



Karakterisasi Bakteri Kombucha Teh Melati dan Teh Hijau sebagai Agen Pupuk Hayati

Characterization of Bacteria of Kombucha Jasmine Tea and Green Tea as Bioertilizer Activator

Muhammad Fauzi¹, Nisa Ihsani¹, Rois Suriyah¹

¹ Departemen Bioteknologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Muhammadiyah Bandung

*Corresponding author: Jalan Soekarno-Hatta No. 752 Kota Bandung, Provinsi Jawa Barat, 40614, Indonesia.

E-mail addresses: muhammadfauzi@umbandung.ac.id

2024 BIODIVERSE: Jurnal Biodiversitas dan Bioteknologi

Abstract

Production of fermented tea or kombucha can produce waste in the form of brown scoby. This waste can be used as a source of biological fertilizer agents for plants. This research aims to identify bacteria that act as biological fertilizer agents contained in kombucha scoby waste. The research method was the isolation and characterization of bacteria grown on Pikovskaya solid media to determine the biochemical reactions of groups of phosphate solubilizing bacteria and siderophore bacteria on Fe-CAS media. The results of the research showed that there were phosphate solubilizing bacteria from samples K1 and K2 with the criteria that the colonies formed a clear clear zone (halozone) and K1 showed positive as a siderophore producing bacteria with orange colonies formed.

Article info

Article history:

Received : 28 June 2024

Revised : 29 June 2024

Accepted : 29 June 2024

Available online : 30 June 2024

Keywords:

Biofertilizer

Kombucha

Siderophore

1. PENDAHULUAN

Fermentasi merupakan salah satu cara untuk meningkatkan senyawa bioaktif pada berbagai produk pangan. Di Indonesia kombucha dikenal sebagai teh jamur dan mulai populer dikonsumsi. Kombucha memiliki rasa manis sedikit asam sehingga banyak diminati oleh para konsumen. Selain karena rasa, kombucha juga memiliki banyak khasiat untuk kesehatan tubuh diantaranya sebagai antibakteri, antioksidan, dapat meningkatkan ketahanan tubuh, menurunkan tekanan darah serta memperbaiki mikroflora usus. Scoby kombucha yang sudah lama dan berwarna coklat dimanfaatkan sebagai pupuk dengan cara memotongnya dengan irisan kecil-kecil kemudian dimasukkan ke dalam tanah [1].

Kombucha diperoleh dari teh yang difermentasi dengan gula oleh (*Symbiotic Culture Of Bacteria And Yeast*) SCOBY selama 7-14 hari pada suhu ruang menggunakan kultur bakteri (*Acetobacter xylinum*, *A. xylinoides*, *Bacterium gluconicum*) dan jamur (*Saccharomyces cerevisiae*, *S. ludwigii*, *Zygosaccharomyces bailii*, *Z. rouxii*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Torulaspora delbrueckii*, *Brettanomyces bruxellensis*, *B. Lambicus*, *B. custersii*, *Candida sp.*, or *pichia*) [2]. Bakteri yang terlibat dalam kombucha yaitu bakteri asam asetat dan bakteri asam

laktat. Adapun kandungan vitamin B1, B2, B6, B12, asam folat, vitamin C amino essensial, dan enzim yang memiliki banyak manfaat bagi tubuh [3].

Beragamnya mikroba baik bakteri maupun fungi pada proses fermentasi kombucha menjadi topik menarik untuk menggali potensi mikroba sebagai agen pupuk hayati. Pupuk hayati merupakan pupuk penyubur tanaman yang memiliki bahan aktif berupa mikroorganisme menguntungkan bagi tanaman seperti kelompok mikroba pemfiksasi nitrogen pelarut fosfat, bahkan bakteri siderophore [4].

Siderophore merupakan senyawa pengkhelat ion logam besi (Fe^{3+}) spesifik yang dihasilkan oleh beberapa jenis mikroba untuk menyembunyikan unsur besi di lingkungan rizosfir, sehingga tidak tersedia bagi perkembangan mikroba patogen [5]. Sementara bakteri pelarut fosfat adalah bakteri tanah yang dapat melarutkan fosfat sehingga dapat diserap oleh tanaman. Kedua jenis bakteri ini berpotensi besar sebagai agen pupuk hayati dan dapat juga ditemukan pada produk fermentasi [6]. Oleh karena itu, dalam penelitian ini dilakukan identifikasi kombucha teh melati dan teh hijau sebagai agen pupuk hayati melalui seleksi bakteri siderofor, pelarut fosfat.

Dengan demikian, penelitian yang berjudul “Karakterisasi Bakteri Kombucha Kombucha Teh Melati dan Teh Hijau Sebagai Agen Pupuk Hayati” perlu dilakukan untuk mengetahui potensi sebagai agen pupuk hayati.

2. METODE

Alat yang digunakan untuk penelitian ini diantaranya alat gelas, toples kaca, cawan petri, erlenmeyer, botol schoot, *laminar air flow*, mikropipet, *autoclave*, tip, *aluminium foil*, plastik wrap, timbangan analitik, alat tulis dan kompor listrik.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel kombucha teh melati dan teh hijau, plastik wrap, media agar pikovskaya, akuades, NaCl fisiologis, Kit isolasi genom, *gel agarose*, TAE 1 x, media Fe-CAS agar, media NB, tips, spirtus, korek api, alkohol 70%, aluminium foil, tissu, *gloves* dan kapas.

Tahapan Penelitian

1. Seleksi Bakteri Kombucha Teh melati dan Teh Hijau Pada Media Fosfat

Masing-masing subkultur isolat bakteri diinokulasikan pada medium steril. Selanjutnya diinkubasi dalam inkubator pada suhu ruangan selama 24 jam. Seleksi isolat *Bacillus sp* yang berpotensi sebagai pelarut fosfat, yaitu dengan diinokulasikan dalam medium pikovskaya agar dan diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari. Koloni bakteri yang memiliki zona bening dianggap bakteri tersebut mampu melarutkan fosfat [7].

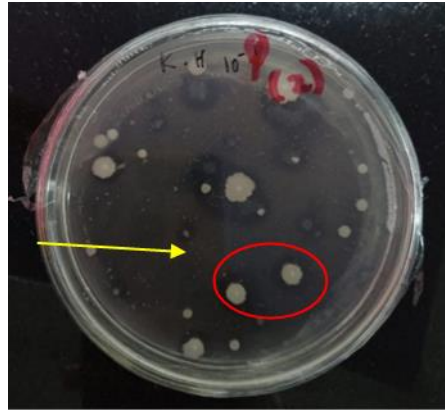
2. Seleksi Bakteri Kombucha Teh melati dan Teh Hijau Pada Media Siderophore

Langkah pertama yang perlu dilakukan yaitu Inokulasi Fe-CAS agar dengan di suspensi sel bakteri menggunakan metode gores atau sebar. Untuk metode sebar, gunakan sebanyak 50 μL suspensi sel bakteri dari beberapa tingkat pengenceran. Selanjutnya inkubasi cawan petri pada suhu kamar. Setelah masa inkubasi (24 jam atau lebih) bakteri penghasil siderofor yang tumbuh ditandai oleh koloni berwarna kuning (oranye) yang kontras dengan warna biru media Fe CAS [8].

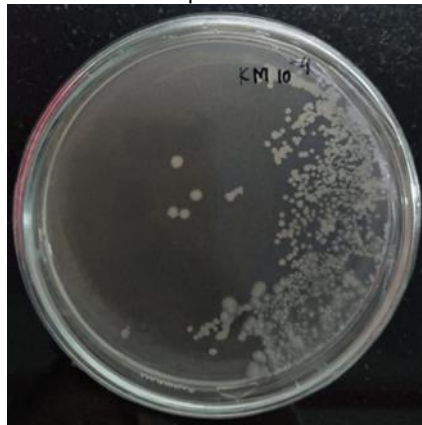
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri Pelarut Fosfat

Dalam penelitian ini, isolasi bakteri fosfat menggunakan media Pikovskaya. Media pikovskaya adalah media selektif untuk isolasi bakteri pelarut fosfat. Pada media pikovskaya digunakan trikalsium fosfat sebagai sumber fosfat tidak larut sehingga media berwarna putih keruh dan terdapat butiran fosfat putih. Keberadaan bakteri pelarut fosfat dikatakan positif apabila terdapat zona jernih (*halozone*) pada media pikovskaya tersebut [9]. Hasil seleksi pada media pikovskaya menunjukkan adanya koloni bakteri pelarut fosfat yang ditandai dengan terbentuknya zona bening. Keberadaan bakteri pelarut fosfat dalam media pikovskaya dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Koloni bakteri pelarut pada media Pikovskaya kombucha teh hijau (K1) dengan zona jernih (*Halozone*) bakteri pelarut fosfat.



Gambar 2. Koloni bakteri pelarut pada Media Pikovskaya kombucha teh melati (K2).

Bakteri pelarut fosfat dikenali dengan adanya zona bening di sekitar koloni jika ditumbuhkan pada media agar pikovskaya. Sagervansh [10] menyatakan bahwa terbentuknya zona bening disekitar koloni menunjukkan, bahwa isolat tersebut mampu menghasilkan asam-asam organik yang mampu berikatan dengan ion Ca^{2+} membentuk senyawa Ca_3PO_4 sehingga membentuk area yang berwarna lebih jernih. Dari sampel bakteri kombucha diperoleh 183 isolat bakteri pelarut fosfat dan menunjukkan zona jernih pada media pikovskaya. Data secara rinci terdapat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil isolasi Pelarut Fosfat dari sampel teh hijau, teh melati, kombucha hijau, kombucha melati dan air scoby

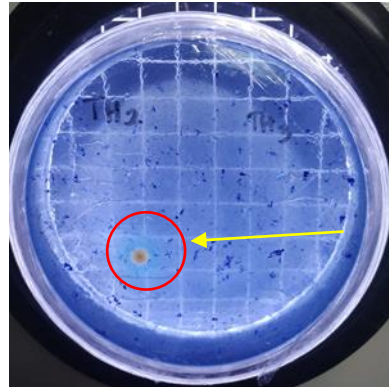
No.	Sample	TPC (CFU/mL)
1	Scoby Teh hijau	3
2	Scoby Teh melati	11
3	Kombucha Teh hijau	21,15
4	Kombucha teh melati	18,5
5	Air scoby	10

Dari hasil isolasi bakteri pelarut fosfat sampel kombucha melati pada pengenceran 10^{-1} terjadi kontaminasi dan didapatkan 33 isolat dari pengenceran 10^{-2} , 37 isolat dari pengenceran 10^{-3} , 77 isolat dari pengenceran 10^{-4} , dan 36 isolat dari pengenceran 10^{-5} . Isolat keseluruhan yang berhasil didapatkan pada penelitian kali ini sebanyak 183 isolat.

Keberadaan isolat-isolat bakteri pelarut fosfat yang tumbuh di media pikovskaya dari sampel kombucha melati dipengaruhi oleh kandungan fosfat yang tersedia serta mencukupi kebutuhan bakteri yang ada pada sampel, sehingga bakteri mampu tumbuh dan berkembang.

Seleksi Bakteri Kombucha pada Media Siderophore

Kultur yang tumbuh pada media pikovskaya diseleksi pada media Fe-CAS. Kultur ditumbuhkan pada suhu ruang selama 24 jam atau lebih. Sampel yang diinokulasikan yaitu sampel teh hijau, sampel teh melati, sampel kombucha hijau, dan sampel kombucha melati. Hasil kultur sample K1 menunjukkan sampel teh melati menunjukkan hasil positif siderofor yang ditandai dengan adanya koloni berwarna kuning (orange) seperti Gambar 3. Bakteri yang berada pada sampel teh melati mampu hidup dan berkembang biak pada media agar Fe-CAS karena siderofor dapat melepaskan Fe dari media dan menyembunyikannya sehingga koloni bakteri berwarna kuning (orange) yang sangat kontras dengan warna biru media agar Fe-CAS agar. Siderofor memiliki afinitas yang tinggi terhadap unsur Fe ($K_f > 1030$). Bakteri penghasil siderofor mengikat unsur Fe di luar dinding sel dan selanjutnya Fe diangkut ke dalam membran sel melalui reseptor spesifik [11].



Gambar 3. Koloni bakteri Siderofor dari isolat K1.

Hasil positif siderofor kemudian di subkultur pada media Fe-CAS untuk memperbanyak koloni serta memastikan bahwa koloni yang tumbuh sesuai dengan yang diinginkan. Kemampuan bakteri menghasilkan siderofor merupakan komponen penting dalam PGPR, karena siderofor mampu mengikat besi (Fe^{3+}) menjadi ikatan siderofor-besi yang menjadi tersedia bagi tanaman. Siderofor yang dihasilkan oleh mikroorganisme, menguntungkan tanaman karena dapat menghambat pertumbuhan patogen. Terjadinya kekurangan Fe^{3+} yang dibutuhkan oleh patogen karena Fe^{3+} sudah terikat oleh siderofor [12].

4. KESIMPULAN

Kombucha teh melati dan teh hijau mengandung bakteri pelarut fosfat dan ditandai dengan adanya zona bening pada media pikovskaya. Pada pertumbuhan bakteri di media Fe-CAS koloni tumbuh hanya $\frac{1}{2}$ koloni namun menghasilkan koloni yang sesuai dengan yang diinginkan. Yaitu koloni tumbuh berwarna kuning (orange) yang kontras dengan warna biru media Fe-CAS.

5. UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Muhammadiyah Bandung yang telah memberikan dana penelitian TA 2022.

6. DAFTAR REFERENSI

- [1] Khaerah, A., & Akbar, F. (2019). Aktivitas antioksidan teh kombucha dari beberapa varian teh yang berbeda. Seminar Nasional LP2M UNM, 0(0), 472-476.
- [2] Kaewkod, T., Bovonsombut, S., & Tragoolpua, Y. (2019). Microorganisms Efficacy of Kombucha Obtained From Green, Oolong, and Black Teas on Inhibition of Pathogenic Bacteria, Antioxidation, and Toxicity on Colorectal Cancer Cell line. *Microorganisms*, 7(700), 1-18.
- [3] Zubaidah, E., Effendi, F. D., & Afgani, C. A. (2022). Kombucha: Mikrobiologi, Teknologi, dan Manfaat Kesehatan. Universitas Brawijaya Press.
- [4] Sastrahidayat, I. R. (2011). Rekayasa pupuk hayati mikoriza dalam meningkatkan produksi pertanian. Universitas Brawijaya Press.
- [5] Rao NSS. (2007). Mikroorganisme dan Pertumbuhan Tanaman. Jakarta: UI Press.
- [6] Lay, B. W. (1994). Analisa Mikroba di Laboratorium. Edisi Pertama. Cetakan pertama. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada.
- [7] Doi, RAY, H. and MARTINA McGLOUGHLIN. (1992), Biology of Bacilli: Applications of Industry,

Butterworth-Heinemann, Boston, London, Oxford, Singapore, Sydney, Toronto, Wellington: 370 pp.

[8] Husen, E. (2002). Growth Enhancement of Hot Pepper (*Capsicum annuum* L.) by Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR). Master Thesis (Soil science). University of The Philippines at Los Banos. Philippines.

[9] Islamiati, A., & Zulaika, E. (2015). Potensi *Azotobacter* sebagai pelarut fosfat. J. Sains dan Seni ITS, 2(1), 2337-3520.

[10] Sagervansh, A., Kumari, P., and, A. N. & Kumar, A. (2012). Media Optimization for Inorganic Phosphate Solubilizing Bacteria Isolated from Arand Agriculture Soil. International Journal of Life Science & Pharma Research 2(3): 245-255.

[11] T. L. Blanchard, T. S. Taylor and C. L. Love. 1999. "Estrous Cycle Characteristics and Schwyn, B & J.B. Neilands. (1987). Universal Chemical Assay for the Detection and Determination of Siderophores. Anal. Biochem 160 47-56.

[12] Sharma A, & Johri BN. (2003). Growth promoting influence of siderophore-producing *Pseudomonas* strains GRP3A and PRS9, in maize (*Zea mays* L.) under iron limiting conditions. Microbiol. Res.158(3): 243-248.