I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Teh ialah salah satu jenis minuman yang kerap dikonsumsi oleh masyarakat di seluruh dunia. Teh telah menjadi minuman yang kaya akan manfaat bagi kesehatan, terutama berkat kandungan senyawa polifenol, flavonoid, katekin, dan tanin yang bersifat antioksidan. Tanaman teh (*Camellia sinensis*) terdiri atas beberapa jenis, di antaranya teh putih, teh hijau, teh oolong, serta teh hitam. Tiap jenis teh mempunyai profil antioksidan yang berbeda-beda, dengan kandungan kafein terbanyak ada pada teh hitam. Seluruh jenis teh diketahui kaya akan senyawa antioksidan, seperti polifenol, yang berguna dalam menjaga tubuh dari radikal bebas serta membantu menurunkan risiko berbagai penyakit, seperti alzheimer, diabetes, stroke, hipertensi, dan obesitas. Selain itu, teh juga memiliki aktivitas antibakteri, antikanker, serta bermanfaat dalam perawatan kulit sebagai anti-aging (Putri *et al*., 2024).

Di antara berbagai jenis teh, teh hitam ialah salah satu jenis teh dengan jumlah produksi terbesar di dunia. Sebanyak 75% produksi teh dunia didominasi oleh teh hitam, yang disebabkan oleh keberadaannya yang tinggi sekaligus proses pengolahannya yang relatif sederhana. Teh hitam merupakan produk olahan daun teh yang diproses melalui tahap fermentasi. Teh hitam mengandung beragam senyawa bioaktif, termasuk alkaloid, asam amino, polifenol, pigmen, polisakarida, dan senyawa volatil.

Mengkonsumsi teh hitam memiliki berbagai manfaat kesehatan, seperti aktivitas antioksidan, anti-obesitas, anti-diabetes, anti-kanker, pelindung kardiovaskuler (Lin, *et al*., 2021). Penelitian ini menggunakan teh hitam Tombo. Teh hitam Tombo merupakan produk teh yang berasal dari Desa Tombo, Kecamatan Bandar, Kabupaten Batang, Jawa Tengah. Proses pengolahan teh hitam Tombo masih menggunakan alat tradisional berbahan tembikar atau tanah liat yang telah diwariskan secara turun-temurun dan tetap dipertahankan hingga kini. Alat berbahan tembikar ini bersifat semi-manual dan menggunakan kayu bakar agar seluruh proses berlangsung secara alami. Fungsinya adalah untuk mengeringkan daun teh, sehingga aroma dan kualitas teh tetap terjaga dengan baik.

Proses fermentasi teh dilakukan melalui pemaparan daun teh terhadap udara terbuka sehingga terjadi proses oksidasi pada daun. Pada pengolahan teh hitam, tahap fermentasi berlangsung lebih lama dibanding jenis teh lainnya, sehingga menghasilkan warna yang lebih gelap serta cita rasa pahit saat diseduh (Rohdiana *et al*., 2015). Teh hitam diketahui mempunyai kandungan senyawa antioksidan, seperti flavonoid serta fenolik. Selain memberikan manfaat bagi kesehatan tubuh, teh hitam juga umum dikonsumsi dalam bentuk seduhan yang berasal dari hasil pengolahan pucuk daun teh (*Camellia sinensis*) (Suseno *et al.,* 2023).

Fermentasi pada teh bukan hanya proses biokimia biasa, tetapi melibatkan komunitas mikroba yang kompleks. Komunitas mikroba seperti bakteri dan khamir yang tidak hanya memengaruhi cita rasa dan aroma,

tetapi juga memodifikasi profil senyawa bioaktif seperti fenolat dan flavonoid melalui metabolisme sekunder. Fermentasi teh memanfaatkan sinergi mikorba, telah terbukti efektif dalam meningkatkan profil rasa dan produksi asam organik (Gao *et al.,* 2025). Mikroorganisme yang terkandung dalam teh hitam yang bekerja di balik layar, yang berperan dalam memetabolisme berbagai komponen dan pada akhirnya menentukan kualitas serta profil rasa dan aroma teh (Bag *et al*., 2022). Beberapa penelitian sebelumnya telah melaporkan bahwa mikroorganisme dari produk fermentasi memiliki potensi menghasilkan senyawa bioaktif antioksidan. Penelitian oleh (Salman *et al.,* 2022) menyebutkan bahwa proses fermentasi atau oksidasi pada teh dapat memengaruhi komposisi senyawa fenolik dan aktivitas antioksidan. Selama fermentasi terjadi perubahan metabolit bioaktif akibat aktivitas oksidasi enzimatis yang berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan teh. Sehingga dapat dikatakan terdapat hubungan positif antara kandungan fenolik dan aktivitas antioksidan.

Adanya hubungan antara aktivitas mikroorganisme fermentasi dengan pembentukan senyawa bioaktif menunjukkan bahwa mikroba tidak hanya berperan dalam proses fermentasi, tetapi juga berpotensi menjadi sumber senyawa fungsional yang bernilai. Upaya untuk mengeksplorasi dan menemukan potensi biologis dari sumber daya hayati tersebut dikenal sebagai bioprospeksi. Bioprospeksi merupakan kegiatan eksplorasi dan pemanfaatan potensi sumber daya hayati melalui proses eksplorasi,

identifikasi, dan karakterisasi secara sistematis untuk menemukan senyawa bioaktif, gen, protein, maupun informasi genetik lain yang berpotensi dikembangkan menjadi produk bernilai ekonomi dan Kesehatan (Alikodra, 2012). Dalam penelitian ini, bioprospeksi dilakukan melalui eksplorasi isolat bakteri yang berasal dari teh hitam Tombo untuk mengidentifikasi potensi biologis yang dimilikinya. Potensi tersebut dievaluasi melalui identifikasi molekuler bakteri serta pengujian aktivitas antioksidan dan kandungan total fenolik. Pendekatan ini diharapkan dapat mengungkap peluang pemanfaatan bakteri fermentasi teh hitam Tombo sebagai sumber senyawa bioaktif yang bernilai dalam bidang pangan fungsional dan kesehatan.

Identitas mikroorganisme yang berperan dalam proses fermentasi teh hitam di Indonesia masih belum spesifik. Penelitian terdahulu hanya berfokus pada parameter kimia dan sifat sensorik produk, sementara aspek mikrobiologis terkait spesies bakteri dominan dan perananya dalam transformasi biokimia masih jarang dikaji secara mendalam. Oleh karena itu, untuk dapat mengetahui peran spesifik mikroba dalam fermentasi teh hitam Tombo, diperlukan identifikasi yang akurat hingga tingkat spesies. Karakterisasi molekuler, seperti analisis gen 16S rRNA untuk bakteri merupakan metode yang andal dalam mengungkap identitas mikroba. Metode ini mengatasi keterbatasan identifikasi berbasis morfologi atau biokimia, yang sering kali tidak cukup presisi. Dengan mengetahui spesies mikroba secara tepat, kita dapat mengaitkan hasil identifikasi tersebut

dengan potensi fisiologisnya, termasuk kemampuannya menghasilkan senyawa antioksidan.

Teh hitam Tombo dipilih sebagai sampel penelitian karena proses pengolahannya masih dilakukan secara tradisional menggunakan alat berbahan tembikar dan fermentasi alami, sehingga memungkinkan terbentuknya komunitas mikroorganisme yang beragam selama proses produksi berlangsung. Selain itu, teh hitam Tombo merupakan produk teh khas lokal yang masih belum banyak diteliti dari aspek mikrobiologi dan potensi bioprospeksi bakterinya. Isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian ini merupakan isolat hasil penelitian sebelumnya yang telah berhasil diisolasi dari teh hitam Tombo. Isolat tersebut kemudian diremajakan dan dikarakterisasi kembali untuk memastikan kemurnian serta identitas molekulernya sebelum dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dan kandungan total fenolik. Penggunaan isolat dari penelitian sebelumnya dilakukan sebagai upaya lanjutan dalam mengeksplorasi potensi bakteri teh hitam Tombo sebagai sumber senyawa bioaktif alami.

Oleh karena itu, penelitian ini dirancang menggunakan dua pendekatan utama. Pertama, identifikasi mikroba dilakukan dengan teknik karakterisasi molekuler berbasis gen 16S rRNA. Pendekatan ini dipilih karena mampu memberikan ketepatan tinggi dalam menentukan jenis mikroba hingga tingkat spesies, sekaligus memetakan hubungan kekerabatannya. Dengan cara ini, profil komunitas mikroba dalam teh hitam Tombo dapat dipahami lebih jelas. Kedua, potensi biologis mikroba

dievaluasi melalui uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Metode ini digunakan karena sederhana, cepat, dan efektif untuk menilai kemampuan senyawa bioaktif dalam meredam radikal bebas. Hasil uji ini memberikan gambaran mengenai seberapa besar kontribusi metabolit mikroba terhadap nilai fungsional teh hitam. Pengujian total fenolik dilakukan untuk memperkuat hasil pengujian antioksidan.

Dengan demikian, hasil penelitian ini diharapkan mampu membuka peluang baru dalam industri pangan dan kesehatan, khususnya dalam pemanfaatan mikroba fermentasi sebagai sumber senyawa bioaktif yang dapat mendukung terciptanya produk teh dengan nilai tambah dan manfaat kesehatan yang lebih tinggi.

1.2 Rumusan Masalah

1.2.1 Spesies bakteri apa yang diperoleh dari hasil identifikasi molekuler 16S rRNA isolat bakteri dari teh hitam Tombo

1.2.2 Bagaimana kemampuan aktivitas antioksidan serta kandungan total fenolik isolat bakteri dari teh hitam Tombo

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Mengidentifikasi spesies bakteri hasil identifikasi molekuler 16S rRNA isolat bakteri dari teh hitam Tombo

1.3.2 Menganalisis kemampuan aktivitas antioksidan serta kandungan total fenolik isolat bakteri dari teh hitam Tombo

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Dapat menigkatkan pengetahuan akan spesies bakteri hasil identifikasi molekuler 16S rRNA isolat bakteri dari teh hitam Tombo

1.4.2 Dapat mengetahui kemampuan aktivitas antioksidan serta kandungan total fenolik isolat bakteri dari teh hitam Tombo