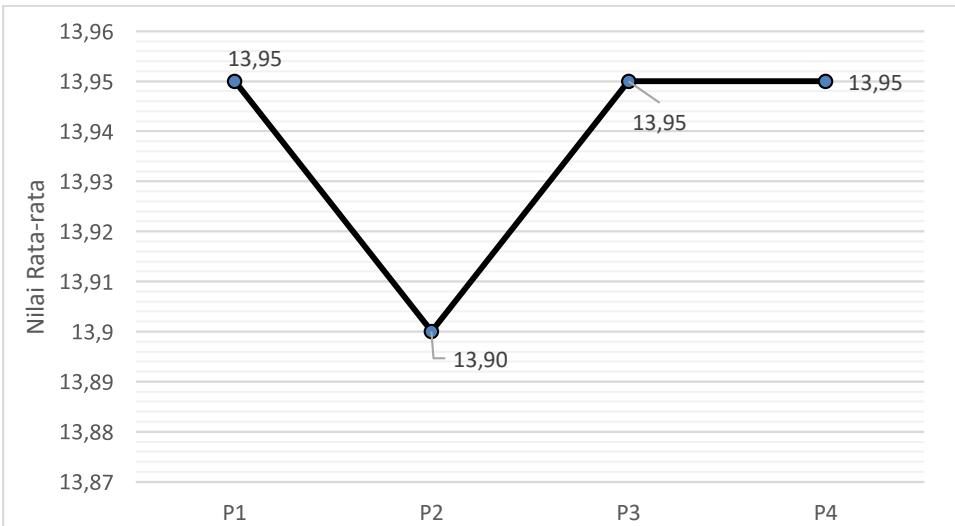


Gambar 13. Derajat keasaman teh wong

b. Total Padatan Terlarut (*TSS/Total solid soluble*)

Hasil analisis ragam menunjukkan penggunaan berbagai jenis teh bahwa total padatan terlarut teh wong tidak bermakna ($P>0,05$). Berdasarkan Tabel 5, diperoleh hasil TSS teh wong dengan penggunaan jenis teh yang berbeda menghasilkan perbedaan yang tidak signifikan. Hasil penelitian menunjukkan total padatan terlarut berkisar antara $13,90^{\circ}\text{Brix}$ sampai dengan $13,95^{\circ}\text{Brix}$. Total padatan terlarut dapat digunakan untuk menginterpretasikan jumlah gula yang terkandung pada teh wong. Untuk lebih jelasnya nilai rata-rata total padatan terlarut dapat dilihat pada Gambar 14.

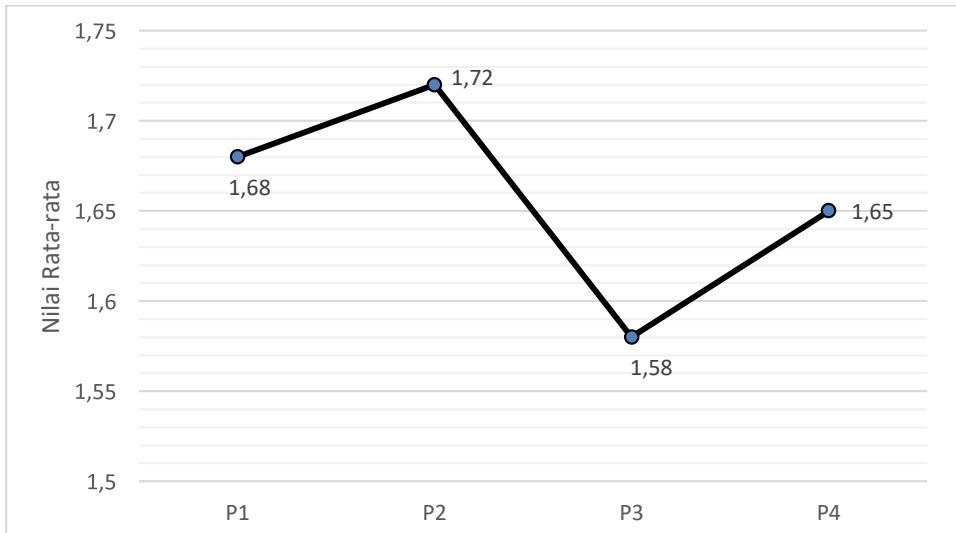
TSS



Gambar 14 . Total padatan terlarut teh wong

c. Total asam

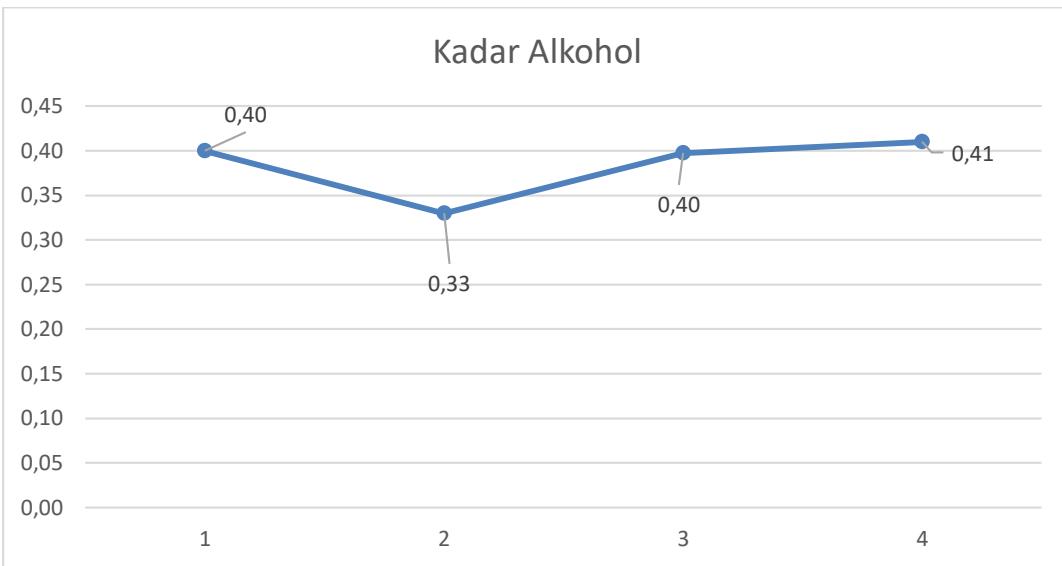
Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa berbagai jenis teh tidak berpengaruh nyata pada taraf uji 5% terhadap kadar total asam teh wong. Tabel 5 menunjukkan total asam teh wong berkisar antara 1,58% sampai dengan 1,72%. Total asam tertinggi diperoleh teh wong berbahan teh P1 yaitu 1,58%, sedangkan total asam terendah diperoleh dari teh P3 yaitu 1,72%. Untuk lebih jelasnya nilai rata-rata total asam dapat dilihat pada Gambar 15.



Gambar 15. Kadar total asam teh wong

d. Kadar alkohol

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa berbagai jenis teh tidak berpengaruh nyata pada taraf uji 5% terhadap kadar alkohol teh wong. Tabel 5 menunjukkan kadar alkohol teh wong berkisar antara 0,33% sampai dengan 0,41%. Untuk lebih jelasnya nilai rata-rata kadar alkohol dapat dilihat pada Gambar 16.



Gambar 16. Kadar alkohol teh wong

3. Karakterteristik Gizi

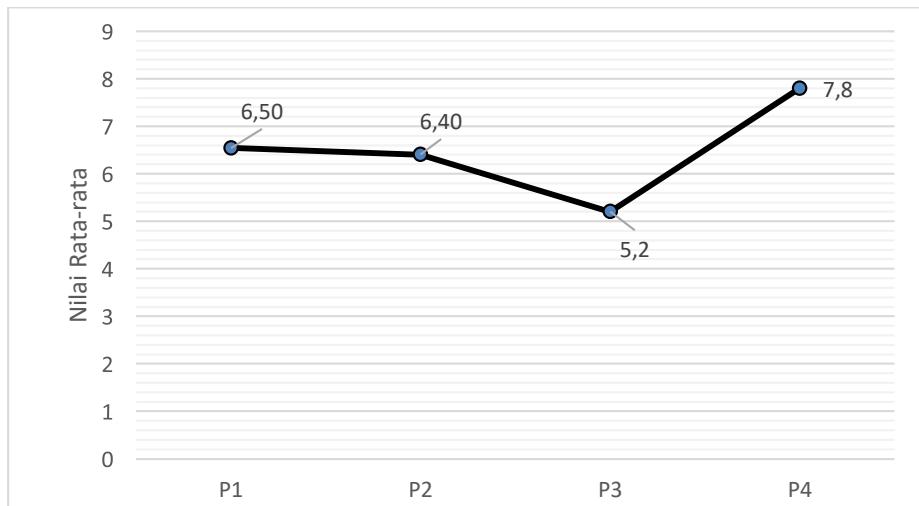
Tabel 6. Nilai Rata-rata Analisis Karakteristik Gizi

Perlakuan	Nilai Rata-rata		
	Aktivitas antioksidan 100 ppm (%)	IC 50 (ppm)	Kadar Fenol (mg/100)
P1	6.50 ^a	1047 ^a	125.80 ^a
P2	6.40 ^{ab}	9538.90 ^{ab}	129.80 ^a
P3	5.20 ^a	11380 ^a	135.20 ^a
P4	7.80 ^a	7142.60 ^c	141.10 ^{ab}

Keterangan : huruf yang berbeda-beda dibelakang nilai rata-rata menunjukkan berbeda signifikan dengan taraf uji 5%.

a. Aktivitas antioksidan

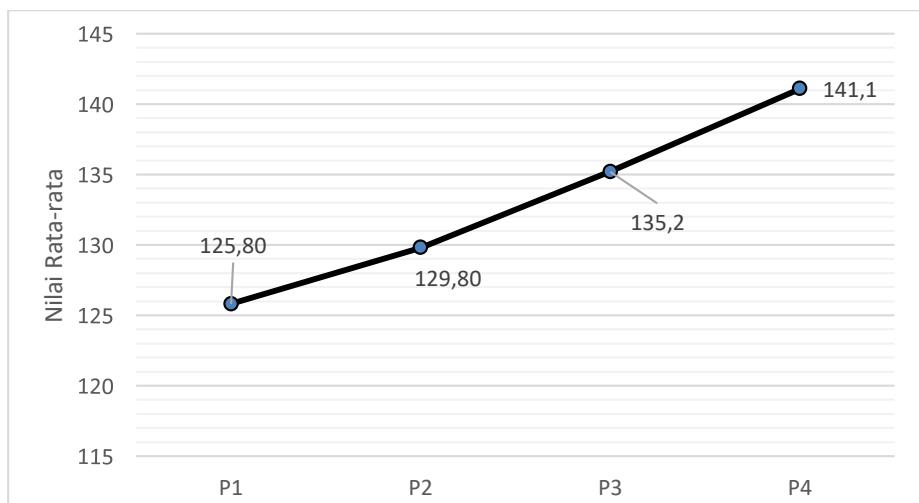
Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa jenis teh berpengaruh sangat nyata ($P<0,05$) terhadap kapasitas antioksidan teh wong. Tabel 6 menunjukkan kapasitas antioksidan teh wong berkisar antara 6,50 % sampai dengan 7,30 %. Kapasitas antioksidan tertinggi diperoleh dari teh wong pada perlakuan P4 (teh hijau) yaitu 7,30 % dengan kapasitas antioksidan terendah terdapat pada teh wong pada perlakuan P3 (teh hitam) yaitu 6,50 %. Kadar fenol dan aktivitas antioksidan memiliki korelasi positif, semakin tinggi kadar fenol, semakin tinggi pula kapasitas antioksidan dalam teh. Untuk lebih jelasnya nilai rata-rata aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Gambar 17.



Gambar 17. Aktivitas antioksidan teh wong

b. Kadar fenol

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa jenis teh berpengaruh sangat nyata ($P<0,05$) terhadap kadar fenol teh wong. Tabel 6 menunjukkan kadar fenol teh wong berkisar antara 125,80 mg% sampai dengan 141,10 mg%. Kadar fenol tertinggi diperoleh dari teh wong pada perlakuan P4 yaitu 141,10 mg% dengan kadar fenol terendah terdapat pada teh wong pada perlakuan P1 yaitu 125,80 mg%. Hasil penetapan kadar fenol total ini berkorelasi positif terhadap aktivitas antioksidannya. Untuk lebih jelasnya nilai rata-rata kadar fenol dapat dilihat pada Gambar 18.



Gambar 18. Kadar fenol *teh wong*

4. Karakteristik Mikroba

a. Total Mikroba

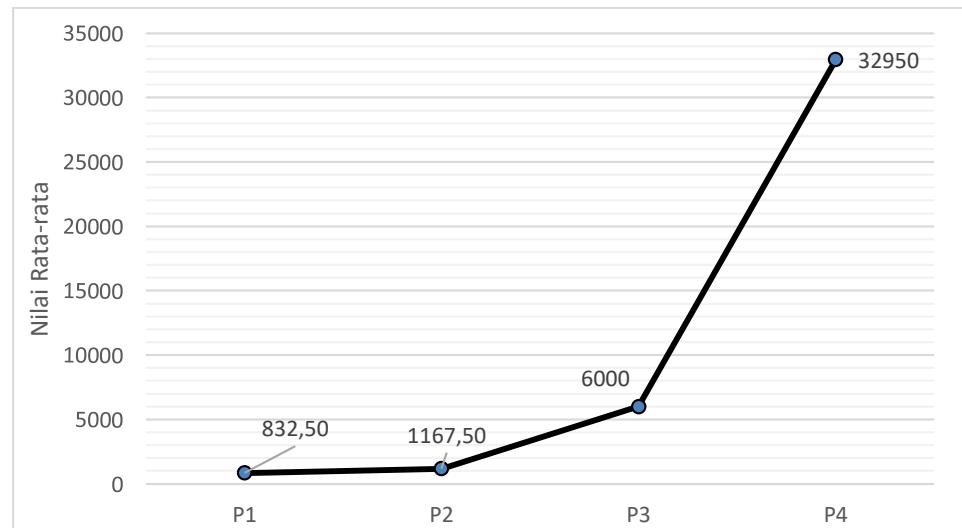
Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa berbagai jenis teh tidak berpengaruh nyata pada taraf uji 5% terhadap total mikroba teh wong. Untuk lebih jelasnya TPC *Teh wong* dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Nilai Rata-rata Analisis Karakteristik mikroba

Perlakuan	Nilai Rata-rata	
	Total Mikroba (cfu/g)	Total BAL (cfu/g)
P1	832.50 ^a	9550 ^a
P2	1167.50 ^a	5800 ^a
P3	6000 ^a	11525 ^a
P4	32950 ^a	51025 ^a

Keterangan : huruf yang berbeda-beda dibelakang nilai rata-rata menunjukkan berbeda signifikan dengan taraf uji 5%.

Total Mikroba dinyatakan dalam *Total Plate Count* (TPC) pada produk *Teh wong*, pada penelitian menunjukkan bahwa total mikroba pada *Teh wong* berkisar $8,3 \times 10^2$ s/d $3,3 \times 10^4$ cfu/g.

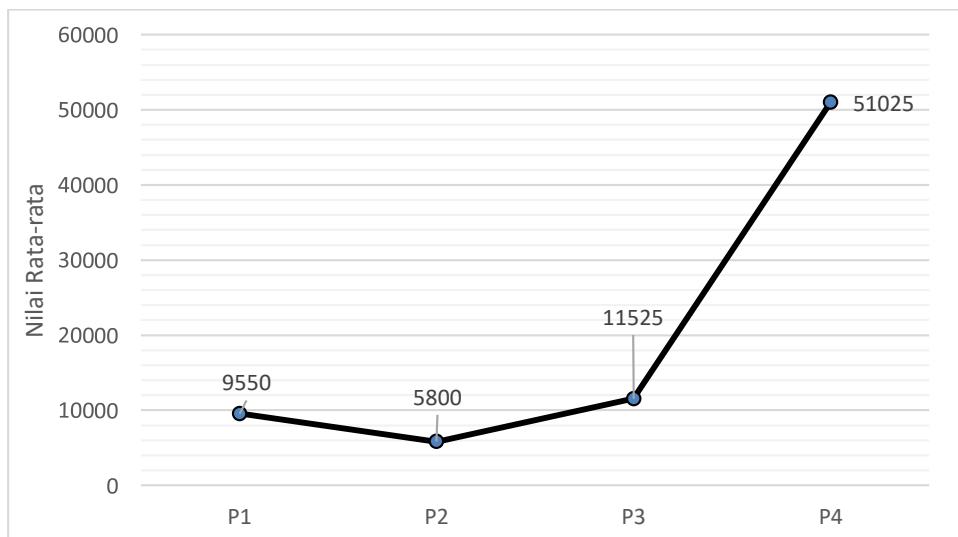


Gambar 19. Total mikroba teh wong

b. Total Bakteri Asam Laktat

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa berbagai jenis teh tidak berpengaruh nyata pada taraf uji 5% terhadap BAL teh wong. Total BAL pada produk *Teh wong* menunjukkan bahwa total BAL pada *Teh wong* berkisar $5,8 \times 10^3$ s/d $5,1 \times 10^4$ cfu/g.

Untuk lebih jelasnya Total BAL *Teh wong* dapat dilihat pada Tabel 7. Untuk lebih jelasnya nilai rata-rata total BAL dapat dilihat pada Gambar 20.



Gambar 20. Total BAL teh wong

B. Pembahasan

1. Organoleptik

Penilaian panelis terhadap rasa Teh Wong yang berbeda memiliki nilai rata-rata 3,45 -4,68 (netral-sangat suka), mutu rasa memiliki nilai rata-rata 1,98 – 2,27 (agak asam – asam). Penelitian (Habibah, et al., 2018) menunjukkan bahwa meningkatnya rasa asam disebabkan oleh aktivitas mikroba dalam proses fermentasi dan meningkatnya jumlah asam-asam organik sehingga menghasilkan minuman yang bercita rasa asam. Penelitian (Simanjuntak, et al., 2016) rasa asam pada produk disebabkan oleh lama waktu fermentasi, yang menyebabkan pH yang dihasilkan semakin rendah sehingga rasa yang dihasilkan akan semakin asam. Hal ini disebabkan karena khamir dan bakteri melakukan metabolisme terhadap sukrosa dan menghasilkan sejumlah asam-asam organik seperti asamasetat, asam glukoronat dan asam glukonat.

Penilaian panelis terhadap aroma Teh Wong yang berbeda memiliki nilai rata-rata 2,97 -3,40 (netral-suka), mutu aroma memiliki nilai rata-rata 1,48 – 2,31 (tidak asam – agak asam). Penelitian (Purnami, et al., 2018) menunjukkan aroma yang terdapat pada teh disebabkan oleh adanya asam-asam organik dan aroma yang ditimbulkan pada teh itu sendiri. Aroma pada teh juga disebabkan oleh senyawa-senyawa volatile antara lain

alkohol, asam asetat, dan asam organik yang terbentuk sehingga menimbulkan aroma asam yang khas. Penelitian (Habibah, et al., 2018) semakin lama fermentasi maka aroma yang dihasilkan pada teh akan semakin asam, hal ini disebabkan oleh asam laktat dan asetildehid yang dihasilkan menyebabkan penurunan pH media fermentasi atau meningkatnya keasaman dan menimbulkan aroma asam yang khas pada teh.

Penilaian panelis terhadap warna Teh Wong yang berbeda memiliki nilai rata-rata 3,46-4,27 (netral - suka), mutu warna memiliki nilai rata-rata 1,36 – 2,94 (kuning pucat – kuning kecoklatan). Penelitian (Taufik, et al., 2014) teh mengandung ikatan biokimia yaitu polifenol. Senyawa polifenol akan berubah menjadi senyawa yang menghasilkan warna, rasa dan aroma yang diinginkan. Hasil utama oksidasi polifenol akan memberikan warna yang khas pada seduhan teh, polifenol akan teroksidasi menjadi theaflavin dan thearubigin. Theflavin berpengaruh pada kejernihan dan memberikan warna kuning cerah pada seduhan teh sedangkan thearubigin memberikan warna coklat tua pada seduhan teh.

2. Karakteristik Gizi

Antioksidan merupakan senyawa-senyawa yang melindungi sel dari efek bahan-bahan radikal bebas oksigen reaktif jika berkaitan dengan penyakit, radikal bebas ini dapat berasal dari metabolisme tubuh maupun faktor eksternal lainnya. Protein lipid dan DNA dari sel manusia yang sehat merupakan sumber pasangan electron yang baik. Kondisi oksidasi dapat menyebabkan kerusakan protein dan DNA, kanker, penuaan dan penyakit lainnya. Komponen kimia yang berperan sebagai antioksidan adalah senyawa golongan fenolik dan polifenol. Senyawa-senyawa golongan tersebut banyak terdapat di alam, terutama pada tumbuhan dan memiliki kemampuan untuk menangkap radikal bebas, Antioksidan banyak ditemukan pada bahan pangan antara lain vitamin E dan C dan karotenoid (Anonim, 2021) Wikipedia).

Hasil penelitian terhadap aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa teh wong dari 4 perlakuan mempunyai aktivitas antioksidan tertinggi pada perlakuan P4 (7,8%) dan terendah pada P3 (5,2%). Dari hasil penelitian ini diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 1047 ppm – 11380 ppm hal ini disebabkan oleh pemanasan pada saat pengolahan minuman. Dalam suatu bahan dapat dikatakan sebagai antioksidan yang kuat jika memiliki nilai IC₅₀ kurang dari 200 ppm. Pemanasan dapat mempercepat oksidasi antioksidan yang

terkandung pada suatu bahan. Oksidasi mengakibatkan menurunnya aktivitas antioksidan dengan tingkat berbeda yang dipengaruhi oleh jenis komponen antioksidan dalam bahan tersebut (Hastuti 2014 dalam Simanjuntak et al, 2016). Komponen yang berperan sebagai antioksidan dalam bahan minuman teh wong tersebut berasal dari senyawa fenol. Kadar fenol pada teh wong berkisar antara 125,80 mg% - 141,10 mg%. Teh hijau mengandung kadar fenol yang lebih banyak dibandingkan dengan kadar fenol teh hitam.

3. Karakteristik kimiawi

Derajat keasaman (pH) merupakan salah satu faktor intrinsik bahan makanan yang dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba. Berdasarkan penelitian yang dilakukan, diketahui bahwa pH teh wong berkisar pH 3,28 - pH 3,35 tidak berpengaruh nyata pada taraf uji 5% terhadap pH teh wong. Hal ini terjadi karena selama fermentasi teh wong akan mensintesa gula menjadi selulosa dan terbentuknya asam asetat, asam laktat sehingga akan menurunkan sampai pH 3,0-2,0. Berdasarkan kisaran pH tersebut, bakteri ini tergolong bakteri acidofil yaitu kelompok mikroorganisme yang dapat tumbuh dengan baik pada pH 2,0-5,0. Pada umumnya semakin meningkatnya kandungan asam suatu bahan maka nilai pH akan semakin menurun. Penurunan pH minuman teh wong diduga disebabkan oleh peningkatan konsentrasi zat-zat asam selama proses fermentasi (Simanjuntak, et al 2016). Peningkatan pH terjadi karena selama proses fermentasi khamir dan bakteri mensintesis sukrosa menjadi asam-asam organik seperti asam asetat dan asam glukonat dan beberapa asam organik lainnya, sehingga dengan peningkatan konsentrasi asam-asam organik tersebut mengakibatkan penurunan pH pada medium fermentasi . Hal ini disebabkan adanya akumulasi zat asam dan peningkatan jumlah proton H⁺ sebagai hasil dari metabolisme bakteri dan khamir yang ada dalam medium (Afifah 2010).

Total padatan terlarut dapat digunakan untuk menginterpretasikan jumlah gula yang terkandung pada bahan, dalam hal ini adalah gula. Rata-rata TSS teh wong menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan. Berdasarkan hasil penelitian karena menggunakan kadar gula 15% kemudian difermentasi selama 6 hari, semakin bertambahnya lama waktu fermentasi makan kadar gula mengalami penurunan, karena proses fermentasi mengubah glukosa menjadi etanol dan CO₂ kemudian bereaksi dengan air membentuk asam karbonat Hal ini diduga kerena semakin lama

waktu fermentasi maka gula yang terdapat dalam kombucha akan dirombak oleh bakteri dan khamir menjadi asam organik. Produk kombucha mengandung khamir dan bakteri yang melakukan metabolisme terhadap sukrosa sehingga menghasilkan asam-asam organik seperti asam asetat dan asam glukonat (Sreeramulu et al. 2000). Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa kadar asam total meningkat seiring lamanya waktu fermentasi pada kombucha rumput laut (Pratiwi 2012). Naland (2004) menyatakan menambahkan, teh kombucha menghasilkan asam-asam organik antara lain asam glukoronat, asam asetat, asam glukonat, asam kondrotin sulfat, asam hyaluronik, asam hyaluronidase dan asam amino.

Kadar alkohol teh wong diduga terjadi akibat perombakan gula oleh simbiosis bakteri dan khamir yang merombak gula pada teh wong menjadi etanol dan senyawa lain seiring bertambahnya waktu fermentasi dan Proses ini diketahui sebagai fermentasi alkohol yaitu proses anaerob (simanjuntak, 2016; Hasanah et al. 2012). Nilai rata rata kadar alkohol pada teh wong dengan lama fermentasi selama 6 hari berkisar 0,33% - 0,41%. Terbentuknya alkohol tidak saja dipengaruhi oleh adanya gula tetapi juga kondisi substrat seperti jenis substrat, pH, suhu, jumlah stater dan kondisi fermentasi. Penelitian yang dilakukan oleh Caturyanti et al., (2008) menyatakan bahwa komposisi mikroba yang digunakan pada fermentasi cider mempengaruhi kualitas cider yang dihasilkan seperti kadar alkohol, kadar gula dan penilaian sensorisnya.

4. Karakteristik Mikroba

Mikroba membutuhkan gula sebagai sumber karbon. Gula pada media akan digunakan oleh mikroba sebagai nutrisi yang kemudian akan diubah menjadi alkohol, CO₂ dan asam karbonat (Silaban, 2005 dalam Ketut Ita Purnami, 2018). Menurut penelitian Wistiana, 2015 dapat dijelaskan bahwa semakin lama fermentasi maka total gula akan semakin menurun, hal ini dikarenakan gula digunakan sebagai substrat oleh kultur kombucha sehingga pada akhir fermentasi dihasilkan alkohol, asam-asam organik serta metabolit lainnya. Penurunan gula selama fermentasi bukan hanya disebabkan oleh aktivitas khamir dalam metabolisme gula menjadi alkohol, namun juga adanya aktivitas Acetobacter yang memetabolisme glukosa menjadi asam glukonat.

Nilai Total asam berbanding terbalik dengan nilai pH pada fermentasi, semakin tinggi nilai total asam maka semakin rendah pH fermentasi begitupun sebaliknya. Berdasarkan hasil penelitian ini, diketahui bahwa perlakuan berbagai jenis teh nilai rata-rata total asam dapat dilihat pada Gambar 15. Total asam pada teh wong menentukan cita rasa tehwong tersebut. Jenis teh yang berbeda pun mempengaruhi kadar total asam pada teh wong, semakin tinggi total asam, maka pH semakin turun. Karena dalam proses fermentasi akan dihasilkan asam-asam organik yang menyebabkan rasa menjadi asam. Lama fermentasi berpengaruh terhadap peningkatan kadar total asam *teh wong*, karena pada saat fermentasi akan dihasilkan asam-asam organik. Terbentuknya asam organik seperti asam laktat pada produk fermentasi disebabkan karena adanya pemecahan glukosa menjadi asam laktat. Asam laktat yang dihasilkan oleh BAL akan terekresikan keluar sel dan akan terakumulasi dalam cairan fermentasi sehingga akan meningkatkan kadar total asam (Jaya, 2011; Zainuddin, 2014). Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa kadar asam total meningkat seiring lamanya waktu fermentasi pada kombucha rumput laut (Pratiwi 2012).

Mikroba membentuk energi yang berasal dari karbohidrat, protein, lemak, mineral, dan zat-zat gizi lainnya yang ada dalam bahan pangan (substrat). Demikian pula dengan macam mikrobanya, yang perlu dimiliki mikroba adalah harus mampu tumbuh pada substrat dan mudah beradaptasi dengan lingkungannya, dan mikroba harus mampu mengeluarkan enzim-enzim penting yang dapat melakukan perubahan yang dikehendaki secara kimiawi.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, diketahui bahwa Total mikroba pada *Teh wong* berkisar $8,3 \times 10^2$ s/d $3,3 \times 10^4$ cfu/g yang difermentasi selama 6 hari. Adanya zat-zat pada tiap jenis daun teh yang digunakan dalam pembuatan teh wong, hal ini diduga dikarenakan adanya zat padat yang terlarut dalam teh wong seperti gula, asam-asam amino dan kafein. Zat-zat pada teh tersebut dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi dan energi sehingga pertumbuhan mikroba meningkat. Penelitian Antarini, et al, 2017 semakin lama fermentasi teh wong akam semakin meningkat jumlah total mikroba kemudian akan terjadi penurunan pada fermentasi selama 9 hr dan 12 hari. Semakin lama fermentasi maka pertumbuhan mikroba akan terhambat dan menurun. Dari hasil yang didapat menunjukkan penurunan mikroba tiap teh wong berbeda. Hal ini

dipengaruhi oleh kandungan senyawa fenol yang terbentuk selama fermentasi yang bersifat antimikroba sehingga menyebabkan pertumbuhan mikroba terhambat dan turun (Wistiana, 2015).

Bakteri asam laktat didefinisikan sebagai kelompok bakteri yang membentuk asam laktat, baik sebagai satu-satunya produk maupun sebagai produk utama pada metabolisme karbohidrat. Beberapa ciri yang dimiliki oleh bakteri asam laktat adalah Gram positif, tidak membentuk spora, berbentuk bulat atau batang dan pada umumnya tidak memiliki katalase. Dari analisis teh wong yang dilakukan bahwa teh wong teridentifikasi BAL yang ditunjukkan dengan Gram positif dan uji katalase yang negatif. Dari Gambar 19 menunjukkan Total BAL dari teh wong dengan penggunaan jenis teh yang berbeda bahwa terdapat perbedaan yang signifikan. Total BAL yang dihasilkan pada teh wong berkisar 5.8×10^3 s/d 5.1×10^4 cfu/g, hal ini dipengaruhi oleh lingkungan teh wong selama fermentasi dihasilkan alkohol sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroba. Hasil penelitian teh wong menunjukkan bahwa isolat BAL teh wong dengan identifikasi Gram Positif, berbentuk basil dan bakteri ini memiliki sifat kalase negative. Peningkatan BAL dikarenakan pemanfaatan gula, dan penurunan juga diakibatkan karena selama proses fermentasi kombucha menghasilkan asam-asam organik, alkohol dan zat lainnya yang menghambat pertumbuhan BAL (wistiana, 2015). Zat-zat pada teh tersebut dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi dan energi sehingga pertumbuhan BAL meningkat. Semakin lama fermentasi maka pertumbuhan BAL akan terhambat dan menurun. Penelitian Antarini, et al, 2017 semakin lama fermentasi teh wong akan semakin meningkat jumlah total BAL kemudian akan terjadi penurunan pada fermentasi selama 9 hr dan 12 hari. Semakin lama fermentasi maka pertumbuhan mikroba akan terhambat dan menurun.

BAB VI

RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA

Rencana tahapan berikutnya pada penelitian ongoing di tahun ke 2 (tahun 2022) akan dilakukan analisis uji aktivitas BAL secara in vitro meliputi (Pengujian aktivitas bakteri pathogen(daya hambat), pengujian ketahanan BAL terhadap sodium deoksikolat, pengujian aktivitas antioksidan BAL dan pengujian ketahanan BAL terhadap pH rendah. Untuk tahun ke tiga (tahun 2023) adalah uji aktivitas BAL secara invivo (identifikasi molekuler BAL dengan RAPD).

Untuk luaran penelitian berupa publikasi jurnal yang akan diunggah pada jurnal internasional terindeks sinta 3

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa

1. Karakteristik Organoleptik *teh wong* berdasarkan jenis teh yang berbeda terhadap penilaian panelis secara organoleptik terhadap rasa, aroma, warna dan penerimaan keseluruhan serta mutu rasa, mutu aroma dan mutu warna menunjukkan hasil yang berbeda nyata.
2. Karakteristik kimia meliputi derajat keasaman (pH), total padatan terlarut, kadar total asam dan kadar alkohol pada teh wong menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan sedangkan aktivitas antioksidan dan kadar fenol menunjukkan ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan.
3. Karakteristik mikroba meliputi total mikroba dan total BAL teh wong menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan.

B. Saran

Untuk mendapatkan *teh wong* yang disukai dapat menggunakan jenis teh dengan Perlakuan 2 dan tempat penyimpanan *teh wong* agar dikondisikan dengan suhu dan kelembaban yang stabil/tetap dan sejuk.

DAFTAR PUSTAKA

- Agestiawan, I. G. A. M., Swastini, D.A., Ramona, Y. 2014. Uji Ketahanan Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi dari Kimchi Terhadap pH Rendah. Jurnal Farmasi Udayana. Vol 3, No 2.
- Anonim. 2019. Kombucha. <https://id.wikipedia.org/wiki/Kombucha> diakses 20 Juli2019.
- Antarini,N., N.P. Agustini., S. Puryana, K. Wiardani dan A. Malongi. 2018. Identification of microbes, chemical and organoleptic characteristic toward The Wong during Fermentation. Indian Journal oh Public Health Research and Development 9 (5) 378 – 382.
- Artanti A. 2009. Skripsi : Pengaruh Prebiotik Inulin dan Fruktooligosakarida (FOS) terhadap Pertumbuhan Tiga Jenis Probiotik. Fakultas Teknologi Pertanian. ITB, Bogor.
- Artanti A. . 2019. <https://repository.ipb.ac.id/jspui/bitstream/123456789/60279/3/BAB%20II%20Tinjauan%20Pustaka.pdf>. IPB. Diakses 19 Juli 2019
- Apriantono, A, D. Fardiaz, NL. Puspitasari, Sedarnawati dan S. Budiyanto. 1989. Analisis Pangan. PAU Pangan dan Gizi. IPB.
- Febrianti, A.N., I W. Suardana, I N. Suarsana. 2016. Ketahanan Bakteri Asam Laktat (BAL) Isolat 9A Hasil Isolasi dari Kolon Sapi Bali terhadap pH Rendah dan Natrium Deoksikolat (NaDC). Indonesia Medicus Veterinus. Vol5 (5) : 415 - 421
- Desmazeaud, M., 1996, Lactic Acid Bacteria in Food: Use and Safety, Cahiers Agricultures, 5 (5), 331-342.
- Dufresne dan Farnworth, 2000. Tea, Kombucha, and health: A review.[Food Research International](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096083480000044X) 33(6):409-421.
- Etika, N.M. 2017. Waspada Risiko Meminum The Kombucha. <https://hellosehat.com/manfaat-risiko-teh-kombucha/> diakses 1 Mei 2017.
- Fardiaz,S. 1992. Petunjuk Laboratorium Mikrobiologi Pengolahan Pangan. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. IPB.
- Gaspersz, V. 1995. Teknik Analisis Dalam Penelitian Percobaan. Bandung. Tarsito.

Habibah, I., Mahadi, I. & Sayuti, I., 2018. The Effect of Variation of Tea (*Camellia sinensis* L Kuntze) Processing and Sugar Concentration to Kombucha Fermentation as Senior High School Student Biology Worksheet. Study Program of Biology Education.

Hidayat, N., M.C. Padaga dan S. Suhartini. 2006. Mikrobiologi Industri. Andi Yogyakarta.

Jasmina S.Vitas, Aleksandra D.Cvetanović,Pavle Z.Mašković, Jaroslava V.Švarc-Gajić, Radomir V.Malbaša . 2018. Chemical composition and biological activity of novel types of kombucha beverages with yarrow. Journal of Functional Foods. Vol. 44. Pp 95-102.

Kevin Viktor Bawolea,Stella Deiby Umboha,Trina Ekawati Talleia. Uji Ketahanan Bakteri Asam Laktat Hasil Fermentasi Kubis Merah (*Brassica oleracea* L.) Pada pH 3. Jurnal Mipa Unsrat ONLINE 7 (2) 20 – 23.

Naland, H. 2008. Kombucha ; Teh Dengan Seribu Kasiat. [https://books.google.co.id/books?id=aCDOCgAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=inauthor%22dr.+Henry+Naland,+Sp.B+\(K\)+onk%22&hl=id&sa=X&ved=0ahUKEwjbvcbakc_jAhXGrY8KHVkBIAQ6AEIKTAA#v=onepage&q&f=false](https://books.google.co.id/books?id=aCDOCgAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=inauthor%22dr.+Henry+Naland,+Sp.B+(K)+onk%22&hl=id&sa=X&ved=0ahUKEwjbvcbakc_jAhXGrY8KHVkBIAQ6AEIKTAA#v=onepage&q&f=false). Diakses. 25 Juli 2019.

Korhonen, J., 2010,Forestry and Natural Sciences: Antibiotic Resistance of Lactid Acid Bacteria, University of Eastern Finland.

Nocianitri, K. A., Permana, I. D. G. M., dan Sujaya, I. N. (2011). Skrining *Lactobacillus Spp.* untuk Pengembangan Probiotik Berbasiskan Susu Kedelai. The Excellence Research 8: 113-120 .

Nur, F., Hafsan dan A. Wahdiniar. 2015. Isolasi Bakteri Asam Laktat Berpotensi Probiotik pada Dangke, Makanan Tradisional dari Susu Kerbau di Curio Kabupaten Enrekang. *Jurnal Biogenesis*. 3 (1) p. 60 – 65.

Nuryady, M.M.,T.Istiqomah, R.Faizah, Syafiq Ubaidillah, Z. Mahmudi dan Sutoyo.2013. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Asal Yogurt. *Unej Jurnal*.1(5) p : 1 – 11.

Puji Subakti, 2017) Kombucha, Minuman Probiotik dari Larutan Teh. <https://sith.itb.ac.id/id/kombucha-minuman-probiotik-dari-larutan-teh/> Diakses 19 Juli 2019.

Riskiyanto dan L. Yuanita. 2013. Pengaruh Variasi pH dan Lama Perebusan Kacang Panjang (*Vigna Sespedalis* (L0 fruhw) Terhadap Kadar Asam Kolat dan Asam Deoksikolat pada Feses Hewan Coba (*Rattus norvegicus* L).

Sudarmadji, S., B. Haryono dan Suhardi. 1997. Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian. Yogyakarta : Liberti.

- Taufik, Y., Garnida, Y. & Juliandini, N. T., 2014. mempelajari Pengaruh Konsentrasi Sukrosa dan Konsentrasi Ekstrak Teh Hitam terhadap Minuman Teh (*Camellia Sinensis*) dalam Kemasan. *Pasundan Food Technology Journal*, Volume 1.
- Suriawiria, Unus., 1983, Mikrobiologi Masa Depan Penuh Kecerahan Di Dalam Pembangunan, Kumpulan Beberapa Tulisan dari Unus Suriawiria, Jurusan Biologi, ITB, Bandung, p. 67-68.
- Sujaya, I.N., Y. Ramona, N.P. Widarini, N.P. Suariani, N.M.Utama Dwipayanti, K.A. Nocianitri dan N.W. Nursini. 2008. Isolasi dan Karakteristik Bakteri Asam Laktat dari Susu Kuda Sumbawa. *Jurnal Veteriner*. 9 (2) p : 52 – 59.
- Suardana, I W., I N. Suarsana, I N. Sujaya dan K.G. Wirawan. 2007. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Cairan Rumen Sapi Bali sebagai Kandidat Biopreservatif. *Jurnal Veteriner*. 8(4) p : 155 – 159.
- Sutarmi, M. 2005. Pengembangan Produk Kombucha Probiotik Berbahan Baku Teh Hijau dan Teh Oolong. Skripsi Sebagai salah satu syarat untuk menempuh gelar Sarjana Teknologi Pertanian. Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Svensson, U. Industrial prospective. In : G.W. Tannock (Ed). *Probiotics, a Critical Review*. Horizon Scietific Publisher, England.
- T. Srihari dan U. Satyanarayana. 2012. Changes in free radical scavenging activity of Kombucha during fermentation. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 4(11):1978-1981 · January 2012.
- Habibah, I., Mahadi, I. & Sayuti, I., 2018. The Effect of Variation of Tea (*Camella sinensis* L Kuntze) Processing and Sugar Concentration to Kombucha Fermentation as Senior High School Student Biology Worksheet. *Study Program of Biology Education*.
- Purnami, K. I., Jambe, A. & Wisaniyasa, N. W., 2018. Pengaruh Jenis Teh terhadap Karakteristik Teh Kombucha. *Jurnal ITEPA*, Volume 7, pp. 1-10.
- Simanjuntak, D. H., H. & Lestari, S. D., 2016. Karakteristik Kimia dan Aktivitas Antioksidan Kombucha dari Tumbuhan Apu-apu (*Pistia Stratiotes*) selama Fermentasi. *Jurnal Teknologi Hasil Perikanan*, Volume 5, pp. 123-133.
- Taufik, Y., Garnida, Y. & Juliandini, N. T., 2014. mempelajari Pengaruh Konsentrasi Sukrosa dan Konsentrasi Ekstrak Teh Hitam terhadap Minuman Teh (*Camellia Sinensis*) dalam Kemasan. *Pasundan Food Technology Journal*, Volume 1.

Lampiran 1. Formulir Uji Organoleptik terhadap rasa, aroma, warna dan penerimaan keseluruhan pada *Teh Wong*

Nama :

Tanggal :

Uji Organoleptik : rasa

Di hadapan saudara terdapat sampel *Teh Wong*, ujilah bagaimana keseluruhan, menurut tingkat kesukaan. Berikan tanda rumput (✓) pada kolom yang sesuai dengan kode dan tingkat kesukaan terhadap *Teh Wong* penilaian panelis secara organoleptik.

Skala	Kode Sampel			
	314	324	334	344
Sangat suka				
Suka				
Netral				
Kurang suka				
Sangat tidak suka				

Keterangan :

.....
.....
.....

**Formulir Uji Organoleptik
terhadap rasa, aroma, warna dan penerimaan keseluruhan pada *Teh Wong***

Nama :

Tanggal :

Uji Organoleptik : aroma

Di hadapan saudara terdapat sampel *Teh Wong*, ujilah bagaimana keseluruhan, menurut tingkat kesukaan. Berikan tanda rumput (✓) pada kolom yang sesuai dengan kode dan tingkat kesukaan terhadap *Teh Wong* penilaian panelis secara organoleptik.

Skala	Kode Sampel			
	314	324	334	344
Sangat suka				
Suka				
Netral				
Kurang suka				
Sangat tidak suka				

Keterangan :

.....
.....
.....

Formulir Uji Organoleptik
terhadap rasa, aroma, warna dan penerimaan keseluruhan pada *Teh Wong*

Nama :

Tanggal :

Uji Organoleptik : warna

Di hadapan saudara terdapat sampel *Teh Wong*, ujilah bagaimana keseluruhan, menurut tingkat kesukaan. Berikan tanda rumput (✓) pada kolom yang sesuai dengan kode dan tingkat kesukaan terhadap *Teh Wong* penilaian panelis secara organoleptik.

Skala	Kode Sampel			
	314	324	334	344
Sangat suka				
Suka				
Netral				
Kurang suka				
Sangat tidak suka				

Keterangan :

.....
.....
.....

Formulir Uji Organoleptik
terhadap rasa, aroma, warna dan penerimaan keseluruhan pada *Teh Wong*

Nama :

Tanggal :

Uji Organoleptik : penerimaan keseluruhan

Di hadapan saudara terdapat sampel *Teh Wong*, ujilah bagaimana keseluruhan, menurut tingkat kesukaan. Berikan tanda rumput (✓) pada kolom yang sesuai dengan kode dan tingkat kesukaan terhadap *Teh Wong* penilaian panelis secara organoleptik.

Skala	Kode Sampel			
	314	324	334	344
Sangat suka				
Suka				
Netral				
Kurang suka				
Sangat tidak suka				

Keterangan :

.....
.....

Formulir Uji Organoleptik Mutu Hedonik
Terhadap **Mutu Rasa Teh Wong**

Nama :

Tanggal :

Uji Organoleptik :

Di hadapan saudara terdapat sampel *Teh Wong*, ujilah bagaimana keseluruhan, menurut tingkat kesukaan. Berikan tanda rumput (✓) pada kolom yang sesuai dengan kode dan tingkat kesukaan terhadap (mutu rasa *Teh Wong*) penilaian panelis secara organoleptik.

Skala	Kode Sampel			
	314	324	334	344
Rasa asam				
Rasa agak asam				
Rasa tidak asam				

Keterangan :

.....
.....
.....

Formulir Uji Organoleptik Mutu Hedonik
Terhadap **Mutu Aroma Teh Wong**

Nama :

Tanggal :

Di hadapan saudara terdapat sampel *Teh Wong*, ujilah bagaimana keseluruhan, menurut tingkat kesukaan. Berikan tanda rumput (✓) pada kolom yang sesuai dengan kode dan tingkat kesukaan terhadap (mutu aroma *Teh Wong*) penilaian panelis secara organoleptik.

Skala	Kode Sampel			
	314	324	334	344
Aroma asam				
Aroma agak asam				
Aroma tidak asam				

Keterangan :

.....
.....
.....

Formulir Uji Organoleptik Mutu Hedonik
Terhadap **Mutu Warna Teh Wong**

Nama :
Tanggal :

Di hadapan saudara terdapat sampel *Teh Wong*, ujilah bagaimana keseluruhan, menurut tingkat kesukaan. Berikan tanda rumput (✓) pada kolom yang sesuai dengan kode dan tingkat kesukaan terhadap (mutu warna *Teh Wong*) penilaian panelis secara organoleptik.

Skala	Kode Sampel			
	314	324	334	344
Kuning Kecoklatan				
Kuning pucat				
Tidak berwarna				

Keterangan :

.....
.....
.....

Formulir Uji Organoleptik Mutu Hedonik
Terhadap **Mutu Warna Teh Wong**

Nama :
Tanggal :

Di hadapan saudara terdapat sampel *Teh Wong*, ujilah bagaimana keseluruhan, menurut tingkat kesukaan. Berikan tanda rumput (✓) pada kolom yang sesuai dengan kode dan tingkat kesukaan terhadap (mutu warna *Teh Wong*) penilaian panelis secara organoleptik.

Skala	Kode Sampel			
	314	324	334	344
Kuning Kecoklatan				
Kuning pucat				
Tidak berwarna				

Keterangan :

.....
.....
.....

Lampiran 2. Hasil Pengolahan Data

1. Rasa

Panelis	Rata-rata			
	314	324	334	344
1	4.75	4.75	3.75	3
2	4.5	4.5	4	3
3	4.5	4.75	4	3.5
4	4.25	4.75	3.75	3.25
5	4.5	4.25	3.75	3.5
6	4.25	4.25	4	4
7	4.5	4.25	4.25	4.25
8	4.25	4.75	4.25	4
9	4	4.5	3.75	3.25
10	4.25	4.75	4.25	3.5
11	4	4.5	4	3.5
12	3.75	4.25	3.75	3.5
13	4.5	4.75	3.75	3.5
14	4.5	4.5	4.25	3.25
15	4.25	4.75	4	3.25
16	4.5	5	4.25	3.25
17	4.25	4.75	4	3
18	4.5	4.75	4	3.25
19	4.25	4.25	4	3.5
20	4.75	5	4.25	3.75
21	4.75	5	4.25	3.75
22	4.75	5	4.25	3.5
23	4.75	5	4.25	3.75
24	4.5	5	4	3.25
25	4.25	5	4	3
Total	110	117	100.75	86.25
Rata-rata	4.4	4.68	4.03	3.45

Dependent Variable:RASA

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	24.037 ^a	27	.890	15.530	.000
Intercept	1713.960	1	1713.960	29898.273	.000
PERLAKUAN	21.185	3	7.062	123.184	.000
PANELIS	2.852	24	.119	2.073	.009
Error	4.127	72	.057		
Total	1742.125	100			
Corrected Total	28.165	99			

a. R Squared = .853 (Adjusted R Squared = .798)

Multiple Comparisons

RASA

LSD

(I) PERLAKUAN	(J) PERLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
P1	P2	-.2800*	.06772	.000	-.4150	-.1450
	— P3	.3700*	.06772	.000	.2350	.5050
	— P4	.9500*	.06772	.000	.8150	1.0850
P2	P1	.2800*	.06772	.000	.1450	.4150
	— P3	.6500*	.06772	.000	.5150	.7850
	— P4	1.2300*	.06772	.000	1.0950	1.3650
— P3	P1	-.3700*	.06772	.000	-.5050	-.2350
	— P2	-.6500*	.06772	.000	-.7850	-.5150
	— P4	.5800*	.06772	.000	.4450	.7150
P4	P1	-.9500*	.06772	.000	-1.0850	-.8150
	— P2	-1.2300*	.06772	.000	-1.3650	-1.0950
	— P3	-.5800*	.06772	.000	-.7150	-.4450

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .057.

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

2. Aroma

Panelis	Rata-rata			
	314	324	334	344
1	4	5	2.75	2.25
2	4	3.5	3	4
3	4	3.5	3	2.75
4	3.5	4	2.75	3
5	3.25	3	2.5	3
6	2.25	3	3	3
7	3	2.25	3	5
8	3	3.25	4	3.25
9	3	3	1	2
10	2.25	2.5	2	4.5
11	2.25	5	3	2
12	3	5	5	2
13	4.25	4.25	1.75	2.25
14	4	5	4	3.5
15	3.5	4.25	3.75	3.25
16	4.25	4.5	3.75	3
17	3.5	4.25	5	2.75
18	3	4	4.25	2.5
19	5	4	4	4
20	3	3.75	3.25	2.25
21	4	4	2.25	2.25
22	3	3.5	2	2
23	2.5	3.75	2.75	3
24	4.25	3.5	4	3.75
25	3.25	3.25	4	3
Total	85	95	79.75	74.25
Rata-rata	3.4	3.8	3.19	2.97

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: AROMA

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	31.336 ^a	27	1.161	1.911	.016
Intercept	1115.560	1	1115.560	1836.785	.000
PERLAKUAN	9.365	3	3.122	5.140	.003
PANELIS	21.971	24	.915	1.507	.094
Error	43.729	72	.607		
Total	1190.625	100			
Corrected Total	75.065	99			

a. R Squared = .417 (Adjusted R Squared = .199)

Multiple Comparisons

AROMA

LSD

(I) PERLAKUAN	(J) PERLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
P1	P2	-.4000	.22043	.074	-.8394	.0394
	P3	.2100	.22043	.344	-.2294	.6494
	P4	.4300	.22043	.055	-.0094	.8694
P2	P1	.4000	.22043	.074	-.0394	.8394
	P3	.6100*	.22043	.007	.1706	1.0494
	P4	.8300*	.22043	.000	.3906	1.2694
P3	P1	-.2100	.22043	.344	-.6494	.2294
	P2	-.6100*	.22043	.007	-1.0494	-.1706
	P4	.2200	.22043	.322	-.2194	.6594
P4	P1	-.4300	.22043	.055	-.8694	.0094
	P2	-.8300*	.22043	.000	-1.2694	-.3906
	P3	-.2200	.22043	.322	-.6594	.2194

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .607.

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

3. Warna

Panelis	Rata-rata			
	314	324	334	344
1	4.25	4.5	3	2.75
2	3	4	5	3
3	4	4	3.5	2.5
4	3.75	2.75	3.25	4
5	3.5	3.75	3	2.25
6	3	3	3	3
7	4	5	4	3
8	4.25	3.25	3.5	3
9	3	5	3	4
10	4	5	4	2
11	4	5	5	4
12	4	4	4	3
13	3.25	4.5	3	2.5
14	4	5	4	5
15	4.25	4.75	3.5	3.25
16	3.25	4	4.75	3.25
17	4.25	5	3.5	2.75
18	4	3.25	3.5	4.25
19	3.5	5	2.75	3.25
20	4	5	2	3
21	5	5	5	5
22	4	5	4	5
23	2	2.5	3.25	4.5
24	4.75	4.5	5	4.25
25	4	4	3	4
Total	95	106.75	91.5	86.5
Rata-rata	3.8	4.27	3.66	3.46

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:WARNA

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	32.942 ^a	27	1.220	2.508	.001
Intercept	1442.101	1	1442.101	2964.913	.000
PERLAKUAN	8.902	3	2.967	6.101	.001
PANELIS	24.040	24	1.002	2.059	.010
Error	35.020	72	.486		
Total	1510.063	100			
Corrected Total	67.962	99			

a. R Squared = .485 (Adjusted R Squared = .291)

Multiple Comparisons

WARNA

LSD

(I) PERLAKUAN	(J) PERLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
P1	P2	-.4700*	.19726	.020	-.8632	-.0768
	P3	.1400	.19726	.480	-.2532	.5332
	P4	.3400	.19726	.089	-.0532	.7332
P2	P1	.4700*	.19726	.020	.0768	.8632
	P3	.6100*	.19726	.003	.2168	1.0032
	P4	.8100*	.19726	.000	.4168	1.2032
P3	P1	-.1400	.19726	.480	-.5332	.2532
	P2	-.6100*	.19726	.003	-1.0032	-.2168
	P4	.2000	.19726	.314	-.1932	.5932
P4	P1	-.3400	.19726	.089	-.7332	.0532
	P2	-.8100*	.19726	.000	-1.2032	-.4168
	P3	-.2000	.19726	.314	-.5932	.1932

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .486.

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

4. Penerimaan Keseluruhan

Panelis	Rata-rata			
	314	324	334	344
1	4	4.75	3	2.5
2	4	4	3	4
3	3.75	3.25	2.75	2.75
4	4.25	3.25	3.25	3.75
5	3.75	3.5	3.5	2.75
6	5	4.75	4	4
7	3	4	3	2
8	3.75	3.25	3.75	3.25
9	2	4	2	4
10	4	4	4	3
11	4	3	4	3
12	4	5	4	2
13	4	5	3	1
14	4	5	4	5
15	4.25	5	3.5	2.75
16	4	4.75	4	3.25
17	4.25	5	3.5	3.5
18	4	4.25	3.25	4
19	2.75	5	2.75	3.75
20	5	2	2	5
21	4	3	3	3
22	4	5	4	5
23	3.75	2.75	3.5	4.5
24	4.25	4.5	4.25	4
25	4	3	5	4
Total	97.75	101	86	85.75
Rata-rata	3.91	4.04	3.44	3.43

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:penerimaankeseluruhan

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	25.487 ^a	27	.944	1.496	.090
Intercept	1372.703	1	1372.703	2175.296	.000
PERLAKUAN	7.502	3	2.501	3.963	.011
PANELIS	17.985	24	.749	1.188	.282
Error	45.435	72	.631		
Total	1443.625	100			
Corrected Total	70.922	99			

a. R Squared = .359 (Adjusted R Squared = .119)

Multiple Comparisons

penerimaankeseluruhan

LSD

(I) PERLAKUAN	(J) PERLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
P1	P2	-.1300	.22468	.565	-.5779	.3179
	— P3	.4700*	.22468	.040	.0221	.9179
	P4	.4800*	.22468	.036	.0321	.9279
P2	P1	.1300	.22468	.565	-.3179	.5779
	— P3	.6000*	.22468	.009	.1521	1.0479
	P4	.6100*	.22468	.008	.1621	1.0579
— P3	P1	-.4700*	.22468	.040	-.9179	-.0221
	— P2	-.6000*	.22468	.009	-1.0479	-.1521
	P4	.0100	.22468	.965	-.4379	.4579
P4	P1	-.4800*	.22468	.036	-.9279	-.0321
	— P2	-.6100*	.22468	.008	-1.0579	-.1621
	P3	-.0100	.22468	.965	-.4579	.4379

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .631.

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

5. Mutu Warna

Panelis	Rata-rata			
	314	324	334	344
1	2.5	2.75	2	1.25
2	2	3	2	1
3	3	3	2	1
4	2	3	2	1
5	3	3	2.25	1.5
6	2	3	2	1
7	3	2.75	2	1
8	2	3	2	1
9	1	3	2.25	1
10	2	3	2	2
11	3	3	2	1
12	3	2.5	2	1
13	2	3	2	3
14	2.25	2.75	2	1
15	2.5	3	2	1
16	2	3	2	1
17	2	3	2	1.25
18	2.5	2.75	2.25	1.5
19	2	3	2	1.25
20	2	3	2	2
21	2.25	3	2	1.75
22	2	3	1.75	2.25
23	2	3	2	1
24	2.5	3	2.5	2
25	2	3	2	1.25
Total	56.5	73.5	51	34
Rata-rata	2.26	2.94	2.04	1.36

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:mutuwarna

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	34.591 ^a	27	1.281	9.080	.000
Intercept	462.250	1	462.250	3276.190	.000
PERLAKUAN	31.810	3	10.603	75.151	.000
PANELIS	2.781	24	.116	.821	.699
Error	10.159	72	.141		
Total	507.000	100			
Corrected Total	44.750	99			

a. R Squared = .773 (Adjusted R Squared = .688)

Multiple Comparisons

mutuwarna

LSD

(I) PERLAKUAN	(J) PERLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
P1	P2	-.6800*	.10624	.000	-.8918	-.4682
	— P3	.2200*	.10624	.042	.0082	.4318
	P4	.9000*	.10624	.000	.6882	1.1118
P2	P1	.6800*	.10624	.000	.4682	.8918
	— P3	.9000*	.10624	.000	.6882	1.1118
	P4	1.5800*	.10624	.000	1.3682	1.7918
— P3	P1	-.2200*	.10624	.042	-.4318	-.0082
	— P2	-.9000*	.10624	.000	-1.1118	-.6882
	P4	.6800*	.10624	.000	.4682	.8918
P4	P1	-.9000*	.10624	.000	-1.1118	-.6882
	— P2	-1.5800*	.10624	.000	-1.7918	-1.3682
	P3	-.6800*	.10624	.000	-.8918	-.4682

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .141.

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

6. Mutu Aroma

Panelis	Rata-rata			
	314	324	334	344
1	1.75	2	2	1.5
2	1.75	2	2	1.5
3	1.75	2	2	1.5
4	1.75	2	2	1.5
5	1.25	2.25	2.25	1.5
6	1.5	2.5	2.25	1.5
7	1.5	2.5	2.25	1.5
8	1.5	2.5	2.25	1.5
9	2.5	2.25	2	1.25
10	2.5	2.25	1.75	1.25
11	2.5	2.25	1.75	1.25
12	2.5	2.25	1.75	1.25
13	2.5	2.25	2	1.25
14	2.75	2.25	2	1.25
15	2.75	2.25	2	1.25
16	2.75	2.25	2	1.25
17	2.75	2.5	2.25	1.25
18	2.75	2.5	2.25	1.25
19	2.75	2.5	2.25	1.25
20	2.75	2.5	2.25	1.25
21	2.25	2.5	2.25	2
22	2.25	2.25	2.25	2
23	2.5	2.5	2.25	2
24	2.25	2.25	2.25	2
25	1.75	2.5	2.75	2
Total	55.5	57.75	53	37
Rata-rata	2.22	2.31	2.12	1.48

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:mutuaroma

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	13.099 ^a	27	.485	4.668	.000
Intercept	413.106	1	413.106	3975.089	.000
PERLAKUAN	10.627	3	3.542	34.086	.000
PANELIS	2.473	24	.103	.991	.488
Error	7.482	72	.104		
Total	433.688	100			
Corrected Total	20.582	99			

a. R Squared = .636 (Adjusted R Squared = .500)

Multiple Comparisons

mutuaroma

LSD

(I) PERLAKUAN	(J) PERLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
P1	P2	-.0900	.09118	.327	-.2718	.0918
	P3	.1000	.09118	.276	-.0818	.2818
	P4	.7400*	.09118	.000	.5582	.9218
P2	P1	.0900	.09118	.327	-.0918	.2718
	P3	.1900*	.09118	.041	.0082	.3718
	P4	.8300*	.09118	.000	.6482	1.0118
P3	P1	-.1000	.09118	.276	-.2818	.0818
	P2	-.1900*	.09118	.041	-.3718	-.0082
	P4	.6400*	.09118	.000	.4582	.8218
P4	P1	-.7400*	.09118	.000	-.9218	-.5582
	P2	-.8300*	.09118	.000	-1.0118	-.6482
	P3	-.6400*	.09118	.000	-.8218	-.4582

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .104.

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

7. Mutu Rasa

Panelis	Rata-rata			
	314	324	334	344
1	2	2.25	2.25	2.25
2	2.25	2.75	3	1
3	2.25	2.5	2.75	2
4	2	2	2.25	1.75
5	2.25	2	2.25	1.5
6	2.25	2.25	2.5	2.5
7	2.5	2.25	2	1.5
8	1.5	2	1.75	2.25
9	2.75	2.5	2	2.25
10	2.25	2.75	2	2
11	2.25	2.25	2.25	1.5
12	2.25	2.5	2.5	2.25
13	2.25	1.75	2.25	2.25
14	2.25	2.25	2	2
15	2.75	2	2.5	2
16	2.25	2	2	1.75
17	2	2	2	2
18	2.5	2.5	2.25	2.25
19	2	2.25	2	1.5
20	1.75	2.25	2	2.25
21	2	2.25	2.25	1.75
22	2	2.25	2	2.25
23	2	2.25	2	2.25
24	2	2.5	2	2.25
25	2	2.5	2.75	2.25
Total	54.25	56.75	55.5	49.5
Rata-rata	2.17	2.27	2.22	1.98

Dependent Variable:muturasa

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3.582 ^a	27	.133	1.533	.078
Intercept	466.560	1	466.560	5389.863	.000
PERLAKUAN	1.205	3	.402	4.640	.005
PANELIS	2.378	24	.099	1.144	.322
Error	6.233	72	.087		
Total	476.375	100			
Corrected Total	9.815	99			

a. R Squared = .365 (Adjusted R Squared = .127)

Multiple Comparisons

muturasa

LSD

(I) PERLAKUAN	(J) PERLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
P1	P2	-.1000	.08322	.233	-.2659	.0659
	— P3	-.0500	.08322	.550	-.2159	.1159
	P4	.1900*	.08322	.025	.0241	.3559
P2	P1	.1000	.08322	.233	-.0659	.2659
	— P3	.0500	.08322	.550	-.1159	.2159
	P4	.2900*	.08322	.001	.1241	.4559
— P3	P1	.0500	.08322	.550	-.1159	.2159
	— P2	-.0500	.08322	.550	-.2159	.1159
	P4	.2400*	.08322	.005	.0741	.4059
P4	P1	-.1900*	.08322	.025	-.3559	-.0241
	— P2	-.2900*	.08322	.001	-.4559	-.1241
	P3	-.2400*	.08322	.005	-.4059	-.0741

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .087.

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

1. pH

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:pH

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Model	175.184 ^a	4	43.796	5313.971	.000
PERLAKUAN	175.184	4	43.796	5313.971	.000
Error	.099	12	.008		
Total	175.283	16			

a. R Squared = .999 (Adjusted R Squared = .999)

Multiple Comparisons

pH

LSD

(I) PERLAKUAN	(J) PERLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
					Lower Bound	Upper Bound	
P1	P2	-.0150	.06419	.819	-.1549	.1249	
	— P3	.0600	.06419	.368	-.0799	.1999	
	— P4	.0600	.06419	.368	-.0799	.1999	
	P2	.0150	.06419	.819	-.1249	.1549	
	— P3	.0750	.06419	.265	-.0649	.2149	
	— P4	.0750	.06419	.265	-.0649	.2149	
	— P3	P1	-.0600	.06419	.368	-.1999	.0799
	— P2		-.0750	.06419	.265	-.2149	.0649
	— P4		.0000	.06419	1.000	-.1399	.1399
P4	P1	-.0600	.06419	.368	-.1999	.0799	
	— P2		-.0750	.06419	.265	-.2149	.0649
	— P3		.0000	.06419	1.000	-.1399	.1399

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .008.

2. TSS

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:TSS

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Model	3108.070 ^a	4	777.017	44401.000	.000
PERLAKUAN	3108.070	4	777.017	44401.000	.000
Error	.210	12	.017		
Total	3108.280	16			

a. R Squared = 1.000 (Adjusted R Squared = 1.000)

Multiple Comparisons

TSS

LSD

(I) PERLAKUAN	(J) PERLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
P1	P2	.0500	.09354	.603	-.1538	.2538
	P3	.0000	.09354	1.000	-.2038	.2038
	P4	.0000	.09354	1.000	-.2038	.2038
	P2	-.0500	.09354	.603	-.2538	.1538
	P3	-.0500	.09354	.603	-.2538	.1538
	P4	-.0500	.09354	.603	-.2538	.1538
	P3	.0000	.09354	1.000	-.2038	.2038
	P2	.0500	.09354	.603	-.1538	.2538
	P4	.0000	.09354	1.000	-.2038	.2038
P4	P1	.0000	.09354	1.000	-.2038	.2038
	P2	.0500	.09354	.603	-.1538	.2538
	P3	.0000	.09354	1.000	-.2038	.2038

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .018.

3. Total Asam

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:totalasam

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Model	43.936 ^a	4	10.984	432.296	.000
PERLAKUAN	43.936	4	10.984	432.296	.000
Error	.305	12	.025		
Total	44.241	16			

a. R Squared = .993 (Adjusted R Squared = .991)

Multiple Comparisons

totalasam

LSD

(I) PERLAKUAN	(J) PERLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
P1	P2	-.0400	.11271	.729	-.2856	.2056
	— P3	.1050	.11271	.370	-.1406	.3506
	— P4	.0300	.11271	.795	-.2156	.2756
	P2	.0400	.11271	.729	-.2056	.2856
	— P3	.1450	.11271	.223	-.1006	.3906
	— P4	.0700	.11271	.546	-.1756	.3156
	— P3	-.1050	.11271	.370	-.3506	.1406
	— P2	-.1450	.11271	.223	-.3906	.1006
	— P4	-.0750	.11271	.518	-.3206	.1706
P4	P1	-.0300	.11271	.795	-.2756	.2156
	— P2	-.0700	.11271	.546	-.3156	.1756
	— P3	.0750	.11271	.518	-.1706	.3206

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .025.

4. Total Mikroba

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:totalmikroba

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Model	4.495E9	4	1.124E9	2.863	.071
PERLAKUAN	4.495E9	4	1.124E9	2.863	.000
Error	4.711E9	12	3.926E8		
Total	9.206E9	16			

a. R Squared = .488 (Adjusted R Squared = .318)

Multiple Comparisons

totalmikroba

LSD

(I) PERLAKUAN	(J) PERLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
P1	P2	-335.00	14009.899	.981	-30859.95	30189.95
	P3	-5167.50	14009.899	.719	-35692.45	25357.45
	P4	-32117.50*	14009.899	.041	-62642.45	-1592.55
P2	P1	335.00	14009.899	.981	-30189.95	30859.95
	P3	-4832.50	14009.899	.736	-35357.45	25692.45
	P4	-31782.50*	14009.899	.043	-62307.45	-1257.55
P3	P1	5167.50	14009.899	.719	-25357.45	35692.45
	P2	4832.50	14009.899	.736	-25692.45	35357.45
	P4	-26950.00	14009.899	.078	-57474.95	3574.95
P4	P1	32117.50*	14009.899	.041	1592.55	62642.45
	P2	31782.50*	14009.899	.043	1257.55	62307.45
	P3	26950.00	14009.899	.078	-3574.95	57474.95

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 392554562.500.

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

5. Total BAL

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:totalBAL

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Model	1.144E10	4	2.861E9	2.968	.064
PERLAKUAN	1.144E10	4	2.861E9	2.968	.000
Error	1.157E10	12	9.642E8		
Total	2.302E10	16			

a. R Squared = .497 (Adjusted R Squared = .330)

Multiple Comparisons

totalBAL

LSD

(I) PERLAKUAN	(J) PERLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
P1	P2	3750.00	21956.572	.867	-44089.26	51589.26
	P3	-1975.00	21956.572	.930	-49814.26	45864.26
	P4	-41475.00	21956.572	.083	-89314.26	6364.26
P2	P1	-3750.00	21956.572	.867	-51589.26	44089.26
	P3	-5725.00	21956.572	.799	-53564.26	42114.26
	P4	-45225.00	21956.572	.062	-93064.26	2614.26
P3	P1	1975.00	21956.572	.930	-45864.26	49814.26
	P2	5725.00	21956.572	.799	-42114.26	53564.26
	P4	-39500.00	21956.572	.097	-87339.26	8339.26
P4	P1	41475.00	21956.572	.083	-6364.26	89314.26
	P2	45225.00	21956.572	.062	-2614.26	93064.26
	P3	39500.00	21956.572	.097	-8339.26	87339.26

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 964182083.334.

6. Aktifitas Antioksidan

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: AKTIFITASANTIOKSIDAN

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Model	681.828 ^a	4	170.457	66.843	.000
PERLAKUAN	681.828	4	170.457	66.843	.000
Error	30.601	12	2.550		
Total	712.430	16			

a. R Squared = .957 (Adjusted R Squared = .943)

Multiple Comparisons

AKTIFITASANTIOKSIDAN

LSD

(I) PERLAKUAN	(J) PERLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
P1	P2	.189600	1.1291809	.869	-2.270674	2.649874
	P3	1.330475	1.1291809	.262	-1.129799	3.790749
	P4	-1.219075	1.1291809	.302	-3.679349	1.241199
P2	P1	-.189600	1.1291809	.869	-2.649874	2.270674
	P3	1.140875	1.1291809	.332	-1.319399	3.601149
	P4	-1.408675	1.1291809	.236	-3.868949	1.051599
P3	P1	-1.330475	1.1291809	.262	-3.790749	1.129799
	P2	-1.140875	1.1291809	.332	-3.601149	1.319399
	P4	-2.549550*	1.1291809	.043	-5.009824	-.089276
P4	P1	1.219075	1.1291809	.302	-1.241199	3.679349
	P2	1.408675	1.1291809	.236	-1.051599	3.868949
	P3	2.549550*	1.1291809	.043	.089276	5.009824

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 2.550.

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

7. IC 50 ppm

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:IC50ppm

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Model	1.090E9	4	2.726E8	42.855	.000
PERLAKUAN	1.090E9	4	2.726E8	42.855	.000
Error	7.633E7	12	6361244.258		
Total	1.167E9	16			

a. R Squared = .935 (Adjusted R Squared = .913)

Multiple Comparisons

IC50ppm

LSD

(I) PERLAKUAN	(J) PERLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
P1	P2	-8491.83183*	1783.429878	.000	-12377.59173	-4606.07193
	P3	-1.03330E4	1783.429878	.000	-14218.72589	-6447.20609
	P4	-6095.56743	1783.429878	.005	-9981.32733	-2209.80753
	P2	8491.83183*	1783.429878	.000	4606.07193	12377.59173
	P3	-1841.13416	1783.429878	.322	-5726.89406	2044.62574
	P4	2396.26440	1783.429878	.204	-1489.49550	6282.02430
	P3	10332.96599*	1783.429878	.000	6447.20609	14218.72589
	P2	1841.13416	1783.429878	.322	-2044.62574	5726.89406
	P4	4237.39856*	1783.429878	.035	351.63866	8123.15846
P4	P1	6095.56743	1783.429878	.005	2209.80753	9981.32733
	P2	-2396.26440	1783.429878	.204	-6282.02430	1489.49550
	P3	-4237.39856*	1783.429878	.035	-8123.15846	-351.63866

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 6361244.258.

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

8. Kadar Fenol

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: KADARFENOL

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Model	285425.562 ^a	4	71356.391	1251.337	.000
PERLAKUAN	285425.562	4	71356.391	1251.337	.000
Error	684.289	12	57.024		
Total	286109.852	16			

a. R Squared = .998 (Adjusted R Squared = .997)

Multiple Comparisons

KADARFENOL

LSD

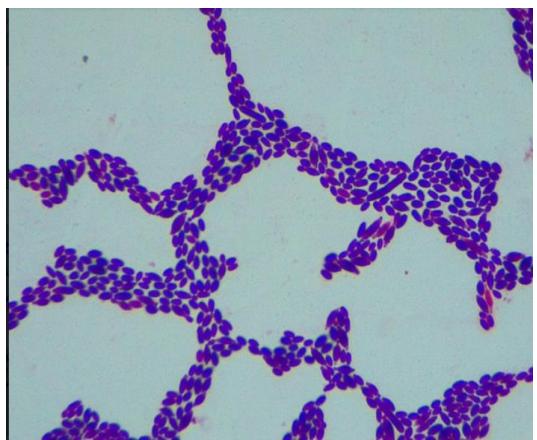
(I) PERLAKUAN	(J) PERLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
P1	P2	-5.9117	5.33967	.290	-17.5459	5.7224
	P3	-9.3910	5.33967	.104	-21.0251	2.2431
	P4	-15.2750*	5.33967	.014	-26.9091	-3.6409
	P2	5.9117	5.33967	.290	-5.7224	17.5459
	P3	-3.4793	5.33967	.527	-15.1134	8.1549
	P4	-9.3632	5.33967	.105	-20.9974	2.2709
	P3	9.3910	5.33967	.104	-2.2431	21.0251
	P2	3.4793	5.33967	.527	-8.1549	15.1134
	P4	-5.8840	5.33967	.292	-17.5181	5.7501
P4	P1	15.2750*	5.33967	.014	3.6409	26.9091
	P2	9.3632	5.33967	.105	-2.2709	20.9974
	P3	5.8840	5.33967	.292	-5.7501	17.5181

Based on observed means.

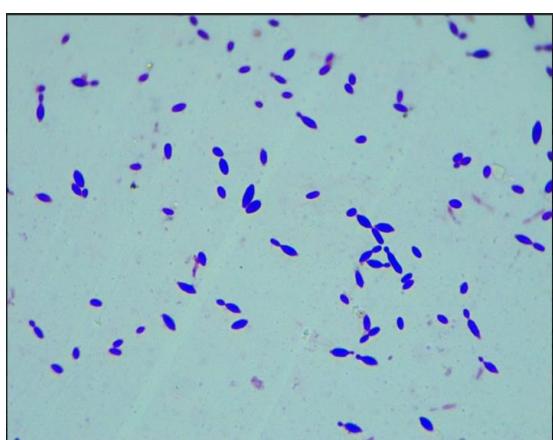
The error term is Mean Square(Error) = 57.024.

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

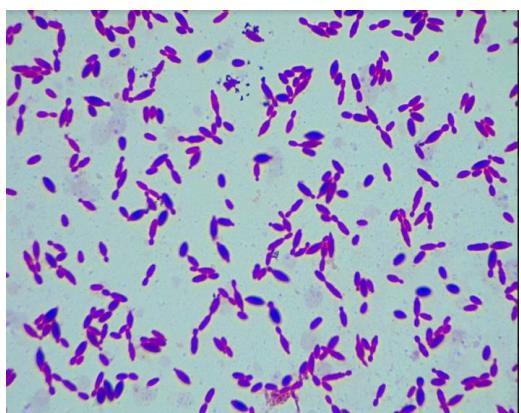
Lampiran 3 : Hasil Cat Gram Bakteri Asam Laktat Teh Wong



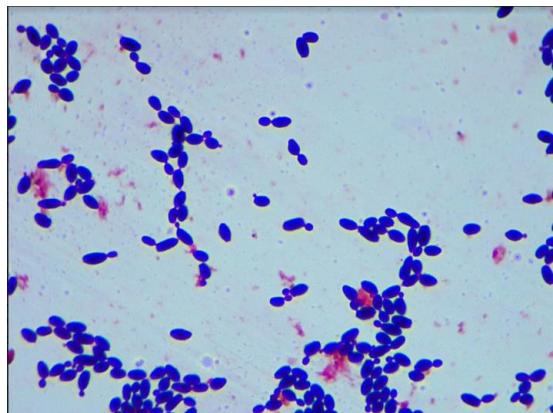
Perlakuan 1



Perlakuan 2



Perlakuan 3



Perlakuan 4



Lampiran 5: Pelaksanaan Uji Organoleptik





REKAPITULASI REALISASI ANGGARAN PENELITIAN

KARAKTERISTIK GIZI DAN POTENSI TEH WONG SEBAGAI KANDIDAT MINUMAN PROBIOTIK

NO	KOMPONEN	ITEM	SATUAN	VOL	H.SATUAN	TOTAL
1	ATK	Kertas HVS A4	rim	3	40.000	120000
		meterai	bh	10	10.000	100000
		tinta printer	bh	2	300.000	600000
		Pulpen	bh	30	3.000	90000
2	Bahan Habis pakai	teh celup	jenis	4	15.000	60000
		Gula pasir	kg	5	15.000	75000
		Pembelian es batu	paket	1	200.000	200000
		Krakers	bks	10	12.000	120000
		Aqua	dos	10	48.000	480000
		piring kertas	ktk	5	15.000	75000
		Tisue	ktk	10	15.000	150000
		Toples kaca	bh	20	40.000	800000
		Masker	ktk	4	50.000	200000
		Handscon	ktk	2	90.000	180000
		Botol penyimpanan isolat BAL	btl	50	7.500	375000
		gliserol	ml	750	2.000	1500000
		penggandaan dan penjilidan proposal	exp	4	40.000	160000
		penggandaan dan penjilidan protokol	exp	4	30.000	120000
		penggandaan dan penjilidan laporan kemajuan	exp	2	30.000	60000
		penggandaan dan penjilidan laporan akhir	exp	8		
		fotocopi form organoleptik	lbr	2400	250	600000
		Biaya konsumsi	ktk	60	20000	1200000
3	Honor Pembantu Peneliti	Pembantu Peneliti	or/hr	210		0

4	Transport	Pengurusan ijin	or/kal	2	75000	150000
		Pengujian sampel	or/kal	6	130000	780000
		Pengujian uji organoleptik	or/kal	8	75000	600000
6	Honor Pengolah Data	Pengolah Data	paket	1	1500000	1500000
7	Biaya Analisis Sampel	Uji katalase	unit	16	25000	400000
		Analisis Total Mikroba	unit	16	125000	2000000
		Total BAL	unit	16	175000	2800000
		Gliserol	paket	1	2000000	2000000
		Total padatan terlarut	unit	16	25000	400000
		analisis kadar alkohol	unit	16	175000	2800000
		pH	unit	16	25000	400000
		Analisis total asam	unit	16	25000	400000
		Analisis antioksidan	unit	16	150000	2400000
		Cat Gram	unit	16	25000	400000
8	Publikasi artikel Jurnal Internasional	Publikasi Jurnal Ilmiah	paket	1		0
		HAKI	paket	1	400000	400000
		TOTAL				

Lampiran .

BIODATA KETUA DAN ANGGOTA PENELITI

A. Identitas Diri (Ketua Peneliti)

1	Nama Lengkap	Anak Agung Nanak Antarini,SST.,M.P.
2	Jenis Kelamin	Perempuan
3	Jabatan Fungsional	Lektor Kepala
4	NIP	196708201990032002
5	NIDN	4020086703
6	Tempat dan tanggal Lahir	Denpasar, 20 Agustus 1967
7	E-mail	nana_antarini@yahoo.com
8	Nomor Telepon/HP	081999404627
9	Alamat Kantor	Jalan Gemitir No 72 Biaung Denpasar
10	Nomor Telepon/Faks	0361(465232)
11	Mata Kuliah yang diampu	<ul style="list-style-type: none">1. Ilmu Pangan2. Mikrobiologi3. Teknologi Pangan4. Pengawasan Mutu Pangan5. Biokimia Gizi6. Kimia Pangan

B. Riwayat Pendidikan

	S-1	S-2	S-3
Nama Perguruan Tinggi	Universitas Brawijaya Malang	Universitas Udayana Denpasar	
Bidang Ilmu	Gizi	Bioteknologi	
Tahun Masuk	1999	2007	

C. Pengalaman Penelitian dalam 5 Tahun Terakhir

No	Tahun	Judul Penelitian	Pendanaan	
			Sumber	Jumlah(juta Rp)
1	2010	Karakteristik Yogurt dengan Menggunakan Starter <i>Lactobacillus rhamnosus</i> SKG34	Swadana	15.000.
2	2012	Pengaruh antosianin buah Juwet dan Klorofil Daun Gonda Terhadap Profil Lipid Serum <i>Rattus norvegicus</i> Hiperlipidemia	Risbinakes	18.000.
3	2013	Karakteristik Gizi dan Fisik Tepung Ubi Jalar dan Talas Termodifikasi dengan	Risbinakes	12.000

		Fermentasi Enzim Amilase. Jurnal Skala Husada Politeknik Kesehatan Denpasar		
4	2014	Pola Konsumsi Purin dan Kegemukan sebagai Faktor Resiko Hiperurisemia Pada Masyarakat Kota Denpasar	Risbinakes	12.000.
5	2015	Karakteristik Seredele Berdasarkan Lama Fermentasi Kacang Kedelai	Risbinakes	10.000.
6	2016	Perubahan Pengetahuan dan Praktek tentang pemilihan Makanan Jajanan pada Anak Sekolah Dasar di Kota Denpasar Provinsi Bali	Risbinakes	34.320.
7	2016	Kandungan Gizi dan Komposisi Asam Amino Makanan Terfermentasi Juleh untuk Pengembangan Pariwisata Kuliner Bali	Risbinakes	13,95
8	2017	Identifikasi Mikroba, Karakteristik Kimia dan Organoleptik pada <i>Teh Wong</i> Selama Penyimpanan	Hibah Bersaing	39.965.
9	2018	Efektifitas Edukasi Gizi Metode Kelompok dan Pemberdayaan PKK Meningkatkan Kepatuhan Diet pada Wanita Obesitas di Kota Denpasar	Hibah Bersaing	40.000
10	2019	Implementasi "Molatisu" untuk Meningkatkan Keterampilan Kader Posyandu Menyiapkan Menu Seimbang Kaitannya dengan Tingkat Partisipasi Ibu Balita Datang ke Posyandu di Kota Denpasar	Penelitian Terapan Unggulan Perguruan Tinggi (PTUPT)	40.970

D. Publikasi Artikel dalam 5 Tahun Terakhir

No	Judul Artikel	Nama Jurnal	Vol/Nomor/Tahun
1	Karakteristik Yogurt dengan Menggunakan Starter <i>Lactobacillus rhamnosus</i> SKG34	Jurnal Skala Husada	Vol 8 No 1/2010
2	Keamanan Pangan Pada Es Tebu yang di Jual Di Kota Denpasar	Jurnal Ilmu Gizi	Vol 3 N0 1/2012

3	Sinbiotik antara Prebiotik dan Probiotik	Jurnal Ilmu Gizi	Vol 2 No 2/2013
4	Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Etanol Sayur Gonda dan Potensinya Sebagai Antioksidan	Jurnal Skala Husada	Vol 10 No 2/2013
5	Swamedikasi Hiperkolesterolemia Dengan Ekstrak Air Daun Gonda dan Buah Juwet pada <i>Rattus norvegicus</i>	Meditory	Vol 1 No 2/2013
6	Karakteristik Gizi dan Fisik Tepung Ubi Jalar dan Talas Termodifikasi dengan Fermentasi Enzim Amilase. Jurnal Skala Husada Politeknik Kesehatan Denpasar	Jurnal Skala Husada	Vol 11 No 1/2014
7	Identifikasi Rhodamin B pada Jajan Kembang Goyang Dan Jajan Sirat Di Desa Pekutatan Jembrana	Jurnal Ilmu Gizi	Vol 5 No 1/2014
8	Pola Konsumsi Purin dan Kegemukan sebagai Faktor Resiko Hiperurisemia pada Masyarakat Kota Denpasar	Jurnal Skala Husada	Vol 12 No 1/2015
9	Pelatihan Teknis Penyuluhan Kader npada Sistem 5 Meja Kegiatan Bulanan Posyandu di Desa Dawan Kelod Kecamatan Dawan Kabupaten Klungkung	Prosiding Pengabdian Masyarakat Denpasar	ISBN : 978-602-95321-5-9
10	<i>The Effect of Extract Aqueous <i>Splenoclea Zeylanica Gaertn</i> to Improve Blood Glucose Level and Lipid Profile Preclinic</i>	The 2 nd International Symposium on Healht Research and Development	Ministry of Health RI, www.litbang.depkes.go , Jakarta September , pp 28 – 29
11	<i>Nutritional content and amino acid profile of juleh</i>	International journal of health sciences 2 (1), 1-10	https://sciencescholar.us/journal/index.php/ijhs/article/view/77
12	<i>Identification of Microbes, Chemical, and Organoleptic Characteristics towards Teh Wong during Fermentation</i>	Indian Journal of Public Health Research & Development 9 (5), 378-382	https://www.semanticscholar.org/paper/Identification-of-Microbes%2C-Chemical%2C-and-towards-Antarini-Agustini/86064abbc4668d

			081f6d671f12e234d7e336 8abd
--	--	--	--------------------------------

E. Perolehan HKI dalam 5-10 Tahun Terakhir

No.	Judul/Tema HKI	Tahun	Jenis	Nomor P/ID
1.	Efektifitas dan Edukasi Gizi dengan Pendekatan Kelompok dan Pemberdayaan PKK Meningkatkan kepatuhan Diet Pada Wanita Obes di Kota Denpasar (2018, Anggota)	2018	HAKI : Modul Penatalaksanaan Obesitas Pada Usia Dewasa	HAKI No Pendaftaran EC00201851379, 25 Oktober 2018 No Pencatatan 000123366
2.	Implementasi “Molatisu” Untuk Meningkatkan Keterampilan Kader Posyandu Menyiapkan Menu Seimbang Kaitannya Dengan Tingkat Partisipasi Ibu Balita Datang ke Posyandu Di Kota Denpasar	2019	Laporan Penelitian	HAKI No Pendaftaran EC00202002939, 5 Desember 2019 No Pencatatan 000176264
3.	Penyuluhan Menu Seimbang dan Manfaat Tablet Besi Sebagai Upaya Mencegah Kejadian Anemia Pada Remaja Putri SMA di kecamatan Sukawati Kabupaten Gianyar	2019	Karya Tulis	HAKI No Pendaftaran EC00202002616, 27 Agustus 2019 No Pencatatan 000176019

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila dikemudian hari ternyata dijumpai ketidaksesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima sanksi.

Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam penelitian Kerjasama Dalam Negeri

Denpasar, 25 Oktober 2021
Ketua Peneliti

A.A. Nanak Antarini,SST.,M.P.
NIP. 196708201990032002

B. Identitas Diri Anggota Peneliti

1.	Nama lengkap (dengan gelar)	Ni Putu Agustini, SKM.,M.Si.
2.	Jenis kelamin	Perempuan
3.	Jabatan Fungsional	Lektor Kepala
4.	NIP	196509071989032002
5.	NIDN	4007096501
6.	Tempat dan tanggal lahir	Sembung Gede, Tabanan 7 September 1965
7.	E-mail	putuagustini1965@gmail.com
8.	Nomor Telpon/HP	082236286428
9.	Alamat Kantor	Jln. Gemitir No.72 Denpasar
10.	Nomor Telp/Faks	(0361)465232
11.	Mata Kuliah yang diampu	1. Pengawasan Mutu Makanan 2. Teknologi Pangan 3. Analisis Zat Gizi Makanan 4. Biokimia Gizi 5. Ilmu Pangan 6. SPM HRC (Sistem Penyelenggaraan Makanan Hotel Restoran dan Catering) 7. MMPM (Manajemen Mutu Penyelenggaraan Makanan)

B. Riwayat Pendidikan

	Diploma III	S-1	S-2
Nama Perguruan Tinggi	Akademi Gizi Malang	FKM Unair	Bioteknologi Pertanian UNUD

Bidang Ilmu	Gizi	Kesehatan Masyarakat	Bioteknologi
Tahun masuk-lulus	1984-1987	1993-1995	2003-2006

C. Pengalaman Penelitian

No	Tahun	Judul Penelitian	Pendanaan	
			Sumber	Jumlah (juta Rp)
1.	2019	Penelitian Hibah Bersaing Formula Bencana Berbasis Pangan Lokal Tradisional Bali	Risbinakes Badan PPSDM (Hibah bersaing)	50,000
2.	2018	Penelitian Hibah Bersaing Poltekkes Kemenkes Denpasar dengan Judul Kandungan Gizi dan Keamanan Pangan Makanan tradisional Bali.	Risbinakes Badan PPSDM (Hibah bersaing)	50,000
3.	2017	Penelitian Kajian Analisis Pola Konsumsi Pangan Kabupaten Jembrana	Pemda Kabupaten Jebrana	70.000
4.	2017	Penelitian Unggulan Poltekkes Denpasar	Risbinakes Badan	60.000

		dengan Judul Pembuatan PMT Berbahan dasar “Kahiguru” sebagai Upaya Eleminati Kejadian Stunting di Bali dan NTB.	PPSDM (Hibah bersaing)	
5.	2017	Penelitian Hibah Bersaing dengan Judul Identifikasi Mikroba, Karakteristik Kimia dan Organoleptik pada Teh Wong.	Risbinakes Badan PPSDM (Hibah bersaing)	40.000
6.	2016	Pengembangan Jajanan Tradisional Bali sebagai Jajanan Sehat Anak sekolah	Risbinakes Badan PPSDM (Hibah bersaing)	40.000
7.	2015	Penerapan HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) Sebagai Model Jaminan Mutu Keamanan Makanan di Rumah Sakit Umum Pusat sanglah Denpasar Provinsi Bali.	Risbinakes Badan PPSDM	15.250
8.	2014	Analisis Keamanan Es Daluman di Kota Denpasar	Risbinakes Badan PPSDM	12,531
9.	2013	Karakteristik Gizi dan Fisik Tepung Ubi jalar dan Talas Termodifikasi dengan Enzim Amilase	Risbinakes Badan PPSDM Kemeskes	13,00
10	2011	Efektifitas Penyuluhan Tentang Perilaku Hidup Bersih dan Sehat Terhadap Peningkatan Pengetahuan Anak Sekolah Dasar di Desa Tulikup Kabupaten Gianyar	Risbinakes Badan PPSDM Kemeskes	9,00

D. Publikasi Artikel Ilmiah

No.	Judul Artikel Ilmiah	Nama Jurnal	Vol/Nomor/Tahun
1.	Identification of Microbes chemical, and Organoleptic Characteristics towards Teh Wong during Fermentation	Indian Journal of Public Health Research & Development	www.ijphrd.com ISSN 0976-0245 (print) ISSN 0976-5508 (electronic) Volume 9.Number 5, May 2018
2.	Formula Kahiguru High Protein for Making of Food Suplement as Elemination Stunting	IJLS (International Journal od Life Sciences)	Vol.1No.3 December 2017, page 14-27 http://sciencescholar.us/journal/index.php/ijls

3.	Dampak Pemberian Putih Telur terhadap Peningkatan Kadar Albumin pada Penderita Hipoalbumin di BRSU Tabanan Provinsi Bali	JSH	Vol.12 Nomor 2, September 2015
4.	Cemaran Mikroba E.coli pada Es Daluman yang Dijual di Kota Denpasar	JSH	Vol 12 Nomor 1, April 2015
5.	Karakteristik Gizi dan Fisik Tepung Ubi jalar dan Talas Termodifikasi dengan Enzim Amilase	JSH	Vol 11 Nomor 1, April 2014
6.	Identifikasi Rhodamin B pada Jajan Kembang Goyang dan Jajan Sirat di Desa Pekutatan, Kabupaten Jembrana	Ilmu Gizi	Vol V, Nomor 1 tahun 2014
7..	Konsumsi Energi Drink Berdasarkan Karakteristik dan Tingkat Pengetahuan Karyawan Hotel Sanur Beach Denpasar Bali.	JSH	Vol 8, Nomor 1, April 2011
8.	Aspek Keamanan Pangan Genetically Modified Food. Jurnal Ilmu Gizi	Ilmu Gizi	Vol 2 Nomor 1 Pebruari 2011

Denpasar, 25 Oktober 2021

Ni Putu Agustini, SKM.,M.Si.
NIP. 19650907 198903 2002

Lampiran .

SURAT PERNYATAAN KETUA PENELITI

Yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Anak Agung Nanak Antarini,SST.,M.P.
NIDN/NIP : 4020086703/196708201990032002
Pangkat/Golongan : Pembina/IVa
Jabatan Fungsional : Lektor Kepala

Dengan ini menyatakan bahwa Laporan Akhir Tahun penelitian saya dengan judul "Karakteristik Gizi dan Potensi Teh Wong Sebagai Kandidat Minuman Probiotik" dengan skema Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi untuk Tahun Anggaran 2021 bersifat original dan belum pernah dibiayai oleh lembaga/sumber dana lain.

Bilamana dikemudian hari ditemukan ketidaksesuaian dengan pernyataan ini, maka saya bersedia dituntut dan diproses dengan ketentuan yang berlaku dan mengembalikan seluruh biaya penelitian yang sudah diterima ke kas Negara.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan sesungguhnya dan dengan sebenar-benarnya.

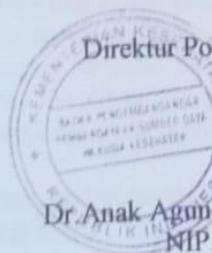
Mengetahui,
Kepala Pusat Penelitian dan Pengabmas
Poltekkes Kemenkes Denpasar,

Dr. I Putu Suraoka, S.ST., M.Kes.
NIP. 197301241995031001

Denpasar, 25 Oktober 2021

Yang Menyatakan,

Anak Agung Nanak Antarini,SST.,M.P..
NIP.196708201990032002



Menyetujui,
Direktur Poltekkes Kemenkes Denpasar

Dr. Anak Agung Ngurah Kusumajaya, SP., MPH
NIP. 196911121992031003



KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA

BADAN PENGEMBANGAN DAN PEMBERDAYAAN

SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN

POLITEKNIK KESEHATAN DENPASAR

Alamat : Jalan Sanitasi No 1 Sidakarya, Denpasar

Telp : (0361) 710447, Faksimile : (0361) 710448

Laman (website) : www.poltekkes-denpasar.ac.id



KEPUTUSAN DIREKTUR POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES DENPASAR NOMOR : HK.02.03/P3M/3785/2021

TENTANG REVISI PENETAPAN PROPOSAL PENELITIAN POLITEKNIK KESEHATAN KEMENTERIAN KESEHATAN DENPASAR

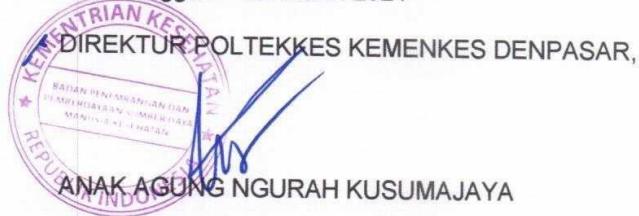
8. Peraturan Pemerintah RI Nomor 41 Tahun 2009 Tentang tunjangan profesi guru dan dosen, tunjangan khusus guru dan dosen serta tunjangan kehormatan professor;
9. Peraturan Pemerintah RI Nomor 4 Tahun 2014 Tentang Penyelenggaraan Pendidikan Tinggi Dan Pengelolaan Perguruan Tinggi;
- 10 Peraturan Menteri Pendayagunaan Aparatur Negara dan Reformasi Birokrasi Nomor 17 Tahun 2013 sebagaimana telah diubah dengan Peraturan Menteri Pendayagunaan Aparatur Negara dan Reformasi Birokrasi Nomor 46 Tahun 2013 tentang Perubahan atas Peraturan Menteri Pendayagunaan Aparatur Negara dan Reformasi Birokrasi Nomor 17 Tahun 2013 tentang Jabatan Fungsional Dosen dan Angka Kreditnya;
- 11 Peraturan Menteri Pendidikan Nasional RI Nomor 47 Tahun 2009 tentang Sertifikasi Pendidik Untuk Dosen;
- 12 Peraturan Bersama Menteri Pendidikan dan Kebudayaan RI dan Kepala Badan Kependidikan dan Kebudayaan Negara Nomor 4/VIII/PB/2014 dan Nomor 24 Tahun 2014 tentang Ketentuan Pelaksanaan Jabatan Fungsional Dosen dan Angka Kreditnya;
- 13 Peraturan Menteri Pendidikan dan Kebudayaan Nomor 49 Tahun 2014 tentang Standar Nasional Pendidikan Tinggi;
- 14 Peraturan Menteri Pendidikan dan Kebudayaan RI Nomor 92 Tahun 2014 tentang Petunjuk Teknis Pelaksanaan Penilaian Angka Kredit Jabatan Fungsional Dosen dan Angka Kreditnya;
- 15 Peraturan Menteri Riset, Teknologi, Dan Pendidikan Tinggi RI Nomor 44 Tahun 2015 Tentang Standar Nasional Pendidikan Tinggi;
- 16 Peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor 64 Tahun 2015 Tentang Organisasi Dan Tata Kerja Kementerian Kesehatan;
- 17 Keputusan Direktur Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Dan Kebudayaan RI No.48/D3/Kep/1983 Tentang Beban Tugas Tenaga Pengajar Pada Perguruan Tinggi;
- 18 Keputusan Menteri Kesehatan RI Nomor HK.02.03/I.2/08810/2013 Tentang Perubahan Kedua Atas Peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor HK.03.05/I.2/03086/2012 Tentang Petunjuk Teknis Organisasi dan Tata Laksana Poltekkes Kemenkes;
- 19 Keputusan Kepala Badan Pengembangan dan Pemberdayaan Sumber Daya Manusia Kesehatan Kementerian Kesehatan RI Nomor HK.02.03/I.IV.1/07264/2014 tentang Pedoman Penghitungan Beban Kerja Dosen Poltekkes Kemenkes.

- Memperhatikan :
1. Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran (DIPA) Politeknik Kesehatan Denpasar Tahun Anggaran 2020, Nomor SP.DIPA-024.12.2.632181/2021 tanggal 23 Nopember 2020 serta Petunjuk Operasional Kegiatannya
 2. Buku Pedoman Penilaian Penelitian dan Pengembangan

MEMUTUSKAN

- Menetapkan : **KEPUTUSAN DIREKTUR POLITEKNIK KESEHATAN DENPASAR TENTANG REVISI PENETAPAN PROPOSAL PENELITIAN POLITEKNIK KESEHATAN KEMENTERIAN KESEHATAN DENPASAR YANG MENDAPAT BANTUAN BIAYA TAHUN ANGGARAN 2021**
- Pertama : Menunjuk nama-nama seperti yang tercantum pada Lampiran Surat Keputusan ini sebagai Peneliti Politeknik Kesehatan Kemenkes Denpasar yang dinyatakan Lulus Seleksi dan Mendapat Bantuan Biaya Tahun Anggaran 2021.
- Kedua : Semua pembiayaan yang dikeluarkan berkenaan dengan kegiatan tersebut dibebankan kepada Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran (DIPA) Politeknik Kesehatan Denpasar Tahun Anggaran 2020, Nomor SP.DIPA-024.12.2.632181/2021 tanggal 23 Nopember 2020 MAK: 5034.DDC.(001, 006, 007, 008) 052.A.521219
- Ketiga : Keputusan ini berlaku sejak tanggal ditetapkannya, dengan ketentuan apabila terdapat kekeliruan dalam penetapan ini akan diadakan perubahan sebagaimana mestinya.

Ditetapkan di Denpasar
Pada tanggal 22 Maret 2021



Tembusan disampaikan kepada Yth. :

1. Kepala Badan PPSDM Kesehatan Kemenkes RI.,Minat : Sekretaris Badan PPSDM Kementerian Kemenkes RI
2. Ketua Senat Politeknik Kesehatan Kemenkes Denpasar
3. Ketua SPI Politeknik Kesehatan Kemenkes Denpasar
4. Para Ketua Jurusan di lingkungan Politeknik Kesehatan Kemenkes Denpasar
5. Yang bersangkutan untuk maklum dan dilaksanakan dengan penuh tanggung jawab

Lampiran : Surat Keputusan Direktur Politeknik Kesehatan Kemenkes Denpasar
 Nomor : HK.02.03/P3M/**3785**/2021
 Tanggal : 22 Maret 2021

REVISI DAFTAR PENETAPAN PROPOSAL PENELITIAN
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENTERIAN KESEHATAN DENPASAR
YANG MENDAPATKAN BANTUAN BIAYA
TAHUN ANGGARAN 2021

NO	JUDUL	NAMA	NIDN	PRODI	BIAYA
SKEMA PENELITIAN PEMULA					
1	Aktivitas Antibakteri Hidrogel Ekstrak Daun Beluntas (<i>Pluchea Indica L.</i>) Terhadap Bakteri Methicillin-Resistant <i>Staphylococcus Aureus</i> (MRSA)	Nur Habibah, S.Si., M.Sc	4016038601	Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Program Sarjana Terapan	20.000.000
		Ida Bagus Oka Suyasa, S.Si, M.Si.	4001067501	Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Program Sarjana Terapan	
2	Uji Aktivitas Antiinflamasi Teh Cang Salak Secara In Vitro Dengan Metode Stabilisasi Membran Human Red Blood Cell	Burhannuddin, S.Si., M.Biomed.	4028028601	Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Program Diploma Tiga	20.000.000
		I Wayan Karta, S.Pd., M.Si.	4009038601	Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Program Diploma Tiga	
3	Analisis Kadar Vistafin Pada Ibu Hamil Pada Dikabupaten Bangli-Bali	Heri Setiyo Bekti	4002068502	Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Program Sarjana Terapan	20.000.000
		Ni Nyoman Astika Dewi, S.Gz., M.Biomed	4030117701	Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Program Diploma Tiga	
4	Analisis Kebutuhan Pengembangan Aplikasi Edukasi Pada Masa Nifas Berbasis Android	Ni Made Dwi Mahayati, SST., M.Keb	4030048403	Program Studi Kebidanan Program Pendidikan Profesi Bidan	15.000.000
		I Gusti Agung Ayu Novya Dewi, SST., M.Kes	4006118001	Program Studi Kebidanan Program Diploma Tiga	

NO	JUDUL	NAMA	NIDN	PRODI	BIAYA	
5	Analisis Penerapan Protokol Kesehatan Dalam Pelayanan Antenatal Pada Masa Pandemi Covid 19 Di Kota Denpasar	Ni Wayan Suarniti, SST., M.Keb	4031088101	Program Studi Kebidanan Program Pendidikan Profesi Bidan	20.000.000	
		I Komang Lindayani, SKM., M.Keb	4012078002	Program Studi Kebidanan Program Diploma Tiga		
6	Identifikasi Kebutuhan Ibu Hamil Dan Suami Terhadap Program Couple Prenatal Class di Kabupaten Badung	Ni Komang Erny Astiti, SKM.,M.Keb	4008058301	Program Studi Kebidanan Program Pendidikan Profesi Bidan	20.000.000	
		Ni Made Dwi Purnamayanti, S.Si.T.,M.Keb	4001028001	Program Studi Kebidanan Program Diploma Tiga		
JUMLAH					115.000.000	
SKEMA PENELITIAN KERJASAMA ANTAR PERGURUAN TINGGI						
1	Pencegahan Kanker Serviks Berbasis Online Dalam Meningkatkan Motivasi Instrinsik Dan Ekstrinsik Wanita Usia Subur Melakukan Pemeriksaan Iva	Dra I Gusti Ayu Surati, M.Kes	4009015802	Program Studi Kebidanan Program Sarjana Terapan	30.000.000	
		Ni Luh Putu Sri Erawati, SSiT, MPH	4025087502	Program Studi Kebidanan Program Diploma Tiga		
		Ns. I Gusti Ayu Pramitaresth.,S.Kep.,M.Kep	0027028904	Sarjana Keperawatan dan Profesi Ners Fakultas Kedokteran UNUD		
JUMLAH					30.000.000	
SKEMA PENELITIAN DASAR UNGGULAN PERGURUAN TINGGI						
1	Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Kenikir (Cosmos caudatus) Terhadap Kadar Paraoxonase-3 Serum Dan Microna-33 Tikus Yang Diberi Pakan Tinggi Kolesterol	Dr.dr I Gusti Agung Dewi Sarihati, M.Biomed.	4020046801	Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Program Diploma Tiga	40.522.500	
		I Gusti Ayu Sri Dhyapatutri, SKM, MPH	4001097201	Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Program Diploma Tiga		
2	Potensi Antimikroba Lulur Tradisional Dengan Ekstrak Daun Sirzak Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus Aureus Sebagai Pengembangan Produk Inovatif	I Nyoman Jirna, SKM., M.Si	4021057201	Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Program Diploma Tiga	38.008.500	
		Drs I Gede Sudarmanto, B.Sc., M.Kes	4006056001	Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Program Diploma Tiga		

NO	JUDUL	NAMA	NIDN	PRODI	BIAYA
3	Karakteristik Dan Antibakteri Kitosan Udang Dapat Menghambat Pertumbuhan Bakteri S Mutans Dan P Gingivalis Penyebab Karies Gigi Dan Periodontitis Kronis	Dr drg I Gusti Agung Ayu Darmawati, M.Biomed	4017126901	Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Program Sarjana Terapan	36.580.000
		Ni Nyoman Dewi Supariani, SSIT, MKes.	4031126504	Program Studi Kesehatan Gigi Program Diploma Tiga	
		Nyoman Mastra, S.KM., S.Pd., M.Si	4018086201	Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Program Diploma Tiga	
4	Pengembangan Metode Analisis Kualitatif Dan Kuantitatif Dari Senyawa Kimia Lendir Bekicot (Achatina Fulica)	Dr.. Drg. I Gusti Agung Ayu Putu Swastini, M.Biomed Ni Nengah Sumerti, S.Si.T, M.Kes	4018126701 4007096502	Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Program Sarjana Terapan Program Studi Kesehatan Gigi Program Diploma Tiga	51.650.000
5	Perbedaan Kualitas Udara Di Wilayah Kota Denpasar	I Nyoman Gede Suyasa,SKM.MSi.	4030017101	Program Studi Sanitasi Program Diploma Tiga	60.000.000
		Ni Made Marwati,SPd,ST,M. Si.	4008036101	Program Studi Sanitasi Lingkungan Program Sarjana Terapan	
		Ni Ketut Rusminingsih,SKM .MSi.	4023056401	Program Studi Sanitasi Lingkungan Program Sarjana Terapan	
6	Modifikasi Teknologi Mecanics Container Breeding Place (MCBP) Portable Untuk Menekan Indeks Ovitrap Dalam Pengendalian Vektor Demam Berdarah Dengue Di Kota Denpasar	I Gusti Ayu Made Aryasih, SKM., M.Si	4019017301	Program Studi Sanitasi Lingkungan Program Sarjana Terapan	60.000.000
		I Wayan Sali, SKM., M.Si	4004046401	Program Studi Sanitasi Lingkungan Program Sarjana Terapan	
		Nengah Notes, SKM., M.Si	4031125402	Program Studi Sanitasi Program Diploma Tiga	

NO	JUDUL	NAMA	NIDN	PRODI	BIAYA
7	Effektifitas Berbagai Macam Umpan Perangkap Lalat Di Pasar Ikan Dan Pasar Tradisional Tahun 2021	Mochammad Choirul Hadi, SKM, M.Kes	4010076301	Program Studi Sanitasi Lingkungan Program Sarjana Terapan	28.805.000
		I Nyoman Sujaya, SKM, MPH	4017086801	Program Studi Sanitasi Lingkungan Program Sarjana Terapan	
8	Identifikasi Karakteristik Sampah, Aktivator Mol Dan Potensi Produksi Kompos Di Ekowisata Bukit Cemeng Bangli	Dewa Ayu Agustini Posmaningsih, SKM., M.Kes	4021087601	Program Studi Sanitasi Lingkungan Program Sarjana Terapan	60.000.000
		I Wayan Jana, SKM., M.Si	4027126401	Program Studi Sanitasi Lingkungan Program Sarjana Terapan	
9	Studi Kualitatif Dan Kuantitatif Fitokimia Ekstrak Air Dan Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (Chromolaena Odorata L.) Yang Tumbuh Di Propinsi Bali	drg. Regina Tedjasulaksana, M.Biomed	4004026101	Program Studi Kesehatan Gigi Program Diploma Tiga	39.650.000
		drg. Maria Martina Nahak, M.Biomed	4031016601	Program Studi Kesehatan Gigi Program Diploma Tiga	
		Ni Ketut Ratmini, SSiT., MDSC	4009096501	Program Studi Kesehatan Gigi Program Diploma Tiga	
10	Kandungan Senyawa Kimiawi Pada Daun Ketapang (Terminalia Cattapa L) sebagai Hemostatik Luka Pasca Pencabutan Gigi	Ni Made Sirat, S.Si.T, M.Kes	4003056801	Program Studi Kesehatan Gigi Program Diploma Tiga	24.632.500
		drg. Asep Arifin Senjaya, M.Kes	4010016601	Program Studi Kesehatan Gigi Program Diploma Tiga	
11	Kandungan Senyawa Kimiawi Kulit Buah Sentul (Sandoricum Koetjape) Sebagai Anti Inflamasi Pada Penyembuhan Gingivitis Pasca Scalling	I Nyoman Wirata,SKM,M.Kes	4022057302	Program Studi Kesehatan Gigi Program Diploma Tiga	26.559.000
		Anak Agung Gede Agung, SKM,M.Kes	4008016801	Program Studi Kesehatan Gigi Program Diploma Tiga	
		Ni Wayan Arini, S.Si.T, M. Kes	4024066402	Program Studi Kesehatan Gigi Program Diploma Tiga	
12	Pengaruh Penggunaan Media Online Terhadap Peningkatan Kompetensi Pelayanan Komplementer	DR. Ni Komang Yuni Rahyani.,S.Si.T.,M.KES	4026067301	Program Studi Kebidanan Program Pendidikan Profesi Bidan	59.052.000

NO	JUDUL	NAMA	NIDN	PRODI	BIAYA
	Kebidanan Di Provinsi Bali	KH Endah Widhi Astuti, M.MID,	4006047202	Prodi Profesi bidan Poltekkes Kemenkes Surakarta	
		Ni Ketut Somoyani.,SST.M. Biomed	4021046901	Program Studi Kebidanan Program Sarjana Terapan	
13	Pengaruh Pemberian Ekstrak Ethanol Pelepas Talas Kimpul (<i>Xanthosoma Sagittifolium</i> (L.) Schott) Pada Tikus Wistar Hamil Terhadap Kadar Ferritin, Hemoglobin, Dan Berat Badan Lahir Anak Tikus	Dr. Ni Nyoman Budiani, S.Si.T., M. Biomed.	4018027001	Program Studi Kebidanan Program Pendidikan Profesi Bidan	38.126.600
		Ni Wayan Armini, SST, M.Keb	4030018101	Program Studi Kebidanan Program Pendidikan Profesi Bidan	
14	Implementasi Pelayanan Kesehatan Reproduksi Bagi Calon Pengantin Di Puskesmas Kota Denpasar	Ni Nyoman Suindri, S.SI.T., M.Keb	4002027201	Program Studi Kebidanan Program Sarjana Terapan	60.000.000
		Made Widhi Gunapria Darmapatni, SST., M.Keb	4028118201	Program Studi Kebidanan Program Sarjana Terapan	
15	Efektifitas Modul Terhadap Pengetahuan, Sikap Dan Praktik Remaja Putri Dalam Pencegahan Anemia	Gusti Ayu Marhaeni, SKM., M.Biomed	4031126506	Program Studi Kebidanan Program Diploma Tiga	49.600.000
		Ni Gusti Kompiang Sriasih, S.ST, M.Kes	4016017001	Program Studi Kebidanan Program Sarjana Terapan	
16	Pengembangan Sere Kedele Sebagai Pangan Fungsional Untuk Sajian Pelaku Pariwisata Dan Wisatawan	Ni Made Dewantari, SKM, M.FOR	4002056501	Program Studi Gizi Program Diploma Tiga	58.401.000
		G.A. Dewi Kusumayanti, DCN, M.Kes.	4026046602	Program Studi Gizi Program Diploma Tiga	
17	Karakteristik Gizi Dan Potensi Teh Wong Sebagai Kandidat Minuman Probiotik	Anak Agung Nanak Antarini,SST.,M.P.	4020086703	Program Studi Gizi dan Dietetika Program Sarjana Terapan	38.250.000
		Ni Putu Agustini,SKM.,M.Si	4007096501	Program Studi Gizi Program Diploma Tiga	

NO	JUDUL	NAMA	NIDN	PRODI	BIAYA
18	Analisis Konsumsi Zat Gizi Mikro Dan Kadar Ferritin Pada Remaja Putri Di Kabupaten Gianyar Di Provinsi Bali	Ida Ayu Eka Padmiari, SKM, M.Kes	4017046401	Program Studi Gizi dan Dietetika Program Sarjana Terapan	60.000.000
		Pande Putu Sri Sugiani, DCN, M.Kes	4027126402	Program Studi Gizi dan Dietetika Program Sarjana Terapan	
19	Aktivitas Antihipertensi Tempe Telaah In Vitro Dan In Vivo	Dr. Badrut Tamam, STP, M.Biotech;	4017127001	Program Studi Gizi dan Dietetika Program Sarjana Terapan	64.000.000
		I Gst Putu Sudita Puryana, STP, MP;	4010117401	Program Studi Gizi dan Dietetika Program Sarjana Terapan	
		Dr Ni Ketut Sutiari, SKM, M.Kes	0026127703	Program Studi MIKM Fakultas Kedokteran UNUD	
20	Formula "Ke-Kame-Tu" Tinggi Protein dan Zink Sebagai Bahan Dasar PMT Balita	Dr. Ir. I Komang Agusjaya Mataram, M.Kes.	4016086203	Program Studi Gizi dan Dietetika Program Sarjana Terapan	67.519.000
		A.A. Gde Raka Kayanaya, SST.,M.Kes	4001045701	Program Studi Gizi dan Dietetika Program Sarjana Terapan	
21	Pengembangan Intervensi Obesitas Anak Masa Pandemi Covid-19 Pendekatan Keluarga Dan Media Konsultasi Online Di Kota Denpasar	Dr. I Putu Suiraoka, S.ST., M.Kes.	4024017301	Program Studi Gizi dan Dietetika Program Sarjana Terapan	33.639.000
		Ir.Hertog Nursanyoto, M.Kes	4024017301	Program Studi Gizi Program Diploma Tiga	
22	Model Pendekatan Perencanaan Kontijensi Dalam Meningkatkan Kesiapsiagaan Ibu Hamil Dan Keluarga Menghadapi Erupsi Gunung Agung	Nengah Runiari, S.Kp, S.Pd, M.kep, Sp.Mat	4019027201	Program Studi Keperawatan Program Pendidikan Profesi Ners	59.600.000
		Dr. Drs I Dewa Made Rusawan, S.Kp, M.Biomed	4015056001	Program Studi Keperawatan Program Sarjana Terapan	

NO	JUDUL	NAMA	NIDN	PRODI	BIAYA	
	Meningkatkan Produktivitas Kerja Pande Besi di Desa Gubug Tabanan	Cok Dewi Widhya Hana Sundari, SKM., M.Si	4021066903	Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Program Diploma Tiga		
2	Implementasi Buku Saku Antropometri Gizi Anak Paud Untuk Meningkatkan Kemampuan Guru Menilai Status Gizi Anak Paud Di Kabupaten Gianyar Provinsi Bali	Dr. Ni Nengah Ariati, SST.M.Erg	4018117301	Program Studi Gizi dan Dietetika Program Sarjana Terapan	60.000.000	
		Dr. Ni Komang Wiardani, SST.M.Kes	4016036701	Program Studi Gizi dan Dietetika Program Sarjana Terapan		
		A.A. Ngurah Kusumajaya, SP.MPH	4012116901	Program Studi Gizi dan Dietetika Program Sarjana Terapan		
3	Pendekatan Model Wellness Program Meningkatkan Kebugaran Fisik dan Menurunkan Kejadian Syndrome Metabolik Pada ASN Di Pemda Klungkung	Dr. I Wayan Juniorsana, SST, M.Fis	4007066702	Program Studi Gizi dan Dietetika Program Sarjana Terapan	60.000.000	
		Ir. Desak Putu Sukraniti, M.Kes	4011125901	Program Studi Gizi Program Diploma Tiga		
JUMLAH					162.500.000	
JUMLAH TOTAL					1.595.568.100	



ANAK AGUNG NGURAH KUSUMAJAYA

