JURNAL JEUMPA
JURNAL PENDIDIKAN SAINS & BIOLOGI

ISSN: 2356-069X
E-ISSN: 2715-4343
DOI: 10.33059/jj.v9i2.6357

Analisis Potensi Fermentasi Kombucha Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) dengan Konsentrasi Gula Stevia sebagai Inhibitor Pertumbuhan Bakteri Patogen

Potential Analysis of Fermentation of Eagle Flower Kombucha (*Clitoria ternatea* L.) with Stevia Sugar Concentration as an Inhibitor of Pathogenic Bacterial Growth

Muhammad Faizal Fathurrohim[1*], Firman Rezaldi[2], Endang Safitri[3], Diyan Yunanto Setyaji[4], Fitri Rahmi Fadillah[5], M. Fariz Fadillah[6], Fajar Hidayanto[7], Yuliana Kolo[8]

[1]Program Studi Pendidikan Biologi, Universitas Sali Al-Aitaam, Jl. Aceng-Sali No. 1, Kabupaten Bandung, 40287, Indonesia
[2]Program Studi Farmasi, Fakultas Sains Farmasi dan Kesehatan, Universitas Matha'ul Anwar, Jl. Raya Labuan KM 23 Cikaliung, Banten, 42273, Indonesia
[3]Jurusan Farmasi, Stikes Salsabila, Jl. Raya Serang-Pandeglang Km.06 No. 33, Banten, 42211, Indonesia
[4]Program Studi Sarjana Gizi, Stikes Panti Rapih, Jl. Tantular No. 401, Yogyakarta, 55281, Indonesia
[5]Program Studi Teknologi Laboratorium Medik, Fakultas Kesehatan, Institut Kesehatan Rajawali, Jl. Rajawali Barat No.73, Bandung, 40184, Indonesia
[6]Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Sains Farmasi dan Kesehatan, Universitas Matha'ul Anwar, Jl. Raya Labuan KM 23 Cikaliung, 42273, Banten, Indonesia
[7]Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Merdeka Pasuruan, Jl. Ir. H. Juanda No. 68, Jawa Timur, 67129, Indonesia
[8]Program Studi Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Timor, Jl. Eltari Kelurahan Sasi-Kafemenanu Tengah, Nusa Tenggara Timur, 85613, Indonesia

[*]*corresponding author: faizalmaret26@gmail.com*

ABSTRAK

Salah satu minuman probiotik yang berbahan baku bunga telang dan difermentasi oleh *scoby* dengan substrat gula stevia disebut sebagai kombucha bunga telang. Variasi dari konsentrasi gula stevia memiliki potensi sebagai inhibitor pertumbuhan bakteri patogen. Tujuan dari penelitian ini untuk mengkaji pengaruh kombucha bunga telang terhadap aktivitas pertumbuhan dari bakteri patogen gram positif dan negatif berdasarkan konsentrasi gula yang bervariasi. Konsentrasi gula stevia perlakuan yaitu 20%, 30%, dan 40%. Penelitian menggunakan metode difusi untuk mengetahui adanya zona bening yang terbentuk berdasarkan konsentrasi gula stevia pada larutan fermentasi kombucha bunga telang. Hasil menunjukkan bahwa konsentrasi 40% merupakan konsentrasi gula stevia pada fermentasi kombucha bunga telang yang terbai untu menginhibisi pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* sebagai kelompok bakteri gram positif dan *Pseudomonas aeruginosa* maupun *Escherichia coli* yang tergolong bakteri gram negatif. Sehingga dapat disimpulkan bahwa fermentasi kombucha bunga telang masuk dalam spektrum yang luas dan berfungsi sebagai minuman probiotik dalam menunjang imunitas dengan menghambat laju pertumbuhan bakteri patogen.
Kata Kunci: Antibakteri; kombucha; bunga telang; stevia.

ABSTRACT

One of the probiotic drinks made from eagle flower and fermented by scoby with stevia sugar as a substrate is called eagle flower kombucha. Variations of stevia sugar concentration have potential as growth inhibitors of pathogenic bacteria. The purpose of this study was to examine the effect of eagle flower kombucha on the growth activity of gram-positive and gram-negative pathogenic bacteria based on varying sugar concentrations. Treatment stevia sugar concentrations were 20%, 30%, and 40%. The study used the diffusion method to determine the presence of a clear zone formed based on the concentration of stevia sugar in the eagle flower kombucha fermentation solution. The results showed that the concentration of 40% was the concentration of stevia sugar in the eagle flower kombucha fermentation which was the best to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* bacteria as a group of gram-positive bacteria and *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* which were classified as gram-negative bacteria. So it can be concluded that the eagle flower

ISSN: 2356-069X
E-ISSN: 2715-4343
DOI: 10.33059/jj.v9i2.6357

kombucha fermentation belongs to a broad spectrum and functions as a probiotic drink in supporting immunity by inhibiting the growth rate of pathogenic bacteria.
Keywords: Antibacterial; kombucha; eagle flower; stevia.

Manuskrip disubmisi pada 9-10-2022;
disetujui pada 8-11-2022.

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki keanekargaman tanaman obat yang melimpah. Tanaman obat digunakan sebagai alternatif dari bahan kimia untuk menyembuhkan suatu panyakit. Tanaman obat Indonesia yang sangat potensial untuk kesehatan salah satunya adalah *Clitoria ternetea.* Tumbuhan *C. ternatea* secara luas digunakan dalam pengobatan tradisional, diantaranya dikonsumsi sebagai suplemen peningkat fungsi kognitif, serta memberikan efek kuratif terhadap demam, peradangan, nyeri, dan juga terhadap diabetes (Mukherjee et al., 2008).

Studi pharmakologi menunjukkan bahawa tanaman *C. ternatea* memiliki sifat antibakteri, yaitu kemampuan dalam membunuh dan menghambat pertumbuhan mikroorganisme dengan senyawa alami yang terkadung di dalamnnya (Fathurrohim et al., 2018). Ekstrak bunga *C. ternatea* terbukti dapat mensurpress pertumbuhan bakteri patogen seperti *B. cereus, B. subtilis, S. aureus, B. thuringiensis, S. faecalis. E. coli, P. aeruginosa, S. typhi, E. aerogens, P. mirabilis* dan *Herbaspirillum sp*. dengan diameter zona hambat di atas 10 mm. (Kamilla et al., 2008). Pada penelitian lain, ekstrak bunga *C. ternatea* menghasilkan zona hambat terhadap bakteri patogen *S. aureus* 9,7 mm (Satria et al., 2022) dan 14,75 mm (Anthika et al., 2015), *P. aeruginosa* 4,7 mm (Nguyen et al., 2011), dan *E. coli* 16 mm sampai 26 mm (Jamil & Pa'ee, 2018).

Dalam penelitian ini, peneliti akan menggunakan bahan ekstrak buah *C. ternatea* yang di fermentasi menggunakan kombucha dengan penambahan konsentrasi gula stevia untuk mengukur zona hambat terhadap bakteri patogen gram positif dan gram negatif. Kandungan kombucha dapat berperan dalam aktivitas antibakteri karena mengandung asam organik yaitu jenis asam asetat (Naland, 2008). Kombucha adalah minuman yang diperoleh dari teh fermentasi oleh konsorsium mikroba yang terdiri dari beberapa bakteri dan ragi. Konsorsium campuran ini membentuk simbiosis kuat yang mampu menginhibisi pertumbuhan dari bakteri patogen (Fathurrohim et al., 2022). Kombucha yang berbahan dasar teh hitam menunjukkan daya hambat pertumbuhan bakteri patogen seperti *S. aureus, P. aeruginosa,* dan *E. coli* (Al-Kalifawi, 2014).

Kandungan ekstrak daun stevia dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* dengan rata-rata 10,32 mm (Wenda et al., 2017). Sifat antibakteri teh hitam dengan sukrosa sebagai substrat

ISSN: 2356-069X
E-ISSN: 2715-4343
DOI: 10.33059/jj.v9i2.6357

menyajikan media terbaik untuk menghambat mikroorganisme selama proses fermentasi kombucha 14 hari (Vohra et al., 2019). Tujuan penelitian ini adalah mengkaji pengaruh penggunaan kombucha bunga telang terhadap aktivitas pertumbuhan dari bakteri gram positif dan negatif berdasarkan konsentrasi gula yang berbeda-beda

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Penelitian dilakukan bulan Juni s/d Agustus 2022 yang berlokasi di Laboratorium UPTD (Unit Pelaksana Teknis Dinas) Pengujian dan Penerapan Mutu Hasil Perikanan (PPMHP) Provinsi Jawa Barat.

Alat yang digunakan diantaranya yaitu blender, toples kaca, kain katun, Labu ukur, gelas kimia, aluminium foil, penangas air, jangka sorong, ujung biru, ujung kuning, bunsen, inkubator, korek api, autoklaf. Selanjutnya bahan yang digunakan antara lain gula stevia, kombucha dengan bahan dasar teh hijau (kontrol positif), aquades steril (kontrol negatif), bunga telang sebagai bahan dasar fermentasi kombucha, dan kombucha (scoby) sebagai starter, pengujian *S. aureus, S. epidermidis, P. aeruginosa, E. coli* dan media MHA (Muller-Hinton agar).

Preparasi Bunga Telang

Sampel bunga telang dikoleksi dari daerah perkotaan Cilegon, desa Pekunsen. Bunga telang yang baru dipanen sebanyak 500 gram, dicuci bersih, selanjutnya dikeringkan. Sampel kering selanjutnya disimpan dalam wadah bersih sampai suhu rendah matang dan difermentasi dengan *scoby* (Rezaldi et al., 2021).

Pembuatan Fermentasi Kombucha Bunga Telang

Tahap fermentasi digunakan bahan utama gula stevia sebagai substrat dan kultur awal kombucha dengan baby scoby dalam bentuk kombucha cair. Bunga telang dan teh hitam ditimbang hingga 17,2% dalam 1 liter air dan ditimbang hingga 7,2% sampai sisa 2,4% kelembaban cocok untuk bunga telang, dengan teh hitam sebagai kontrol positif untuk berbagai perlakuan. Selanjutnya diambahkan konsentrasi gula stevia sesuai perlakuan yaitu direbus 20%, 30%, 40% dan dituangkan ke dalam botol kaca. Langkah selanjutnya dituangkan air mendidih ke dalam toples dan ditambahkan untuk setiap perlakuan konsentrat gula stevia dan didinginkan air mendidih hingga suhu 25°C serta ditambahkan starter kombucha. Langkah terakhir yaitu toples kaca ditutup dengan kain dan karet sehingga proses fermentasi berlangsung statis pada suhu kamar selama 12 hari (Yanti et al., 2020 ; Rezaldi et al., 2021).

ISSN: 2356-069X
E-ISSN: 2715-4343
DOI: 10.33059/jj.v9i2.6357

Uji Antibakteri

Pengujian antimikroba menggunakan metode difusi cakram. Tahapan yang dilakukan meliputi pembuatan media MHA (Muller-Hinton agar). Kapas steril dimasukkan dalam suspensi organisme uji pada kondisi media padat atau dingin. Bakteri uji yang digunakan yaitu *Staphylococcus aureus, S. epidermis, Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli* yang dimasukkan ke dalam media MHA sampai permukaan tertutup. Disk dengan kandungan bunga telang yang direndam dalam larutan kombucha fermentasi dengan konsentrasi gula stevia ditempatkan pada cawan I (20%), cawan II (30%), cawan III (40%), cawan IV (kontrol positif), dan cawan V (kontrol negatif) dengan masing-masing 3 kali pengulangan. Setelah inokulasi, bahan uji diinkubasi selama 24 jam. Pasca inkubasi, dihitung diameter zona hambat yang terbentuk (Handayani et al., 2017).

Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis lebih lanjut melalui analisis one way ANOVA dengan signifikansi sebesar 95%. Data dengan hasil analisis signifikan akan dikaji lebih lanjut melalui *post hoc LSD* (Fathurrohim et al., 2022).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Hasil pengamatan menunjukkan adanya efek positif dari penggunaan fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi 20%, 30%, dan 40% gula stevia sebagai antibakteri gram positif – negatif yang dugubakan sebagai bakteri uji (Tabel 1).

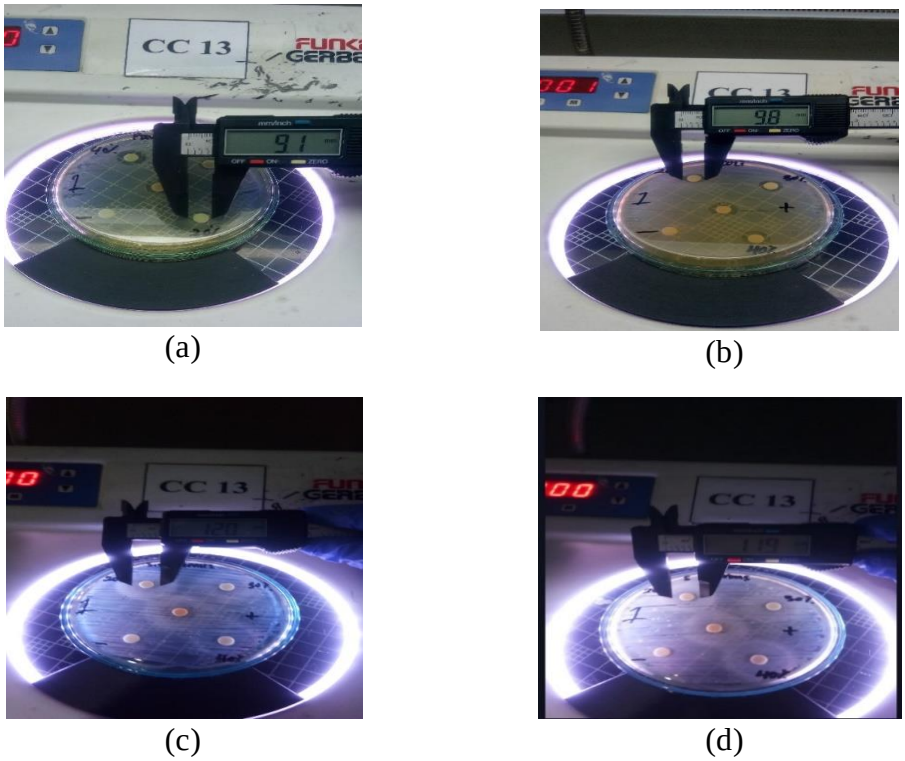
Tabel 1. Pengukuran rerata diameter zona hambat pada media MHA

Jenis Bakteri	Ulangan	Kontrol negatif (mm)	Kontrol positif (mm)	Diameter zona hambat (mm)		
				20%	30%	40%
S. aureus	I	0	18,30	17,34	18,50	20,89
	II	0	20,05	18,90	20,71	21,85
	III	0	23,50	22,45	27,90	28,77
	Σ	0	20,61	19,56	22,37	23,83
S. epidermidis	I	0	17,52	18,00	19,70	20,50
	II	0	18,75	18,00	19,60	21,55
	III	0	22,79	18,80	21,67	25,67
	Σ	0	19,68	18,26	20,32	22,57
P. aeruginosa	I	0	16,60	16,70	18,60	19,71
	II	0	18,50	17,21	18,50	21,50
	III	0	20,70	17,88	19,89	23,00
	Σ	0	18,60	17,26	18,96	21,40

ISSN: 2356-069X
E-ISSN: 2715-4343
DOI: 10.33059/jj.v9i2.6357

E. coli	I	0	15,50	14,60	17,90	20,00
	II	0	17,25	15,52	18,00	20,00
	III	0	19,00	17,70	19,25	22,71
	Σ	0	17,25	15,94	18,38	20,90

Tabel 1 menyajikan data penelitian untuk konsentrasi gula stevia dalam fermentasi memiliki potensi sebagai inhibitor pertumbuhan bakteri gram positif dan negatif. Konsentrasi gula stevia 40% dalam fermentasi menunjukkan hasil terbaik untuk setiap kultur bakteri yang dihasilkan yaitu dengan diameter berukuran 23,83 mm untuk *S. epidermidis* adalah 22,57 mm, *P. aeruginiosa* adalah sebesar *21,40, dan E. coli* adalah sebesar 20,90 mm (Gambar 1).



(a) (b)

(c) (d)

Gambar 1. Hasil pengukuran zona hambat: a) *P. aeruginosa*; b) *E. coli*; c) *S. epidermidis;* d) *S. aureus*

Data penelitian dianalisis dengan one-way ANOVA. Namun data juga perlu di uji normalitas untuk memastikan data berdistrubusi normal (parametrik) (Tabel 2), dan uji varians data, yang bertujuan untuk menyeragamkan data penelitian yang diperoleh (Tabel 3).

Tabel 2. Uji Normalitas

Jenis Bakteri	Sig
S. aureus	0,59
S. epidermidis	0,48
P. aeruginosa	0,37
E. coli	0,26

ISSN: 2356-069X
E-ISSN: 2715-4343
DOI: 10.33059/jj.v9i2.6357

Hasil uji normalitas berupa Saphiro-Wilk disajikan pada tabel 2. Uji Saphiro-Wilk menunjukkan bahwa data memiliki p-values >0,05, mengindikasikan bahwa data berdistribusi normal atau parametrik.

Tabel 3. Uji Varians Data

Jenis Bakteri	Sig
S. aureus	0,77
S. epidermidis	0,66
P. aeruginosa	0,55
E. coli	0,44

Tabel 3 menunjukkan hasil uji varians data p-value > 0,05. Artinya data memiliki varians data yang sama dan dapat diuji dengan one way ANOVA.

Tabel 4. Uji One Way Anova

Jenis Bakteri	Sig
S. aureus	0,000
S. epidermidis	0,03
P. aeruginosa	0,000
E. coli	0,02

Hasil analisis one way ANOVA menunjukkan bahwa setiap perlakuan memiliki signifikan nilai p<0,5. Nilai rerata antar kelompok perlakuan untuk fermentasi menunjukkan perbedaan yang nyata. Olehkarena itu, uji dilanjutkan dengan tes *post hoc.*

Tabel 5. Uji Analisis *Pos-Hoc*

Jenis Bakteri		20%	30%	40%	Kontrol Positif	Kontrol Negatif
S. aureus	20%	-	0,666	0,005*	0,000*	0,000*
	30%	0,666	-	0,133	0,000*	0,000*
	40%	0,005*	0,666	-	0,000*	0,000*
	Kontrol Positif	0,000*	0,000*	0,000*	-	0,000*
	Kontrol Negatif	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	-
S. epidermidis	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*	-
P. aeruginosa	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*	-
E. coli	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*	-

*perbedaan bermakna (p<0,05)

ISSN: 2356-069X
E-ISSN: 2715-4343
DOI: 10.33059/jj.v9i2.6357

Interpretasi uji post hoc menunjukkan perbedaan nyata jika nilai p< 0,05, dan tidak berbeda nyata jika p>0,05. Berdasarkan hasil uji post-hoc dapat dikatakan bahwa *S. aureus, S. epidermidis, P. aeruginosa* dan *E. coli* dengan konsentrasi larutan gula stevia kombucha bunga telang tidak berbeda dengan konsentrasi larutan gula stevia kombucha bunga telang 40%, tetapi konsentrasi larutan berbeda nyata dengan kontrol positif dan negatif , 30%. Kadar gula stevia fermentasi kombucha bunga telang pada konsentrasi 30% tidak berbeda nyata dengan kontrol 20%, 40%, kontrol positif dan negatif. Pada kadar gula stevia 40% tidak berbeda nyata antara kontrol positif dan negatif, tetapi berbeda nyata pada konsentrasi 20% dan 30%.

Pembahasan

Kandungan dari fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi gula stevia yang diuji dalam penelitian menghasilkan zona hambat yang di indikasikan melalui pembentukan zona bening pada media pertumbuhan bakteri. Fermentasi kombucha bunga telang memiliki kandungan senyawa yang mampu menginhibisi pertumbuhan bakteri patogen gram positif ataupun negatif sehingga fermentasi tersebut memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Salah satu senyawa antibakteri adalah asam asetat. Senyawa asam asetat terbentuk selama proses fermentasi dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Kumar & Joshi 2016). Asam asetat yang dihasilkan selama proses fermentasi kombucha terdegradasi dengan mekanisme pelepasan proton bebas, sehingga menghasilkan pH medium yang lebih rendah. (Yanti et al., 2020). Idealnya, asam asetat tak terdisosiasi berperan penting dalam mengganggu struktur lipid bilayer bakteri melalui masuknya proton ke dalam sitoplasma, sehingga jumlah proton dalam sel tinggi dan sitoplasma dalam keadaan asam. Dalam kondisi asam, sitoplasma dapat menyebabkan denaturasi protein dan kehilangan energi. Kandungan asam organik yang lebih tinggi dalam asam asetat mencegah pertumbuhan bakteri patogen.

Selain itu, bunga telang juga mengandung antosianin yang memiliki potensi sebagai antioksidan, serta mencegah penyakit seperti diabetes, kardiovaskularm dan kanker (Loypimay et al., 2016; Konczhak et al., 2014). Antosianin juga memiliki khasiat preventif terhadap penyakit kanker usus besar, antihiperglikemia, dan penghambat bakteri seperti *S. thypi* dan *E. coli* (Kunnaryo & Wikandari, 2021; Saati, 2016).

Hasil penelitian ini menghasilkan kemampuan kombucha bunga telang memiliki aktivitas antibakteri spektrum luas. Kombucha teh hitam dan hijau dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif (Battikh et al., 2013). Rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk dari fermentasi pada konsentrasi larutan gula stevia 20% adalah 19,56 mm, dan termasuk kategori kuat. Fermentasi dengan larutan gula stevia 30% adalah 22,37 mm, dan

ISSN: 2356-069X
E-ISSN: 2715-4343
DOI: 10.33059/jj.v9i2.6357

fermentasi dengan larutan gula stevia 40% adalah 23,83 mm, dan keduanya termasuk dalam kategori sangat kuat terhadap *S. aureus*. Kombucha berbahan dasar teh hitam memiliki kemampuan dalam menginhibisi pertumbuhan bakteri (Khaleil et al., 2020). Kombucha bunga telang juga mampu menginhibisi pertumbuhan patogen gram-positif dan gram-negatif pada konsentrasi gula 20%, 30%, dan 40%. (Rezaldi et al., 2021)

Fermentasi bunga telang kombucha dengan konsentrasi 205 larutan gula stevia memiliki diameter zona hambat berukuran 18,26 mm, 30% dengan diameter zona hambat 20,32 mm, dan yang 40% berukuran 22,57 mm, termasuk dalam kategori sangat kuat terhadap bakteri *S. epidermidis*. Fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi 20% larutan gula stevia rata-rata memiliki diameter zona hambat berukuran 17,26 mm, 30% diameter zona hambat berukuran 18,96 mm dan 40% berukuran 21,40 mm, termasuk dalam kategori sangat kuat terhadap bakteri *P. aeruginosa*. Pada fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi 20% larutan gula stevia, zoona hambar yang terbentuk adalah 15,94 mm, 30% dengan diameter zona hambat berukuran 18,38 mm dan 40% berukuran 20,90 mm, dikategorikan sangat kuat terhadap bakteri *E. coli.*. Zona hambat tersebut dapat diklasifikasikan seberapa besar respon hambatannya dengan mencocokkan pada tabel klasifikasi respon zona hambat. Sifat antimikroba sangat baik dengan zona bening tinggi yang menunjukkan adanya penghambatan antimikroba (Allison & Lambert, 2015).

Konsorsium bakteri dan ragi yang mengandung senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalam kombucha mampu meningkatkan fungsinya sebagai agen anti bakteri patogen. Mekanisme seluler adalah untuk menghancurkan komponen peptidoglikan dalam dinding sel bakteri Gram-positif dan Gram-negatif. Kandungan peptidoglikan dinding sel bakteri Gram positif lebih tinggi daripada bakteri Gram negatif. Dinding sel bakteri positif bakteri lebih mudah rusak oleh kombucha sebagai agen antibakteri (Sreeramul et al., 2000). Kombucha memiliki aktivitas tertinggi terhadap bakteri Gram positif, terutama spesies *S. aureus* (Borkani et al., 2016).

KESIMPULAN

Berdasarkan studi yang telah dilaksanakan, dapat disimpulkan bahwa fermentasi dari kombucha bunga telang memiliki aktivitas sebagai inhibitor pertumbuhan bakteri patogen. Dari beberapa perlakuan yang dilakukan, fermentasi dengan konsentrasi 40% larutan gula stevia 40% memiliki potensi tertinggi sebagai antibakteri. *S. aureus* memiliki diameter zona hambat paling tinggi yakni 23,83 mm dibandingkan dengan bakteri uji lainnya.

ISSN: 2356-069X
E-ISSN: 2715-4343
DOI: 10.33059/jj.v9i2.6357

REFERENSI

Allison, D. G., & Lambert, P. A. (2015). Modes of action of antibacterial agents. *InMolecular Medical Microbiology* (pp. 583–598). Elsevier. doi.org/10.1016/B978-0-12-397169-2.00032-9.

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. doi.org/10.12816/0010111.

Anthika, B., Kusumocahyo, S. P., & Sutanto, H. (2015). Ultrasonic approach in Clitoria ternatea (butterfly pea) extraction in water and extract sterilization by ultrafiltration for eye drop active ingredient. *Procedia Chem. 16*, 237–244. doi: 10.1016/j.proche.2015.12.046.

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.bipublication.com/files/201603207Monir.pdf

Fathurrohim, M.F., Rezaldi, F., Abdilah, N. A., Fadhillah, M. F., & Setyaji, D. Y. (2022). Pengaruh Metode Bioteknologi Fermentasi Kombucha Bunga Telah (*Clitoria ternetea* L) Sebagai Antibakteri *Propinobacterium acne*. *Simbiosa. 11*(1): 16–25. doi.org/10.33373/sim-bio.v11i1.4244.

Fathurrohim, M. F., Indrawati, I., and Rossiana, N. (2018). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Buah, Bakteri dan Jamur Endofit Buah Jamblang (Sygizium cumini L. Skells) Terhadap Bakteri Patogen. *Biotika, 16*(1), 45-54. doi: https://doi.org/10.24198/bjib.v16i1

Handayani, F., Sundu, R., & Sari, R. M. (2017). Formulasi dan uji aktivitas antibakteri streptococcus mutans dari sediaan mouthwash ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.). *Jurnal Sains Dan Kesehatan, 1*(8), 422–433. https://doi.org/10.25026/jsk.v1i8.62

Jamil, N., and Pa'ee, F. (2018). Antimicrobial Activity From Leaf, Flower, Stem, and Root of *Clitoria ternateae*- A Review. *Inventin Prosperous Future through Biological Research and Tropical Biodiversity Management*. doi.org/10.1063/1.5050140

Kamila, L., Mnsor, S. M., Ramanathan, S., & Sasidharan. S. (2009). Antimicrobial Activity of *Clitoria ternatea* (L.) Extracts. *Pharmacologyonline 1*: 731-738. www.researchgate.net/publication/282188601

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. office2.jmbfs.org/index.php/JMBFS/article/view/4505

Konchzak, I., Zhang, W. (2014). Anthocyaninsmore than Natures Colours. *Journal of Biomedicine and Biotechnology. 5*(2), 239-250.

Kumar, V., & Joshi, V. K. (2016). Kombucha: Technology, microbiology, production, composition and therapeutic value. International Journal of Food and Fermentation Technology, 6(1), 13–24. http://dx.doi.org/10.5958/2277-9396.2016.00022.2.

Kunnaryo, H. J. B., & Wikandari, P. R. (2021). Antosianin dalam Produksi Fermentasi dan Perannya sebagai Antioksidan. *10*(1), 24–36. https://ejournal.unesa.ac.id/index.php/unesa-journal-of- chemistry/article/view/40298.

Loypimai, P., Moongngarm, A., & Chottanom, P. (2016). Thermal and pH degradation kinetics of anthocyanins in natural food colorant prepared from black rice bran. *Journal of Food Science and Technology, 53*(1), 461–470. doi.org/10.1007/s13197-015-2002-1

Mukherjee, P. K., Kumar, V., Kumar, N. S., & Heinrich, M. (2008). Ayurveda Obat *Clitoria ternatea* dari penggunaan tradisional untuk penilaian ilmiah. *J. Etnofarmaka. 120*, 291–301. doi: 10.1016/j.jep.2008.09.009.

Naland, H. (2008). *Kombucha; Teh Dengan Seribu Khasiat*. AgroMedia.

Nguyen,G. K. T., Zhang, S., Ngan, T. K. N., Phuong, Q. T. N., Chiu, M. S., Hardjojo, A., et al. (2011). Discovery and characterization of novel cyclotides originated from chimeric precursors consisting of albumin-1 chain a and cyclotide domains in the Fabaceae family. *J. Biol. Chem. 286, 2*4275–24287. doi: 10.1074/jbc.M111.229922.

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

Satria, D., Softyanti, E., Wulandari, P., Fajarin., Pakpahan, S. D., & Limbong, S. A. (2022). Antibacterial activity of Medan Butterfly pea (*Clitoria ternatea* L.) corolla extract against *Streptococcus* mutans ATCC®25175™ and *Staphylococcus aureus* ATCC®6538™. *Pharmacia 69*(1): 195–20. doi. 10.3897/pharmacia.69e77076

Sreeramulu, G., Zhu, Y., & Knol, W. (2000). Kombucha fermentation and its antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48*(6), 2589– 2594. doi.org/10.1021/jf991333m

Vohra, B. M., Fazry, S., Sairi, F., & Babul-Airianah, O. (2019). Effects of Medium Variation and Fermentation Time On The Antioxidant and Antimicrobial Properties of Kombucha. *Mal J Fund Appl Sci, 15*(2-1), 298-302.

Wenda, Y., Wowor, P. M., & Leman, M. A. Uji daya hambat ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana Bertoni* M.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *Jurnal e-Gigi. 5*(1), 64–67.

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. doi.org/10.19184/bst.v8i2.15968