

**UJI DAYA HAMBAT MADU HUTAN BADUY SEBAGAI SUBSTRAT
PADA BUNGA TELANG (*Clitoria ternatea* L) MELALUI METODE
BIOTEKNOLOGI FERMENTASI KOMBUCHA DALAM
MENGHAMBAT PERTUMBUHAN BAKTERI PATOGEN**

Kusumiyati^{1*}, Diyan Yunanto Setyaji², M. Fariz Fadillah³, Firman Rezaldi⁴

¹Program Studi Agronomi, Fakultas Pertanian Universitas Padjajaran, Jatinangor

²Program Studi Sarjana Gizi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Panti Rapih, Daerah Istimewa Yogyakarta

³Program Studi Teknologi Pangan Fakultas Teknologi dan Informatika Universitas Mathla'ul Anwar Banten

⁴Program Studi Farmasi, STIKES Bhakti Husada Mulia Madiun

e-mail: diyansetyaji@stikespantirapih.ac.id

ABSTRAK

Bunga telang (*Clitoria ternatea* L) yang difermentasi oleh kombucha merupakan salah satu minuman probiotik yang diproduksi oleh konsorsium bakteri dan ragi. Bahan baku dalam fermentasi kombucha ini adalah berupa bunga telang yang telah dingin dari proses perebusan sebelumnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri pada kombucha bunga telang dengan konsentrasi madu hutan Baduy yang berbeda-beda. Konsentrasi madu hutan Baduy terdiri dari 20%, 30%, dan 40% (b/v) dimana masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Kontrol positif yang dimanfaatkan dalam penelitian ini adalah berupa kombucha yang berbahan dasar teh hijau. Akuades steril merupakan perlakuan yang diposisikan sebagai kontrol negatif. Metode difusi cakram merupakan salah satu metode yang digunakan dalam pengujian antibakteri yaitu dengan cara mengukur diameter zona hambat. Fermentasi kombucha bunga telang mempunyai aktivitas sebagai sumber antibakteri dalam spektrum luas. Hal tersebut dapat diindikasikan oleh adanya potensi dalam mencegah pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli*. Konsentrasi madu hutan Baduy sebesar 40% merupakan konsentrasi terbaik pada fermentasi kombucha bunga telang sebagai antibakteri dan berpotensi sebagai minuman fungsional terkini dari produk bioteknologi fermentasi.

Kata kunci: Antimikroba, Fermentasi Kombucha, Bunga Telang, Madu Baduy

ABSTRACT

Telang flower (Clitoria ternatea L) fermented by kombucha is a probiotic drink produced by a consortium of bacteria and yeast. The raw material in this kombucha fermentation is in the form of telang flowers that have been cold from the previous boiling process. This study aims to determine the antibacterial activity of telang flower kombucha with different concentrations of Baduy forest honey. The concentration of Baduy forest honey consisted of 20%, 30%, and 40% (w/v) where each treatment was repeated 3 times. The positive control used in this study was kombucha made from green tea. Sterile aquadest is a

treatment positioned as a negative control. The disc diffusion method is one of the methods used in antibacterial testing by measuring the diameter of the inhibition zone. Telang flower kombucha fermentation has activity as a broad-spectrum antibacterial source. This can be indicated by the potential to prevent the growth of Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Pseudomonas aeruginosa, and Escherichia coli bacteria. Baduy forest honey concentration of 40% is the best concentration in fermented kombucha flower telang as an antibacterial and has the potential as the latest functional drink from fermented biotechnology products.

Keywords: Antimicrobial, Fermented Kombucha, Telang Flower, Baduy Honey

PENDAHULUAN

Madu merupakan sediaan cair yang secara natural memiliki rasa manis dan diproduksi oleh lebah madu dengan nama ilmiah *Apis sp.* Lebah madu ada yang berasal dari bunga tanaman (floral nektar) maupun bagian dari organ tanaman lainnya (SNI, 2018). Madu yang diproduksi oleh lebah melalui pengubahan nektar bunga pada proses regurgitasi dan evaporasi, sehingga dari hasil tersebut dapat disimpan pada sarang lebah sebagai bahan makanan utama (Arawwala & Hewageegana, 2017). Karakteristik pada kandungan madu sangat bergantung pada jenis lebah serta sumber nektar. Konstituen utama pada madu adaah berupa campuran antara dekstrosa dengan fruktosa pada jumlah yang sama dan gula invert 50 hingga 90% dari gula yang tidak terinvertasi dan air (Widodo, 2013). Kandungan fruktosa dan glukosa mencapai 85% hingga 90% berasal dari karbohidrat yang terkandung dalam madu serta hanya sebagian kecil dalam bentuk oligosakarida dan polisakarida (Feronica, 2012). Kandungan madu lain diantaranya adalah berupa berbagai enzim yaitu enzim invertase, enzim glukosa oksidase, peroksidase, dan lipase (Ariandi & Khaerati, 2017). Beberapa kandungan tersebut berpotensi tinggi dalam memproduksi level keasaman (pH) beserta turunannya seperti hidrosimetilfurfural (HMF) yang dijadikan sebagai indikator dalam menentukan mutu madu seperti halnya madu hutan.

Salah satu penghasil madu hutan yaitu masyarakat Suku Baduy. Suku Baduy atau yang telah dikenal sebagai Suku Kanekes telah memanfaatkan madu hutan sebagai bahan konsumsi sendiri maupun bahan untuk dijual yang berasal dari spesies lebah *Apis dorsata* (Pujiarti et al., 2021). Rasa manis pada madu hutan

baduy dapat dimanfaatkan sebagai salah satu bahan fermentasi teh yang telah dikenal sebagai kombuccha. Kombucha merupakan minuman fermentasi teh yang kayak berpotensi sebagai sumber probiotik dimana konsorsium daripada bakteri dan ragi telah menghasilkan teh yang difermentasi menjadi rasa asam. Nutrisi bagi *Scoby* (*Simbiotic Colony/Culture Bacteria & Yeast*) adalah gula. Gula yang digunakan sebagai substrata tau nutrisi bagi *scoby* akan dirombak menjadi asam-asam organik oleh sekelompok bakteri, dan oleh sekelompok ragi akan diubah menjadi etanol dengan kadar rendah dan juga CO₂ (Priyono & Riswanto, 2021). Kandungan alkohol yang dihasilkan dari hasil fermentasi kombucha membuat kandungan gizi tinggi, sehingga berperan sebagai sumber antibakteri (Al-Kalifawi, 2014) (Borkani et al., 2016), sumber antibakteri gram positif maupun negatif (Rezaldi et al., 2021 ; Abdilah et al., 2022 ; Rezaldi et al., 2022 ; Rochmat et al., 2022), sumber antimikroba (Puspitasari et al., 2022), sumber antifungi (Rezaldi et al., 2022) sumber antioksidan (Wistiana & Zubaidah, 2015; Situmeang et al., 2022), sumber antimikroba (Puspitasari et al., 2022), sumber antikolesterol (Rezaldi et al., 2022) dan sumber antikanker (Jayabalan et al., 2014 ; Taupiqurrohman et al., 2022).

Kombucha pada dasarnya terbuat dari bahan-bahan yang mempunyai sumber antioksidan tinggi seperti teh hitam, teh hijau, dan teh olong (Jayabalan et al., 2011). Bahan lain yang dapat digunakan sebagai bahan baku kombucha adalah bunga telang. Bunga telang dengan nama ilmiah *Clitoria ternatea* L merupakan tanaman yang kayak akan sumber metabolit sekunder terutama yang berperan penting sebagai antibakteri (Pertiwi et al., 2022), antimikroba (Budiasih, 2017). Metabolit sekunder pada bunga telang adalah Antosianin yang akan cenderung lebih stabil jika difermentasi oleh Bakteri Asam Laktat (Kunaryo & Wikandari, 2021). Kombucha yang berkhasiat sebagai antibakteri pada dasarnya dipengaruhi oleh konsentrasi gula yang berbeda-beda. Hal tersebut sejalan dengan hasil penelitian Yanti et al., (2020) menyatakan bahwa konsentrasi gula 20% berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen baik gram positif maupun negatif.

Hasil penelitian serupa telah dilakukan oleh Rezaldi et al., (2021) menyatakan bahwa konsentrasi gula 40% pada kombucha bunga telang mampu

mencegah pertumbuhan bakteri gram positif maupun negatif baik dari spesies *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli*. Penelitian kombucha yang berbahan dasar bunga telang dalam menghambat bakteri gram positif dan negatif berdasarkan konsentrasi gula yang berbeda-beda telah dilakukan oleh peneliti sebelumnya, namun penelitian kombucha yang berbahan dasar bunga telang dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan negatif berdasarkan konsentrasi madu hutan Baduy yang berbeda-beda sama sekali belum ada yang melakukan untuk itu pada penelitian ini akan mengujinya pada ke empat bakteri yaitu terdiri dari dua bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*, dan *Staphylococcus epidermidis*) dan bakteri gram negatif yang terdiri dari *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan-Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah madu hutan Baduy sebagai substrat, kombucha berbahan dasar teh hijau sebagai kontrol positif, akuades steril sebagai kontrol negatif, bunga telang sebagai bahan dasar fermentasi kombucha, kultur awal kombucha (*Scoby*) sebagai starter, bakteri uji berupa bakteri gram positif dan negatif seperti *Staphylococcus aureus* TCC 2593, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 25924, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli* ATCC 25922, dan Media MHA (*Muller Hinton Agar*).

Alat-Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah, timbangan digital, blender, thermometer, gelas ukur, erlenmeyer 500 mL, spatula, corong, kompor gas, panci stainless steel, toples kaca, kain katun, pisau, karet gelang, sarung tangan, labu ukur, beaker glass, pipet tetes, aluminium foil, penangas air, Laminair Air Flow (LAF), mikropipet 1000 mikro liter, mikropipet 100 mikroliter, cawan petri, jangka sorong analitik, bluetip, yellowtip, ose, bunsen, incubator, korek api, masker medis, plastik sterilisasi, Loyang, dan autoklaf.

Prosedur Kerja

Persiapan Bahan Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L)

Bunga telang yang telah diperoleh dari wilayah kota Cilegon, khususnya kampung Pekuncen desa Ciwedus, diambil sebanyak 500 gram pada kondisi segar, lalu dicuci hingga bersih, dan juga dikeringanginkan. Bunga telang yang telah kering kemudian disimpan pada wadah bersih untuk direbus sampai dingin kemudian difermentasi oleh Scoby (Rezaldi et al., 2021).

Pembuatan Fermentasi Kombucha Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L)

Tahapan-tahapan dalam melakukan fermentasi kombucha bunga telang diantaranya adalah 1) mempersiapkan bahan-bahan yang prioritas seperti toples kaca, madu hutan Baduy sebagai substrat, dan kultur awal kombucha yang disertai baby scoby dalam bentuk kombucha cair; 2) menimbang bunga telang dan teh hijau sebanyak 17,2% dalam 1 liter air; 3) menimbang 7,2% air sampai tersisa 2,4% air baik untuk bunga telang dengan berbagai perlakuan maupun untuk teh hijau sebagai kontrol positif; 4) menambahkan konsentrasi madu hutan Baduy sesuai perlakuan yaitu 20%, 30%, dan 40%; 5) memanaskan madu hutan Baduy sampai mendidih dalam waktu 10 menit kemudian menuangkan ke dalam toples kaca pada setiap perlakuan yang berisi konsentrasi larutan madu hutan Baduy; 6) menuangkan air rebusan ke dalam toples kaca yang sudah ditambahkan perlakuan konsentrasi madu hutan Baduy masing-masing; 7) mendinginkan air rebusan pada suhu 25°C kemudian menambahkan starter kombucha yang berusia 7 hari sebanyak 8% (v/v) disetiap perlakuan; 8) menutup toples kaca menggunakan kain penutup dan karet supaya proses fermentasi berjalan secara statis dalam waktu 12 hari dalam suhu ruang (Yanti et al., 2020 ; Rezaldi et al., 2021).

Uji Antibakteri Menggunakan Metode Difusi Cakram

Tahapan-tahapan uji antibakteri yang dilakukan dengan metode difusi cakram diantaranya adalah ; 1) menyiapkan cawan petri sebanyak 24 buah untuk dituangkan pada media MHA (*Muller Hinton Agar*) dalam 15 mL pada masing-masing cawan petri; 2) menunggu media tersebut sampai pada kondisi padat ; 3) memasukkan lidi kapas steril pada bagian dalam suspensi bakteri uji yaitu *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan

Escherichia coli; 4) mengusapkan media MHA sampai permukaan tertutup rapat secara keseluruhan; 5) menempelkan disk yang sudah direndam pada sediaan larutan fermentasi kombucha bunga telang dengan variasi konsentrasi madu hutan Baduy tertentu yaitu pada cawan I 20%, cawan II 30%, cawan III 40%, cawan IV diisi dengan kontrol positif dalam bentuk kombucha berbahan dasar teh hijau, dan cawan V diisi dengan kontrol negatif yaitu dalam bentuk akuades steril; 6) melakukan pengulangan sebanyak 3 kali; 7) menginkubasi selama 24 jam; 8) melakukan pengukuran diameter zona hambat pada masing-masing konsentrasi dari fermentasi kombucha bunga telang beserta kontrol positif dan negatif (Handayani et al., 2017).

Analisis Data

Hasil Penelitian akan diolah datanya menggunakan analisis statistik ANOVA satu jalur pada taraf kepercayaan 95%. Data hasil penelitian yang memiliki perbedaan secara bermakna idealnya akan dilanjutkan melalui uji *post hoc*. (Ma'ruf et al., 2022)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Fermentasi kombucha bunga telang yang dihasilkan dari konsentrasi madu hutan Baduy sebesar 20%, 30%, dan 40% menunjukkan hasil yang berkolerasi secara positif dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen baik berupa bakteri gram positif seperti *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* maupun bakteri gram negatif yaitu *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*. Hasil tersebut dapat tersaji dalam tabel 1 dibawah ini.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Rata-Rata Diameter Zona Hambat yang terbentuk pada Media *Muller Hinton Agar* (MHA)

Jenis Bakteri	Diameter zona hambat (mm)	Kontrol negatif (mm)	kontrol positif (mm)	Diameter zona hambat setiap Konsentrasi Fermentasi kombucha bunga telang(mm)		
				20%	30%	40%
<i>Staphylococcus aureus</i>	I	0	22,70	16,89	17,70	19,90
	II	0	21,60	17,90	20,56	25,70
	III	0	20,20	20,19	23,89	26,90
	Rata-rata	0	21,5	18,32	20,71	24,16

<i>Staphylococcus epidermidis</i>	I	0	18,80	16,80	17,50	19,80
	II	0	20,70	17,50	18,80	23,90
	III	0	19,15	19,00	20,50	24,70
	Rata-rata	0	19,55	17,76	18,93	22,80
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	I	0	17,70	16,52	17,40	19,50
	II	0	19,51	17,90	18,45	22,30
	III	0	18,00	18,21	19,06	24,69
	Rata-rata	0	18,40	17,54	18,30	22,16
<i>Escherichia coli</i>	I	0	15,70	15,50	17,20	18,80
	II	0	17,80	16,90	18,20	21,70
	III	0	17,72	17,21	18,70	22,89
	Rata-rata	0	17,63	16,53	18,03	21,13

Tabel 1 diatas menunjukkan bahwa konsentrasi dari larutan fermentasi kombucha bunga telang yang mengandung madu hutan Baduy dengan berbagai konsentrasinya berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri baik bakteri gram positif maupun negatif. Data hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi larutan fermentasi kombucha bunga telang yang mengandung madu hutan Baduy sebesar 40% merupakan konsentrasi terbaik dalam membentuk zona hambat pada setiap biakan bakteri uji. Nilai rata-rata diameter zona hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 24,16 mm dengan kategori sangat kuat, *Staphylococcus epidermidis* 22,80 mm dengan kategori sangat kuat, *Pseudomonas aeruginosa* 22,16 mm dengan kategori sangat kuat, dan *Escherichia coli* 21,13 mm dengan kategori sangat kuat.

Tabel 2. Uji Normalitas

	Uji saphiro-Wilk	Sig
<i>Staphylococcus aureus</i>		0,79
<i>Staphylococcus epidermidis</i>		0,68
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		0,57
<i>Escherichia coli</i>		0,46

Tabel 2 merupakan hasil uji normalitas berupa Saphiro-wilk dan menunjukkan bahwa data memiliki nilai $p > 0,05$ yang menunjukkan data dari hasil penelitian tersebut terdistribusi secara normal atau bersifat parametrik.

Tabel 3. Uji Varians Data

Uji Varians Data	Sig
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,66
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0,55
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,44
<i>Escherichia coli</i>	0,33

Tabel 3 merupakan uji varians data dan menunjukkan bahwa nilai $p > 0,05$ yang menunjukkan data yang dihasilkan dalam penelitian ini memiliki varian data yang sama, sehingga dapat dilakukan pengujian melalui ANOVA satu jalur.

Tabel 4. Uji One Way Anova

Uji One Way Anova	Sig
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,000
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0,03
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,000
<i>Escherichia coli</i>	0,02

Tabel 4 merupakan data hasil penelitian yang telah diuji melalui ANOVA satu jalur dan telah menunjukkan bahwa hasil uji ANOVA satu jalur terhadap kelompok perlakuan fermentasi kombucha bunga telang memiliki nilai P kurang dari 0,5 pada masing-masing perlakuan. Nilai rata-rata antar kelompok perlakuan fermentasi kombucha bunga telang mempunyai perbedaan secara bermakna maka tahap selanjutnya dilakukan analisis *pos hoc*.

Tabel 5. Uji Analisis Pos-Hoc

Jenis Bakteri				Kontrol	Kontrol	
	20%	30%	40%	Positif	Negatif	
<i>Staphylococcus aureus</i>	20%	-	0,666	0,005*	0,000*	0,000*
	30%	0,666	-	0,333	0,000*	0,000*
	40%	0,005*	0,666	-	0,000*	0,000*
	Kontrol Positif	0,000*	0,000*	0,000*	-	0,000*
	Kontrol Negatif	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	20%	-	0,777	0,005*	0,000*	0,000*
	30%	0,777	-	0,444	0,000*	0,000*
	40%	0,006*	0,777	-	0,000*	0,000*
	Kontrol Positif	0,000*	0,000*	0,000*	-	0,000*

	Kontrol Negatif	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20%	-	0,888	0,005*	0,000*	0,000*
	30%	0,888	-	0,888	0,000*	0,000*
	40%	0,004*	0,888	-	0,000*	0,000*
	Kontrol Positif	0,000*	0,000*	0,000*	-	0,000*
	Kontrol Negatif	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	-
<i>Escherichia coli</i>	20%	-	0,99	0,003*	0,000*	0,000*
	30%	0,999	-	0,188	0,000*	0,000*
	40%	0,003*	0,999	-	0,000*	0,000*
	Kontrol Positif	0,000*	0,000*	0,000*	-	0,000*
	Kontrol Negatif	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	-
Keterangan:						
*: Menyatakan terdapat perbedaan bermakna ($p < 0,05$)						

Tabel 5 yang tersaji diatas merupakan data hasil penelitian yang telah di uji *Post-Hoc* dan menunjukkan jika suatu data hasil penelitian menghasilkan nilai $p < 0,05$ berarti data hasil penelitian tersebut signifikan atau berbeda bermakna pada konsentrasi lain. Jika $p > 0,05$, maka data tersebut menunjukkan tidak signifikan atau tidak berbeda bermakna dengan konsentrasi lain. Uji *Pos-Hoc* yang tercantum pada tabel 5 sudah menjelaskan bahwa diameter zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli* pada konsentrasi madu hutan Baduy kombucha bunga telang tidak memiliki perbedaan secara bermakna atau tidak signifikan dengan konsentrasi fermentasi kombucha bunga telang 40%, namun terdapat perbedaan secara bermakna dengan konsentrasi madu hutan Baduy kombucha bunga telang 30%, kontrol positif, dan kontrol negatif. Konsentrasi madu hutan Baduy fermentasi kombucha bunga telang 30% tidak mempunyai perbedaan secara bermakna baik pada konsentrasi madu hutan Baduy kombucha bunga telang 20%, 40%, kontrol positif, dan kontrol negatif. Konsentrasi madu hutan Baduy 40% kombucha bunga telang tidak memiliki perbedaan secara bermakna pada kontrol positif maupun negatif tetapi memiliki perbedaan secara bermakna pada konsentrasi madu hutan Baduy kombucha bunga telang 20% dan 30%.

Perhitungan aktivitas antibakteri kombucha bunga telang yang sudah dilakukan secara *in-vitro*, yaitu terukur berdasarkan potensinya dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen yang telah diuji baik bakteri patogen

jenis gram positif maupun negatif. Bakteri gram positif yang telah dilakukan dalam pengujian ini terdiri dari *Staphylococcus aureus*, dan *Staphylococcus epidermidis*, sedangkan bakteri uji berupa gram negatif terdiri dari *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*. Data perhitungan zona hambat dari hasil penelitian, telah diketahui bahwa fermentasi kombucha bunga telang yang mengandung konsentrasi madu hutan Baduy yang bervariasi mengindikasikan terbentuknya suatu zona hambat dalam bentuk zona bening. Adanya aktivitas antibakteri pada kombucha bunga telang karena mengandung senyawa-senyawa kimia yang berperan penting dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen baik gram positif maupun negatif. Salah satu asam-asam kimia organik yang dihasilkan selama proses fermentasi kombucha pada umumnya adalah asam asetat. Asam asetat yang telah terbentuk melalui hasil fermentasi kombucha sangat berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan negatif. Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Kumar & Joshi (2016), menyimpulkan bahwa asam asetat yang telah terbentuk selama fermentasi kombucha akan terurai melalui mekanisme pelepasan proton-proton bebas sehingga menyebabkan pH media menjadi rendah (Yanti et al., 2020).

Asam asetat yang sudah tidak terdisosiasi idealnya berperan penting dalam merusak struktur bilayer lipid bakteri melalui pemasukan proton ke dalam sitoplasma, sehingga jumlah proton secara intraseluler yang banyak, menyebabkan sitoplasma berada dalam kondisi asam. Hal tersebut juga menyebabkan terjadinya denaturasi protein dan kehilangan energi. Semakin tinggi kandungan asam organik pada asam asetat semakin tinggi juga kemampuannya dalam mencegah pertumbuhan bakteri patogen. Asam organik yang telah terbentuk selama proses fermentasi kombucha idealnya berpotensi dalam menurunkan pH dari kondisi asam menjadi sangat asam artinya pH substrat yang berada dalam keadaan rendah mampu mempengaruhi pertumbuhan bakteri patogen menjadi asam. Selain itu adanya kandungan antosianin yang berasal dari bunga telang itu sendiri berperan sebagai antioksidan maupun antibakteri. Sehingga berpotensi untuk dikembangkan melalui proses fermentasi kombucha tanpa mengurangi kestabilannya yang sangat dipengaruhi oleh pH, cahaya, suhu, dan kondisi enzim. Hasil penelitian

yang mendukung telah dilakukan oleh Loypimay et al., (2016), menyatakan bahwa proses fermentasi BAL (Bakteri Asam Laktat) memiliki kemampuan dalam meningkatkan kestabilan antosianin dimana antosianin akan cenderung lebih stabil pada pH yang rendah. Kunnaryo & Wikandari (2021), menyatakan bahwa antosianin merupakan senyawa antioksidan yang kestabilannya dipengaruhi oleh pH, suhu, dan enzim PPO (Polifenol Oksidasi). Antosianin idealnya stabil pada pH 1-4, suhu optimum sebesar 30°C dan inaktivasi enzim PPO, sehingga antosianin berpotensi untuk dipertahankan melalui fermentasi BAL dengan cara menurunkan pH, dan inaktivasi enzim PPO yang menyebabkan tingginya aktivitas sebagai antioksidan.

Kandungan antosianin yang berada di dalam bunga telang berpotensi sebagai antioksidan, dimana potensi dari senyawa tersebut memiliki kemampuan dalam mencegah berbagai penyakit degenerative seperti kardiovaskular, kanker, dan juga diabetes (Konczhak et al., 2014). Aktivitas lainnya secara biologis antosianin berpotensi sebagai pencegah terjadinya kanker usus, antihiperqlikemia, dan juga antibakteri seperti *Salmonella thypi* dan *Escherichia coli* (Saati, 2016). Pada tabel 1 menunjukkan bahwa kombucha bunga telang pada perlakuan konsentrasi madu hutan Baduy sebesar 20%, 30%, dan juga 40% berpotensi dalam membentuk zona bening yang terdapat pada sekeliling sumuran baik pada bakteri gram positif maupun negatif. Hal tersebut dapat diindikasikan bahwa kombucha bunga telang dengan substrat madu hutan Baduy dan konsentrasi madu hutan Baduy yang difermentasi oleh kombucha bunga telang secara keseluruhan berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen baik gram positif maupun negatif. Hasil penelitian yang telah dihasilkan didukung oleh hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Khaleil et al., (2020) yang menyatakan bahwa kombucha yang berbahan dasar teh hitam berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan hasil penelitian yang dilakukan oleh Rezaldi et al., (2021), kombucha bunga telang yang memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen baik gram positif maupun negatif pada konsentrasi gula 20%, 30%, dan 40%. Kemampuan kombucha bunga telang dari hasil penelitian ini yang diperoleh memiliki aktivitas sebagai antibakteri dalam spektrum luas. Hal tersebut

didukung oleh hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Battikh et al., (2013) , yang menyimpulkan bahwa kombucha yang berbahan dasar teh hitam dan teh hijau berpotensi sebagai penghambat pertumbuhan bakteri gram positif maupun negatif, sehingga dapat disimpulkan sebagai antibakteri dalam spektrum luas.

Pada tabel 1 menunjukkan bahwa rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan pada fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi madu hutan Baduy 20% adalah 18,32 mm dengan kategori sangat kuat, fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi larutan madu hutan Baduy 30% adalah 20,71 mm dengan kategori kuat, dan fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi madu hutan Baduy 40% adalah 24,16 mm dengan kategori sangat kuat pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan pada fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi madu hutan Baduy 20% adalah 17,76 mm dengan kategori kuat, fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi madu hutan Baduy 30% adalah 18,93 mm dengan kategori kuat, dan fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi madu hutan Baduy 40% adalah 22,80 mm dengan kategori sangat kuat pada bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan pada fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi madu hutan Baduy 20% adalah 17,54 mm dengan kategori kuat, fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi madu hutan Baduy 30% adalah 18,30 mm dengan kategori kuat, dan fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi madu hutan Baduy 40% adalah 22,16 mm dengan kategori sangat kuat pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan pada fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi madu hutan Baduy 20% adalah 16,53 mm dengan kategori kuat, fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi madu hutan Baduy 30% adalah 18,03 mm dengan kategori kuat, dan fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi larutan gula aren 40% adalah 21,13 mm dengan kategori sangat kuat.

Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Fadillah et al., (2022) menyatakan bahwa kombucha bunga telang dengan konsentrasi madu *clover honey* sebesar 40% merupakan konsentrasi terbaik dalam menghambat

pertumbuhan bakteri gram positif maupun negatif (Rezaldi et al., 2022). Zona bening yang luas atau zona hambat yang terbentuk selama proses fermentasi merupakan salah satu bagian dari salah satu bentuk kepekaan mikroba terhadap senyawa antimikroba yang telah diproduksi.

Agen antimikroba yang memiliki zona bening yang tinggi, menandakan adanya daya hambat sebagai antimikroba tersebut sangat baik (Allison & Lambert, 2015). Hasil penelitian ini telah terukur bahwa kombucha bunga telang yang telah ditambahkan konsentrasi madu hutan Baduy sebesar 40% memiliki aktivitas sebagai antibakteri yang terbaik. Konsentrasi larutan fermentasi kombucha bunga telang yang mengandung madu hutan Baduy terendah telah diperoleh dari penelitian ini adalah 20%. Tabel 1 juga menyatakan bahwa kombucha bunga telang memiliki diameter tertinggi yaitu pada bakteri *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan 3 uji bakteri lainnya yaitu *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli*. Hasil yang diperoleh dapat diindikasikan bahwa kombucha bunga telang berpotensi sebagai antibakteri gram positif lebih tinggi jika dibandingkan dengan bakteri gram negatif. Adanya kandungan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh konsorsium bakteri dan ragi pada kombucha lebih berpotensi sebagai antibakteri pada bakteri gram positif dibandingkan dengan bakteri gram negatif. Mekanisme secara seluler pada metabolit sekunder yang diproduksi oleh konsorsium mikroba kombucha adalah dengan cara merusak komponen peptidoglikan yang berada dalam dinding sel bakteri gram positif dan negatif.

Komponen peptidoglikan yang berada dalam dinding sel bakteri gram positif lebih tinggi apabila dibandingkan dengan bakteri gram negatif. Sehingga lebih mudah untuk dirusak oleh kombucha yang berpotensi sebagai agensia antimikroba (Sreeramul et al., 2000). Hal tersebut didukung oleh hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Borkani et al., (2016) yang menyatakan bahwa kombucha mempunyai aktivitas tertinggi pada bakteri gram positif khususnya spesies *Staphylococcus aureus*. Sensitivitas bakteri terhadap suatu antibiotik dipengaruhi oleh potensinya dalam merusak dinding sel bakteri. Antibiotik secara umum lebih banyak memberikan pengaruh besar terhadap cara kerja pada bakteri gram positif dibandingkan dengan bakteri gram negatif. Hal

tersebut disebabkan karena permeabilitas dinding sel bakteri gram positif lebih tinggi dibandingkan dengan bakteri gram negatif, selain itu bakteri gram negatif pada dasarnya memiliki kapsul yang tebal sehingga tidak mudah dirusak oleh agen antimikroba lainnya.

Kombucha bunga telang menurut hasil penelitian Abdilah et al (2022) telah membuktikan bahwa secara kualitatif mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, dan saponin yang memiliki potensi secara seluler yang berbeda-beda dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Abdilah et al., 2022 ; Fathurrohman et al., 2022).

SIMPULAN

Hasil penelitian yang diperoleh dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kombucha bunga telang memiliki kemampuan sebagai antibakteri gram positif dan negatif dan dapat juga dikembangkan sebagai inovasi produk bioteknologi terkini. Fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi madu hutan Baduy sebesar 40% memiliki aktivitas sebagai antibakteri tertinggi jika dibandingkan dengan fermentasi kombucha bunga telang pada madu hutan Baduy lainnya yaitu konsentrasi 20% dan 30%. Nilai rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* adalah sebesar 24,16 mm dengan kategori sangat kuat, *Staphylococcus epidermidis* 22,80 mm dengan kategori sangat kuat, *Pseudomonas aeruginosa* 22,16 mm dengan kategori sangat kuat, dan *Escherichia coli* 21,13 mm dengan kategori sangat kuat.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdilah, N. A., Rezaldi, F., Kusumiyati, K., Sasmita, H., & Somantri, U. W. (2022). Aktivitas Antibakteri Kombucha Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) yang Difermentasi Dengan Gula Aren Pada Konsentrasi Berbeda. *Tirtayasa Medical Journal*, 1(2), 29-39.
<http://dx.doi.org/10.52742/tmj.v1i2.15139>
- Abdilah, N. A., Rezaldi, F., Pertiwi, F. D., & Fadillah, M. F. (2022). Fitokimia Dan Skrining Awal Metode Bioteknologi Fermentasi Kombucha Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) Sebagai Bahan Aktif Sabun Cuci Tangan Probiotik. *MEDFARM: Jurnal Farmasi dan Kesehatan*, 11(1), 44-61.
<https://doi.org/10.48191/medfarm.v11i1.72>

- Abdilah, N. A., Mu'jijah, M., Rezaldi, F., Ma'ruf, A., Safitri, E., & Fadillah, M. F. (2022). ANALISIS KEBUTUHAN BIOKIMIA GIZI BALITA DAN PENGENALAN KOMBUCHA BUNGA TELANG (*Clitoria ternatea* L) TERHADAP ORANG TUA BALITA DALAM MENINGKATKAN IMUNITAS: ANALYSIS OF NUTRITIONAL BIOCHEMICAL REQUIREMENTS OF TODdlers and the Introduction of KOMBUCHA FLOWER (*Clitoria ternatea* L) ON PARENTS OF TOTAL CHILDHOOD IN INCREASING IMMUNITY. *Medimuh: Jurnal Kesehatan Muhammadiyah*, 3(2), 59-66. <https://doi.org/10.37874/mh.v3i2.446>
- Al-Kalifawi, E. J. 2014. Antimikrobal Activity of Kombucha (KH) Tea against. Bacteria Isolated From Diabetic Foot Uleer. *International Journal for Sciences and Technology*, 9 (1), 49 - 56. <https://doi.org/10.12816/0010111>.
- Allison, D. G., & Lambert, P. A. (2015). Modes of action of antibacterial agents. In *Molecular Medical Microbiology* (pp. 583-598). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397169-2.00032-9>.
- Ariandi, Khaerati. 2017. Uji aktivitas enzim diastase, hidrosimetilfurfural (hmfHMF), kadar gula pereduksi, dan kadar air pada madu hutan batang. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian (SNP2M) 2017* (pp.1-4). Makassar, 7-8 November 2017: Unit Penelitian Dan Pengabdian Kepada Masyarakat Politeknik Negeri Ujung Pandang.
- Arawwawala LDAM, Hewageegana HGSP. 2017. Health benefits and traditional uses of honey: a review. *Journal of Apitherapy* 2(1):9-14.
- Badan Standarisasi Nasional Indonesia. 2018. SNI 8664- 2018: Madu. Badan Standarisasi Nasional Indonesia, Jakarta.
- Battikh, H., Chaieb, K., Bakhrouf, A., & Ammar, E. (2013). Antibacterial and antifungal activities of black and green kombucha teas. *Journal of Food Biochemistry*, 37(2), 231-236. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2011.00629.x>
- Borkani, R. A., Douidi, M., & Rezayatmand, Z. (2016). Study of the Anti-Bacterial Effects of Green and Black Kombucha Teas and Their Synergetic Effect against Some Important Gram Positive Pathogens Transmitted by Foodstuff. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*, 7, 1741-1747. <https://bipublication.com/files/201603207Monir.pdf>
- Budiasih KS. 2017. Kajian potensi farmakologis bunga telang (*Clitoria ternatea*L.). Dalam: *Sinergi penelitian dan pembelajaran untuk mendukung pengembangan literasi kimia pada era global*. Prosiding Seminar Nasional Kimia. Yogyakarta (Indonesia). hal. 201-206.

- Fadillah, M. F., Hariadi, H., Kusumiyati, K., Rezaldi, F., & Setyaji, D. Y. (2022). Karakteristik Biokimia Dan Mikrobiologi Pada Larutan Fermentasi Kedua Kombucha Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L) Sebagai Inovasi Produk Bioteknologi Terkini. *Jurnal Biogenerasi*, 7(2), 19-34. <https://doi.org/10.30605/biogenerasi.v7i2.1765>
- Fathurrohman, M. F., Rezaldi, F., Safitri, E., Setyaji, D.Y., Fadhillah, F.R., Fadillah, M.F., Hidayanto, F., & Kolo, Y. (2022). Analisis Potensi Fermentasi Kombucha Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) dengan Konsentrasi Gula Stevia sebagai Inhibitor Pertumbuhan Bakteri Patogen. *Jurnal Jeumpa*, 9(2), 729-738. <https://doi.org/10.33059/jj.v9i2.6357>
- Feronica I. 2012. Kajian kemurnian madu komersial di Kota Bogor dengan menggunakan berbagai metode pengujian. Skripsi (tidak dipublikasikan). Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Handayani, F., Sundu, R., & Sari, R. M. (2017). Formulasi dan uji aktivitas antibakteri streptococcus mutans dari sediaan mouthwash ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.). *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 1(8), 422-433. <https://doi.org/10.25026/jsk.v1i8.62>
- Jayabalan, R., Chen, P. N., Hsieh, Y. S., Prabhakaran, K., Pitchai, P., Marimuthu, S., ... & Yun, S. E. (2011). Effect of solvent fractions of kombucha tea on viability and invasiveness of cancer cells – characterization of dimethyl 2-(2-hydroxy-2-methoxypropylidene) malonate and vitexin.
- Jayabalan, R., Malbaša, R. V., Lončar, E. S., Vitas, J. S., & Sathishkumar, M. (2014). A review on kombucha tea – microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 13(4), 538-550.
- Khaleil, M. M., Abd Ellatif, S., Soliman, M. H., Abd Elrazik, E. S., & Fadel, M. S. (2020). A Bioprocess Development Study of Polyphenol Profile, Antioxidant and Antimicrobial Activities Of Kombucha Enriched With *Psidium guajava* L. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 9(6), 1204-1210. <https://office2.jmbfs.org/index.php/JMBFS/article/view/4505>
- Konchzak, I., Zhang, W. 2014. Anthocyanins more than Nature's Colours. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. Vol 5, No. 2. 239-250.
- Kumar, V., & Joshi, V. K. (2016). Kombucha: Technology, microbiology, production, composition and therapeutic value. *International Journal of Food and Fermentation Technology*, 6(1), 13-24. <http://dx.doi.org/10.5958/2277-9396.2016.00022.2>
- Kunnaryo, H. J. B., & Wikandari, P. R. (2021). Antosianin dalam Produksi Fermentasi dan Perannya sebagai Antioksidan. 10(1), 24-36. <https://ejournal.unesa.ac.id/index.php/unesa-journal-of-chemistry/article/view/40298>.

- Loypimai, P., Moongngarm, A., & Chottanom, P. (2016). Thermal and pH degradation kinetics of anthocyanins in natural food colorant prepared from black rice bran. *Journal of Food Science and Technology*, 53(1), 461-470. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-2002-1>
- Ma'ruf, A., Safitri, E., Ningtias, R. Y., Pertiwi, F. D., & Rezaldi, F. (2022). ANTIBAKTERI GRAM POSITIF DAN NEGATIF DARI SEDIAAN SABUN CUCI PIRING FERMENTASI KOMBUCHA BUNGA TELANG (*Clitoria ternatea* L) SEBAGAI PRODUK BIOTEKNOLOGI FARMASI. *Jurnal Kesehatan dan Kedokteran*, 1(2), 16-25. <https://doi.org/10.56127/jukeke.v1i2.115>
- Pertiwi, F. D., Rezaldi, F., & Puspitasari, R. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *BIOSAIN TROPIS (BIOSCIENCE-TROPIC)*, 7(2), 57-68. <https://doi.org/10.33474/e-jbst.v7i2.471>
- Pujiarti, R. Kualitas Tiga Jenis Madu Hutan Suku Baduy. *Jurnal Ilmu Kehutanan*, 15(2), 123-136.
- Priyono, P., & Riswanto, D. (2021). Studi Kritis Minuman Teh Kombucha: Manfaat Bagi Kesehatan, Kadar Alkohol Dan Sertifikasi Halal. *International Journal Mathla'ul Anwar of Halal Issues*, 1(1), 9-18. <https://doi.org/10.30653/ijma.202111.7>
- Puspitasari, M., Rezaldi, F., Handayani, E. E., & Jubaedah, D. (2022). KEMAMPUAN BUNGA TELANG (*Clitoria ternatea* L) SEBAGAI ANTIMIKROBA (*Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus hominis*, *Trycophyton mentagrophytes*, dan *Trycophyton rubrum*) MELALUI METODE BIOTEKNOLOGI FERMENTASI KOMBUCHA. *Jurnal Medical Laboratory*, 1(2), 1-10. <https://ejournal.stikeskesosi.ac.id/index.php/Medlab/article/view/36>
- Rezaldi, F., Ningtias, R.Y, Anggraeni, S.D, Ma'ruf, A, Fatonah, N.S, Pertiwi, F.D, Fitriyani, A. Lucky, D, US. Sunarlin, Fadillah, M.F, Subekhi.A.I. 2021 Pengaruh Metode Bioteknologi Fermentasi Kombucha Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) Sebagai Antibakteri Gram Positif Dan Negatif. *Jurnal Biotek*. 9 (2). <https://doi.org/10.24252/jb.v9i2.25467>
- Rezaldi, F., Rachmat, O., Fadillah, M. F., Setyaji, D. Y., & Saddam, A. (2022). Bioteknologi Kombucha Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) Sebagai Antibakteri *Salmonella thypi* dan *Vibrio parahaemolyticus* Berdasarkan Konsentrasi Gula Aren. *Jurnal Gizi Kerja dan Produktivitas*, 3(1), 13-22. <http://dx.doi.org/10.52742/jgkp.v3i1.14724>
- Rezaldi, F., Eman, E., Pertiwi, F. D., Suyamto, S., & Sumarlin, U. S. (2022). POTENSI BUNGA TELANG (*Clitoria ternatea* L) SEBAGAI Antifungi *Candida albicans*, *Malasezia furfur*, *Pitosporum ovale*, dan *Aspergillus fumigatus* DENGAN METODE BIOTEKNOLOGI FERMENTASI KOMBUCHA. *Jurnal Ilmiah Kedokteran dan Kesehatan*, 1(2), 1-9. <https://doi.org/10.55606/klinik.v1i2.381>

- Rezaldi, F., Setiawan, U., Kusumiyati, K., Trisnawati, D., Fadillah, M. F., & Setyaji, D. Y. (2022). Bioteknologi Kombucha Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) dengan Variasi Gula Stevia sebagai Antikolesterol pada Bebek Pedaging. *Jurnal Dunia Farmasi*, 6(3), 156-169. <https://doi.org/10.33085/jdf.v6i3.5279>
- Rezaldi, F., Fadillah, M. F., Agustiansyah, L. D., Trisnawati, D., & Pertiwi, F. D. (2022). Pengaruh Metode Bioteknologi Fermentasi Kombucha Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) Sebagai Penurun Kadar Kolesterol Bebek Pedaging Berdasarkan Konsentrasi Gula Aren Yang Berbeda-Beda. *Jurnal Biogenerasi*, 7(2), 57-67. <https://doi.org/10.30605/biogenerasi.v7i2.1772>
- Rezaldi, F., Hidayanto, F., Setyaji, D. Y., Fathurrohman, M. F., & Kusumiyati, K. (2022). Bioteknologi Kombucha Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) Sebagai Antibakteri *Streptococcus* mutan dan *Klebsiella pneumoniae* Berdasarkan Konsentrasi Gula Yang Berbeda-Beda. *Jurnal Farmagazine*, 9(2), 21-27. <http://dx.doi.org/10.47653/farm.v9i2.608>
- Rochmat, A., Aditya, G., Kusmayanti, N., Kustiningsih, I., Hariri, A., & Rezaldi, F. (2022). In vitro Activity and Docking Approach In Silico Leaf Extract *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp. as a *Salmonella typhi* Inhibitor. *Trends in Sciences*, 19(16), 5654-5654. <https://doi.org/10.48048/tis.2022.5654>
- Saati, E. A. (2016). Antioxidant power of rose anthocyanin pigment. *ARP Journal of Engineering and Applied Sciences*, 11(17), 1201-1204. <https://eprints.umm.ac.id/57868/>
- Situmeang, B., Shidqi, M. M. A., & Rezaldi, F. (2022). THE EFFECT OF FERMENTATION TIME ON ANTIOXIDANT AND ORGANOLEPTIC ACTIVITIES OF BIDARA (*Zizipus spina CRISTI* L.) KOMBUCHA DRINK. *BIOTIK: Jurnal Ilmiah Biologi Teknologi dan Kependidikan*, 10(1), 73-93. <http://dx.doi.org/10.22373/biotik.v10i1.11370>
- Sreeramulu, G., Zhu, Y., & Knol, W. (2000). Kombucha fermentation and its antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6), 2589- 2594. <https://doi.org/10.1021/jf991333m>
- Taupiqurrohman, O., Rezaldi, F., Fadillah, M.F., Amalia, D., & Suryani, Y. (2022). Anticancer Potency of Dimethyl 2-(2-Hydroxy-2-Methoxypropylidene) Malonate in Kombucha. *Jurnal Biodjati*, 7(1), 86-94. <https://doi.org/10.15575/biodjati.v7i1.14634>
- Widodo A. 2013. Budidaya lebah madu sengatan untungnya kiandiburu. PenerbitPustakaBaruPress, Yogyakarta.

- Wistiana, D., & Zubaidah, D. (2015). E. Chemical and Microbiological Characteristics of Kombucha from Various High Leaf Phenols During Fermentation. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3(4), 1446-145.
- Yanti, N. A., Ambardini, S., Ardiansyah, A., Marlina, W. O. L., & Cahyanti, K. D. (2020). Aktivitas Antibakteri Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Dengan Konsentrasi Gula Berbeda. *Berkala Sainstek*, 8(2), 35-40.
<https://doi.org/10.19184/bst.v8i2.15968>.