



Jurnal Ilmiah Kefarmasian

Journal homepage : <http://e-jurnal.stikesalirsyadclp.ac.id/index.php/jp>

Pengaruh Metode Bioteknologi Fermentasi Kombucha Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) Sebagai Antibakteri Gram Positif-Negatif Berdasarkan Konsentrasi Gula Tropicanaslim Yang Berbeda-Beda

The Effect Of Biotechnology Methods Of Kombucha Fermentation Of Telang Flower (*Clitoria ternatea* L.) As A Gram Positive-Negative Antibacteria Based On Sugar Concentration Different Tropicanaslim

Firman Rezaldi¹, Heny Sasmita², Ucu Wandu Somantri³, Yuliana Kolo⁴, Meliyawati⁵

¹Program Studi Farmasi Fakultas Sains Farmasi Kesehatan Universitas Mathla'ul Anwar Banten

^{2,3}Program Studi Kesehatan Masyarakat Fakultas Sains Farmasi Kesehatan Universitas Mathla'ul Anwar Banten

⁴Program Studi Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Timor

⁵Program Studi Pendidikan Bahasa, Sastra Indonesia, Dan Daerah. Fakultas Keguruan dan Ilmu Kependidikan Universitas Mathla'ul Anwar Banten

e-mail : koloyuliana04@gmail.com

INFO ARTIKEL

*Kata Kunci :
Antimikroba,
Bunga Telang,
Kombucha,*

ABSTRAK / ABSTRACT

Kombucha bunga telang gula tropicanaslim merupakan salah satu minuman fermentasi probiotik yang diproduksi melalui konsorsium bakteri dan ragi dengan substrat gula tropicanaslim. Bahan baku pembuatan kombucha dalam penelitian ini adalah berupa rebusan bunga telang dimana sampel yang digunakan adalah bunga telang yang berasal dari desa Pekuncen Cilegon. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri kombucha bunga telang pada konsentrasi gula tropicanaslim yang berbeda-beda. Konsentrasi gula tropicanaslim yang digunakan dalam penelitian ini adalah 20%, 30%, dan 40% (b/v) yang masing-masing diulang sebanyak 3 kali. Kontrol positif yang digunakan berupa teh hitam, sedangkan kontrol negatif yang digunakan dalam bentuk akuades steril. Metode difusi sumuran merupakan salah satu metode yang digunakan dalam pengujian antibakteri untuk menghitung diameter zona hambat. Fermentasi kombucha bunga telang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri dalam spektrum luas. Hal tersebut diindikasikan adanya potensi dalam mencegah pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli*. Kombucha bunga telang pada konsentrasi gula tropicanaslim sebesar 40% memiliki aktivitas antibakteri tertinggi, sehingga konsentrasi gula tropicanaslim tersebut berpotensi sebagai inovasi terkini pada produk bioteknologi fermentasi dalam menunjang aspek kesehatan.

Keyword:
Antimicrobial,
Blossom,
Kombucha,

Kombucha flower telang tropicanaslim sugar is a probiotic fermented drink produced through a consortium of bacteria and yeast with tropicanaslim sugar as a substrate. The raw material for making kombucha in this study was in the form of boiled telang flower where the sample used was telang flower from Pekuncen village, Cilegon. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of telang flower kombucha at different concentrations of tropicanaslim sugar. The concentrations of tropicanaslim sugar used in this study were 20%, 30%, and 40% (w/v), each of which was repeated 3 times. The positive control used was black tea, while the negative control was used in the form of sterile distilled water. The well diffusion method is one of the methods used in antibacterial testing to calculate the diameter of the inhibition zone. Telang flower kombucha fermentation has broad spectrum antibacterial activity. This indicated the potential to prevent the growth of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Escherichia coli* bacteria. Telang flower kombucha at 40% tropicanaslim sugar concentration has the highest antibacterial activity, so the tropicanaslim sugar concentration has the potential to be the latest innovation in fermented biotechnology products to support health aspects

A. PENDAHULUAN

Bioteknologi merupakan salah satu pemanfaatan makhluk hidup beserta produk makhluk hidup untuk menghasilkan barang dan jasa baik dari skala konvensional maupun modern (1). Salah satu metode bioteknologi sederhana atau konvensional yaitu Fermentasi. Fermentasi pada bidang makanan maupun fungsional terkini yang berbahan dasar teh adalah kombucha. Kombucha merupakan salah satu minuman fermentasi berbahan dasar teh yang bersifat probiotik dan dalam prosesnya dikendalikan oleh konsorsium bakteri dan ragi atau yang dikenal sebagai scoby. Scoby merupakan Symbiotic Colony/Culture Bacteria and Yeast yaitu konsorsium atau gabungan (kombinasi antara bakteri dan ragi) dalam menghasilkan aroma atau asam selama proses fermentasi teh (kombucha) terjadi secara langsung dalam periode 7 hingga 14 hari. Substrat yang dimanfaatkan dalam proses pembuatan kombucha salah satunya adalah gula. Gula yang dibutuhkan sebagai substrata atau nutrisi bagi scoby akan dirombak menjadi asam-asam organik oleh sekelompok bakteri, sedangkan oleh sekelompok ragi akan dirombak menjadi etanol maupun CO₂. Etanol atau alkohol dalam kadar rendah selama proses

fermentasi kombucha memiliki khasiat gizi yang tinggi, sehingga halal untuk dikonsumsi (2).

Khasiat gizi yang tinggi dari proses fermentasi kombucha yang terbentuk diantaranya adalah berpotensi sebagai sumber antibakteri (3), (4), (5), sumber antioksidan (6), sehingga berperan penting dalam memperbaiki mikroflora usus, antihipertensi, antidiabetik, antikolesterol, dan sebagai sumber antikanker (7). Adanya khasiat dasar kombucha sebagai sumber antibakteri, antioksidan, dan juga antikanker berpeluang besar juga untuk dikembangkan sebagai bahan baku pangan fungsional dan produk bioteknologi terkini juga berpotensi besar untuk bahan baku/aktif obat dan kosmetik halal dalam perspektif bioteknologi (2). Manfaat kombucha yang dihasilkan selama proses fermentasi tentunya terdapat kandungan metabolit yang berperan didalamnya seperti asam-asam organik, vitamin, dan enzim.

Kandungan asam asam organik yang telah dihasilkan selama proses fermentasi diantaranya adalah asam laktat. Asam laktat yang terkandung dalam kombucha secara mayoritas disimpan dalam bentuk L (+) sehingga berpotensi

dalam memulihkan sistem pencernaan, sistem kekebalan tubuh, dan indikator penyakit kanker. Asam asetat yang terkandung dalam kombucha telah dikenal sebagai asam cuka yang berperan penting sebagai pengawet alami, dan penghasil aroma khas pada kombucha. Asam malat yang terkandung pada kombucha berkhasiat sebagai detoksifikasi bagi tubuh. Asam oksalat yang terkandung dalam kombucha berperan penting sebagai pengawet alami, dan penunjang sel dalam memproduksi energi bagi tubuh. Asam glukonat yang terkandung dalam kombucha berperan penting sebagai antimikroba terutama dari spesies *Candida* sp (2)

Asam butirat yang terkandung dalam kombucha memainkan peranan penting sebagai antimikroba khususnya dalam melawan infeksi yang disebabkan oleh jamur patogen dengan bantuan asam glukonat. Asam nukleat yang terbentuk selama proses fermentasi kombucha memainkan peranan penting dalam pengembangan atau regenerasi sel baru sehingga berpotensi besar untuk dikembangkan kearah antiaging. Asam amino yang terbentuk selama proses fermentasi kombucha memainkan peranan penting dalam sintesis protein, terutama antibodi yang berperan penting dalam melawan antigen baik berupa bakteri maupun virus. Pembelahan sel, dan pemulihan jaringan rusak yang disebabkan oleh akibat paparan radikal bebas. Enzim yang terkandung dalam kombucha memiliki peranan penting sebagai biokatalisator berupa percepatan reaksi biokimia dalam tubuh, sehingga berpotensi dalam memperbaiki dan mengembalikan fungsi tubuh. Vitamin yang terbentuk selama proses fermentasi kombucha dalam bentuk vitamin B, dan C. Konsorsium bakteri dan ragi pada kombucha telah terbukti berpotensi dalam mensintesis energi. Riboflavin merupakan jenis vitamin B2 yang berperan penting dalam mekanisme sintesis asam amino. Niasin merupakan jenis vitamin B3 yang memiliki peranan penting dalam metabolisme lemak dan menurunkan kolesterol jahat (LDL),

dan meningkatkan HDL. Pridoxin merupakan vitamin B12 yang berperan penting dalam metabolisme sel tubuh, vitamin C, dan Polifenol (8).

Terbentuknya asam-asam organik selama proses fermentasi kombucha oleh konsorsium bakteri dan ragi dapat juga dimanfaatkan sebagai inovasi produk bioteknologi pangan terkini secara fungsional yang dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh atau imunomodulator di era pandemic COVID-19. Data Pasien COVID-19 secara internasional per tanggal 06 April 2021 telah mencapai 131.020.967 Individu (9) dan menurut hasil penelitian Adnan et al., (2020) telah mengalami peningkatan jumlah pasien sebesar 6.731 Individu (10), dimana kombucha yang berbahan dasar teh hitam dan juga teh hijau kayak akan manfaat juga baik sebagai sumber antibakteri, antioksidan, dan juga antikanker.

Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Al-Kalifawi (2014) menyimpulkan bahwa kombucha yang berbahan dasar teh hitam berpotensi sebagai antibakteri pada jenis *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan juga *Escherichia coli* (4). Bahan lain yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku kombucha salah satunya adalah bunga telang (*Clitoria ternatea* L) yang telah terbukti sebagai sumber antibakteri (11). Bunga telang (*Clitoria ternatea* L) mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid tipe Antosianin yang berperan sebagai antioksidan maupun antibakteri pada *Salmonella thypi* maupun *Escherichia coli* (12). Antosianin yang terkandung dalam bunga telang akan dipengaruhi oleh kestabilannya oleh pH, suhu, dan enzim. Antosianin yang terkandung dalam bunga telang akan jauh lebih stabil jika difermentasi oleh Bakteri Asam Laktat (BAL) yang salah satunya terdapat pada kombucha. Pernyataan tersebut telah didukung oleh hasil penelitian yang menyimpulkan bahwa proses fermentasi telah terbukti berpotensi dalam meningkatkan aktivitas sebagai antioksidan

pada kubis merah yang bernilai 154,87 ppm menjadi 43,56 ppm melalui metode DPPH (2,2 -diphenyl-piclhydrazyl) (13).

Proses kombucha pada dasarnya dipengaruhi oleh konsentrasi gula yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen (14) baik yang berasal dari bakteri gram positif maupun negatif. Hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Yanti et al (2020) (15) menyimpulkan bahwa kombucha daun sirsak pada konsentrasi 20% merupakan konsentrasi terbaik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata dan *Escherichia coli*. Hasil penelitian yang selaras telah dilakukan (3), menyatakan bahwa konsentrasi gula 40% pada fermentasi kombucha bunga telang berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan negatif (16).

Penelitian aktivitas antibakteri gram positif dan negatif pada kombucha bunga telang berdasarkan konsentrasi gula yang berbeda-beda baru dilakukan (3), sehingga dari hasil penelitian tersebut pada kesempatan ini penulis akan melakukan penelitian menggunakan konsentrasi gula tropicanaslim dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*), serta bakteri gram negatif (*Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*) dengan konsentrasi gula yang berbeda-beda yaitu 20%, 30%, dan 40%.

Hasil penelitian yang dilakukan Abdilah et al (2022) telah membuktikan bahwa konsentrasi gula aren 40% pada fermentasi kombucha bunga telang (*Clitoria ternatea* L) merupakan konsentrasi terbaik pada kombucha bunga telang dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif maupun negatif (17). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Rezaldi et al (2022) menyatakan bahwa konsentrasi gula aren 40% pada kombucha bunga telang berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella thypi* maupun *Vibrio parahaemolyticus* (18). Adanya konsentrasi gula yang berbeda-beda pada kombucha berpotensi pula

dalam menghambat pertumbuhan mikroba. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Rezaldi et al (2022) yang telah membuktikan bahwa konsentrasi gula pasir putih sebesar 40% pada kombucha bunga telang berpotensi dalam menghambat pertumbuhan fungi baik pada spesies *Candida albicans*, *Pitiosporum ovale*, *Malasezia furfur*, dan *Aspergillus fumigatus* (19).

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Puspitasari et al (2022) telah membuktikan bahwa konsentrasi gula 40% pada kombucha bunga telang merupakan konsentrasi terbaik dalam menghambat pertumbuhan mikroba baik pada spesies bakteri *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus hominis* maupun fungi baik pada spesies *Trycophyton mentagrophytes*, dan *Trycophyton rubrum* (20).

B. METODE

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah gula aren sebagai substrat, kombucha berbahan dasar teh hitam sebagai kontrol positif, akuades steril sebagai kontrol negatif, bunga telang sebagai bahan dasar fermentasi kombucha, kultur awal kombucha (Scooby) sebagai starter, bakteri uji berupa bakteri gram positif dan negatif seperti *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli*, dan Media MHA (*Muller Hinton Agar*).

Alat

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.

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, gula tropicanaslim sebagai substrat, dan kultur awal kombucha yang disertai baby scoby dalam bentuk kombucha cair; 2) menimbang bunga telang dan teh hitam 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 hitam sebagai kontrol positif; 4) menambahkan konsentrasi gula tropicanaslim sesuai perlakuan yaitu 20%, 30%, dan 40%; 5) memanaskan gula sampai mendidih dalam waktu 10 menit kemudian menuangkan ke dalam toples kaca pada setiap perlakuan yang berisi konsentrasi larutan gula tropicanaslim; 6) menuangkan air rebusan ke dalam toples kaca yang sudah ditambahkan perlakuan konsentrasi gula aren 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 (15), (16).

Uji Antibakteri Menggunakan Metode Difusi Cakram

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

Staphylococcus aureus, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli*, mengusapkan media MHA sampai permukaan tertutup rapat secara keseluruhan, menempelkan disk yang sudah direndam pada sediaan larutan fermentasi kombucha bunga telang dengan variasi konsentrasi gula tropicanaslim tertentu yaitu pada cawan I 20%, cawan II 30%, cawan III 40%, cawan IV diisi dengan kontrol positif dalam bentuk kombucha berbahan dasar teh hitam, dan cawan V diisi dengan kontrol negatif yaitu dalam bentuk akuades steril, melakukan pengulangan sebanyak 3 kali, menginkubasi selama 24 jam, dan melakukan pengukuran diameter zona hambat pada masing-masing konsentrasi dari fermentasi kombucha bunga telang beserta kontrol positif dan negatif (21).

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 pos hoc.

C. HASIL DAN PEMBAHASAN

Fermentasi kombucha bunga telang (*Clitoria ternatea* L) dari konsentrasi gula tropicanaslim 20%, 30%, dan 40% menghasilkan data yang berkolerasi positif dalam mencegah pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli*. Data hasil penelitian tersebut dapat tersaji pada tabel 1 berikut ini. Tabel 1. Data hasil Pengukuran Rata-Rata diameter Zona Hambat yang terbentuk dari media Muller Hinton Agar (MHA)

Jenis Bakteri	Replikasi	Diameter zona hambat (mm)				
		Kontrol negatif	Kontrol Positif	20%	30%	40%
<i>S. aureus</i>	I	0	19,71	18,50	20,30	21,45
	II	0	20,13	19,89	22,50	22,49
	III	0	25,40	20,40	23,60	23,87
	Rerata	0	21,74	19,59	22,13	22,60
<i>S.</i>	I	0	18,71	17,45	18,90	20,00

<i>epidermidis</i>	II	0	20,05	18,00	20,67	21,70
	III	0	21,70	18,80	21,34	22,90
	Rerata	0	20,15	18,08	20,30	21,53
<i>P. aeruginosa</i>	I	0	15,50	16,70	18,00	19,45
	II	0	17,53	16,80	18,78	21,70
	III	0	19,09	17,00	19,87	22,89
	Rerata	0	17,38	16,83	18,88	21,34
<i>E. coli</i>	I	0	14,32	12,70	16,90	19,35
	II	0	16,60	14,76	18,00	20,00
	III	0	18,77	17,00	19,25	23,71
	Rerata	0	16,56	14,82	18,05	21,02

Tabel 1 diatas merupakan data hasil penelitian dari konsentrasi gula tropicanaslim pada fermentasi kombucha bunga telang yang memiliki potensi sebagai antibakteri gram positif maupun negatif. Data hasil penelitian tersebut telah menunjukkan bahwa konsentrasi gula tropicanaslim sebesar 40% pada kombucha bunga telang merupakan konsentrasi terbaik pada setiap biakan bakteri yang dihasilkan. Nilai rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 22,60 mm (kategori sangat kuat), *Staphylococcus epidermidis* adalah 21,53 mm (kategori sangat kuat), *Pseudomonas aeruginosa* adalah sebesar 21,34 (kategori sangat kuat), dan *Escherichia coli* adalah sebesar 21,02 mm (kategori sangat kuat).

Data hasil penelitian yang diperoleh kemudian diuji statistic menggunakan ANOVA satu jalur. Tahapan sebelum uji tersebut dibutuhkan tahapan uji normalitas yang bertujuan untuk lebih memastikan data-data hasil penelitian dapat terdistribusi secara normal (bersifat parametrik) serta uji varians data yang bertujuan agar data hasil penelitian yang didapatkan bersifat homogeny.

Tabel 2. Uji Normalitas

Uji saphiro-Wilk	Sig
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,69
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0,58
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,47
<i>Escherichia coli</i>	0,36

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

Tabel 2 yang tersaji diatas 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>	0,44
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0,33
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,22
<i>Escherichia coli</i>	0,55

Tabel 3 yang tersaji diatas 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

	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%	-	0,155	0,005*	0,000*	0,000*
	30%	0,777	-	0,144	0,000*	0,000*
	40%	0,006*	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>Pseudomonas aeruginosa</i>	20%	-	0,777	0,005*	0,000*	0,000*
	30%	0,777	-	0,777	0,000*	0,000*
	40%	0,004*	0,177	-	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%	-	0,888	0,003*	0,000*	0,000*
	30%	0,888	-	0,888	0,000*	0,000*
	40%	0,003*	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*	-
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 larutan gula tropicanaslim 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 larutan gula tropicanaslim kombucha bunga telang 30%, kontrol positif, dan kontrol negatif. Konsentrasi gula tropicanaslim fermentasi kombucha bunga telang 30% tidak mempunyai perbedaan secara bermakna baik pada konsentrasi larutan gula tropicanaslim kombucha bunga telang 20%, 40%, kontrol positif, dan kontrol negatif.

Konsentrasi gula tropicanaslim 40% kombucha bunga telang tidak memiliki perbedaan secara bermakna pada kontrol positif maupun negatif tetapi memiliki perbedaan secara bermakna pada konsentrasi gula tropicanaslim kombucha bunga telang 20% dan 30%.

Perhitungan aktivitas antibakteri kombucha bunga telang yang telah 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 gula aren 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 sebelumnya (22), menyimpulkan bahwa asam asetat yang telah terbentuk selama fermentasi kombucha akan terurai melalui mekanisme pelepasan proton-proton bebas sehingga menyebabkan pH media menjadi rendah (16).

Asam asetat yang telah 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 (23) menyatakan bahwa proses fermentasi BAL (Bakteri Asam Laktat) memiliki kemampuan dalam meningkatkan kestabilan antosianin dimana antosianin akan cenderung lebih stabil pada pH yang rendah. (24), 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 terkandung dalam bunga telang berpotensi sebagai antioksidan, dimana potensi dari senyawa tersebut memiliki kemampuan dalam mencegah berbagai penyakit degenerative seperti kardiovaskular, kanker, dan juga diabetes (25). Aktivitas lainnya secara biologis antosianin berpotensi sebagai pencegah terjadinya kanker usus, antihiperlikemia, dan juga antibakteri seperti *Salmonella thypi* dan *Escherichia coli* (12). Pada tabel 1 menunjukkan bahwa kombucha bunga telang pada perlakuan konsentrasi gula tropicanaslim 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 gula tropicanaslim dan konsentrasi gula tropicanaslim yang difermentasi oleh kombucha bunga telang secara keseluruhan berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen baik gram positif maupun negatif. Hasil penelitian ini yang telah dihasilkan didukung oleh (26) yang menyatakan bahwa kombucha yang berbahan dasar teh hitam berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan hasil penelitian yang dilakukan oleh (16), 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 (27), 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 larutan gula tropicanaslim 20% adalah 19,59 mm dengan kategori kuat, fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi larutan gula tropicanaslim 30% adalah 22,13 mm dengan kategori sangat kuat, dan fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi larutan gula tropicanaslim 40% adalah 22,60 mm dengan kategori sangat kuat pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan pada fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi larutan gula tropicanaslim 20% adalah 18,08 mm dengan kategori kuat, fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi larutan gula tropicanaslim 30% adalah 20,30 mm dengan kategori kuat, dan fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi larutan gula tropicanaslim 40% adalah 21,53 mm dengan kategori sangat kuat pada bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan pada fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi larutan gula tropicanaslim 20% adalah 16,83 mm dengan kategori kuat, fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi larutan gula tropicanaslim 30% adalah 18,88 mm dengan kategori kuat, dan fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi larutan gula tropicanaslim 40% adalah 21,34 mm dengan kategori sangat kuat pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan pada fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi larutan gula tropicanaslim 20% adalah 14,82 mm dengan kategori kuat, fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi larutan gula tropicanaslim 30% adalah 18,05 mm dengan kategori kuat, dan fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi larutan gula tropicanaslim 40% adalah 21,02 mm dengan kategori sangat kuat.

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 (28). Hasil penelitian ini telah terukur bahwa kombucha bunga telang yang telah ditambahkan konsentrasi gula tropicanaslim sebesar 40% memiliki aktivitas sebagai antibakteri yang terbaik. Konsentrasi larutan fermentasi kombucha bunga telang yang mengandung gula tropicanaslim 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 (29). Hal tersebut didukung oleh hasil penelitian yang telah dilakukan oleh (4) 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.

KESIMPULAN

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 larutan gula tropicanaslim sebesar 40% memiliki aktivitas sebagai antibakteri tertinggi jika dibandingkan dengan fermentasi kombucha bunga telang pada larutan gula tropicanaslim konsentrasi 20% dan 30%. Nilai rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* adalah sebesar 22,60 mm dengan kategori sangat kuat, *Staphylococcus epidermidis* 21,53 mm dengan kategori sangat kuat, *Pseudomonas aeruginosa* 21,34 mm dengan kategori sangat kuat, dan *Escherichia coli* 21,02 mm dengan kategori sangat kuat.

SARAN

Konsentrasi gula yang berbeda-beda pada fermentasi kombucha bunga telang (*Clitoria ternatea* L) mempengaruhi pertumbuhan bakteri patogen secara *in vitro*, sehingga dalam penelitian ini perlu dilakukan pengujian secara *in vivo* terkait pengaruh pemberian sediaan fermentasi kombucha bunga telang terhadap jumlah sel neutrophil sebagai indikator respon imunitas pada mencit yang diinfeksi bakteri gram positif dan negatif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada tim peneliti yang telah mendukung proses

penelitian dari awal sampai selesai penelitian ini sehingga penelitian ini dapat berjalan sesuai target semester gasal.

PUSTAKA

1. Fadhilah, F. R., Rezaldi, F., Fadillah, M. F., Fathurohim, M. F., & Setiawan, U. (2021). Narrative Review: Metode Analisis Produk Vaksin Yang Aman dan Halal Berdasarkan Perspektif Bioteknologi. *International Journal Mathla'ul Anwar of Halal Issues*, 1(1), 64-80. <https://doi.org/10.30653/ijma.202111.12>
2. 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>
3. Rezaldi, F., Maruf, A., Pertiwi, F. D., Fatolah, 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>
4. 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>
5. 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>.
6. Wistiana, D., & Zubaidah, E. (2015). *Journal of Food and Agro-Industry. Chemical and Microbiological Characteristics of Kombucha from Various High Phenol Leaves During Fermentation*, 3(4), 1446-1457.
 7. 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.
 8. Firdaus S, Indah A, Isnaini L, Aminah S. 2020. The Kombucha Sebagai Minuman Fungsional dengan Berbagai Bahan Dasar The. *Prosiding Seminar Nasional Unimus*. 3.e-ISSN :2654 –3168.
 9. Rezaldi, F., Taupiqurrohman, O., Fadillah, M. F., Rochmat, A., Humaedi, A., & Fadhillah, 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>
 10. Adnan M, Khan S, Kazmi A, Bashir N, Siddique R. COVID-19 infection : Origin , transmission , and characteristics of human coronaviruses. *J Adv Res*. 2020;24:91-98. doi:10.1016/j.jare.2020.03.005.
 11. Pertiwi, F. D., Rezaldi, F., & Puspitasari, R. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *BIO SAIN TROPIS (BIOSCIENCE-TROPIC)*, 7(2), 57-68. <https://doi.org/10.33474/e-jbst.v7i2.471>
 12. Saati, E. A. (2016). Antioxidant power of rose anthocyanin pigment. *ARPN Journal of Engineering and Applied Sciences*, 11(17), 1201–1204. <https://eprints.umm.ac.id/57868/>
 13. Hunaefi, D., Gruda, N., Riedel, H., Akumo, D. N., Saw, N. M. M. T., & Smetanska, I. (2013). Improvement of antioxidant activities in red cabbage sprouts by lactic acid bacterial fermentation. *Food biotechnology*, 27(4), 279-302.
 14. 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>
 15. 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>
 16. 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>.
 17. 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>
18. 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>
 19. Rezaldi, F., 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>
 20. 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.
 21. Handayani, Fitriani., Warnida Husnul., & Nur Juhairah Siti. 2016. Formulasi dan Uji Aktivitas Antibakteri *Streptococcus mutans* Dari Sediaan Mouthwash Ekstrak Daun Salam. *Media Sains*. Vol 9(1). 74-84.
 22. 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>.
 23. 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>
 24. 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>.
 25. Konchzak, I., Zhang, W. 2014. Anthocyanins more than Natures Colours . *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. Vol 5, No. 2. 239-250
 26. 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>
 27. 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>

28. 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>.
29. 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>.