



KARAKTERISTIK BOKIMIA DAN MIKROBIOLOGI PADA LARUTAN FERMENTASI KEDUA KOMBUCHA BUNGA TELANG (*Clitoria ternatea L*) SEBAGAI INOVASI PRODUK BIOTEKNOLOGI TERKINI

M. Fariz Fadillah, Program Studi Teknologi Pangan FTI Unma Banten
Hari Hariadi, Pusat Riset Teknologi Tepat Guna. Badan Riset dan Inovasi Nasional
Kusumiyati, Program Studi Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Padjajaran Jatinangor
Firman Rezaldi, Program Studi Farmasi FSFK Unma Banten
Diyan Yunanto Setyaji, Program Studi Sarjana Gizi STIKes Panti Rapih Daerah Istimewa Yogyakarta

Correspondensi Email : farizfadillah91@gmail.com

Abstract

*Telang flower (Clitoria ternatea L) contains anthocyanins which have potential as antioxidants and also antibacterial. Telang flower can be processed into kombucha drink which is the latest biotechnology product innovation from its biochemical and microbiological characteristics. The addition of Clover Honey can be used as a sweetener as well as a source of nutrition in the manufacture of telang flower kombucha drink in the second fermentation. Therefore, in this study, telang flower kombucha that had been harvested for 2 weeks was added with Clover Honey for an additional 7 days, namely 21 days. The research method used in this research is a Randomized Block Design (RAK) which is divided into two factors. The first factor is the fermentation of 1 week-old telang flower kombucha at sugar concentrations (20%, 30%, and 40%) and the second factor is the telang flower kombucha fermentation with the addition of Clover Honey at the honey concentration (20%, 30%, and 40%).). Observational data were analyzed using ANOVA with further test of BNT (Least Significant Difference) or DMRT 5% and if there was an interaction between the two factors. The results obtained after the telang flower kombucha was fermented for 21 days, namely the concentration of honey had a significant effect ($\alpha=0.05$) on the total acid value, pH, total phenol, total sugar, and total microbe. The best treatment was obtained at 40% concentration, namely total acid 1.88%, total phenol 115.71 ppm, total sugar 23.53%, and total microbes 8.01 log CFU/mL. The best treatment to determine the microbiological characteristics of telang flower kombucha (*Clitoria ternatea L*) during the second fermentation and after adding Clover Honey was a concentration of 40%. The antibacterial activity of *Staphylococcus aureus* has an average inhibition zone diameter of 17.54 mm with a strong category. 16.73 mm in *Staphylococcus epidermidis* in the strong category. 15.96 mm in *Pseudomonas aeruginosa* in the strong category. 15.26 mm on *Escherichia coli* bacteria with a strong category. The biochemical and microbiological characteristics produced by telang flower kombucha through the second fermentation are one of the new breakthroughs to create the latest biotechnology product innovations.*

Keywords: *Telang Flower. Kombucha, Added Honey*

Abstrak

Bunga telang (*Clitoria ternatea* L) mengandung Antosianin yang dapat berpotensi sebagai antioksidan dan juga antibakteri. Bunga telang dapat diolah menjadi minuman kombucha yang merupakan inovasi produk bioteknologi terkini dari kayanya karakteristik biokimia dan mikrobiologi. Penambahan madu jenis *Clover Honey* dapat dimanfaatkan sebagai pemanis serta sumber nutrisi dalam pembuatan minuman kombucha bunga telang pada fermentasi kedua. Oleh karena itu, dalam penelitian ini kombucha bunga telang yang telah dipanen selama 2 minggu lalu ditambahkan madu *Clover Honey* selama waktu tambahan 7 hari yaitu 21 hari. Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang terbagi menjadi dua faktor. Faktor I yaitu fermentasi kombucha bunga telang berumur 1 minggu pada konsentrasi gula (20%, 30%, dan 40%) dan faktor kedua yaitu fermentasi kombucha bunga telang dengan penambahan madu *Clover Honey* pada konsentrasi madu (20%, 30%, dan 40%). Data hasil pengamatan dianalisis menggunakan ANOVA dengan uji lanjut BNT (Beda Nyata Terkecil) atau DMRT 5% dan jika terdapat interaksi antara kedua faktor. Hasil yang telah diperoleh setelah kombucha bunga telang difermentasi selama 21 hari yaitu konsentrasi madu berpengaruh nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap nilai total asam, pH, total fenol, total gula, dan total mikroba. Perlakuan terbaik diperoleh yaitu pada konsentrasi 40% yaitu total asam 1.88%, total fenol 115.71 ppm, total gula 23.53%, dan total mikroba 8.01 log CFU/mL. Perlakuan terbaik untuk mengetahui karakteristik mikrobiologi pada kombucha bunga telang (*Clitoria ternatea* L) selama fermentasi kedua dan pasca ditambahkan madu *Clover Honey* adalah konsentrasi 40%. Aktivitas antibakteri pada *Staphylococcus aureus* memiliki rata-rata diameter zona hambat sebesar 17,54 mm dengan kategori kuat. 16,73 mm pada bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan kategori kuat. 15,96 mm pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan kategori kuat. 15,26 mm pada bakteri *Escherichia coli* dengan kategori kuat. Karakteristik biokimia dan mikrobiologi yang dihasilkan oleh kombucha bunga telang melalui fermentasi yang kedua merupakan salah satu terobosan baru untuk menciptakan inovasi produk bioteknologi terkini.

Kata Kunci: *Edmodo, motivasi belajar, biologi*

© 2022 Universitas Cokroaminoto palopo

Correspondence Author :
M. Fariz Fadillah, Program Studi Teknologi Pangan
Fakultas Teknologi dan Informatika,
Universitas Mathla'ul Anwar Banten, Indonesia

PENDAHULUAN

Bunga telang (*Clitoria ternatea* L) merupakan salah satu tanaman komoditas hortikultura yang secara farmakologi mempunyai karakteristik biokimia dan mikrobiologi. Karakteristik biokimia dan mikrobiologi yang dimaksud adalah berkhasiat sebagai antioksidan, antibakteri, antikanker, antiinflamasi, dan juga antiaging. Tanaman tersebut kayak antosianin dimana antosianin akan lebih stabil jika difermentasi oleh BAL (Bakteri Asam Laktat) baik pada suhu, pH, dan juga enzim. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Hunaefi et al (2013), menyatakan bahwa proses fermentasi telah terbukti berpotensi dalam meningkatkan aktivitas antioksidan pada kubis merah yang bernilai 154,87 ppm menjadi 43,56 ppm dengan menggunakan metode DPPH (2,2 -*diphenyl-picrylhydrazyl*). Proses fermentasi menggunakan BAL idealnya mampu menghasilkan asam laktat maupun senyawa asam lemak berantai pendek sehingga berpotensi dalam menurunkan pH, dan menyebabkan antosianin tetap stabil sebagai antioksidan. Hasil penelitian lain yang mendukung telah dilakukan oleh Dibiyanti et al., (2014), menyatakan bahwa Fermentasi BAL pada susu berpotensi dalam menurunkan pH dan Panda et al., (2007), menyatakan bahwa proses fermentasi ubi jalar ungu oleh *Lactobacillus plantarum* MTCC 1407 telah terbukti berpotensi dalam memproduksi produk pickle pada pH 2,6 selama 7 hari.

Fermentasi BAL salah satunya ada pada kombucha. Kombucha merupakan minuman fermentasi teh yang dikembangkan melalui konsorsium bakteri dan ragi (*Scoby/Symbiotic Colony / Culture Bacteria & Yeast*) yang berperan sebagai starter atau kultur awal dalam membantu proses fermentasi teh, sehingga menghasilkan aroma dan rasa pada teh menjadi asam. Substrat yang dibutuhkan pada proses fermentasi kombucha adalah gula pasir putih yang ber SNI. Hasil dari perombakan gula pasir putih tadi akan diubah oleh bakteri menjadi asam-asam organik seperti asam asetat, asam glukonat, asam malat, asam glukoronat, asam malat, asam folat. Selain itu enzim, mineral, dan vitamin C. Sedangkan oleh sekelompok ragi yang berperan penting dalam proses fermentasi kombucha gula pasir putih akan dirombak menjadi etanol dalam kadar rendah dan CO₂.

Etanol atau alkohol yang telah dihasilkan dalam proses fermentasi kombucha dalam kadar rendah halal untuk dikonsumsi, sehingga memiliki nilai gizi dan efek farmakologi yang baik bagi tubuh baik dalam mencegah penyakit degeneratif maupun dalam mengobati penyakit sehari-hari yang banyak ditemukan. Kombucha berkhasiat sebagai sumber antioksidan, antibakteri, perbaikan mikroflora usus, imunomodulator, dan penurun tekanan darah (Suhardini & Zubaidah, 2015).

Produk fermentasi teh atau yang dikenal sebagai kombucha merupakan salah satu produk bioteknologi terkini yang sangat berperan sebagai peningkat sistem kekebalan tubuh terutama di era pandemic COVID-19 dimana pasien COVID-19 secara internasional per tanggal 6 April 2021 telah mencapai 131.020.967 Individu (Rezaldi, Taupiqurrohman et al., 2021) serta mengalami peningkatan sebanyak 6.731 Individu (Shereen et al., 2020). Kombucha yang berkhasiat sebagai antibakteri, antioksidan, dan juga antikanker membuka peluang yang tinggi pula untuk dikembangkan sebagai minuman fungsional, bahan aktif atau baku obat dan juga kosmetik halal dalam perspektif bioteknologi (Rezaldi, Ma'ruf, et al., 2021). Kandungan asam organik dalam bentuk asam asetat yang terdapat pada kombucha berpotensi sebagai antibakteri. Hasil penelitian yang dilakukan oleh (Al-Kalifawi, 2014) menyatakan bahwa kombucha yang berbahan dasar teh hitam telah berpotensi sebagai antibakteri baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli*.

Berbagai hasil penelitian mengenai potensi kombucha yang berbahan dasar teh hitam, dan teh hijau telah banyak dilakukan, namun penelitian kombucha yang berbahan dasar bunga telang belum banyak yang mengupas secara terperinci. Hasil penelitian mengenai kombucha bunga telang saat ini baru terkemuka oleh Rezaldi et al (2021), menyimpulkan bahwa fermentasi kombucha bunga telang berpotensi sebagai antibakteri gram positif dan negatif. Konsentrasi gula 40% merupakan konsentrasi gula terbaik dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen baik gram positif maupun negatif. Konsentrasi gula dalam proses pembuatan kombucha

memiliki peranan penting dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Marwati & Hanria, 2013). Pertumbuhan mikroorganisme patogen yang dipengaruhi oleh konsentrasi gula yang berbeda-beda mempengaruhi pula pada kandungan senyawa kimia organik dalam bentuk asam-asam organik pada proses fermentasi kombucha (Simanjutak & Siahaan, 2011). Hal tersebut menyebabkan kadar asam yang semakin tinggi serta berpotensi dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen (Kumar & Joshi, 2016).

Pandangan yang selaras pada hasil penelitian Yanti et al., (2020) telah menyimpulkan bahwa kombucha yang berbahan dasar daun sirsak berpotensi sebagai antibakteri serta konsentrasi gula 20% merupakan konsentrasi gula terbaik dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen baik gram positif maupun negatif. Pemanfaatan kombucha yang berbahan dasar bunga telang dalam penelitian khususnya pada fermentasi yang kedua akan memanfaatkan sumber nutrisi atau substrat dalam bentuk madu jenis *Clower honey*. Jenis madu tersebut merupakan produk dari HDI yang telah banyak digunakan untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan perlu dibuktikan dalam penelitian ini mengenai karakteristik biokimia berupa total fenol, total asam, pH, dan total gula. Serta karakteristik mikrobiologi berupa analisis total mikroba, analisis antibakteri pada spesies *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli*.

Menurut Sarwono (2001) madu secara natural umumnya tersusun atas 17.10% air, 82.40% karbohidrat yaitu dengan komposisi 38% fruktosa, dan 12.90% gula dari jenis lain, 0.50% protein, asam amino, senyawa fenolik, vitamin, asam organik, dan juga berbagai mineral. Oleh sebab itu madu jenis *Clower honey* akan dimanfaatkan dalam penelitian ini sebagai sumber nutrisi sekaligus untuk memberikan rasa manis pada fermentasi kedua kombucha bunga telang sebagai inovasi produk bioteknologi terkini karena madu tersusun atas beberapa molekul gula seperti glukosa dan fruktosa. Menurut Rosita (2007), faktor keutamaan madu terhadap aktivitas antibakteri yaitu pada kadar gula madu yang tinggi akan berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri, sehingga bakteri tidak

berpotensi kembali untuk dapat berkembang biak. Oleh karena itu pada penelitian ini akan dilakukan penelitian mengenai pengaruh penambahan madu terhadap aktivitas antibakteri pada proses fermentasi kombucha bunga telang (*Clitoria ternatea* L) sebagai inovasi produk bioteknologi terkini.

METODE

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah *Scooby* atau kultur awal kombucha, bunga telang yang sudah kering, madu jenis *Clower Honey*, dan air. Mikroba yang digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri diantaranya adalah *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli*. Bahan-bahan yang digunakan untuk analisis aktivitas antibakteri diantaranya adalah *Nutrient Agar* dan *Nutrient Broth*. Bahan-bahan yang digunakan untuk analisis lain diantaranya adalah aquades, asam oksalat, indikator pp, NaOH 0,1 N, anthrone, H₂SO₄, reagen ciocalcetau, asam galat, larutan Na₂CO₃ 7,50%, alkohol 70%, etanol 98%, buffer pH 4, dan buffer pH 7.

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 putih, pisau, karet gelang, sarung tangan, spektrofotometer, kuvet, kompor listrik, labu ukur 50 mL, labu ukur 10 mL, erlenmeyer 250 mL, bola hisap, aluminium foil, penangas air, kertas coklat, *Laminair Air Flow* (LAF), *falcon tubes*, mikropipet 1000 mikroliter, mikropipet 100 mikroliter, cawan petri, *bluetip*, *yellowtip*, ose, bunsen, incubator, korek api, masker, plastik steril, Loyang, dan autoklaf.

Metode Penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok yang terbagi menjadi 2 faktor. Faktor I yaitu Larutan Konsentrasi Gula Kombucha Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) pada fermentasi yang pertama yaitu (20%, 30%, dan 40%) dan faktor II yaitu konsentrasi madu jenis *Clower Honey* yaitu (20%, 30%, dan 40%). Setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

Pengujian sifat fisik dari larutan fermentasi kombucha bunga telang dilakukan

secara visual meliputi warna. Analisis sifat biokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan awal sebelum dilakukan penelitian yaitu dalam bentuk total fenol. Pengujian sifat biokimia pada larutan fermentasi kombucha bunga telang (*Clitoria ternatea* L) yang kedua setelah ditambahkan madu *Clover Honey* tersaji pada tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Biokimia Larutan Fermentasi Kombucha Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) pada Fermentasi pertama

Karakteristik Biokimia	Kombucha Bunga Telang + Madu <i>Clover Honey</i> 20%	Kombucha Bunga Telang + Madu <i>Clover Honey</i> 30%	Kombucha Bunga Telang + Madu <i>Clover Honey</i> 40%
Total Fenol (ppm)	162.68	117.31	369.44

Analisis sifat dari Biokimia dari madu *Clover Honey* pada larutan fermentasi kombucha bunga telang (*Clitoria ternatea* L) yang kedua dilakukan untuk mengetahui kandungan awal sebelum dilakukan penelitian seperti pH, total gula, total fenol, dan total asam. Pengujian sifat fisik biokimia pada madu *Clover Honey* tersaji pada tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik Biokimia Madu Jenis *Clover Honey*

Karakteristik Biokimia	Madu <i>Clover Honey</i>
pH	3.15
Total Asam (%)	0.39
Total Gula (%)	59.27
Total Fenol (ppm)	360.59

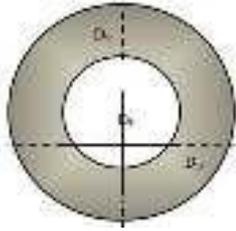
Bunga telang yang telah diperoleh dari kota Cilegon, khususnya Desa Pekuncen Kelurahan Ciwedus, diambil sebanyak 500 gram dalam kondisi segar, lalu dicuci sampai bersih, serta dikeringanginkan. Bunga telang yang telah kering disimpan pada wadah bersih untuk direbus dan juga difermentasi oleh *Scoby* (Rezaldi et al., 2021)

Tahapan yang pertama dalam pembuatan fermentasi kombucha bunga telang yang kedua (*Clitoria ternatea* L) yaitu 1) tambahkan madu *Clover Honey* sesuai

perlakuan yaitu 20% pada konsentrasi gula 20% dari fermentasi kombucha bunga telang yang pertama, 30% pada konsentrasi gula 30% dari fermentasi kombucha bunga telang yang pertama, dan 40% pada konsentrasi gula 40% dari fermentasi kombucha bunga telang yang pertama; 2) aduk madu *clover honey* yang sudah ditambahkan pada masing-masing larutan fermentasi kombucha bunga telang, 3) tambahkan starter kombucha yang berusia 1 minggu sebanyak 8% (v/v) pada setiap perlakuan; 4) tutup toples kaca dengan kain penutup supaya proses fermentasi kombucha bunga telang yang kedua berjalan secara statis dari hari ke 14 menuju hari ke 21.

Tahapan-tahapan dalam pengujian antibakteri menggunakan difusi cakram diantaranya adalah 1) siapkan cawan petri sebanyak 24 buah untuk dituangkan ke dalam media MHA (*Muller Hinton Agar*) sebanyak 15 mL pada masing-masing cawan petri; 2) diamkan media tersebut sampai kondisi menjadi padat. 3) Celupkan lidi pada kapas steril terutama bagian dalam suspensi bakteri spesies *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli*. 4) usap pada media MHA sampai permukaan dapat tertutup secara keseluruhan. 5) tempelkan *disk* yang sudah direndam pada sediaan larutan fermentasi kombucha bunga telang yang kedua dengan variasi konsentrasi tertentu yaitu pada Cawan I 20%, Cawan II 30%, Cawan III 40%, Cawan IV berisi kontrol positif berupa larutan fermentasi kombucha berbahan dasar teh hitam, dan Cawan 5 berisi kontrol negatif berupa aquades. 6) lakukan pengulangan sebanyak 3 kali. 7) inkubasi selama 24 jam. 8) lakukan pengukuran diameter zona hambat pada masing-masing perlakuan (Handayani et al., 2017)

Perhitungan diameter zona hambat adalah salah satu kegiatan yang dilakukan dalam menentukan zona bening dan bertujuan untuk mengetahui adanya daya hambat pada suatu agen antibakteri. Agen antibakteri yang digunakan dapat berupa ekstrak kental atau larutan fermentasi. Alat yang digunakan dalam mengukur diameter zona hambat adalah jangka sorong analitik. Rumus untuk menentukan diameter zona hambat yang terbentuk berdasarkan adanya zona bening diantaranya terlihat di gambar 1.



Gambar 1. Perhitungan diameter zona hambat (DV= Diameter Vertikal; DH= Diameter Horizontal; DC= Diameter Cakram (Manaroinsong, 2015))

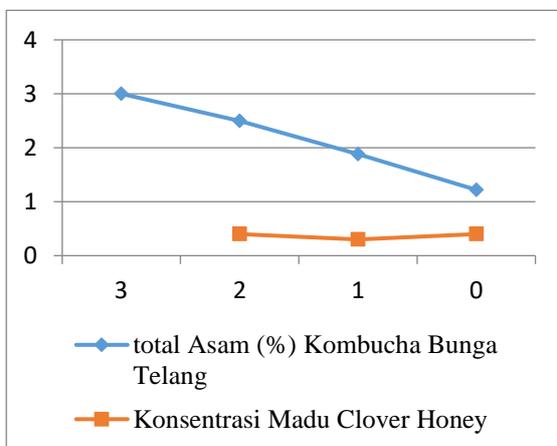
Hasil Penelitian yang diperoleh akan diolah datanya menggunakan analisis statistik yaitu menggunakan ANOVA satu jalur pada taraf 95%. Jika data dari hasil penelitian memiliki perbedaan bermakna idealnya dapat ditindaklanjuti menggunakan uji *post hoc*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Analisis Total Asam

Hasil pengamatan yang didapatkan pada fermentasi kombucha bunga telang yang kedua menunjukkan total asam selama proses fermentasi 21 hari yaitu berkisar antara 1.22% - 1.88%. Pengaruh perlakuan konsentrasi gula pada kombucha bunga telang 1 dan perlakuan konsentrasi madu *Clover Honey* pada fermentasi kombucha bunga telang dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Grafik Rerata Nilai Total Asam pada Fermentasi Kedua Kombucha Bunga

Telang dengan Penambahan Madu *Clover Honey*.

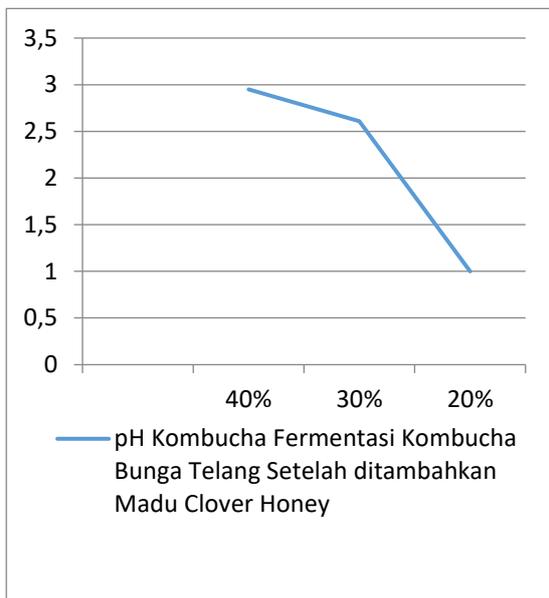
Gambar 2 menunjukkan bahwa semakin tinggi penambahan madu jenis *Clover Honey* maka nilai total asam yang diproduksi semakin tinggi. Hal tersebut dapat disebabkan oleh meningkatnya penambahan madu jenis *Clover Honey* yang berperan sebagai substrat bagi starter atau kultur awal kombucha sehingga jumlah asam-asam organik yang dihasilkan lebih banyak. Selama fermentasi terjadi secara langsung khamir idealnya akan merombak sukrosa yang terkandung pada media fermentasi menjadi glukosa dan fruktosa. Lalu glukosa akan dikonversi menjadi asam glukonat melalui jalur fosfat pentosa yang dilakukan oleh bakteri asam asetat. Fruktosa secara mayoritas dimetabolisme menjadi asam asetat dan sejumlah kecil asam glukonat (Hidayat, 2006). Sukrosa adalah salah satu sumber energi dimana sukrosa pada madu *Clover Honey* secara ideal akan dikonversi menjadi glukosa yang dimanfaatkan sebagai substrat dalam menunjang pertumbuhan sel dan sintesis asam asetat (Marwati et al., 2013). Pada penelitian ini terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi madu *Clover Honey* yang diberikan maka semakin tinggi kandungan asam-asam organik yang dihasilkan sehingga nilai total asam pun menjadi meningkat (Murti, 2007). Selain itu madu juga mempunyai total asam sebesar 0,57% sehingga berpotensi dalam mempengaruhi nilai asam secara keseluruhan pada fermentasi kombucha bunga telang (Koswara, 2009).

Adanya peningkatan asam organik yang dihasilkan pada fermentasi kombucha bunga telang yang kedua karena waktu fermentasi yang digunakan semakin panjang sehingga asam organik yang dihasilkan khususnya jenis asam asetat dapat dimanfaatkan sebagai produk metabolisme oleh bakteri *Acetobacter* (Malbasa et al., 2008).

Analisis pH

Hasil pengamatan pada fermentasi kombucha bunga telang yang kedua menunjukkan rata-rata pH berkisar antara 2.61 sampai 2.95. Pengaruh perlakuan gula pada fermentasi kombucha yang pertama dan konsentrasi madu jenis *Clover Honey* pada

fermentasi kombucha yang kedua dapat dilihat pada gambar 3.



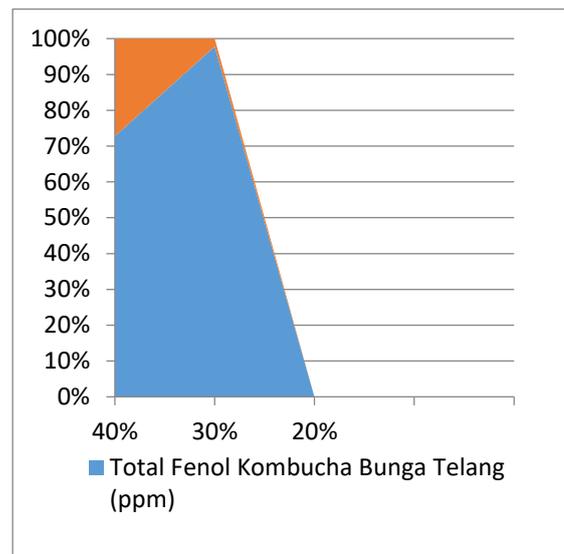
Gambar 3 menunjukkan bahwa nilai pH tertinggi terdapat pada kombucha bunga telang pada konsentrasi 40% dan nilai pH terendah terdapat pada fermentasi kombucha bunga telang konsentrasi 20%. Hal tersebut menandakan bahwa semakin tinggi konsentrasi madu yang ditambahkan, maka semakin banyak asam-asam organik yang dihasilkan. Antosianin yang terkandung pada bunga telang (*Clitoria ternatea* L) akan lebih stabil dalam menjaga kestabilan pH dengan cara menurunkan pH (Kunaryo & Wikandari, 2021).

Analisis Total Fenol

Hasil pengamatan pada fermentasi kombucha bunga telang yang kedua menunjukkan rata-rata total fenol selama 21 hari berkisar antara 532.83 ppm – 1115.71 ppm. Pengaruh perlakuan konsentrasi gula pada fermentasi kombucha yang pertama dan konsentrasi madu pada fermentasi kombucha yang kedua dapat dilihat pada gambar 4.

Gambar 4 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi madu yang diberikan maka semakin tinggi pula total fenolnya. Proses fermentasi menyebabkan kadar fenol pada kombucha bunga telang menjadi meningkat. Hal tersebut dapat terduga adanya mikroorganisme yang bermetabolisme dapat meningkatkan senyawa fenol melalui reaksi enzimatik sehingga berpotensi dalam

mempengaruhi nilai total fenol pada produk kombucha bunga telang. Peningkatan kadar fenolik secara total dapat disebabkan karena selama fermentasi, enzim yang dibebaskan oleh bakteri dan khamir yang terkandung pada larutan fermentasi kombucha bunga telang akan mendegradasi senyawa polifenol yang bersifat kompleks menjadi senyawa polifenol yang sederhana (Bhattacharya et al., 2011).



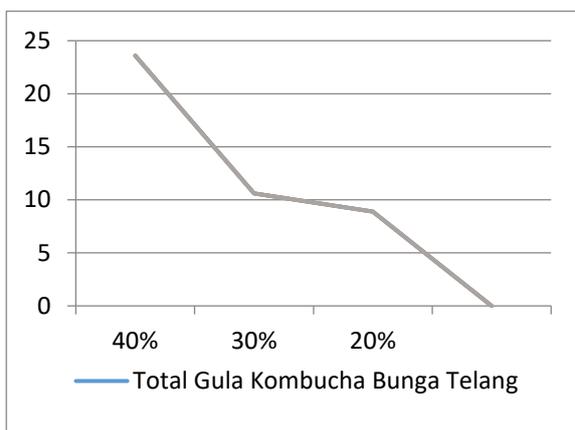
Gambar 4. Grafik Rerata nilai Total Fenol pada Fermentasi Kombucha Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) kedua setelah ditambahkan madu *Clover Honey*

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Chayati dan Isnati (2014) menyatakan bahwa madu pun mempunyai komponen fenolat yang secara dominan seperti asam klorogenat dan asam kafeat. Selain madu, hasil penelitian yang dilakukan oleh Pertiwi et al (2022) bunga telang mengandung senyawa flavonoid. Flavonoid pada bunga telang adalah salah satunya Antosianin yang merupakan salah satu senyawa yang berkhasiat sebagai antioksidan dan juga akan stabil jika difermentasi oleh BAL. Hasil penelitian Wiczowski et al., (2015) menyatakan bahwa proses fermentasi pada kubis merah berpotensi dalam mempertahankan kandungan antosianin yang terkandung di dalamnya dalam menangkal radikal bebas. Beek dan Priest (2000) menyatakan bahwa peningkatan jumlah senyawa fenol selama proses fermentasi disebabkan karena mikroba berpotensi untuk mendekarboksilasi komponen asam sinamat seperti *trans-4-hydroxy-methoxycinnamic acid* (*ferulic acid* (FA)) dan *trans-4hydroxynnamic*

acid (*p-coumaric acid* (*PCA*)) untuk mensintesis senyawa fenol yaitu 4-*vinyguaiacol* (4-VG) dan 4-*vinyphenol* (4-Vp). Adanya aktivitas enzim fenol reduktase merupakan salah satu penyebab terjadinya mekanisme dekarboksilasi asam sinamat menjadi vinil fenol yang idealnya dilakukan oleh khamir.

Analisis Total Gula

Data mengenai hasil analisis pengamatan pada fermentasi kombucha kedua bunga telang menunjukkan rata-rata total gula selama proses fermentasi 21 hari berkisar antara 10.59% – 23.53%. Pengaruh perlakuan gula pada fermentasi kombucha yang pertama dan konsentrasi madu jenis *Clover Honey* pada fermentasi kombucha yang kedua dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5. Grafik rata-rata Nilai Total Gula pada Fermentasi Kombucha Bunga Telang setelah ditambahkan madu jenis *Clover Honey*

Gambar 5 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi madu jenis *Clover Honey* yang diberikan maka semakin tinggi nilai total dari gula. Hal tersebut dapat diduga selama proses fermentasi kombucha bunga telang terjadi pemecahan pati pada bunga telang menjadi gula sederhana oleh asam. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Utami et al (2014) menyatakan bahwa proses hidrolisis akan meningkat oleh konsentrasi asam yang tinggi. Salah satu jenis asam yang berperan sebagai katalis pada mekanisme reaksi hidrolisis pati yaitu asam asetat. Sehingga pati akan mengalami mekanisme terputusnya rantai yang disebabkan oleh enzim atau asam untuk menjadi molekul-molekul lain yang lebih kecil. Adanya beberapa peningkatan

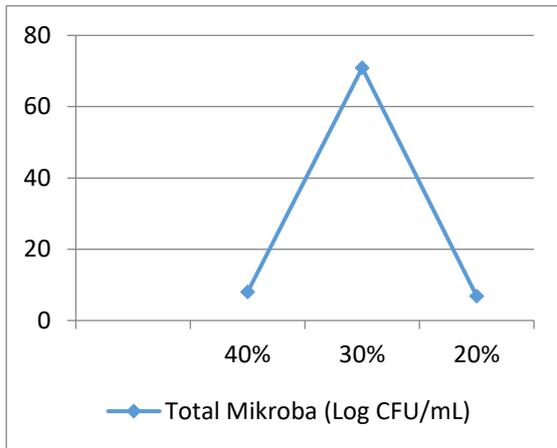
dalam reaksi hidrolisis tersebut diantaranya adalah molekul pati yang awalnya pecah menjadi unit rantai glukosa yang lebih pendek yaitu 6 sampai 10 molekul yang dikenal sebagai dekstrin. Dekstrin tersebut kemudian dipecah menjadi maltose dan pada tahap selanjutnya akan didegradasi kembali menjadi unit glukosa dengan berat molekul paling kecil. Dekstrin merupakan salah satu jenis karbohidrat yang tersintesis selama hidrolisis pati menjadi gula yang dilakukan oleh panas, asam, dan enzim. Gula sederhana tersebut juga secara ideal akan dirombak oleh Khamir menjadi alkohol. Suranto (2004) menyatakan bahwa madu pada dasarnya mengandung asam asetat. Asam asetat pada madu dapat berperan penting sebagai katalisator dalam mekanisme hidrolisis pati.

Adanya penurunan kadar gula pada kombucha bunga telang di fermentasi yang kedua terduga bahwa madu yang berperan sebagai gula dimanfaatkan sebagai sumber energi oleh kultur awal kombucha atau *scoby* selama proses fermentasi terjadi secara langsung. Hal tersebut telah diperkuat oleh Frank (1996) menyatakan bahwa khamir maupun bakteri idealnya menggunakan gula sebagai sumber energi selama proses fermentasi dalam mempertahankan kehidupan di dalam sel.

Analisis Total Mikroba

Data mengenai hasil pengamatan pada kombucha bunga telang menunjukkan rata-rata total mikroba selama proses fermentasi 21 hari berkisar 6.83 log CFU/mL sampai 8.01 log CFU/mL. Pengaruh perlakuan gula pada fermentasi kombucha yang pertama dan konsentrasi madu jenis *Clover Honey* pada fermentasi kombucha yang kedua dapat dilihat pada gambar 6. Pada Gambar 6 menunjukkan bahwa semakin tinggi penambahan madu *clover honey* maka nilai total mikroba menjadi meningkat. Hal ini terduga karena semakin banyak konsentrasi madu maka semakin banyak gula yang dirombak oleh khamir sehingga semakin banyak asam-asam organik yang dihasilkan. Greenwalt et al., (1998) menjelaskan bahwa selama proses fermentasi gula yang dirombak oleh bakteri untuk memproduksi berbagai jenis asam-asam organik, alkohol, dan senyawa fenol yang dapat berpotensi sebagai pembatas

pertumbuhan mikroba.



Gambar 6. Rata-rata Nilai Total Mikroba Pada Kombucha Bunga Telang Setelah ditambahkan Madu Jenis *Clover Honey*

Analisis Antibakteri Gram Positif dan Negatif

Fermentasi kombucha telang yang dihasilkan pada fermentasi kedua setelah ditambahkan madu jenis *Clover honey* dari konsentrasi 20%, 30%, dan 40% berkolerasi

secara positif sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*. Hasil tersebut dapat tercantum pada tabel 3.

Tabel 3 menunjukkan bahwa konsentrasi madu *Clover Honey* dari larutan fermentasi kedua kombucha bunga telang berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif maupun negatif. Data tersebut telah menunjukkan bahwa konsentrasi madu *CloverHoney* 40% pada fermentasi kombucha bunga telang dapat membentuk zona hambat pada setiap biakan bakteri. Nilai rata-rata diameter zona hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus* 17,54 mm dengan kategori kuat. 16,73 mm pada bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan kategori kuat. 15,96 mm pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan kategori kuat. 15,26 mm pada bakteri *Escherichia coli* dengan kategorin kuat.

Tabel 3 Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat yang Terbentuk pada media *Muller Hinton Agar* (MHA)

Jenis Bakteri	Diameter Zona Hambat (mm)	Kontrol negatif (mm)	Kontrol positif (mm)	20%	30%	40%
<i>Staphylococcus aureus</i>	I	0	20.80	11.5	12.56	13,65
	II	0	21.74	12.7	13.78	18,65
	III	0	23.22	13.2	15.80	20,33
	Rata-rata	0	21,92	12,4	14,04	17,54
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	I	0	20	11	12.50	13,59
	II	0	21	12	13.90	17,65
	III	0	22	12	15.40	19,08
	Rata-rata	0	21	11,67	13,93	16,73
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	I	0	20	11	12.30	12.50
	II	0	20,7	11	13.06	16.90
	III	0	21	12	14.09	18.50
	Rata-rata	0	20.56	11.33	13.15	15.96
<i>Escherichia coli</i>	I	0	19.05	10	12.06	12.30
	II	0	20.05	10.09	12.70	15.80
	III	0	21	11.05	14.06	17.70
	Rata-rata	0	20.03	10,38	12,94	15,26

Data hasil penelitian yang telah diperoleh pada tahap berikutnya akan diuji secara statistic melalui ANOVA satu jalur. Sebelum pengujian ANOVA satu jalur

dibutuhkan pengujian berupa uji normalitas yang bertujuan untuk lebih memastikan data-data hasil penelitian dapat tersebar secara normal atau bersifat parametric serta uji varians data yang bertujuan untuk menghasilkan data yang bersifat homogen.

Tabel 4. Uji Normalitas

Uji saphiro-Wilk	Sig
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,88
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0,86
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,75
<i>Escherichia coli</i>	0,66

Tabel 4 merupakan hasil uji *Saphiro-Wilk* dan telah menunjukkan bahwa data yang mempunyai nilai $p > 0,05$ maka data tersebut bersifat paranetrik atau terdistribusi secara normal.

Tabel 5. Uji Varians Data

Uji Varians Data	Sig
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,22
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0,33
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,55
<i>Escherichia coli</i>	0,66

Tabel 5 merupakan data hasil uji varians yang menunjukkan bahwa nilai $p > 0,05$ maka data yang telah dihasilkan dalam penelitian ini memiliki varian yang sama sehingga dapat diteruskan untuk pengujian menggunakan ANOVA satu jalur.

Tabel 6. Uji One Way ANOVA

Uji One Way Anova	Sig
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,000
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0,002
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,004
<i>Escherichia coli</i>	0,0002

Tabel 6 merupakan data hasil ANOVA yang dilakukan satu jalur dan menunjukkan bahwa hasil uji ANOVA satu jalur terhadap kelompok perlakuan fermentasi kedua kombucha bunga telang yang ditambahkan madu *Clover Honey* memiliki nilai P secara masing-masing $< 0,05$. Nilai rata-rata pada kelompok perlakuan fermentasi kombucha bunga telang yang kedua yang telah ditambahkan madu *Clover Honey* mempunyai perbedaan secara bermakna sehingga dapat dilakukan tahap pengujian berikutnya yaitu analisis *pos-hoc*.

Tabel 7 merupakan data hasil uji *Pos-Hoc* yang menunjukkan bahwa jika suatu data memiliki nilai $p < 0,05$ maka data tersebut secara signifikan berbeda nyata dengan konsentrasi lainnya. Jika $p > 0,05$, maka data hasil penelitian tersebut secara signifikan tidak berbeda nyata pada konsentrasi lainnya. Uji *Pos-Hoc* yang tersaji pada tabel 7 diatas telah menunjukkan bahwa diameter zona hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi fermentasi kombucha bunga telang 20% berisi *Clover Honey* tidak memiliki perbedaan bermakna atau tidak signifikan pada konsentrasi fermentasi kombucha bunga telang 40% berisi *Clover Honey*, namun terdapat perbedaan secara signifikan dengan fermentasi kombucha bunga telang 30% yang berisi *Clover Honey*, kontrol positif, dan kontrol negatif. Konsentrasi 40% fermentasi kombucha bunga telang yang berisi *Clover Honey* tidak memiliki perbedaan secara bermakna baik pada konsentrasi 20% maupun 30%. Namun berbeda bermakna dengan konsentrasi 20% dan 30%.

Uji *Pos-Hoc* telah menunjukkan bahwa diameter zona hambat pada bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan konsentrasi fermentasi kombucha bunga telang 20% berisi *Clover Honey* tidak memiliki perbedaan bermakna atau tidak signifikan pada konsentrasi fermentasi kombucha bunga telang 40% berisi *Clover Honey*, namun terdapat perbedaan secara signifikan dengan fermentasi kombucha bunga telang 30% yang berisi *Clover Honey*, kontrol positif, dan kontrol negatif. Konsentrasi 40% fermentasi kombucha bunga telang yang berisi *Clover Honey* tidak memiliki perbedaan secara bermakna baik pada konsentrasi 20% maupun 30%. Namun berbeda bermakna dengan konsentrasi 20% dan 30%.

Uji *Pos-Hoc* telah menunjukkan bahwa diameter zona hambat pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan konsentrasi fermentasi kombucha bunga telang 20% berisi *Clover Honey* tidak memiliki perbedaan bermakna atau tidak signifikan pada konsentrasi fermentasi kombucha bunga telang 40% berisi *Clover Honey*, namun terdapat perbedaan secara signifikan dengan fermentasi kombucha bunga telang 30% yang berisi *Clover Honey*, kontrol positif, dan kontrol negatif. Konsentrasi 40% fermentasi

kombucha bunga telang yang berisi *Clover Honey* tidak memiliki perbedaan secara bermakna baik pada konsentrasi 20% maupun 30%. Namun berbeda bermakna dengan konsentrasi 20% dan 30%.

Uji *Pos-Hoc* telah menunjukkan bahwa diameter zona hambat pada bakteri *Escherichia coli* dengan konsentrasi fermentasi kombucha bunga telang 20% berisi *Clover Honey* tidak memiliki perbedaan bermakna atau tidak signifikan pada konsentrasi fermentasi kombucha bunga telang 40% berisi

Clover Honey, namun terdapat perbedaan secara signifikan dengan fermentasi kombucha bunga telang 30% yang berisi *Clover Honey*, kontrol positif, dan kontrol negatif. Konsentrasi 40% fermentasi kombucha bunga telang yang berisi *Clover Honey* tidak memiliki perbedaan secara bermakna baik pada konsentrasi 20% maupun 30%. Namun berbeda bermakna dengan konsentrasi 20% dan 30%.

Tabel 7. Uji Analisis *Pos-Hoc*

		20%	30%	40%	Kontrol Positif	Kontrol Negatif
<i>Staphylococcus aureus</i>	20%	-	0,155	0,007*	0,000*	0,000*
	30%	0,155	-	0,122	0,000*	0,000*
	40%	0,007*	0,122	-	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%	-	0,166	0,006*	0,000*	0,000*
	30%	0,166	-	0,133	0,000*	0,000*
	40%	0,006*	0,133	-	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%	-	0,188	0,004*	0,000*	0,000*
	30%	0,188	-	0,188	0,000*	0,000*
	40%	0,005*	0,188	-	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%	-	0,188	0,006*	0,000*	0,000*
	30%	0,188	-	0,188	0,000*	0,000*
	40%	0,006*	0,188	-	0,000*	0,000*
	Kontrol Positif	0,000*	0,000*	0,000*	-	0,000*
	Kontrol Negatif	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	-

*: Menyatakan terdapat perbedaan bermakna ($p < 0,05$)

Pembahasan

Penentuan aktivitas antibakteri kombucha bunga telang yang sudah dilakukan secara *in vitro* dengan penambahan *Clover Honey* pada fermentasi kedua yaitu berdasarkan kemampuannya berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji baik pada bakteri gram positif yang terdiri atas *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, dan bakteri gram negatif yang terdiri dari *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*. Hasil penelitian ini telah diketahui bahwa fermentasi selama 21 hari atau fermentasi kedua pada kombucha bunga telang yang diindikasikan adanya

pembentukan suatu zona hambat dalam bentuk zona bening. Aktivitas antibakteri pada kombucha bunga telang khususnya fermentasi kedua terdapat kandungan senyawa kimia yang berperan penting dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen baik yang berasal dari bakteri gram positif maupun negatif. Salah satu kandungan kimia yang dimaksud dalam fermentasi kombucha ini adalah Asam asetat. Senyawa kimia tersebut merupakan salah satu jenis asam organik yang secara dominan telah tersintesis selama proses fermentasi kombucha. Asam asetat yang telah tersintesis fermentasi kombucha bunga telang menurut hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Khumar

& Joshi (2016) memiliki peranan penting sebagai agensia antibakteri karena asam asetat yang telah tersintesis dalam kombucha secara ideal akan terurai melalui pelepasan proton-proton bebas yang menyebabkan pH media menjadi rendah atau mengalami penurunan (Yanti et al., 2020).

Asam asetat secara ideal tidak dapat terdisosiasi yang berpotensi dalam merusak struktur lipid bilayer pada bakteri melalui penyisipan proton yang terdapat di dalam sitoplasms, sehingga hal tersebut menyebabkan jumlah proton secara intraseluler menjadi banyak, dan menyebabkan sitoplasma berada pada suasana asam. Hal lain menyebabkan terjadinya denaturasi protein sebagai salah satu penyebab energi menjadi berkurang bahkan menghilang. Artinya semakin tinggi asam organik yang terkandung khususnya pada jenis asam asetat maka semakin tinggi pula peranan pentingnya dalam mencegah pertumbuhan bakteri patogen. Terbentuknya asam organik pada kombucha secara ideal berpotensi dalam menurunkan pH dari kondisi asam menjadi sangat asam dimana pH substrat yang rendah dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Penyebab terjadinya kerusakan pada sel dalam kondisi parah disebabkan sitoplasma pada bakteri patogen menjadi asam (Khumar & Joshi, 2016). Adanya peningkatan kandungan antosianin yang berperan sebagai antioksidan maupun antibakteri pada bunga telang (Rezaldi et al., 2021) berpotensi untuk dikembangkan sebagai inovasi produk bioteknologi terkini karena proses fermentasi kombucha bunga telang terdapat jenis Bakteri Asam Laktat atau BAL yang berpotensi dalam menjaga kestabilan antosianin dimana kestabilannya sangat dipengaruhi oleh suhu, pH, cahaya, dan kandungan enzim.

Hasil penelitian yang serupa telah dilakukan oleh Loypimay et al., (2016) menyatakan bahwa proses fermentasi BAL dapat berpotensi untuk meningkatkan kestabilan antosianin dengan cara menurunkan pH. Kunnaryo & Wikandari (2021) menyatakan bahwa antosianin merupakan senyawa antioksidan yang kestabilannya sangat dipengaruhi oleh pH, suhu, dan enzim PPO (Polifenol Oksidasi). Antosianin secara ideal akan stabil pada pH 1-4, suhu optimum sebesar 30°C, dan inaktivasi enzim PPO, sehingga berpotensi dalam mempertahankan

proses fermentasi BAL dengan cara menurunkan pH, dan inaktivasi enzim PPO sebagai salah satu bagian penyebab tingginya aktivitas sebagai antioksidan.

Hasil penelitian Konchzak et al., (2014) menyimpulkan bahwa antosianin yang berperan sebagai antioksidan berpotensi dalam mencegah berbagai penyakit seperti kardiovaskular, kanker, dan juga diabetes. Hasil penelitian lainnya yang dilakukan oleh Saati (2016), menyimpulkan bahwa aktivitas secara biologis pada antosianin yang berkhasiat sebagai antioksidan adalah mampu mencegah terjadinya kanker pada usu, antihiperlikemikemia, dan antibakteri pada spesies *Salmonella thypi* maupun *Escherichia coli*.

Pada tabel 3 menunjukkan bahwa fermentasi kombucha bunga telang yang kedua setelah ditambahkan *Clover Honey* pada konsentrasi secara keseluruhan berpotensi dalam mensintesis zona bening pada sekeliling sumuran baik pada bakteri gram positif maupun negatif. Hal tersebut mengindikasikan bahwa kombucha pada fermentasi kedua mempunyai aktivitas sebagai antibakteri dan berpotensi dalam menghambat pertumbuhan keempat bakteri uji. Hasil penelitian ini diperkuat karena terbentuknya zona hambat dalam bentuk zona bening pada kontrol positif berupa teh hitam yang berpotensi sebagai antibakteri (Khaleil et al., 2020). Hal tersebut juga menunjukkan bahwa kemampuan kombucha bunga telang berpotensi sebagai antibakteri pada spektrum luas (Rezaldi et al., 2021). Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Battik et al., (2013), menyatakan bahwa Kombucha yang berbahan dasar teh hitam dan teh hijau memiliki peranan penting dalam menghambat pertumbuhan bakteri, sehingga berpotensi pula sebagai antibiotik alami dalam spektrum luas.

Tabel 3 menunjukkan bahwa hasil rata-rata diameter zona hambat kombucha bunga telang setelah ditambah *Clover honey* pada konsentrasi 20% bakteri *Staphylococcus aureus* adalah sebesar 12,94 mm dengan kategori kuat. 14,04 mm pada konsentrasi 30% dengan kategori kuat. 17,54 mm pada konsentrasi 40% dengan kategori kuat. Rata-rata diameter zona hambat kombucha bunga telang setelah ditambah *Clover honey* pada

konsentrasi 20% bakteri *Staphylococcus epidermidis* adalah sebesar 11,67 mm dengan kategori kuat. 13,93 mm pada konsentrasi 30% dengan kategori kuat. 16,73 mm pada konsentrasi 40% dengan kategori kuat. Rata-rata diameter zona hambat kombucha bunga telang setelah ditambah *Clover honey* pada konsentrasi 20% bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah sebesar 11,33 mm dengan kategori kuat. 13,15 mm pada konsentrasi 30% dengan kategori kuat. 15,96 mm pada konsentrasi 40% dengan kategori kuat. Rata-rata diameter zona hambat kombucha bunga telang setelah ditambah *Clover honey* pada konsentrasi 20% bakteri *Escherichia coli* adalah sebesar 10,38 mm dengan kategori kuat. 12,94 mm pada konsentrasi 30% dengan kategori kuat. 15,26 mm pada konsentrasi 40% dengan kategori kuat.

Zona bening yang luas atau zona hambat yang tersintesis selama proses fermentasi merupakan salah satu bagian terpenting dari kepekaan suatu mikroba terhadap senyawa antimikroba yang telah diproduksi. Agen antimikroba tersebut sangat baik (Allison & Lambert, 2015). Kombucha bunga telang yang ditambahkan *Clover Honey* pada fermentasi kedua dengan konsentrasi 40% memiliki aktivitas sebagai antibakteri yang terbaik. Konsentrasi larutan fermentasi kombucha bunga telang yang telah ditambahkan *Clover Honey* pada fermentasi kedua terendah berdasarkan hasil penelitian yang telah tersaji pada tabel 3 adalah konsentrasi larutan *Clover Honey* sebesar 20%. Hal tersebut telah didukung oleh hasil penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa konsentrasi gula larutan fermentasi kombucha bunga telang 40% memiliki aktivitas sebagai antibakteri tertinggi dan 20% merupakan konsentrasi larutan gula fermentasi kombucha bunga telang yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terendah (Rezaldi et al., 2021).

Tabel 3 juga telah menunjukkan bahwa kombucha bunga telang yang difermentasi selama 21 hari dengan penambahan *Clover Honey* memiliki tertinggi yaitu pada jenis *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli*. Hasil yang telah diperoleh dalam penelitian ini mengindikasikan bahwa

Kombucha bunga telang pada fermentasi kedua khususnya setelah ditambahkan *Clover Honey* dalam waktu 14 hari fermentasi pertama ditambah 7 hari fermentasi kedua memiliki potensi sebagai antibakteri baik pada bakteri gram positif maupun negatif. Selain daripada itu metabolit sekunder yang telah diproduksi oleh konsorsium mikroba pada kombucha lebih berperan penting sebagai antibakteri pada bakteri gram positif daripada bakteri gram negatif. Mekanisme seluler yang terkandung pada konsorsium mikroba kombucha adalah melalui proses rusaknya komponen peptidoglikan yang berada didalam dinding sel bakteri gram positif maupun negatif.

Komponen peptidoglikan yang berada dalam dinding sel bakteri gram positif secara ideal lebih tinggi dibandingkan dengan bakteri gram negatif. Sehingga mudah dirusak oleh kombucha sebagai agensia antimikroba (Sreeramulu et al., 2000) Hasil penelitian lain yang didukung oleh Borkani et al., (2016), menjelaskan bahwa kombucha mempunyai aktivitas sebagai antibakteri tertinggi pada bakteri gram positif yaitu *Staphylococcus aureus*. Sensitivitas bakteri terhadap suatu antibiotik dipengaruhi oleh kemampuan antibiotik dalam merusak dinding sel bakteri. Antibiotik lebih dominan mempengaruhi cara kerja pada bakteri gram positif dibandingkan dengan bakteri gram negatif. Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Rezaldi et al., (2021) menyimpulkan bahwa kombucha bunga telang berpotensi dalam menghambat bakteri gram positif dengan rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan lebih kuat dibandingkan dengan bakteri gram negatif. Hal tersebut disebabkan karena permeabilitas dinding sel bakteri gram positif lebih tinggi dibandingkan dengan bakteri gram negatif, dan bakteri gram negatif secara ideal memiliki kapsul yang tidak mudah dirusak oleh agen antibakteri atau senyawa antibiotik jenis lainnya.

SIMPULAN DAN SARAN

Perlakuan terbaik untuk mengetahui karakteristik biokimia pada kombucha bunga telang (*Clitoria ternatea* L) selama fermentasi kedua dan pasca ditambahkan madu *Clover Honey* adalah konsentrasi 40% yaitu total

asam 1.88%, total fenol 115.71 ppm, total gula 23.53%, dan total mikroba 8.01 log CFU/mL. Perlakuan terbaik untuk mengetahui karakteristik mikrobiologi pada kombucha bunga telang (*Clitoria ternatea* L) selama fermentasi kedua dan pasca ditambahkan madu *Clover Honey* adalah konsentrasi 40%. Aktivitas antibakteri pada *Staphylococcus aureus* memiliki rata-rata diameter zona hambat sebesar 17,54 mm dengan kategori kuat. 16,73 mm pada bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan kategori kuat. 15,96 mm pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan kategori kuat. 15,26 mm pada bakteri *Escherichia coli* dengan kategori kuat. Karakteristik biokimia dan mikrobiologi yang dihasilkan oleh kombucha bunga telang melalui fermentasi yang kedua merupakan salah satu terobosan baru untuk menciptakan inovasi produk bioteknologi terkini.

DAFTAR RUJUKAN

- Al-Kalifawi, E. J. (2014). Antimicrobial activity of kombucha (KH) tea against bacteria isolated from diabetic foot ulcer. *Journal of Biotechnology Research Center*, 8(4), 27–33. <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>.
- 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., Doudi, 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>.
- Beek, S.V., and F.G. Priest. 2000. Decarboxylation of Substituted Cinnamic Acid by Lactic Acid Bacteria Isolated During Malt Whisky Fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*. Des. 2000: 5322-5328.
- Chayati, I., dan Isnati M. 2014. Kandungan Komponen Fenolat, Kadar Fenolat, dan Aktivitas Antioksidan Madu dari Beberapa Daerah di Jawa dan Sumatera. Universitas Negeri Yogyakarta. Yogyakarta
- Dibyanti, P., Radiati, L. E., & Rosyidi, D. (2014). Effect of Addition of Various Concentrations of Culture & Incubation Period on pH, Acidity Levels, Viscosity & Syneresis Set Yoghurt. *Jurnal Ilmu Ternak*, 1–6. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00201-1](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00201-1)
- Frank, G.W. 1996. *Kombucha Healthy Beverage and Natural Remedy from The Far East*. Publishing House Ennsthaler. Austria.
- Hidayat, D. 2006. *Mikrobiologi Industri*. C.V Andi offset. Yogyakarta.
- Hunaefi, D., Akumo, D. N., & Smetanska, I. (2013). Effect of fermentation on antioxidant properties of red cabbages. *Food Biotechnology*, 27(1), 66–85. <https://doi.org/10.1080/08905436.2012.755694>
- 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 Natures

- Ccolours . Journal of Biomedicine and Biotechnology. Vol 5, No. 2. 239-250.
- Koswara, S. 2009. Madu: Jenis dan Penggunaannya. eBook Pangan Unimus. Semarang.
- 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>
- Malbasa, R., Loncar, E., dan M. Djuric. 2008. Comparison of the Products of Kombucha Fermentation on Sucrose and Milasses. *Journal Food Chemistry*. Vol. 106, p. 1039-1045.
- Manaroinsong, A. (2015). Uji daya hambat ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus* L) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *Pharmacon*, 4(4). <https://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/pharmacon/article/view/10188>
- Marwati, H. S., & Handria, R. (2013). Pengaruh Konsentrasi Gula dan Starter terhadap Mutu Teh Kombucha. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 8(02), 49–53. <https://jtpunmul.files.wordpress.com/2014/03/2-vol-8-no-2-marwati.pdf>
- Murti, T.W. 2007. Kajian Cita Rasa dan Ragam Asam Organik Fermentasi Susu Kambing Menggunakan Bakteri *Lactobacillus casei*. *J. Indon. Trop. Anim. Agric.* 32 (4).
- Panda, S. H., Parmanick, M., & Ray, R. C. (2007). Lactic acid fermentation of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) into pickles. *Journal of Food Processing and Preservation*, 31(1), 83–101. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2007.00110.x>
- 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>
- Rezaldi, F., Maruf, A., Pertiwi, F. D., Fatonah, N. S., Ningtias, R. Y., Fadillah, M. F., Sasmita, H., & Somantri, U. W. (2021). Narrative Review: Kombucha's Potential As A Raw Material For Halal Drugs And Cosmetics In A Biotechnological Perspective. *International Journal Mathla'ul Anwar of Halal Issues*, 1(2), 43–56. <https://doi.org/10.30653/ijma.202112.25>
- Rezaldi, F., Taupiqurrohman, O., Fadillah, M. F., Rochmat, A., Humaedi, A., & Fadhilah, F. (2021). Identifikasi Kandidat Vaksin COVID-19 Berbasis Peptida dari Glikoprotein Spike SARS CoV-2 untuk Ras Asia secara In Silico. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*, 10(1), 77–85. <https://doi.org/10.22435/jbmi.v10i1.5031>
- 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>
- Rosita. 2007. Berkat Madu. Qanita. Bandung

- Saati, E. A. (2016). Antioxidant power of rose anthocyanin pigment. *ARNP Journal of Engineering and Applied Sciences*, 11(17), 1201–1204. <https://eprints.umm.ac.id/57868/>
- Sarwono B. 2001. Kiat Mengatasi Permasalahan Praktis Lebah Madu. AgroMedia. Jakarta.
- Shereen, M. A., Khan, S., Kazmi, A., Bashir, N., & Siddique, R. (2020). COVID-19 infection: Origin, transmission, and characteristics of human coronaviruses. *Journal of Advanced Research*, 24, 91. <https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.jare.2020.03.005>
- Simanjuntak, R., & Siahaan, N. (2011). Pengaruh Konsentrasi Gula dan Lama Fermentasi Terhadap Mutu Teh Kombucha. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Tinggi*, 4(2), 81–91. http://akademik.uhn.ac.id/portal/public_html/JURNAL/Jurnal_Rosnawyta_Simanjuntak/Juridikti%20Edit.pdf
- 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>
<https://doi.org/10.1021/jf991333m>
- Suhardini, P. N., & Zubaidah, E. (2015). Studi Aktivitas Antioksidan Kombucha Dari Berbagai Jenis Daun Selama Fermentasi [In Press Januari 2016]. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 4(1). <https://jpa.ub.ac.id/index.php/jpa/article/view/322>.
- Suranto, A. 2004. Khasiat & Manfaat Madu Herbal. AgroMedia Pustaka. Jakarta.
- Utami, S. R., Eva Pamungkas S., dan Inayati. 2014. Pengaruh Waktu Hidrolisa dan Konsentrasi Asam Pada Hidrolisa Pati Kentang dengan Katalis Asam. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Wiczowski, W., Szawara-Nowak, D., & Topolska, J. (2015). Changes in the content and composition of anthocyanins in red cabbage and its antioxidant capacity during fermentation, storage and stewing. *Food Chemistry*, 167, 115–123. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.087>
- 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>.