

STUDI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KOMBUCHA DARI BERBAGAI JENIS DAUN SELAMA FERMENTASI

Study of Antioxidant Activity on Various Kombucha Leaves During Fermentation

Prasis Nursyam Suhardini^{1*}, Elok Zubaidah¹

1) Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP Universitas Brawijaya Malang
Jl. Veteran, Malang 65145

*Penulis Korespondensi, Email: prasisdhini@yahoo.com

ABSTRAK

Kombucha merupakan produk hasil fermentasi larutan teh dan gula dengan menggunakan starter dari bakteri *Acetobacter* dan beberapa jenis khamir. Teh kombucha adalah minuman fungsional yang dapat melancarkan pencernaan, sebagai antibiotik, antioksidan, dan antibakteri. Dedaunan seperti daun salam, daun jambu, daun sirih, daun sirsak, daun kopi, dan daun teh mengandung fenol dan dapat digunakan sebagai bahan baku kombucha belum dilakukan sampai saat ini. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui karakteristik dan aktivitas antioksidan kombucha berbagai jenis daun yang mengandung fenol selama fermentasi. Penelitian ini menggunakan metode RAK (Rancangan Acak Kelompok) 1 faktor perlakuan dengan 3 kali ulangan (18 unit). Faktor yang digunakan adalah dedaunan sebagai bahan baku kombucha yaitu: D1 = Daun Teh, D2 = Daun Sirih Hijau, D3 = Daun Kopi, D4 = Daun Salam, D5 = Daun Sirsak, D6 = Daun Jambu. Data dianalisis keragaman ANOVA. Bila data tidak ada interaksi namun di salah satu faktor perlakuan terdapat beda nyata, maka dilakukan uji beda BNT dengan taraf nyata 5%. Pemilihan perlakuan terbaik menggunakan metode Zeleny.

Kata Kunci: Antioksidan, Fenol, Kombucha, Daun

ABSTRACT

*Kombucha is a fermented product of tea and sugar solution by using the starter from Acetobacter bacteria and some types of yeast. Kombucha tea is a functional beverage that can aid digestion, as an antibiotic, antioxidant, and antibacterial. Foliage such as bay leaves, guava leaf, betel leaf, soursop leaf, coffee leaf, and tea leaf contain phenol and can be used as raw material of kombucha has not been done to date. Therefore, this study was conducted to investigate the characteristics and antioxidant activity of kombucha in various types of leaves that contain phenol during fermentation. This study uses RAK method (Random Group) 1 factor treatment with 3 replications (18 units). Factors used are fresh leaves containing phenol used as raw material kombucha namely: D1 = Tea leaf (*Camelia sinensis*), D2 = Green Betel leaf (*Pipper betle* Linn), D3 = Coffee leaf (*Coffea arabica* L), D4 = Bay leaf (*Eugenia polyantha*), D5 = Soursop leaf (*Annona muricata* Linn), D6 = Guava leaf (*Psidium guajava* L). The data obtained were analyzed ANOVA diversity. When the data is no interaction but in one treatment factor are significantly different, then do different test BNT with 5% significance level. For best treatment selection uses Zeleny methods.*

Keywords: Antioxidants, Phenols, Kombucha, Leaf

PENDAHULUAN

Kombucha adalah minuman kesehatan yang sudah dikenal sejak jaman dahulu di berbagai negara seperti China, Rusia, dan Jerman [1]. Kombucha merupakan hasil

fermentasi teh dan gula oleh starter kultur kombucha yang disebut SCOBY. Simbiosis kultur kombucha antara lain *Acetobacter* yaitu *Acetobacter xylinum*, dan beberapa jenis khamir yaitu *Brettanomyces*, *Zygosaccharomyces*, dan *Saccharomyces* [2]. Bakteri dan khamir saling berkompetisi menghasilkan alkohol dan asam dengan merombak gula [3]. Komponen mayor yang dihasilkan saat fermentasi adalah asam asetat, etanol, dan asam glukuronat, sedangkan komponen minor yang dihasilkan adalah asam laktat, asam fenolat, vitamin B, dan enzim [4]. Meningkatnya aktivitas antioksidan disebabkan karena adanya fenolik bebas yang dihasilkan selama proses fermentasi, sehingga semakin tinggi kadar fenolik yang dihasilkan, maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya [5]. Kombucha juga mengandung senyawa-senyawa organik yang bermanfaat bagi tubuh yaitu vitamin B kompleks, asam organik, dan senyawa lain yang berfungsi sebagai antibiotik [6]. Kombucha memiliki berbagai efek kesehatan, antara lain sebagai antibiotik, melancarkan pencernaan, antioksidan, dan antibakteri [7].

Jenis tanaman lain yang bermanfaat bagi kesehatan selain kombucha adalah jenis dedaunan yang mengandung fenol sehingga dapat dimanfaatkan sebagai minuman fungsional. Dedaunan yang mengandung fenol sebagai antioksidan diantaranya daun teh, daun jambu biji, daun kopi, daun sirih, daun salam, dan daun sirih.

Daun teh mengandung antioksidan flavonoid yang merupakan bagian dari polifenol the [8]. Daun jambu biji mengandung antioksidan yaitu tanin, polifenolat, flavonoid, monoterpenoid, siskulterpen, alkaloid, kuinon, saponin, karoten, minyak atsiri (eugenol), dan minyak lemak [9]. Daun kopi mengandung antioksidan alkaloida, saponin, flavonoida dan polifenol. Daun kopi merupakan limbah perkebunan yang biasanya digunakan untuk teh daun kopi. Daun sirih mengandung antioksidan dan dipercaya masyarakat Indonesia sebagai obat herbal untuk mengobati penyakit kanker [10]. Daun salam mengandung tanin, minyak atsiri, seskuioterpen, triterpenoid, fenol, steroid, sitral, lakton, saponin, dan karbohidrat yang berpotensi menghasilkan aktivitas antioksidan [11]. Daun sirih merupakan tanaman obat yang dipercaya masyarakat untuk menghilangkan nyeri sehingga disebut sebagai obat analgetik [12].

Pemanfaatan berbagai jenis daun yang tinggi fenol sebagai bahan baku pembuatan kombucha belum dilakukan sampai saat ini karena kombucha biasanya terbuat dari daun teh dan sebagian masyarakat Indonesia belum mengenal produk kombucha. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan untuk melakukan "Studi Aktivitas Antioksidan Kombucha dari Berbagai Jenis Daun Selama Fermentasi." Penentuan aktivitas antioksidan yang optimal pada Kombucha lokal teh hitam di Bali didasarkan pada pH yang aman untuk dikonsumsi dan presentase penangkapan radikal bebas DPPH [13].

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah dedaunan muda (3-5 daun dari pucuk) yang berpotensi sebagai bahan baku adalah daun kopi muda jenis kopi robusta, daun jambu biji muda, daun sirih muda, daun salam muda, daun teh muda, dan daun sirih muda, kultur kombucha yang berupa nata (SCOBY) dan baby kombucha yang berupa kombucha cair yang dibeli di Indokombucha Bandung. Bahan lain yang digunakan yaitu sukrosa, aquades, reagen Folin ciocalteau, Na_2CO_3 , $CaCO_3$, Pb-asetat, Na-oksalat, Anthrone, H_2SO_4 , etanol 96%, DPPH 0.2 mM, indikator PP, NaOH 0.1 N, pepton, aluminium foil, plastik, alcohol 70%, buffer pH 4 dan buffer pH 7, kertas coklat yang didapatkan dari Laboratorium Kimia dan Biokimia Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Brawijaya Malang, dan Toko Kimia Makmur Sejati Malang.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini untuk penelitian kombucha berbagai jenis daun yaitu panci stainless steel, toples kaca, kain katun putih penutup toples, sarung tangan, karet gelang, saringan, beaker glass, gelas ukur, labu ukur 100 ml, erlenmeyer 250

ml, timbangan digital (Metler Denver AA 200), pipet tetes, pipet ukur, mikropipet, corong, tabung reaksi, spatula, spektrofotometer (Unico, UV-2100 Spectrophotometer), color reader (Minolta CR-10), kompor listrik (Maspion 5-300, 220 volt), buret, termometer, sarung tangan, oven, cawan, vortex, pH meter (CG 824 SHCOTT), dan mortar.

Desain Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah percobaan laboratorium dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang melibatkan 1 faktor perlakuan dengan 3 kali ulangan sehingga jumlah unit keseluruhan adalah 18 unit. Data dianalisis dengan menggunakan metode analisis ragam (*Analysis of Variance* atau ANOVA) dilanjutkan dengan uji lanjut BNT dengan selang kepercayaan 5%. Pemilihan perlakuan terbaik dilakukan dengan metode *Multiple Attribut*.

Tahapan Penelitian

Penelitian dilaksanakan dengan membuat teh dari berbagai daun yang mengandung fenol tinggi kemudian dijadikan kombucha dengan penambahan starter dan difermentasi yaitu dengan berbagai macam daun yang mengandung fenol tinggi diseduh terlebih dahulu dengan air suhu 80°C 400ml, 15 menit. Kemudian air seduhan disaring untuk memisahkan daun dengan air teh. Kemudian ditambahkan gula 10% (b/v) dan dilarutkan. Disaring agar air teh bersih. Kemudian air teh dimasukkan Toples yang terbuat dari kaca. Setelah itu dinginkan sampai suhu $\pm 25^{\circ}\text{C}$. Waktu mendinginkan tidak boleh lebih dari 4 jam. Kemudian sebelum 4 jam dan air teh sudah dingin ditambahkan starter kombucha cair 30 ml dan nata (SCOBY). Tutup dengan kain katun putih dan dikat dengan karet. Kemudian fermentasi selama 14 hari dengan suhu ruang dan tidak boleh langsung terkena sinar matahari

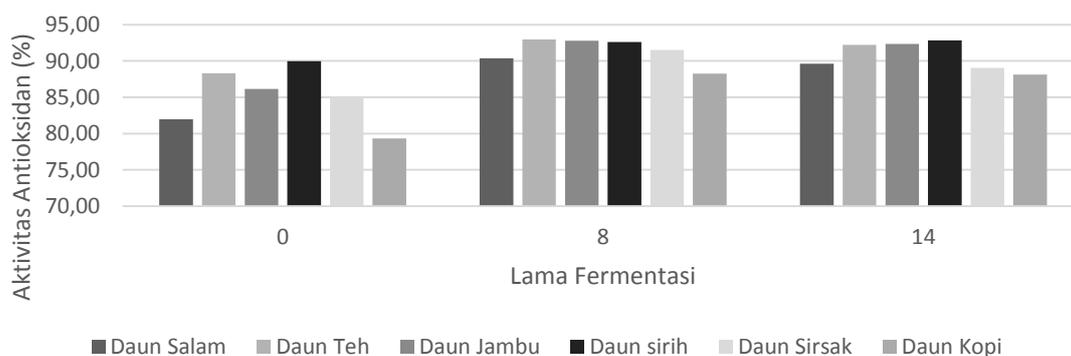
Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis statistik dengan menggunakan analisis ragam (ANOVA) kemudian dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Rerata aktivitas antioksidan produk kombucha berbagai jenis daun selama fermentasi pada pengamatan hari ke-0 berkisar antara 79.3% hingga 89.96%. Sedangkan pada hari ke-8 berkisar antara 88.24% hingga 92.97% dan 88.12% hingga 92.85% pada pengamatan hari ke-14. Kenaikan aktivitas antioksidan selama fermentasi terjadi hingga hari ke-8 dan penurunan hingga hari ke-14. Analisis ragam menunjukkan perbedaan sangat nyata ($\alpha=0.05$). Peningkatan aktivitas antioksidan pada teh kombucha diakibatkan oleh hasil metabolisme mikroorganisme pada kombucha selama proses fermentasi [14].



Gambar 1. Grafik rerata aktivitas antioksidan kombucha dengan metode DPPH

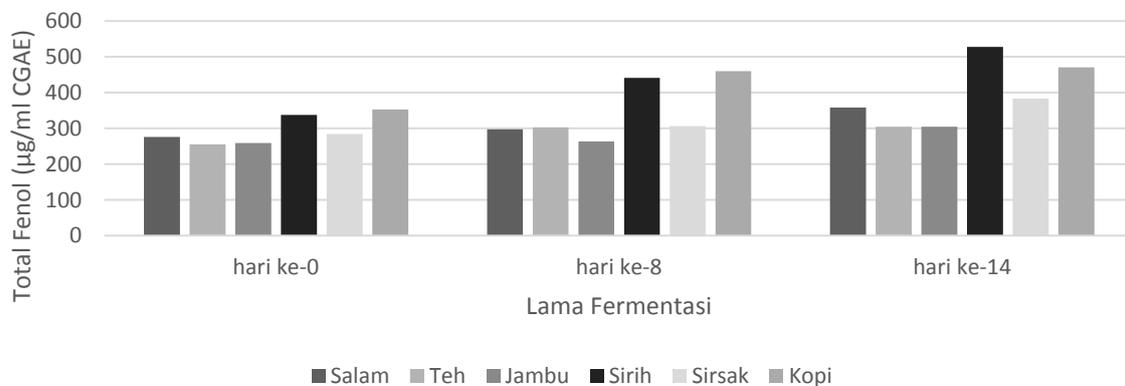
Metabolisme mikroorganisme tersebut meningkatkan senyawa fenol diduga karena adanya proses biotransformasi yang memanfaatkan enzim suatu sel tanaman untuk meningkatkan aktivitas biologis tertentu. Kenaikan senyawa polifenol sebagai antioksidan ini disebabkan oleh proses biotransformasi yaitu proses yang menggunakan enzim pada suatu sel tanaman untuk mengubah kelompok fungsional suatu senyawa kimia yang terdapat didalamnya [15]. Selain itu dedaunan yang digunakan sebagai bahan baku kombucha tersebut juga mengandung senyawa golongan fenol yang dapat meningkat seiring lamanya fermentasi. Meningkatnya aktivitas antioksidan disebabkan karena adanya fenolik bebas yang dihasilkan selama proses fermentasi, sehingga semakin tinggi kadar fenolik yang dihasilkan maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya [5].

Dalam proses fermentasi khamir memiliki kemampuan menghasilkan enzim *vinyl phenol reductase*, dimana menurut Shahidi dan Nazck enzim tersebut dengan enzim *ferulic acid reductase* akan membentuk fenol akibat dekarboksilasi asam sinamat dan asam firulat [16]. Asam sinamat merupakan senyawa fenol yang berperan sebagai antioksidan alami tumbuhan [17]. Asam ferulat adalah turunan dari golongan asam hidroksi sinamat, yang memiliki kelimpahan yang tinggi dalam dinding sel tanaman yang merupakan senyawa aktif bersifat antioksidan [18].

Berdasarkan Gambar 1, dapat diketahui bahwa setelah fermentasi hingga 14 hari maka aktivitas antioksidannya akan cenderung mengalami penurunan. Suasana asam menyebabkan senyawa fenolik menjadi semakin stabil dan sulit melepaskan proton yang dapat berikatan dengan DPPH sehingga aktivitas antioksidannya menurun [13]. Mengonsumsi kombucha yang difermentasi terlalu lama dapat membahayakan bagi kesehatan karena kandungan asam asetat yang tinggi di dalam minuman kombucha dapat menyebabkan asidosis [19]. Antioksidan pada kombucha berbagai jenis daun diduga termasuk metabolit sekunder karena dihasilkan senyawa fenol bebas selama fermentasi pada fase stasioner. Metabolit sekunder lain yang dihasilkan dalam proses fermentasi adalah polifenol yang dihasilkan pada fase stasioner ketika substrat mulai habis sehingga akan merangsang terbentuknya enzim-enzim yang berperan untuk pembentukan metabolit sekunder [16].

2. Total Fenol

Rerata total gula kombucha berbagai jenis daun pada semua sampel fermentasi hari ke-0 berkisar antara 255.833 $\mu\text{g/ml}$ GAE hingga 352.500 $\mu\text{g/ml}$ GAE. Pada hari ke-8, berkisar antara 263.250 $\mu\text{g/ml}$ GAE hingga 459.533 $\mu\text{g/ml}$ GAE sedangkan pada hari ke 14 sebesar 304.433 $\mu\text{g/ml}$ GAE hingga 527.500 $\mu\text{g/ml}$ GAE.



Gambar 2. Grafik rerata total fenol kombucha selama fermentasi

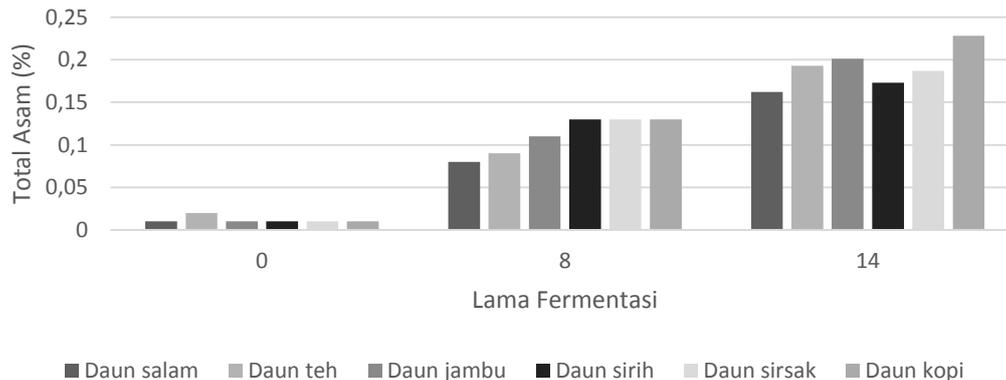
Analisis ragam total fenol kombucha berpengaruh nyata selama fermentasi ($\alpha=0.05$). Hal ini diduga karena setiap daun sebagai bahan baku mempunyai kandungan senyawa fenol yang berbeda dimana ketersediaan senyawa flavonoid tersebut dipengaruhi oleh

tempat tumbuh dan proses fotosintesis yang memerlukan cahaya matahari yang cukup. Peningkatan senyawa fenol selama fermentasi diduga karena melibatkan berbagai macam mikroba yaitu golongan bakteri dan khamir yang dapat bermetabolisme menghasilkan senyawa flavonoid melalui reaksi enzimatik, sehingga mempengaruhi jumlah total fenol pada produk kombucha berbagai jenis daun. Gambar 2. menunjukkan perubahan nilai total fenol kombucha berbagai jenis daun.

Selama fermentasi teh kombucha terdapat empat isomer epikatekin diantaranya adalah epigalokatekin galat, epikatekin galat, epigalokatein, dan epikatein [15]. Isomer tersebut dapat mengalami proses biotransformasi oleh enzim yang dihasilkan dari metabolisme mikroorganisme yaitu epigalokatekin galat menjadi epigalokatein sedangkan epikatekin galat menjadi epikatein, sehingga diduga dengan adanya proses tersebut maka polifenol dapat meningkat selama fermentasi.

3. Total Asam

Rerata total asam yang didapatkan dari kombucha berbagai jenis daun tersebut berkisar antara 0.01% hingga 0.02% pada pengamatan hari ke-0. Pada hari ke-8 berkisar 0.08% hingga 0.13% sedangkan pada pengamatan hari ke-14 menunjukkan presentase 0.16% hingga 0.22%. Perubahan nilai total asam kombucha dari berbagai jenis daun selama proses fermentasi ditunjukkan pada Gambar 3. Analisis ragam total asam kombucha tidak berpengaruh nyata, diduga penggunaan gula yang ditambahkan sama yaitu 30 g/ 400 ml sampel dimana selama proses fermentasi sukrosa akan dirombak menjadi glukosa dan fruktosa oleh bakteri dan khamir. Glukosa digunakan untuk membentuk alkohol dan asam-asam organik sehingga konsentrasi asam-asam organik meningkat dan total asam juga meningkat. Selama proses fermentasi kombucha khamir memecah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa [19]. Glukosa akan digunakan untuk metabolisme sel menghasilkan etanol dan karbondioksida.



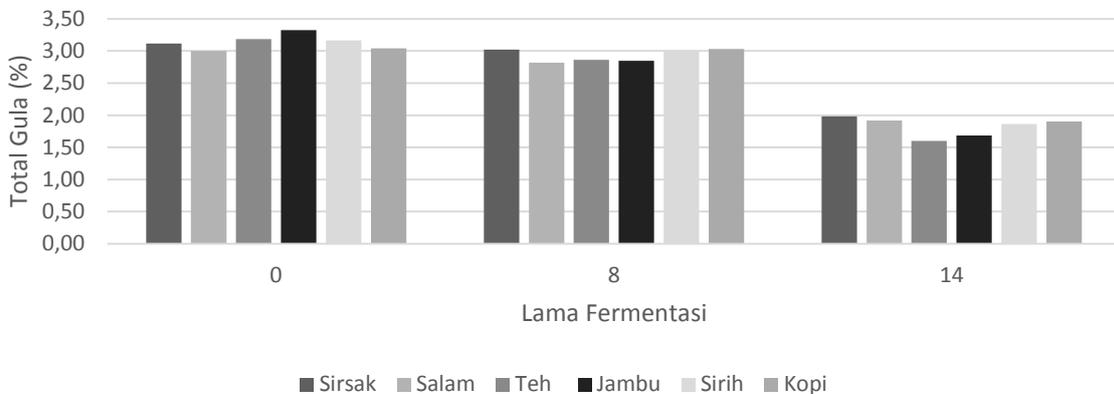
Gambar 3. Grafik rerata total asam pada kombucha selama fermentasi

Produk kombucha mengandung khamir dan bakteri yang melakukan metabolisme terhadap sukrosa sehingga menghasilkan asam-asam organik seperti asam asetat dan asam glukonat [20].

4. Total Gula

Rerata total gula kombucha pada semua sampel fermentasi hari ke-0 berkisar antara 3.00 % hingga 3.32%. Pada hari ke-8, berkisar antara 2.82% hingga 3.03%, sedangkan pada hari ke 14 sebesar 1.60% hingga 1.98%. Analisis ragam total gula kombucha berpengaruh nyata terhadap total gula kombucha ($\alpha=0.05$). Hal ini diduga karena kemampuan kultur SCOBY dalam merombak gula pada tiap sampel kombucha berbagai jenis daun berbeda-beda. Dalam proses fermentasi, khamir memecah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa. Glukosa digunakan oleh khamir untuk menghasilkan etanol dan karbon dioksida [19]. Fruktosa tetap menjadi bagian dari broth fermentasi dan digunakan

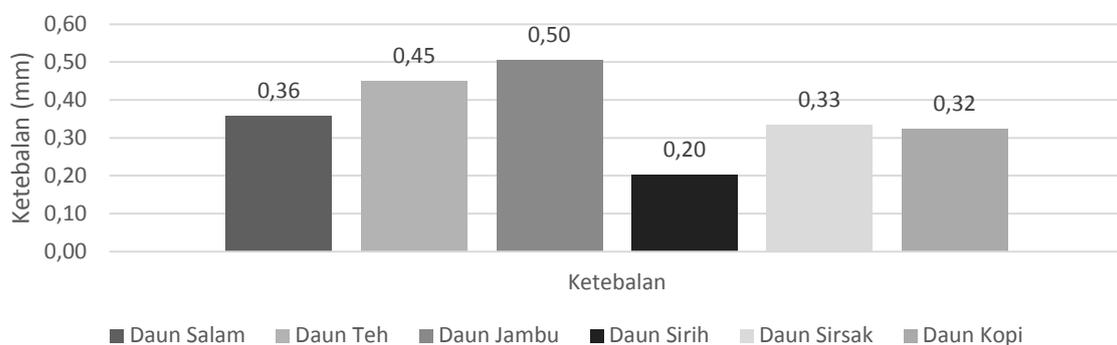
oleh mikroorganismenya dalam jumlah yang lebih sedikit. Mikroba memanfaatkan gula sebagai nutrisi untuk metabolisme menghasilkan asam-asam organik dan fenol sebagai antioksidan sehingga pada hari ke-14 suasana sampel produk kombucha tersebut semakin asam. Gula digunakan sebagai substrat oleh kultur kombucha sehingga pada akhir fermentasi dihasilkan alkohol, asam-asam organik serta metabolit lainnya [21]. Penurunan gula selama fermentasi bukan hanya disebabkan oleh aktivitas khamir dalam metabolisme gula menjadi alkohol, namun juga adanya aktivitas *Acetobacter* yang memetabolisme glukosa menjadi asam glukonat. Proses fermentasi melalui jalur glikolisis memecah glukosa untuk menghasilkan asam piruvat.



Gambar 4. Grafik rerata total gula kombucha selama fermentasi

5. Ketebalan Nata

Rerata ketebalan nata pada hari ke-14 yaitu nata yang paling tebal dihasilkan pada kombucha yang terbuat dari daun Jambu dengan ketebalan 0.50 mm. Sedangkan nata yang paling tipis dihasilkan pada kombucha yang terbuat dari daun Sirih dengan ketebalan 0.20 mm. Ketebalan nata kombucha berbagai jenis daun seperti daun salam, daun teh, daun jambu, daun sirih, daun sirsak dan daun kopi selama proses fermentasi ditunjukkan pada Gambar 5.



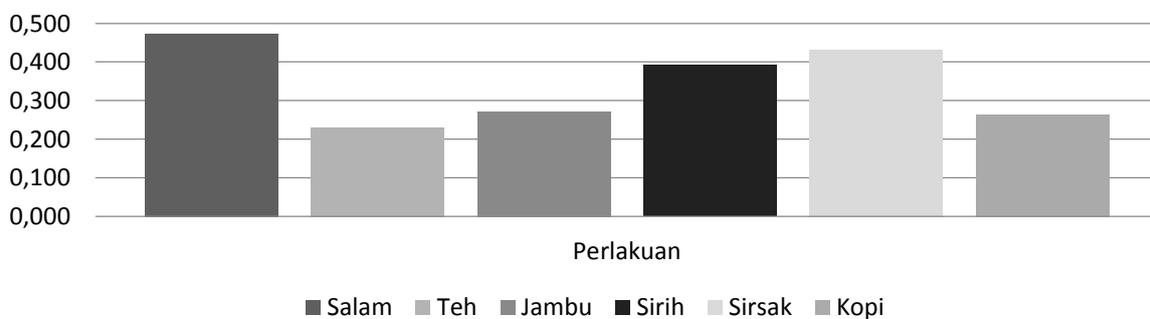
Gambar 5. Grafik rerata ketebalan nata pada kombucha selama fermentasi

Hasil analisis ragam berbeda nyata ($\alpha=0.05$) diduga disebabkan karena adanya faktor seperti semakin lama waktu fermentasi maka nutrisi yang terdapat dalam larutan teh akan habis dimanfaatkan oleh bakteri dan khamir untuk bermetabolisme dan membentuk koloni baru yang menyebabkan ketebalan nata. Ketebalan jaringan nata kombucha yang dapat terbentuk, tergantung pada faktor – faktor yaitu jangka waktu fermentasi, volume bibit dan starter yang digunakan, kondisi pH yang sesuai [6].

Pada produk kombucha daun sirih menghasilkan nata yang paling tipis dengan ketebalan 0.20 mm. Hal ini diduga ada kandungan antiseptik pada daun sirih yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba sehingga tidak dapat menghasilkan selulosa baru. Kandungan utama daun sirih yang berfungsi sebagai pembunuh kuman adalah minyak atsiri (*betle phenol*), seskuiterpen, pati, gula, zat samak, kavikol, antioksidasi dan fungisida sebagai anti jamur [22]. Semakin banyak nutrient yang tersedia, maka semakin banyak pula jalinan-jalinan selulosa yang dihasilkan sebagai produk metabolit sekunder [23]. Komponen gula dalam medium dipecah oleh *Acetobacter xylinum* sehingga terbentuk polisakarida yaitu selulosa. Selulosa tersebut membentuk benang-benang serat yang terus menebal membentuk jaringan kuat yang disebut pelikel nata [24]. Tujuan terbentuknya jaringan selulosa adalah untuk mempermudah aerasi mikroba aerobik selama fermentasi. Parameter produk kombucha dapat terfermentasi atau tidak yaitu dengan terbentuknya koloni bakteri aerobik dan khamir yang mengapung di atas permukaan larutan teh [19].

6. Pemilihan Perlakuan Terbaik

Perlakuan terbaik dilakukan pada fermentasi hari ke-8 dengan menggunakan metode *Multiple Attribute*. Perlakuan terbaik dipilih berdasarkan tingkat kerapatannya, dimana perlakuan yang memiliki tingkat kerapatan paling kecil dinyatakan sebagai perlakuan terbaik. Pada penelitian ini parameter-parameter yang diujikan pada tiap-tiap kombucha diantaranya total asam, pH, aktivitas antioksidan, total fenol, total gula, warna L, warna a, warna b, aroma dan rasa. Perlakuan terbaik didapatkan pada kombucha daun teh yaitu sekitar 0.23 %. Berikut merupakan nilai dari perlakuan terbaik metode zeleny dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Nilai perlakuan terbaik metode Zeleny

Perlakuan terbaik pada daun teh diduga karena produk kombucha selama ini menggunakan daun teh sebagai bahan baku, dimana tanin yang terkandung di dalam teh dapat mempengaruhi media pertumbuhan mikroba sehingga mikroba dapat beradaptasi dengan baik dan menghasilkan hasil yang terbaik dibandingkan dengan produk kombucha dengan bahan baku dedaunan lain karena mikroba juga perlu beradaptasi lagi dengan media dengan kandungan tanin berbeda.

SIMPULAN

Perlakuan terbaik pada hari ke-8 didapatkan pada kombucha daun teh (0.23%) dengan total asam 0.09%, pH 2.84, aktivitas antioksidan 92.97%, total fenol sebesar 303.05 µg/ml GAE, total gula 2.86%, ketebalan nata 0.45 mm.

DAFTAR PUSTAKA

- 1) Dipti P, Yogesh B, Kain A, Pauline T, Anju B, Sairam M. 2003. Lead Induced Oxidative Stress: Beneficial Effects of Kombucha Tea. *Biomedical and Environmental Science*.
- 2) Mayser P, Stephanie F, Grunder K. 1995. The Yeast Spectrum of Tea Fungus Kombucha. *Mycoses*
- 3) Jayabalan, R., S.Marimuthu, K.Swaminathan. 2007. Changes in Content of Organic Acids and Tea Polyphenol during Kombucha Tea Fermentation. *Food Chemistry*
- 4) Blanc, P.J. 1996. Characterization of the Tea Fungus Metabolites. <http://www.kombuchapower.com>. Diakses tanggal 5 Mei 2014.
- 5) Bhanja T, Kumari A, Banerjee R. 2009. Enrichment of Phenolics and Free Radical Scavenging Property of Wheat Koji Prepared with Two Filamentous Fungi. *Bioresource Technol.*
- 6) Naland, H. 2008. Kombucha Teh dengan Seribu Khasiat. Jakarta: Agromedia Pustaka
- 7) Chen and Chu, S., C. 2006. Effects of Origins and Fermentation Time on the Antioxidant Activities of Kombucha. *Food Chemistry*
- 8) Zou. 2001. Vegetation Response to Global Warming. <http://sites.bu.edu/files/2013/lmzhou01.pdf>. Diakses tgl 4 maret 2014
- 9) Kurniawati, A. 2006. Formulasi Gel Antioksidan Ekstrak Daun jambu Biji (*Psidium guajava* L) dengan Menggunakan Aquapec HV-505. *Skripsi*. Jurusan Farmasi FMIPA Unpad.
- 10) Leny, S. 2006. Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida dan Alkaloida. Sumatera Utara: USU Repository
- 11) Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2004. Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia Volume 1. Jakarta: BPOM RI
- 12) Karlisna, Yasmin Putri. 2010. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih Terhadap Jumlah Geliat Mencit BALB/C yang Diinduksi Asam Asetat. Semarang: Universitas Diponegoro
- 13) Ayu S, Yan R, Eka L. 2013. Penetapan Antioksidan pada Teh Hitam Kombucha Lokal di Bali dengan Waktu Fermentasi. Bali: Universitas Udayana
- 14) Goh, W.N., A. Rosma, B. Kaur, A. Fazilah, A.A Karim, and R. Bhat. 2012. Fermentation of Black Tea Broth (Kombucha): I. Effects of Sucrose Concentration and Fermentation Time on Yield of Microbial Cellulose.
- 15) Jayabalan R, Subathradevi P, Marimuthu S, Sathishkumar M, Swaminathan K. 2008. Changes in Free-radical Scavenging Ability of Kombucha tea during fermentation. *Food Chemistry*
- 16) Kunaepah, U. 2008. Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Glukosa terhadap Aktivitas Antibakteri, Polifenol Total dan Mutu Kimia Kefir Susu kacang Merah. *Tesis Magister Gizi Masyarakat*. Semarang : UNDIP.
- 17) Suranto, A. 2011. Dahsyatnya Sirsak Tumpas Penyakit. Pustaka Bunda, Jakarta.
- 18) Hasan A.E.Z, D. Mangunwidjaja, T.C Sunarti1, O. Suparno, A. Setiyono. 2013. Optimasi Ekstraksi Propolis Menggunakan Cara Maserasi dengan Pelarut Etanol 70% dan Pemanasan Gelombang Mikro Serta Karakteristiknya sebagai Bahan Antianker Payudara. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- 19) Greenwalt C.J, R.A Ledford, and K.H Steinkraus.1998.Detoxification and Characterization of The Antimicrobial Activity of the Fermented Tea Kombucha.1998 <http://w3.trib.com/-kombu/FAQ/antibiotic.html>. Tanggal akses 15 Desember 2013
- 20) Sreeramulu G, Zhu Y, and Knol W. 2000. Kombucha Fermentation and Its Antimicrobial Activity. *Journal of Agricultural Food Chemistry*.
- 21) Frank, Günther W. 1993. Genossensch.-Str.The Fascination of Kombucha. Germany: Birkenfeld
- 22) World Health Organization.1993. Research Guidelines for the Safety and Efficacy of Herbal Medicine. Manila.

- 23) Riswanda, Ferry. 2009. *Acetobacter Xylinum*. <http://www.google.com>. Diakses tanggal 28 Agustus 2014.
- 24) Nainggolan, J. 2009. Kajian Pertumbuhan Bakteri *Acetobacter* sp. Dalam Kombucha-Rosela Merah (*Hibiscus Sabdariffa*) Pada Kadar Gula dan Lama Fermentasi Yang Berbeda. *Tesis*. Universitas Sumatra Utara: Medan.