

6/KIM  
2002  
037

**ANTIOKSIDAN ASAM GLUKURONAT  
DALAM FERMENTASI DAUN BENALU TEH  
OLEH KONSORSIUM *Acetobacter-Saccharomyces***

**MEITA SUSMANDARI**



**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
BOGOR  
2002**

## RINGKASAN

MEITA SUSMANDARI. Antioksidan Asam Glukuronat dalam Fermentasi Daun Benalu Teh oleh Konsorsium *Acetobacter-Saccharomyces* (Glucuronic Acid Antioxidant in Parasite Tea Leaf Fermentation by Concorcium *Acetobacter-Saccharomyces*). Dibimbing oleh SUMINAR SETIATI ACHMADI dan NOVIK NURHIDAYAT.

Asam glukuronat merupakan asam organik yang berfungsi mendetoksifikasi racun dalam tubuh. Daun benalu teh diduga mengandung asam glukuronat karena dapat menangkal bisa ular. Pada penelitian ini daun benalu teh dimasukkan ke dalam sistem kombucha, yaitu sistem fermentasi ekstrak tanaman dengan menggunakan konsorsium *Acetobacter-Saccharomyces*. Keberadaan asam glukuronat dalam sistem ini masih perlu dibuktikan. Dalam penelitian ini, sistem kombucha diberi tiga perlakuan, yaitu ekstrak benalu; ekstrak benalu + gula; dan larutan gula (masing-masing dengan kontrol), dan dilakukan sampling pada masa inkubasi 0, 3, 6, 9, 12, dan 15 hari. Sampel dianalisis dengan kromatografi cair kinerja tinggi dan dilakukan uji antioksidan dengan metode Ruch yang dimodifikasi menggunakan spektrofotometer ultraviolet-tampak pada panjang gelombang 210 nm. Dilakukan pula ekstraksi secara kimia untuk memastikan bahwa asam glukuronat benar ada dalam daun benalu, bukan dari kerja mikroba.

Hasil penelitian menunjukkan adanya asam organik dalam ekstrak kasar daun benalu teh dalam metanol yaitu asam glukuronat, asam glukonat, asam laktat, asam sitrat, dan asam suksinat. Hasil analisis ekstrak kombucha menunjukkan asam glukuronat hampir selalu ada di setiap pengukuran. Pada hari ke-0 dan ke-3 kandungan asam glukuronat dalam sistem kombucha lebih rendah dari pada kontrol, pada hari ke-9 dan ke-12 kandungan asam glukuronat lebih tinggi dari kontrol, hal ini menunjukkan adanya penggunaan asam glukuronat untuk metabolisme mikroba yang nantinya akan menghasilkan kembali asam glukuronat.

Asam glukuronat dapat berfungsi sebagai antioksidan karena konsentrasi asam sebesar 0,001 M dapat menurunkan konsentrasi  $H_2O_2$  sebesar 0,28 M. Asam yang berfungsi sebagai antioksidan dalam sistem kombucha tidak hanya asam glukuronat, tetapi campuran kelima asam yang terdapat dalam ekstrak kasar daun benalu teh dalam metanol.

**ANTIOKSIDAN ASAM GLUKURONAT  
DALAM FERMENTASI DAUN BENALU  
OLEH KONSORSIUM *Actobacter-Saccharomyces***

**MEITA SUSMANDARI**

Skripsi  
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Sains  
pada  
Program Studi Kimia

**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
BOGOR  
2002**

Judul : Antioksidan Asam Glukuronat dalam Fermentasi Daun Benalu Teh oleh  
Konsorsium *Acetobacer-Saccharomyces*

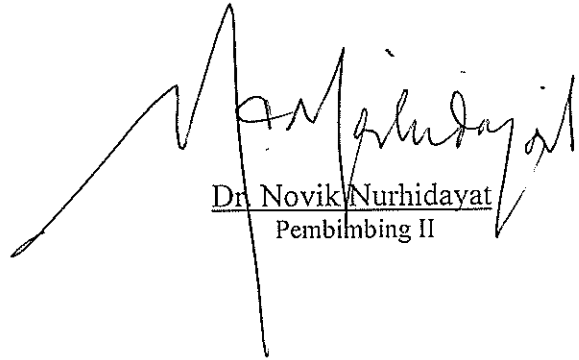
Nama : Meita Susmandari

NIM : G01497074

Menyetujui,

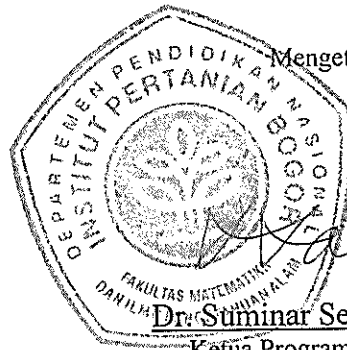


Dr. Suminar Setiati Achmadi  
Pembimbing I



Dr. Novik Nurhidayat  
Pembimbing II

Mengetahui,



Dr. Suminar Setiati Achmadi  
Ketua Program Studi Kimia

Tanggal lulus:

08 MAR 2002

## RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Jakarta pada tanggal 17 Mei 1979 sebagai anak ketiga dari empat bersaudara, anak pasangan Mas Sudiro Sukardi dan Sri Walujati.

Tahun 1997 penulis lulus dari SMA Negeri 68 Jakarta dan pada tahun yang sama masuk IPB melalui jalur UMPTN. Penulis memilih Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

Selama mengikuti perkuliahan penulis menjadi asisten mata kuliah Kimia Dasar pada tahun ajaran 1998/1999, serta mata kuliah Kimia Organik I dan II pada tahun ajaran 1999/2000.

## PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan dari bulan Maret sampai November 2001, di Laboratorium Balitbang Mikrobiologi, Puslitbang Biologi, LIPI Bogor dan Laboratorium Pusklat BATAN Jakarta, adalah asam organik, dengan judul Antioksidan Asam Glukuronat dalam Fermentasi Daun Benalu Teh oleh Konsorsium *Acetobacter-Saccharomyces*.

Terima kasih penulis ucapkan kepada berbagai pihak yang telah membantu penyelesaian karya ilmiah ini, antara lain Ibu Dr. Suminar S. Achmadi dan Bapak Dr. Novik Nurhidayat selaku pembimbing, serta Bapak Anis yang telah banyak memberikan saran. Di samping itu penghargaan diberikan kepada Ibu Yustina dan Bapak Sugino dari Badan Tenaga Atom Nasional beserta staf, teman seangkatan Dian, Merry, Erna, Ike, Inge, Lia, Beni dan Inop atas saran dan bantuannya selama pengumpulan data. Ungkapan terima kasih juga disampaikan kepada ayah, ibu, seluruh keluarga, dan Mas Budi atas segala doa dan kasih sayangnya.

Semoga karya ilmiah ini dapat bermanfaat.

Bogor, Desember 2001

*Meita Susmandari*

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
DAFTAR TABEL .....	vi
DAFTAR GAMBAR .....	vi
DAFTAR LAMPIRAN .....	vii
<b>PENDAHULUAN</b>	
Latar Belakang .....	1
Tujuan Penelitian .....	1
Hipotesis .....	1
<b>TINJAUAN PUSTAKA</b>	
Benalu Teh .....	2
Asam Glukuronat .....	2
Teh Kombuca .....	3
Koloni Kombuca .....	3
Kandungan Teh Kombuca .....	3
Antioksidan .....	4
Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) .....	4
<b>BAHAN DAN METODE</b>	
Bahan dan Alat .....	4
Metode Penelitian .....	4
<b>HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
Analisis Asam Glukuronat .....	5
Uji Kualitatif .....	7
Uji Kuantitatif .....	7
<b>KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
Kesimpulan .....	8
Saran .....	9
DAFTAR PUSTAKA .....	9
LAMPIRAN .....	11

## DAFTAR TABEL

	<b>Halaman</b>
1. Konsentrasi asam glukuronat ( $10^{-4}$ M) dalam sistem kombuca .....	5
2. Perkembangan asam glukuronat yang terbentuk dalam sistem kombuca dibanding kontrolnya (%) .....	6
3. Penambahan konsentrasi asam glukuronat (%) per tiga hari dalam sistem kombuca.....	7
4. Uji kualitatif asam glukuronat .....	7
5. Penurunan konsentrasi $H_2O_2$ (M) dalam sistem kombuca .....	7
6. Konsentrasi $H_2O_2$ (%) yang dapat diturunkan oleh sistem kombuca dibanding kontrolnya ..	7
7. Konsentrasi $H_2O_2$ (%) yang diturunkan per tiga hari oleh sistem kombuca.....	8
8. Konsentrasi $H_2O_2$ (M) yang dapat diturunkan oleh standar asam organik .....	8

## DAFTAR GAMBAR

	<b>Halaman</b>
1. Biosintesis asam glukuronat .....	2
2. Pola perkembangan konsentrasi asam glukuronat dalam sistem kombuca .....	6
3. Pola penurunan konsentrasi $H_2O_2$ dalam sistem kombuca .....	8



## DAFTAR LAMPIRAN

	<b>Halaman</b>
1. Diagram alir penelitian .....	12
2. Kontrol internal asam glukuronat dengan asam sitrat dalam ekstrak benalu teh .....	13
3. Kromatografi ekstrak benalu teh dalam metanol .....	14
4. Pengaruh perlakuan sistem kombuca terhadap pola asam glukuronat .....	15
5. Jalur asam glukuronat .....	16
6. Serapan standar H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> pada $\lambda$ 210 nm .....	17
7. Kurva standar H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> hasil pengukuran .....	17
8. Serapan H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> dalam sampel pada $\lambda$ 210 nm .....	18
9. Pengaruh perlakuan sistem kombuca terhadap konsentrasi H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> yang diturunkan .....	19
10. Serapan H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> dalam beberapa asam organik pada $\lambda$ 210 nm .....	20

## PENDAHULUAN

### Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang kaya akan keanekaragaman hayati, di antaranya keanekaragaman flora. Beberapa tanaman yang tumbuh di Indonesia mengandung senyawa aktif tertentu atau senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai obat. Benalu merupakan salah satu tanaman obat yang telah banyak digunakan dan telah terbukti khasiatnya. Benalu adalah tumbuhan hemiparasit atau setengah parasit karena mempunyai zat hijau daun (klorofil) yang digunakan untuk proses asimilasi dan hanya menghisap air dan zat organik maupun anorganik dari tanaman inangnya. Oleh karena tumbuh di pohon lain, benalu sering diberi nama tambahan sesuai nama tanaman inangnya, misalnya benalu teh pada tanaman teh.

Benalu teh *Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans. banyak digunakan oleh masyarakat sebagai obat malaria, memulihkan tenaga ibu yang baru melahirkan, menyembuhkan luka, bisul, menangkal akibat gigitan ular berbisa, mencegah proses oksidasi, bahkan dapat menyembuhkan kanker (Eisai Indonesia 1986 dalam Chozin *et al.* 1998). Sampai saat ini belum banyak penelitian mengenai senyawa aktif dalam benalu teh, di antaranya senyawa yang berkhasiat antitoksin dan antioksidan.

Asam organik adalah senyawa kimia yang mengandung gugus karboksil (R-COOH) dan umumnya larut air. Asam ini dapat berkonjugasi dengan senyawa toksik dan dapat membuatnya lebih larut air sehingga mudah dikeluarkan melalui urin (berfungsi antitoksin), misalnya saja asam asetat dan asam glukuronat (Dutton 1980 dalam Hoffmann 2001).

Asam glukuronat merupakan asam organik hasil metabolit sekunder yang dapat mengikat racun dan membuatnya tidak beracun (detoksin). Asam glukuronat diduga terdapat dalam benalu teh, karena berdasarkan salah satu fungsi benalu teh yang dapat menangkal akibat gigitan ular berbisa dan penelitian sebelumnya bahwa asam glukuronat terdapat dalam teh (Hoffmann 2001). Berdasar dugaan bahwa jika asam glukuronat terdapat dalam teh maka terdapat juga dalam benalu teh karena adanya penyerapan unsur hara benalu dari tanaman inangnya sehingga mempunyai kemiripan kandungan senyawa kimia. Benalu teh mengandung glikosida (Chairul *et al.* 1998) yang mungkin saja bagian gulanya berupa asam glukuronat.

Untuk mengetahui adanya asam glukuronat dilakukan ekstraksi kimia dan fermentasi dengan sistem kombuca. Hasil ekstraksi dan fermentasi diidentifikasi dengan menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dan diuji antioksidan dengan metode Ruch yang dimodifikasi.

Sistem kombuca adalah suatu sistem fermentasi dengan menggunakan mikroorganisme bakteri dan khamir yang tergabung dalam koloni kombuca. Gula dalam sistem tersebut digunakan sebagai sumber energi. Sistem ini telah dikenal lama, tetapi belum banyak yang diketahui dari sistem ini. Misalnya saja asam glukuronat yang dihasilkan ada yang mengasumsikan berasal dari gula atas kerja dari mikroba kombuca. Untuk mengetahuinya akan dilakukan sistem kombuca yang diberi perlakuan umum, tanpa gula, dan tanpa ekstrak daun benalu teh. Sebagai pembandingan bahwa asam glukuronat benar ada dan bukan dari aktivitas bakteri atau dari gula maka dilakukan ekstraksi secara kimia.

Uji antioksidan terhadap asam glukuronat dilakukan untuk mengetahui sifat pengikat racun seperti radikal bebas. Diperkirakan asam glukuronat dapat bereaksi dengan radikal bebas dan mencegah proses oksidasi jaringan tubuh sehingga berfungsi antioksidan. Untuk mengetahui fungsi antioksidan dilakukan uji awal dengan menggunakan bakteri yang mempunyai enzim katalase (pengurai hidrogen peroksida) dengan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), serta penetapan daya mengeliminasi  $H_2O_2$  dengan metode Ruch yang dimodifikasi. Uji awal yang dilakukan menunjukkan asam glukuronat dapat berfungsi sebagai antioksidan.

### Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan mengetahui kandungan asam organik khususnya asam glukuronat dalam benalu teh. Asam glukuronat akan diekstraksi secara kimia dan fermentasi dengan sistem kombuca, dan akan dianalisis dengan KCKT. Sebagai tambahan akan dilakukan uji antioksidan dari asam glukuronat untuk mengetahui salah satu fungsi biokimianya.

### Hipotesis

Di dalam tanaman teh terdapat asam organik, di antaranya asam glukuronat yang berfungsi sebagai antitoksin. Diduga asam glukuronat dapat bereaksi dengan radikal bebas yang merupakan racun oksidator kuat sehingga berfungsi antioksidan.

Benalu teh merupakan tanaman parasit yang menyerap unsur hara dari tanaman inang teh sehingga diduga dalam benalu teh juga terdapat asam glukuronat. Asam glukuronat tersebut dapat diperoleh secara fermentasi dengan sistem kombuca dan ekstraksi secara kimia.

## TINJAUAN PUSTAKA

### Benalu Teh

Benalu adalah nama kelompok tanaman yang tumbuh liar, melekat, dan parasit pada dahan pohon lain. Tanaman berupa perdu dengan bagian tanaman seperti pada umumnya tumbuhan, kecuali sistem perakarannya. Benalu yang ada di Indonesia termasuk dalam famili Loranthaceae. Benalu teh yang digunakan termasuk dalam spesies *Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans.

Air rebusan benalu teh dipercaya oleh masyarakat dapat menyembuhkan berbagai penyakit, di antaranya menangkal akibat gigitan ular berbisa (antitoksin) dan mencegah proses oksidasi (antioksidan). Sampai saat ini belum diketahui senyawa aktif apa saja yang berperan sebagai antioksidan dan antitoksin.

Hasil skrining fitokimia yang dilakukan Chairul *et al.* (1998) menunjukkan ekstrak batang benalu teh *S. atropurpurea* dalam metanol-kloroform (1:1) mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, glikosida, dan triterpena. Dari analisis kromatografi gas-spektrum massa (GC-MS) dapat diidentifikasi senyawa alkaloid indol, alkaloid piridina, alkaloid, alkaloid pirol, glikosida, terpena, lakton, dan alkohol. Beberapa jenis benalu teh seperti *Dendrophthoe pentandra* dan *Loranthus ferrugineus* Roxb. juga mengandung kuersitrin yang berfungsi sebagai antikanker.

Kandungan senyawa yang terdapat dalam benalu teh juga ditemukan dalam tanaman inangnya, contohnya senyawa korianin (senyawa seskuiiterpenlakton) yang ditemukan pada benalu *L. parasiticus* Merr., ditemukan pula pada tanaman inang *Coriana japonica* A.Gray. Hal ini menunjukkan adanya kesamaan dalam senyawaan yang dikandung karena sifat benalu yang menyerap unsur hara dari tanaman inangnya.

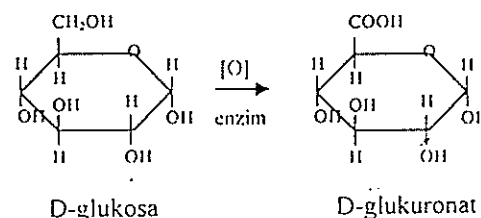
### Asam Glukuronat

Bentuk D-asam glukuronat tersebar luas pada tanaman, yaitu terdapat pada gom, getah lendir,

saponin, dan glikosida flavon. Glikosida merupakan bentuk gula yang terikat dengan aglikon. Gula yang mungkin berada dalam bentuk glikosida antara lain glukosa, galaktosa, asam glukuronat, dan galakturonat (Suradikusumah 1989). Pada hewan, asam glukuronat merupakan penyusun mukopolisakarida.

Asam glukuronat bersama-sama dengan gula lain dapat membentuk polimer seperti asam hialuronat (terdiri atas N-asetilglukosamin dan asam glukuronat) dan kondroitin (terdiri atas N-asetilgalaktosamin dan asam glukuronat) yang terdapat pada mamalia. Fraksi xilan tumbuhan dikotiledon juga mengandung rantai xiloglukan, terbesar diantara sisa asam 4-O-metil glukuronat (Suradikusumah, 1989).

Asam glukuronat merupakan asam organik hasil metabolit sekunder. Senyawa ini merupakan golongan asam uronat dan disintesis dalam tubuh secara enzimatis dengan mengoksidasi gugus alkohol (-CH<sub>2</sub>OH) pada ujung rantai tanpa menyebabkan teroksidasinya gugus aldehida. Asam glukuronat tidak disintesis secara komersial, asam disintesis di hati dalam jumlah besar untuk proses detoksifikasi dalam tubuh. Asam glukuronat banyak ditemukan dalam urin normal bersama-sama dengan fenol, kresol, dan indoksil (Budavari 1996). Proses sintesis asam glukuronat ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Biosintesis asam glukuronat

Asam glukuronat merupakan komponen penting dalam sistem kombuca karena fungsinya sebagai antitoksin. Komponen yang berhubungan dengan asam glukuronat adalah asam UDP (uridin difosfat)-glukuronat yang merupakan bentuk aktif atau koenzim dari asam glukuronat (Dutton 1980 dalam Hoffmann 2001).

Asam glukuronat telah ditemukan dalam sistem kombuca pada penelitian yang dilakukan di waktu lalu, tetapi asam glukuronat tidak terdeteksi pada penelitian yang dilakukan oleh Roussin (1996).

Kehadiran asam glukuronat dapat diketahui dengan adanya kehadiran senyawa lain seperti glukuronat-lakton dan asam UDP-glukuronat (Dutton 1980 dalam Hoffmann 2001).

### Teh Kombuca

Kombuca adalah minuman tradisional berupa teh fermentasi yang bermanfaat bagi kesehatan, di antaranya dapat menurunkan tekanan darah, menghilangkan radang sendi, meningkatkan sistem kekebalan tubuh, dan dapat menyembuhkan kanker (Bartholomew & Bartholomew tt). Pada awalnya kombuca hanya dikenal di Cina, Rusia, dan Jerman, tetapi sekarang minuman tersebut mulai populer di dunia karena manfaatnya bagi kesehatan dan pembuatannya yang mudah dan aman.

Teh kombuca mempunyai rasa yang asam dan sedikit manis seperti cuka buah. Teh kombuca dibuat dengan memasukkan daun teh ke dalam air dan ditambah gula sekitar 100 g/L (10%) kemudian dididihkan. Setelah suhu air teh sama dengan suhu ruangan, koloni kombuca dimasukkan dan teh diinkubasi selama 7-10 hari pada suhu ruang. Setelah gula mengalami fermentasi, teh kombuca siap dikonsumsi.

Tanaman yang dapat digunakan dalam sistem kombuca tidak hanya daun teh. Tanaman lain yang mempunyai khasiat obat dan dapat diminum juga dapat digunakan, misalnya saja daun kakao dan biji pinang. Pada penelitian ini, daun benalu teh akan dimasukkan ke dalam sistem kombuca.

### Koloni Kombuca

Koloni kombuca merupakan lapisan tipis berselulosa yang mengapung di bagian atas cairan. Koloni kombuca terdiri atas bakteri dan khamir yang bersimbiosis. Mikroorganisme yang digunakan ialah bakteri *Acetobacter xylinum* dan khamir *Saccharomyces* sp.

Bakteri *A. xylinum* merupakan bakteri penghasil selulosa yang termasuk dalam kelompok bakteri basili, Gram negatif, dan aerobik. Menurut Embuscado *et al.* (1994) *A. xylinum* merupakan organisme non-fotosintetik yang mendapatkan glukosa, gliserol, atau substrat organik lain dan mengubahnya menjadi selulosa murni.

Metode untuk mengisolasi *A. xylinum* tidak sulit, yaitu dengan menumbuhkannya pada medium cair yang ditambah gula dan diperkaya dengan sari buah

dan ekstrak khamir. Tanda awal pertumbuhan bakteri pada medium berupa timbulnya kekeruhan setelah inkubasi 24 jam pada suhu kamar yang menandakan pelikel selulosa mulai terbentuk. Terbentuknya lapisan selulosik di permukaan mulai dapat dilihat setelah dua hari bersamaan dengan terjadinya proses penjernihan cairan di bagian bawah. Jaringan halus dan transparan yang terbentuk membawa sebagian bakteri yang terperangkap di dalamnya (Octarina 1999).

*Acetobacter* mampu mengoksidasi beragam komponen organik menjadi asam organik dan produk oksidasi lainnya yang masih dapat dioksidasi lebih lanjut. Produk oksidasi yang umum di antaranya asam asetat dari etil alkohol, asam glukonat dan asam 5-ketoglukonat dari glukosa, dihidroksiaseton dari gliserol, dan sorbosa dari sorbitol. Glukosa juga digunakan oleh bakteri untuk mensintesis selulosa. Sintesis selulosa dari glukosa merupakan fungsi dari pasokan oksigen. Pada kultur yang tumbuh, pasokan oksigen di permukaan akan merangsang peningkatan massa sel dan enzim pembentuk selulosa, akibatnya akan meningkatkan produksi selulosa (Embuscado *et al.* 1994).

Khamir *Saccharomyces* sp. *Saccharomyces* bersifat aerobik karena membutuhkan oksigen untuk pertumbuhannya. *Saccharomyces* akan tumbuh lambat atau tidak sama sekali pada keadaan kurang oksigen (Cook 1958). Melalui fermentasi, khamir memecah gula menjadi glukosa dan fruktosa. Glukosa digunakan oleh khamir untuk menghasilkan etanol dan CO<sub>2</sub>.

### Kandungan Kombuca

Senyawa yang terdapat dalam teh kombuca antara lain asam asetat, asam glukonat, asam glukuronat, asam usnat, asam laktat, asam sitrat, asam malat, asam butirat, kobalamin (vitamin B12), niasin (vitamin B3), piridoksin (vitamin B6), riboflavin (vitamin B2), tiamin (vitamin B1), dan asam amino (Bartholomew & Bartholomew tt).

Roussin (1996) mengemukakan bahwa komponen utama dari fermentasi teh hitam adalah fruktosa, asam asetat, dan asam glukonat. Kandungan vitamin juga ada, hanya saja jumlahnya kurang mencukupi, selain itu kandungan asam glukuronat tidak terdeteksi oleh KCKT.

## Antioksidan

Suatu molekul dapat menjadi radikal bebas bila molekul tersebut mendapat atau kehilangan satu elektron (tidak berpasangan) yang sangat reaktif. Radikal ini dapat berlaku sebagai toksin dan mengoksidasi sel tubuh sehingga menyebabkan kerusakan jaringan atau sel tubuh.

Antioksidan adalah zat yang mudah teroksidasi sehingga dapat mencegah teroksidasinya sel tubuh. Sumber antioksidan di antaranya adalah senyawa polifenol, vitamin A, C, dan E. Mukopolisakarida dengan ukuran 600-1500 molekul sangat efektif sebagai antioksidan intraseluler dan penangkap radikal bebas, dibanding vitamin dan mineral yang hanya berfungsi di luar sel (Danhof 2000).

Sampai saat ini belum ada pustaka yang menunjukkan asam glukuronat dapat berfungsi sebagai antioksidan, namun uji awal yang dilakukan menunjukkan kemampuannya sebagai antioksidan. Adanya asam glukuronat dalam larutan peroksida dapat mengurangi gelembung udara yang dilepaskan oleh bakteri yang memiliki enzim katalase.

### Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

KCKT merupakan kromatografi cair yang dilakukan memakai fase diam yang terikat secara kimia pada penyangga halus yang distribusi ukurannya sempit (kolom) dan fase gerak yang dipaksa mengalir dengan laju terkendali memakai tekanan tinggi serta memiliki kemampuan pemisahan (resolusi) yang tinggi dari berbagai jenis sampel. Pemisahan yang terjadi berdasar pada perbedaan migrasi setiap komponen karena perbedaan sifat dari setiap komponen pada fase diam dan fase gerak. Pemisahan dengan kromatografi cair tidak dibatasi oleh kondisi sampel yang mudah menguap dan stabil pada suhu tinggi, sehingga dapat digunakan untuk memisahkan berbagai makromolekul, spesies ionik (seperti protein, asam amino, dan asam nukleat), polimer, dan produk alami yang labil seperti zat warna tanaman, senyawa lipid yang bersifat polar dan sebagainya.

Penentuan puncak asam glukuronat dilakukan dengan membandingkan waktu retensi sampel dengan standar asam glukuronat.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi sampel benalu teh kering yang diambil dari Perkebunan Teh dan Kina Gambung, isolat *Bacillus* sp., dapar fosfat salin pH 7,6, dapar fosfat pH 4,5, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%, akuades, sukrosa (gula) dan koloni kombuca sebagai starter. Alat-alat yang digunakan antara lain pH-meter, pompa vakum, pipet mikro, peralatan KCKT merk Jasco UV 975, kolom C-8, spektrofotometer UV-VIS DMS 80, aluminium foil, pelat kaca dan alat-alat gelas.

### Metode Penelitian

Diagram alir penelitian disajikan pada Lampiran I.

#### Ekstraksi dengan pelarut organik

Daun benalu teh sebanyak 10 gram digiling dan ditimbang. Kemudian sampel direndam (dimaserasi) dalam metanol selama 4 hari. Ekstrak kasar metanol disaring dan dianalisis dengan KCKT.

#### Fermentasi dengan sistem kombuca

**Persiapan pembuatan starter kombuca.** Starter koloni kombuca diinokulasikan pada 4,4 gram substrat daun teh, 100 gram sukrosa pada pH 5,0-5,5. Kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 20 hari. Pada saat 20 hari didapatkan biakan *Acetobacter-Saccharomyces* yang tejabak atau menempel pada rajutan polisakarida dan siap digunakan sebagai starter.

**Perlakuan sampel.** Sistem kombuca diberi tiga perlakuan, yaitu daun benalu teh dengan gula (perlakuan umum), daun benalu teh saja, dan gula saja yang masing-masing diberi kontrol (tanpa koloni) dan dilakukan duplo. Berikut ini adalah prosedur pembuatan sistem kombuca secara umum. Disiapkan daun benalu teh 4,4 gram dan gula 100 gram yang dididihkan selama 10 menit dalam 1 liter air. Setelah dingin diatur pH 5,0-5,5 dengan asam asetat. Larutan yang telah dibuat disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Larutan kemudian didinginkan pada suhu kamar, lalu diinokulasi dengan koloni stater, selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar. Pada hari inkubasi ke-0, 3, 6, 9, 12, dan 15 dilakukan sampling

sebanyak 5 ml dan disentrifus, lalu dianalisis dengan KCKT dan diuji antioksidannya.

**Analisis asam glukuronat.** Asam glukuronat dalam sampel sebanyak 20 µl dianalisis dengan KCKT menggunakan kolom C-8, eluen dapar fosfat pH 4,5 pada kecepatan alir 0,4 ml per menit, dan tekanan 35 kg/m<sup>2</sup>. Sebagai pembuktian dilakukan kontrol internal terhadap sampel yang disajikan dalam Lampiran 2.

Konsentrasi asam glukuronat dapat ditentukan dengan perhitungan sebagai berikut.

$$\text{Konsentrasi sampel} = \frac{\text{Area sampel}}{\text{Area standar}} \times \text{Konsentrasi standar}$$

Persen koreksi digunakan untuk mengetahui jumlah asam glukuronat yang ada akibat perlakuan sistem kombuca dengan perhitungan sebagai berikut.

$$\% \text{ koreksi} = \frac{\text{Perlakuan} - \text{Kontrol}}{\text{Kontrol}} \times 100\%$$

Untuk mengetahui penambahan asam glukuronat per tiga hari digunakan persen penambahan dengan rumus sebagai berikut.

$$\% \text{ penambahan} = \frac{[\text{hari } n+3] - [\text{hari } n]}{[\text{hari } n]} \times 100\%$$

#### Uji antioksidan

**Uji kualitatif.** Uji ini menggunakan larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% yang diteteskan pada *Bacillus* sp. Penambahan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> akan menimbulkan gelembung udara pada bakteri akibat adanya enzim katalase. Kemudian dilakukan penambahan larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%-asam glukuronat standar 0,1M dengan nisbah 1:1 dan 2:1. Gelembung yang terbentuk diamati berkurang atau tidak.

**Uji kuantitatif.** Larutan uji dengan konsentrasi tertentu dipipet 2,5 ml dan ditambah dengan larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 4M sebanyak 2,5 ml dalam dapar fosfat salin pH 7,4. Serapan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> diukur pada panjang gelombang 210 nm dengan pembanding larutan uji yang ditambahkan dapar fosfat salin tanpa larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Leswara & Katrin 1998).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Analisis Asam Glukuronat

Hasil analisis ekstrak kasar daun benalu teh dalam metanol diperlihatkan dalam Lampiran 3. Ekstrak kasar metanol mengandung beberapa asam organik, diantaranya asam glukuronat, asam glukonat, asam laktat, asam sitrat dan asam suksinat, sedangkan dua asam lainnya tidak diketahui karena keterbatasan standar asam yang tersedia. Adanya asam glukuronat dalam ekstrak kasar metanol menunjukkan bahwa asam glukuronat berada sebagai gula bebas dalam tumbuhan benalu teh (Suradikusumah 1989).

Pada perbanyakan koloni *Acetobacter-Saccharomyces* dalam ekstrak teh, koloni tipis mulai terbentuk pada hari ke-3 dan penebalannya berbanding lurus dengan waktu. Setelah ± 20 hari koloni siap digunakan untuk fermentasi daun benalu teh.

Hasil analisis asam glukuronat dapat dilihat pada Tabel 1 dan Lampiran 4.

Tabel 1. Konsentrasi asam glukuronat ( 10<sup>-4</sup> M) dalam sistem kombuca

Perlakuan	Hari ke					
	0	3	6	9	12	15
<b>Benalu</b>						
Kontrol	4,95	20,60	1,75	8,23	11,80	11,40
Kombuca	3,29	3,25	5,15	11,00	20,10	15,80
<b>Benalu+ gula</b>						
Kontrol	22,25	34,20	14,70	1,68	10,00	15,04
Kombuca	-	13,00	16,30	6,98	11,90	13,30
<b>Gula</b>						
Kontrol	1,19	10,82	1,58	4,16	4,06	-
Kombuca	1,16	9,14	2,85	5,99	3,88	-

Tanda - menunjukkan asam glukuronat tidak terdeteksi dan dianggap nol

Kandungan asam glukuronat dalam kontrol berubah-ubah mungkin karena perubahan kondisi selama masa inkubasi, misalnya terjadi proses pembusukan atau perubahan senyawa yang relatif tidak stabil (senyawa antara). Terlihat bahwa semakin lama waktu inkubasi semakin banyak jumlah asam glukuronat yang terbentuk, walaupun pada hari-hari tertentu mengalami penurunan. Oleh karena itu untuk mengetahui jumlah asam glukuronat yang terbentuk dalam sistem kombuca digunakan persen koreksi yang disajikan dalam Tabel 2.

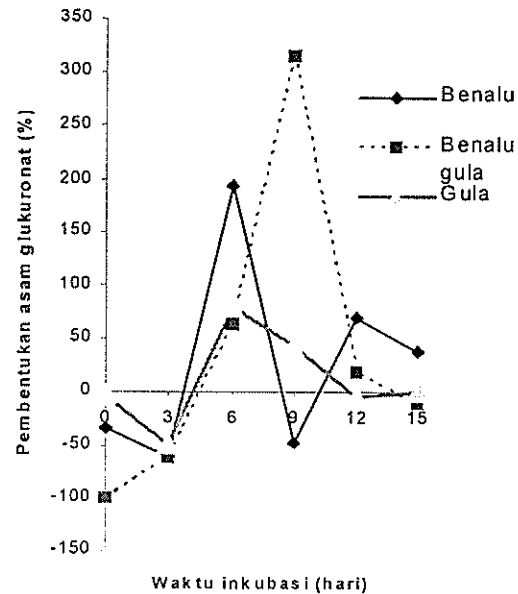
Pada Lampiran 4 terdapat pola kandungan asam glukuronat dari tiga perlakuan selama masa inkubasi (Tabel 1). Pada larutan gula, ada atau tidaknya

mikrob memberikan pola dan besar kandungan asam glukuronat yang cenderung sama, hal ini disebabkan tidak adanya senyawa lain selain gula yang dapat digunakan oleh mikrob dalam metabolisme sehingga menghasilkan asam glukuronat. Berbeda dengan ekstrak benalu, pola kandungan asam glukuronat yang tidak teratur pada kontrol menjadi teratur dengan adanya mikrob kombuca, yaitu meningkat setiap harinya dari hari ke-0 dan mencapai maksimum pada hari ke-12, dan menurun pada hari ke-15. Pada ekstrak benalu + gula ada atau tidaknya mikrob memberi pola yang cenderung sama tetapi berbeda dalam jumlah. Jumlah asam glukuronat dalam kontrol berbeda per tiga hari dalam jumlah besar sedangkan dengan mikrob kombuca kandungan asam glukuronat tidak berbeda terlalu jauh terutama antara hari ke-9 dan hari ke-12 (hari kombuca baik dikonsumsi), sehingga dalam penerapan untuk mendapatkan minuman kesehatan dengan jumlah asam glukuronat yang tinggi lebih baik menggunakan mikrob kombuca.

Tabel 2. Perkembangan asam glukuronat yang terbentuk dalam sistem kombuca dibanding kontrolnya (%)

Perlakuan	Hari ke					
	0	3	6	9	12	15
Benalu	-33.53	-60.51	194.28	-46.60	70.34	38.60
Benalu + Gula	-100.00	-61.99	63.00	315.48	19.05	-11.57
Gula	-2.52	-49.78	80.83	43.99	-4.43	0

Berdasarkan Tabel 2, pada hari ke-0 dan ke-3 belum terjadi peningkatan asam glukuronat, tetapi terjadi pemakaian asam glukuronat dalam ekstrak tanaman oleh mikrob kombuca. Mikrob menggunakan asam glukuronat untuk kebutuhan metabolisme yang nantinya akan menghasilkan asam glukuronat (Lampiran 5). Pada hari ke-6 mikrob mulai mensintesis asam glukuronat, terbukti dengan adanya kenaikan konsentrasi yang melebihi kontrol (Tabel 1). Pola pembentukan asam glukuronat akibat adanya sistem kombuca dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Pola perkembangan konsentrasi asam glukuronat dalam sistem kombuca

Pada Gambar 2 terlihat bahwa ekstrak benalu dan larutan gula membentuk asam glukuronat tertinggi pada hari ke-6, sedangkan ekstrak benalu + gula pada hari ke-9. Gula merupakan sumber energi sehingga mikrob kombuca dapat hidup dalam larutan gula dan menghasilkan asam glukuronat. Dalam ekstrak benalu teh tanpa gula mikrob kombuca tetap dapat hidup karena dalam ekstrak tersebut tersedia unsur-unsur yang dibutuhkan oleh mikrob seperti sumber karbon dan nitrogen, hanya saja unsur tersebut masih berada dalam bentuk kompleks sehingga harus dipecah terlebih dahulu sebelum digunakan, akibatnya kerja mikrob bertambah dan selulosa yang dihasilkan baru terbentuk pada hari ke-6. Di antara ketiga perlakuan, pembentukan asam glukuronat terbesar terdapat pada perlakuan benalu + gula, karena terjadi akumulasi asam glukuronat dari ekstrak benalu dan larutan gula.

Penambahan konsentrasi asam glukuronat per tiga hari dapat dilihat pada Tabel 3. Penambahan konsentrasi asam yang terjadi tidak merata, pada ekstrak benalu penambahan asam glukuronat terjadi antara hari ke-6 sampai hari ke-12, pada ekstrak benalu + gula antara hari ke-12 sampai hari ke-15, dan pada larutan gula pada hari ke-3 dan hari ke-6. Penambahan konsentrasi asam yang tidak merata

mungkin disebabkan oleh koloni kombuca yang tidak sama takarannya sehingga jumlah mikroba yang bekerja juga tidak sama dan menghasilkan konsentrasi asam yang berbeda.

Tabel 3. Penambahan konsentrasi asam glukuronat (%) per tiga hari dalam sistem kombuca

Perlakuan	Hari ke				
	0-3	3-6	6-9	9-12	12-15
<b>Benalu</b>					
Kontrol	316.16	-91.50	370.29	43.38	-3.39
Kombuca	-1.21	58.46	113.59	82.73	-21.39
<b>Benalu+ gula</b>					
Kontrol	53.71	-57.02	-88.57	495.24	50.40
Kombuca	-	25.38	-57.18	70.49	11.76
<b>Gula</b>					
Kontrol	809.24	-85.40	163.29	-2.40	-100
Kombuca	687.93	-68.82	110.18	-35.23	-100

Sistem kombuca adalah sistem tertutup. Pada kondisi awal terdapat asam glukuronat pada ekstrak benalu dan larutan gula atau gabungan dari keduanya. Dalam koloni stater juga terdapat asam glukuronat. Sebagian asam glukuronat yang tersedia digunakan oleh mikroba untuk metabolisme yang nantinya dihasilkan kembali asam glukuronat (Lampiran 5). Asam glukuronat yang dihasilkan suatu saat digunakan kembali oleh mikroba kombuca untuk metabolisme dan jumlah yang digunakan tidak sama tergantung pada jumlah mikroba yang tersedia. Akibatnya metabolisme mikroba terjadi penurunan dan peningkatan asam glukuronat selama masa inkubasi.

#### Uji Kualitatif Antioksidan

Uji kualitatif dilakukan dengan menggunakan *Bacillus* sp. yang diberi  $H_2O_2$ . Adanya enzim katalase pada bakteri dapat menguraikan  $H_2O_2$  menjadi gelembung udara. Hasil uji terlihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Uji kualitatif asam glukuronat

	$H_2O_2$ : Asam glukuronat		
	1 : 0	1 : 1	2 : 1
Gelembung udara yang terbentuk	++++	++	++

Tanda + menunjukkan gelembung udara yang terbentuk.

Pada nisbah  $H_2O_2$  : asam glukuronat 1 : 1 gelembung udara yang terbentuk sedikit menandakan  $H_2O_2$  yang ada berkurang karena ada sebagian yang bereaksi dengan asam glukuronat. Begitu pula pada nisbah 2 : 1,  $H_2O_2$  yang diuraikan oleh bakteri

menjadi gelembung udara mempunyai jumlah yang relatif sama dengan nisbah 1 : 1, padahal jumlah  $H_2O_2$  yang dimasukkan lebih banyak dua kali lipatnya. Hal ini menunjukkan asam glukuronat dapat berfungsi sebagai antioksidan.

#### Uji Kuantitatif Antioksidan

Uji dilakukan terhadap ekstrak daun benalu teh yang ditambahkan  $H_2O_2$  4 M dengan nisbah 1 : 1. Serapan standar  $H_2O_2$  dalam berbagai konsentrasi disajikan dalam Lampiran 6 dan pembuatan kurva standar pada Lampiran 7 menghasilkan persamaan  $Y = 1,05 \cdot 10^{-4} + 100,80 X$  dengan  $r = 99,90\%$  dimana Y adalah nilai serapan pada 210 nm dan X adalah konsentrasi  $H_2O_2$  dalam molar. Hasil pengukuran serapan  $H_2O_2$  yang tersisa setelah ditambahkan ekstrak disajikan pada Lampiran 8. Konsentrasi  $H_2O_2$  yang diturunkan oleh ekstrak pada setiap waktu inkubasi dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Penurunan konsentrasi  $H_2O_2$  (M) oleh sistem kombuca

Perlakuan	Hari ke					
	0	3	6	9	12	15
<b>Benalu</b>						
Kontrol	0.35	0.30	0.21	0.13	0.27	0.20
Kombuca	0.27	0.41	0.31	0.31	0.37	0.18
<b>Benalu+ gula</b>						
Kontrol	0.50	0.42	0.37	0.57	0.15	0.20
Kombuca	0.27	0.34	0.40	0.45	0.29	0.26
<b>Gula</b>						
Kontrol	0.37	0.12	0.26	0.22	0.28	0.47
Kombuca	0.47	0.30	0.18	0.28	0.35	0.26

Untuk mengetahui peranan sistem kombuca terhadap penurunan konsentrasi  $H_2O_2$  digunakan persen koreksi yang disajikan pada Tabel 6 dan pola penurunannya pada Gambar 3.

Tabel 6. Konsentrasi  $H_2O_2$  (%) yang dapat diturunkan oleh sistem kombuca dibanding kontrolnya.

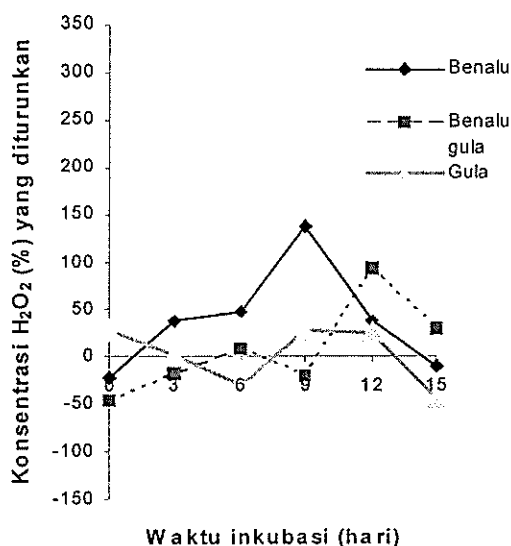
Perlakuan	Hari ke					
	0	3	6	9	12	15
Benalu	-22.86	36.67	47.62	138.46	37.04	-10.00
Benalu + Gula	-46.00	-19.05	8.11	-21.05	93.33	30.00
Gula	27.02	1.50	-30.77	27.27	25.00	-44.68

Adanya sistem kombuca dalam ekstrak benalu meningkatkan daya antioksidan ekstrak tersebut hingga 138% dengan penurunan konsentrasi  $H_2O_2$  berkisar antara 0,18-0,41 M. Penurunan konsentrasi  $H_2O_2$  pada ekstrak benalu mengalami peningkatan pada masa inkubasi 3-12 hari.



Ekstrak benalu + gula pada hari ke-12 dapat menurunkan  $H_2O_2$  sebesar 93,33%. Konsentrasi  $H_2O_2$  yang diturunkan pada masa inkubasi berkisar antara 0,27-0,45M, relatif lebih tinggi dibanding ekstrak benalu karena adanya penambahan daya antioksidan dari gula.

Penurunan konsentrasi  $H_2O_2$  oleh ekstrak gula relatif sama dengan ekstrak benalu dan ekstrak benalu + gula, yaitu antara 0,18-0,47 M, hal ini disebabkan oleh adanya glukosa dalam gula yang dirubah oleh mikroba menjadi senyawa lain atau derivat gula (asam glukuronat) yang dapat berfungsi sebagai antioksidan.



Gambar 3. Pola penurunan Konsentrasi  $H_2O_2$  dalam sistem kombuca.

Dari Gambar 3 terlihat ekstrak benalu dalam sistem kombuca lebih berdaya antioksidan dibanding dengan ekstrak benalu + gula dan larutan gula.

Penurunan konsentrasi  $H_2O_2$  per tiga hari akibat adanya sistem kombuca disajikan dalam Tabel 7.

Tabel 7. Pengaruh sistem kombuca terhadap penurunan konsentrasi  $H_2O_2$  (%) per tiga hari

Perlakuan	Hari ke				
	0-3	3-6	6-9	9-12	12-15
<b>Benalu</b>					
Kontrol	-14.28	-30.00	-38.10	107.69	-25.93
Kombuca	51.85	-24.39	0	19.35	-51.35
<b>Benalu+ gula</b>					
Kontrol	-16.00	-11.90	54.05	-73.68	33.33
Kombuca	25.93	17.65	12.50	-35.56	-10.34
<b>Gula</b>					
Kontrol	-67.57	116.67	-15.38	27.27	67.86
Kombuca	-36.17	-40.00	55.56	25.00	-25.72

Pada Tabel 7 terlihat pada hari ke-3 terjadi kenaikan daya antioksidan ekstrak benalu dan benalu + gula yang cukup besar. Adapun daya antioksidan larutan gula meningkat pada hari ke-9.

Bila Gambar 2 dan Gambar 3 dibandingkan terlihat pola pembentukan asam glukuronat berbeda dengan penurunan konsentrasi  $H_2O_2$ . Secara umum pola pembentukan asam glukuronat cenderung menurun pada hari ke-3 dan meningkat pada hari ke-6 dan menurun kembali pada masa inkubasi selanjutnya. Berbeda dengan pola penurunan  $H_2O_2$  yang cenderung meningkat dari hari ke-0 hingga hari ke-9 atau ke-12 dan menurun pada hari ke-15. Hal ini menunjukkan ada asam lain yang berperan sebagai antioksidan selain asam glukuronat.

Di dalam ekstrak daun benalu teh terdapat bermacam-macam asam organik sehingga daya antioksidan yang terukur dalam ekstrak bukanlah berasal dari asam glukuronat, tetapi dari campuran asam.

Hasil uji masing-masing standar asam organik yang terkandung dalam ekstrak benalu terlihat pada Tabel 8 dan serapannya pada Lampiran 10.

Tabel 8. Konsentrasi  $H_2O_2$  (M) yang dapat diturunkan oleh standar asam organik

Standar asam	Konsentrasi asam (M)	Penurunan konsentrasi $H_2O_2$
Asam glukuronat	0,0010	0,27
Asam glukonat	0,0051	0,30
Asam laktat	0,0555	0,40
Asam suksinat	0,0847	0,31
Asam sitrat	0,0676	0,17

Standar asam glukuronat sebesar 0,001M dapat menurunkan konsentrasi hingga 0,28 M, tetapi gabungan asam dalam ekstrak yang mengandung asam glukuronat 0,001 M hanya mampu menurunkan  $\pm 0,30$  M saja padahal banyak asam yang berpotensi antioksidan di dalamnya. Hal ini mungkin disebabkan oleh keadaan asam dalam ekstrak berupa campuran dengan senyawa lain yang memungkinkan adanya efek sinergis sehingga mempengaruhi daya antioksidan kemungkinan lain ialah konsentrasi asam glukuronat yang tidak sama pada waktu pengukuran antioksidan dengan yang tertera, karena kondisi asam yang selalu berubah-ubah.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Hasil analisis menunjukkan ekstrak metanol daun benalu teh mengandung asam glukuronat, asam laktat, asam suksinat, asam sitrat, dan asam glukonat. Asam glukuronat dapat diperoleh secara ekstraksi kimia dan fermentasi dengan kerja mikroba *Acetobacter-Saccharomyces*. Asam glukuronat dalam sistem kombucha cenderung meningkat antara hari ke-6 sampai hari ke-12 dibanding kontrol.

Uji aktivitas menunjukkan asam glukuronat dapat berfungsi sebagai antioksidan. Pada konsentrasi yang rendah 0,001 M dapat menurunkan konsentrasi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sebesar 0,28 M. Asam yang berperan dalam menurunkan konsentrasi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dalam sistem kombucha tidak hanya asam glukuronat tetapi semua asam yang terdapat dalam ekstrak.

### Saran

Untuk penelitian selanjutnya diperlukan teknik sampling yang lebih teliti dan standar asam yang lebih banyak. Dalam mengukur konsentrasi asam glukuronat dan aktivitas antioksidan sebaiknya dilakukan pada hari yang sama, kemudian ukuran koloni starter yang dimasukkan ke dalam sistem sebaiknya mempunyai luas dan tebal yang sama.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bartholomew, A. & M. Bartholomew. tt. *Kombucha Tea Therapy*. <http://www.positivehealth.com/permit/Articles/Nutrition/Kombucha.htm>. Februari 2001.
- Budavari, S. (penyunting). 1996. *The Merck Index*. Merck, New York.
- Chairul, M. Erlinda, S. Handono & S.M. Chairul. 1998. Skrining fitokimia dan analisis komponen kimia ekstrak batang benalu teh *Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia* 4:5-8.
- Chozin, A., B. Wahjoedi & Pudjiastuti. 1998. Informasi penelitian botani dan fitokimia tanaman benalu. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia* 4:1-2.
- Cook, A.H. 1958. *The Chemistry and Biology of Yeast*. Academic Press Publishers, New York.
- Danhof, I. 2000. *Fundamental Healing Properties of Aloe Vera Mucopolysaccharides* <http://www.wholeleaf.com/aloeverainfo/aloeveramucopoly saccharides.html>. Mei 2001.
- Embuscado, M.E., J.S. Marks & J.N. Miller. 1994. Bacterial cellulose, factor affecting the production of cellulose by *A. xylinum*. *Food Hydrocolloids* 8(5): 407-418.
- Greenwalt, C.J., R.A. Ledford & K.H. Steinkraus. 2000. *Determination and Characterization of the Anti-microbial Activity of the Fermented Tea Kombucha*. <http://persweb.direct.ca./chaugen/antibiotik.html>. Februari 2001.
- Gunther, F. 1996. *The Kombucha Journal*. <http://www.kombu.de/val-gwf.htm>. Januari 2001.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia* Jilid 3. Yayasan Sarana Waru Jaya, Jakarta
- Hoffmann, N. 2001. *The Ubiquitous Co-enzyme UDPGlucuronic Acid Detoxifying Agent in Kombucha Tea*. [http://www.bluemarble.de/Norbert/kombucha/Glucuron/body\\_glucuron.htm](http://www.bluemarble.de/Norbert/kombucha/Glucuron/body_glucuron.htm). Januari 2001.
- Kardono, L.B.G. 1998. Beberapa senyawa terisolasi dari benalu teh *Scurrula parasitica* L. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia* 4:16-18.
- Leswara, N.D. & Katrin. 1998. Perbandingan daya antioksidan beberapa jenis benalu menggunakan metode spektroskopi. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia* 4:10-12.
- Octarina, Z. R. 1999. Identifikasi isolat *Acetobacter* sp. Lokal dan uji kemampuannya dalam memproduksi selulosa pada medium HS (Hestrin dan Schramm) dan modifikasinya. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian IPB, Bogor.
- Roussin, M.R. 1996. *The Myth About Glucuronic Acid*. <http://www.geocities.com/mikeroussin/myths/ga.htm>. Mei 2001.

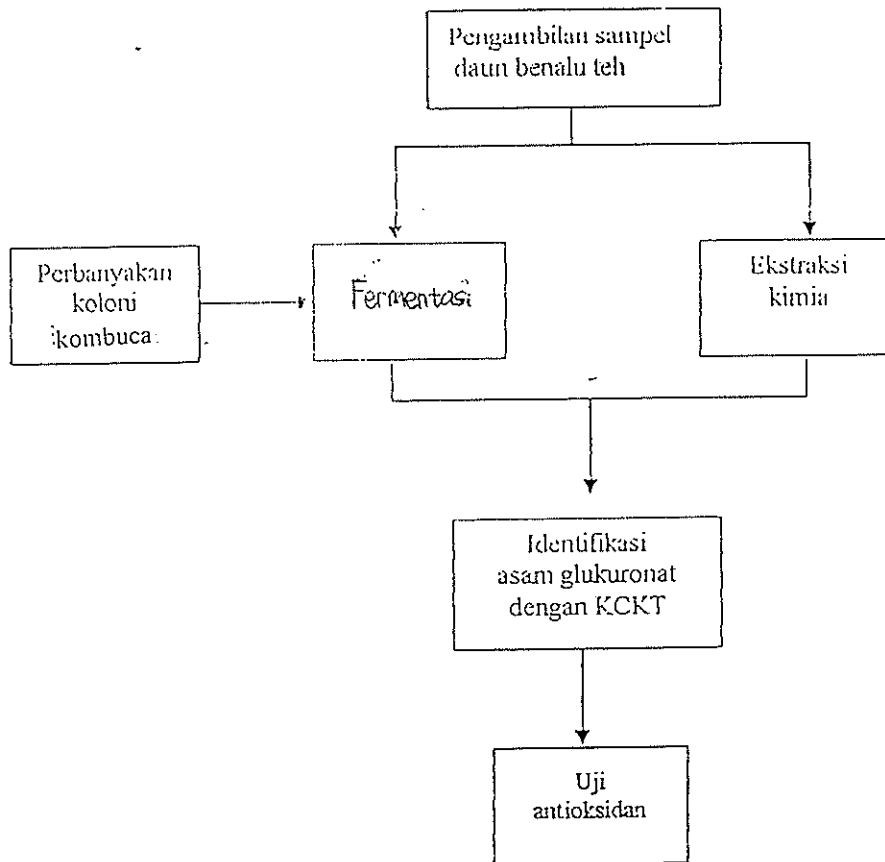
**Suradikusumah, E.** 1989. *Kimia Tumbuhan*. PAU  
IPB, Bogor.

**Synder, L.R., & J.J. Kirkland.** 1979. *Introduction  
to Modern Liquid Chromatography*. Edisi kedua.  
John Wiley, Toronto.

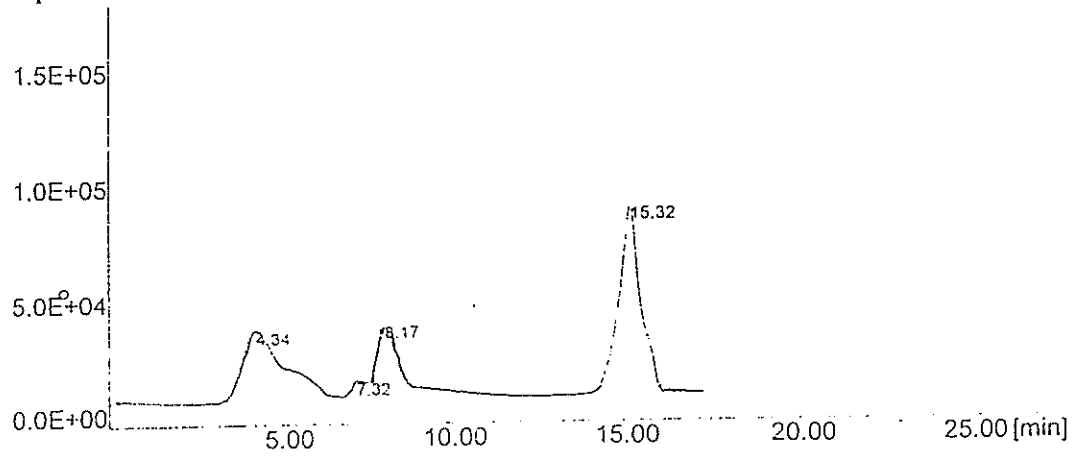
## LAMPIRAN

Lampiran 1

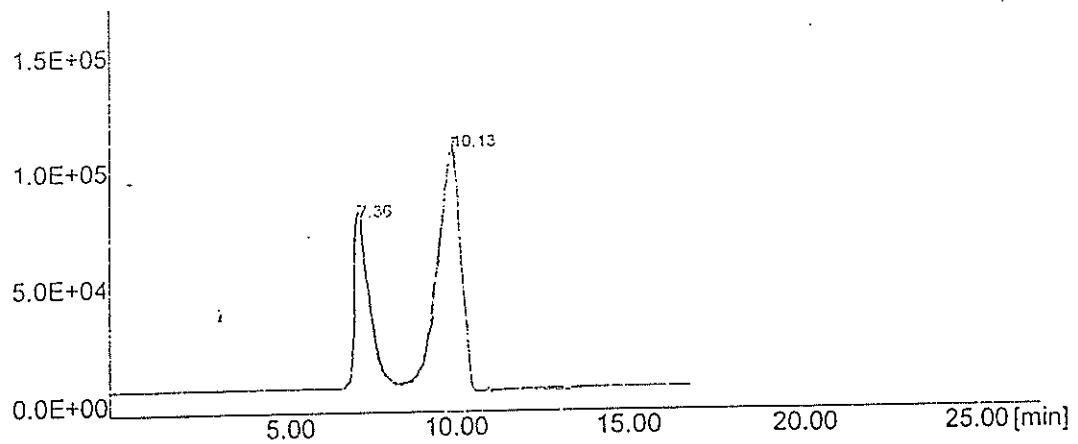
## DIAGRAM ALIR PENELITIAN



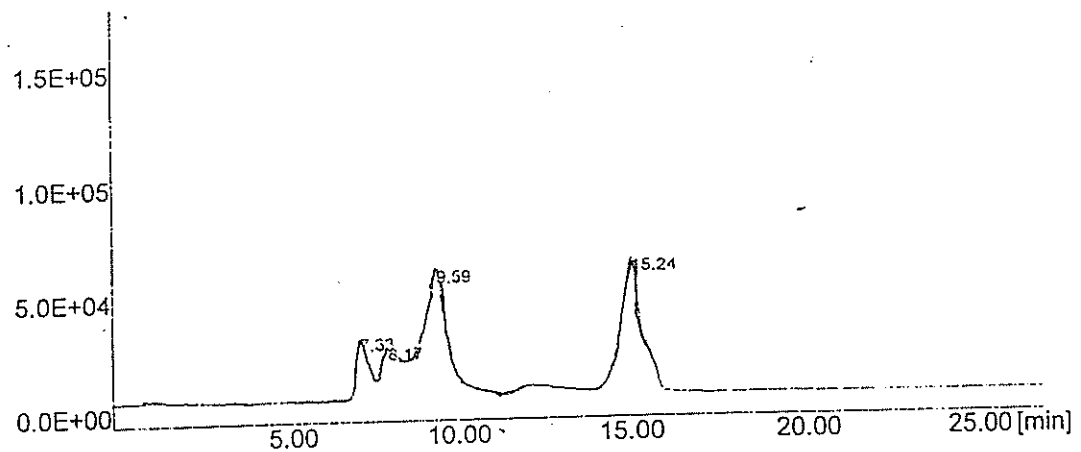
Lampiran 2 Kontrol internal asam glukuronat dengan asam sitrat dalam ekstrak benalu teh



Ekstrak benalu tanpa campuran standar

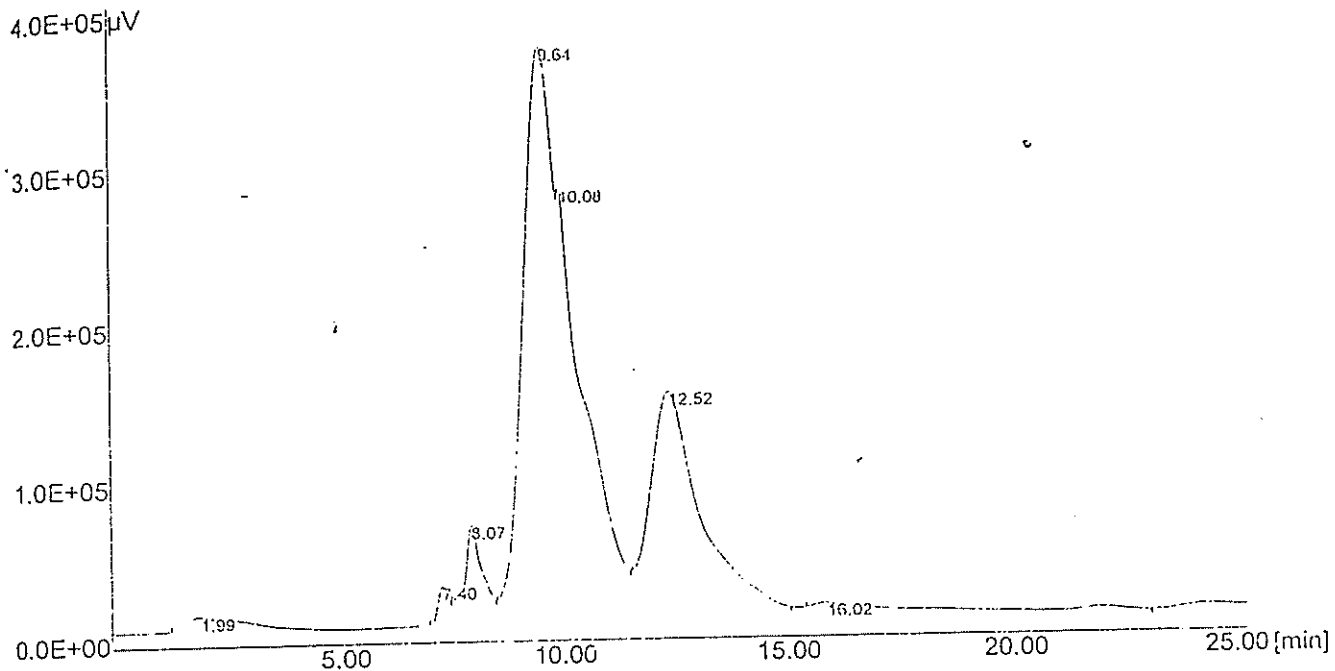


Campuran standar asam glukuronat (tr = 7,36) dan asam sitrat (tr = 10,13) dalam nisbah 1 : 1



Ekstrak benalu setelah dicampur standar

Lampiran 3. Kromatogram ekstrak benalu teh dalam metanol



File name : PIYU\_035.CH1 User : META Curr. Date : 30-Oct-01 19:19:12

Acqu. Date : 26-Oct-01 16:21:12

Info :

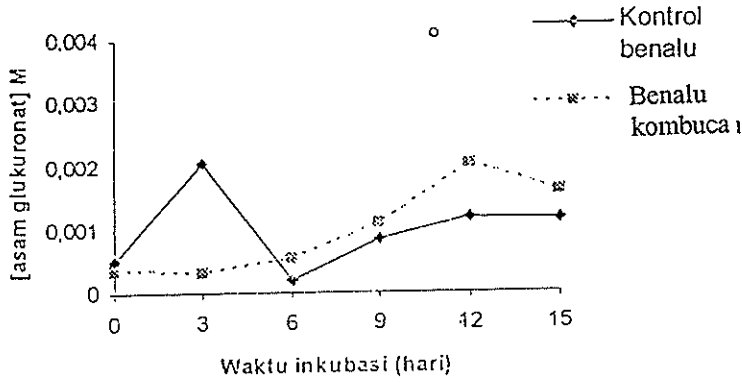
Vial # = 1 Rack # = 1

Control Method : 5004

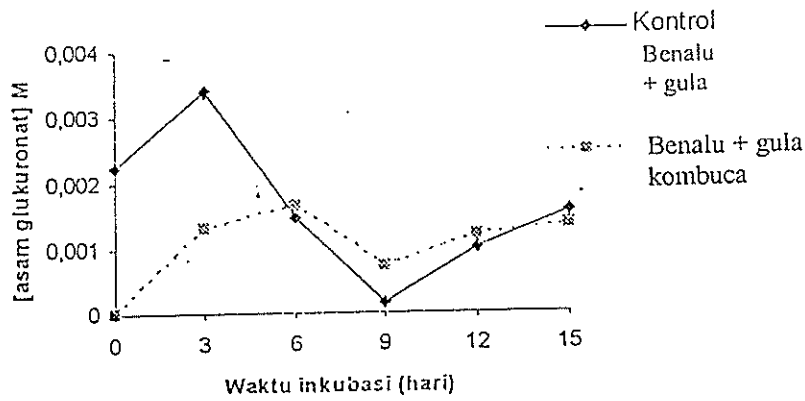
#	Name	Rt	Area	Quantity
1	Unknown	1.99	408940.500	0.000
2	Asam glukuro	7.40	443771.000	0.000
3	Asam glukona	8.07	2019838.000	0.000
4	Asam sitrat	9.64	17291412.000	0.000
5	Asam laktat	10.08	12177921.500	0.000
6	Asam suksina	12.52	12567153.000	0.000
7	Unknown	16.02	2838169.000	0.000

Total Area of Peak = 47747205.00

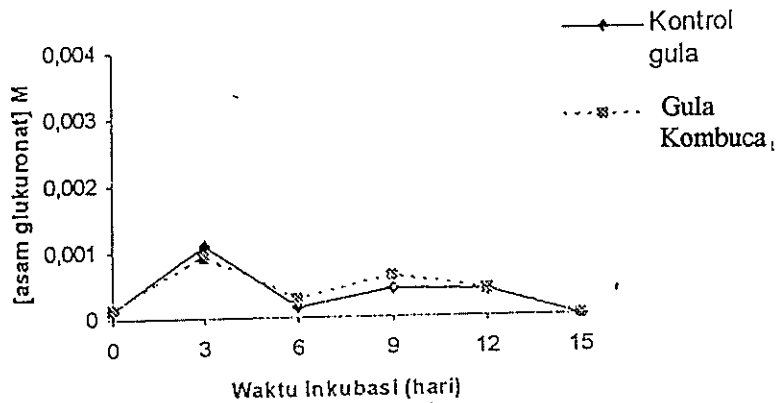
Lampiran 4. Pengaruh perlakuan sistem kumbuca terhadap pola asam glukuronat



Pengaruh perlakuan sistem kumbuca terhadap pola asam glukuronat dalam ekstrak benalu teh

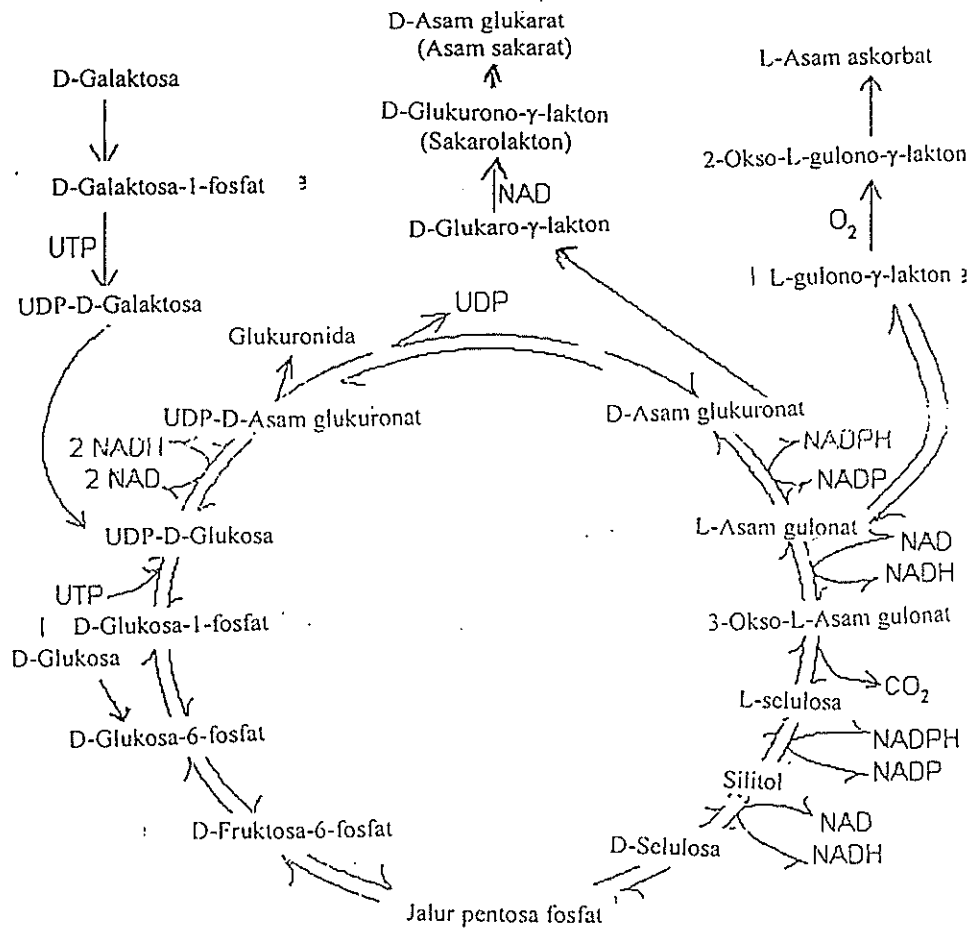


Pengaruh perlakuan sistem kumbuca terhadap pola asam glukuronat dalam ekstrak benalu + gula



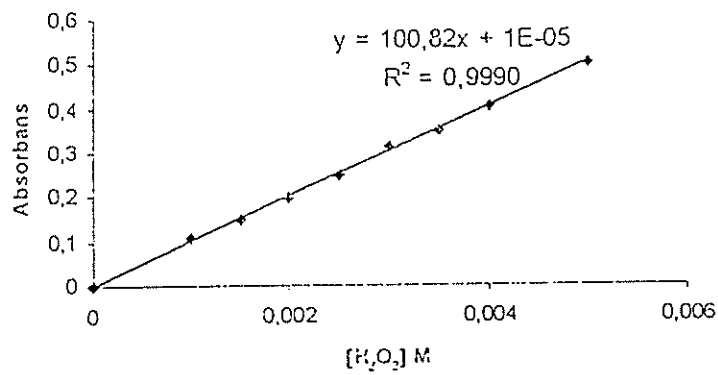


## Lampiran 5. Jalur asam glukuronat



Lampiran 6. Serapan Standar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pada  $\lambda$  210 nm

Konsentrasi H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (M)	Absorbans
0,0000	0,000
0,0010	0,106
0,0015	0,147
0,0020	0,197
0,0025	0,247
0,0030	0,314
0,0035	0,351
0,0040	0,405
0,0050	0,502

Lampiran 7. Kurva standar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> hasil pengukuran

Lampiran 8. Serapan  $H_2O_2$  dalam sampel pada  $\lambda$  210 nm

Hari	0		3		6		9		12		15	
Sampel	fp	A	fp	A	fp	A	fp	A	fp	A	fp	A
Benalu												
KBo	10	0,591	10	0,673	10	0,675	10	0,627	10	0,660	10	0,646
KBp	500	0,346	500	0,355	500	0,375	500	0,390	500	0,362	500	0,377
B1o	10	0,548	10	0,493	10	0,508	10	0,475	10	0,500	10	0,785
B1p	500	0,392	500	0,318	500	0,328	500	0,355	500	0,344	500	0,380
B2o	10	0,387	10	0,525	10	0,427	10	0,300	10	0,377	10	0,310
B2p	500	0,325	500	0,343	500	0,371	500	0,345	500	0,332	500	0,375
Benalu gula												
KBo	10	0,394	10	0,397	10	0,503	10	0,525	10	0,541	10	0,728
KBGp	500	0,311	500	0,336	500	0,383	500	0,400	500	0,331	500	0,377
BG1o	10	0,505	10	0,347	10	0,483	10	0,540	10	0,682	10	0,796
BG1p	500	0,398	500	0,341	500	0,327	500	0,353	500	0,372	500	0,343
BG2o	10	0,679	10	0,477	10	0,627	10	0,640	10	0,480	10	0,737
BG2p	500	0,342	500	0,344	500	0,339	500	0,298	500	0,340	500	0,390
Gula												
KGo	5	0,771	10	0,344	10	0,806	10	0,541	10	0,507	10	0,786
KGp	500	0,337	500	0,387	500	0,366	500	0,370	500	0,357	500	0,322
G1o	5	0,707	10	0,417	10	0,736	10	0,707	10	0,715	10	0,800
G1p	500	0,325	500	0,314	500	0,366	500	0,354	500	0,340	500	0,366
G2o	5	0,548	10	0,347	10	0,845	10	0,891	10	0,847	10	0,505
G2p	500	0,667	500	0,387	500	0,400	500	0,375	500	0,361	500	0,376

Keterangan : K :- kontrol (tanpa kombucha)

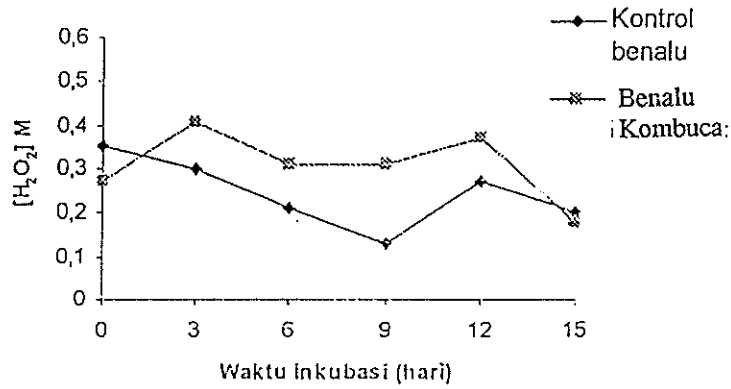
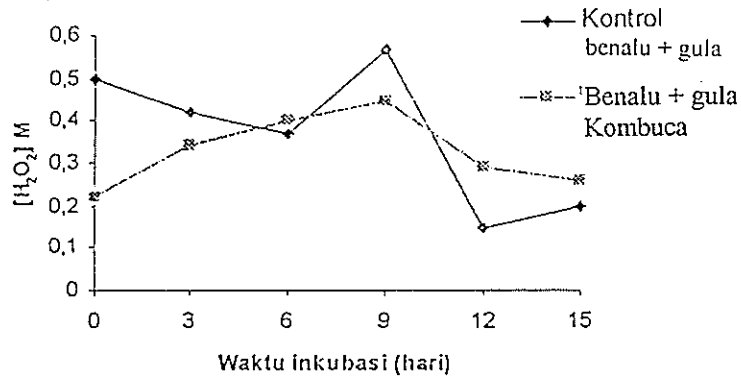
B = benalu teh

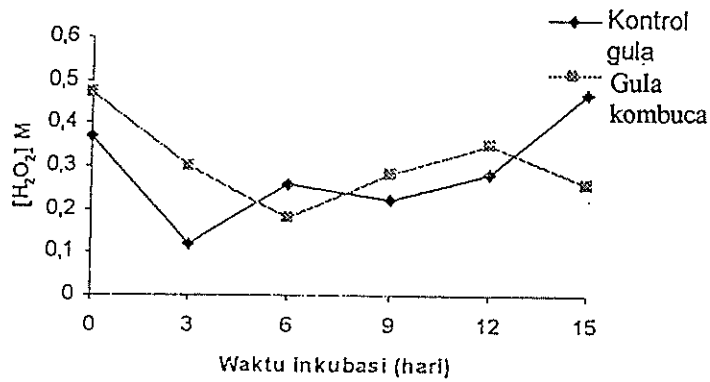
G = gula

1/2 = ulangan

o = serapan awal (blanko)

p = serapan akhir setelah ditambahkan  $H_2O_2$  4 M

Lampiran 9. Pengaruh perlakuan sistem kombuca terhadap konsentrasi  $H_2O_2$  yang diturunkanPengaruh perlakuan sistem kombuca terhadap konsentrasi  $H_2O_2$  yang diturunkan dalam ekstrak benaluPengaruh perlakuan sistem kombuca terhadap konsentrasi  $H_2O_2$  yang diturunkan dalam ekstrak benalu + gula



Pengaruh perlakuan sistem kombuca terhadap konsentrasi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yang diturunkan dalam ekstrak gula

Lampiran 10. Serapan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dalam beberapa asam organik pada λ 210 nm

	Asam glukuronat		Asam glukonat		Asam laktat		Asam suksinat		Asam sitrat	
	fp	A	fp	A	fp	A	fp	A	fp	A
So	2	0,310	-	0,18	2	0,468	10	0,378	10	0,753
Sp	500	0,348	500	0,345	500	0,332	500	0,348	500	0,383

Keterangan : So = serapan awal (blanko)

Sp = serapan akhir setelah ditambahkan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 4 M

