

Original Research

Aktivitas Antibakteri Kombucha Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) yang Difermentasi Dengan Gula Aren Pada Konsentrasi Berbeda

Antibacterial Activity of Telang Flower Kombucha (*Clitoria ternatea* L) Fermented with Palm Sugar at Different Concentrations

Nurullah Asep Abdilah¹, Firman Rezaldi^{2*}, Kusumiyati³, Heny Sasmita⁴, Ucu Wandu Somantri⁴

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

² Program Studi Farmasi, Fakultas Sains Farmasi Kesehatan, Universitas Mathla'ul Anwar Banten, Indonesia

³ Program Studi Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Padjajaran, Indonesia

⁴ Program Studi Kesehatan Masyarakat, Fakultas Sains Farmasi Kesehatan, Universitas Mathla'ul Anwar Banten, Indonesia

* *Email corresponding author: firmanrezaldi417@gmail.com*

Received: 09 May 2022

Revised: 29 May 2022

Accepted: 30 May 2022

Abstrak: Kombucha bunga telang gula aren merupakan salah satu minuman fermentasi probiotik yang dihasilkan oleh konsorsium bakteri dan ragi dengan substrat gula aren. Rebusan bunga telang merupakan bahan baku yang dilakukan dalam penelitian ini. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri kombucha bunga telang pada konsentrasi gula aren yang bervariasi. Konsentrasi gula aren yang dimanfaatkan dalam pembuatan kombucha bunga telang diantaranya adalah 20%, 30%, dan 40% (b/v). Masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali pengulangan. Kontrol positif yang digunakan adalah berupa kombucha yang berbahan dasar teh hitam, sedangkan kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini adalah akuades steril. Metode difusi sumuran adalah salah satu tahapan yang digunakan untuk menguji antibakteri dengan cara menghitung diameter zona hambat. Fermentasi kombucha bunga telang mempunyai aktivitas antibakteri pada spektrum luas. Hal tersebut dapat diindikasikan oleh potensinya dalam menghambat pertumbuhan terhadap bakteri uji baik gram positif maupun negatif. Kombucha bunga telang pada konsentrasi larutan gula aren 40% mempunyai aktivitas tertinggi dari bakteri uji secara keseluruhan, sehingga berpotensi untuk dikembangkan sebagai inovasi produk bioteknologi pangan fungsional terkini

Kata kunci: Antimikroba, Probiotik, Kombucha

Abstract: Kombucha flower telang palm sugar is a probiotic fermented drink produced by a consortium of bacteria and yeast with palm sugar as a substrate. Telang flower decoction is the raw material used in this research. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of telang flower kombucha at various concentrations of palm sugar. The concentrations of palm sugar used in making telang flower kombucha were 20%, 30%, and 40% (w/v). Each treatment was repeated 3 times. The positive control used was kombucha made from black tea, while the negative control used in this study was sterile distilled water. The well diffusion method is one of the steps used to test antibacterial by calculating the diameter of the inhibition zone. Telang flower kombucha fermentation has broad-spectrum antibacterial activity. This can be indicated by its potential to inhibit the growth of both gram-positive and gram-negative test bacteria. Telang flower kombucha at a concentration of 40% palm sugar solution had the highest activity of the overall test bacteria, so it has the potential to be developed as the latest functional food biotechnology product innovation.

Keywords: Antimicrobial, Probiotic, Kombucha

1. Pendahuluan

Bakteri gram positif dan negatif selalu menjadi permasalahan dalam kehidupan sehari-hari pada manusia terutama dalam sisi kesehatan. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif yang berpotensi dalam menginfeksi manusia (Rahayu, et al, E, 2014) melalui udara, debu, air, produk makanan

seperti susu, peralatan makanan, kulit, sampai saluran pernapasan baik pada manusia maupun hewan yang merupakan sumber infeksi terprioritas (S Chotiah, 2009). *Staphylococcus epidermidis* merupakan salah satu bakteri gram positif yang dapat menyebabkan penyakit pada kulit seperti bakteri jenis *Propionobacterium acne* maupun *Acne vulgaris* (M.Wasitaatmadja, 1997) yaitu jerawat. Jerawat merupakan salah satu penyakit yang secara dominan terjadi pada bagian kulit wajah, leher, dada, dan juga punggung (Warsiti, et al, 2019). Kedua bakteri gram positif tersebut dalam jumlah yang normal dapat berperan penting sebagai peningkat sistem kekebalan tubuh. Adapun bakteri gram negatif yang berpotensi besar dalam menurunkan imunitas yaitu *Pseudomonas aeruginosa* dan penyebab penyakit diare yaitu *Escherichia coli*.

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri gram negatif yang secara mayoritas berpotensi dapat ditemukan pada pasien yang sedang dirawat di ruang *Intensive Care Unit*. Hal tersebut disebabkan karena adanya kondisi imun yang terus mengalami penurunan sehingga menyebabkan *Pseudomonas aeruginosa* mengalami peningkatan dalam menginfeksi manusia. Kondisi pasien yang terinfeksi oleh *Pseudomonas aeruginosa* berpotensi besar mengalami resiko lima sampai sepuluh kali lebih tinggi tingkat kematian (Arnoni, et al, 2007). *Escherichia coli* merupakan salah satu bakteri gram negatif penyebab infeksi yang memiliki kemampuan dalam menyebar pada makanan, minuman yang berasal dari debu (Darsana, et al, 2012). Bakteri tersebut memiliki kemampuan dalam mengkontaminasi makanan, minuman, dan feses sehingga menyebabkan penyakit diare. Pemanfaatan antibiotik dalam rangka menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan juga membunuh bakteri patogen telah banyak mengalami resistensi, sehingga sistem kekebalan manusia cenderung mengalami penurunan. Solusi untuk mengatasi permasalahan kesehatan dari berbagai aktivitas bakteri patogen adalah dengan mengkonsumsi bahan makanan yang bergizi, menerapkan pola hidup bersih, dan mengkonsumsi sayur-sayuran dan buah-buahan yang kaya akan sukrosa.

Sukrosa merupakan salah satu bahan yang sangat dibutuhkan oleh tubuh organisme baik manusia, hewan, dan juga tumbuhan. Jenis senyawa tersebut yang terkandung dalam jaringan tumbuhan tertentu seperti bit dan tebu secara ideal berperan penting dalam menyimpan cadangan makanan. Pada tumbuhan sukrosa yang dihasilkan dari aren akan mentransfer dari daun menuju empulur batang. Penelitian yang dilakukan Pontoh (Pontoh, 2012), menyatakan pada suatu tanaman aren mampu mengeluarkan cairan dalam bentuk sukrosa yang berasal dari tangkai bunga. Sehingga pada bagian empulur tanaman gula jenis aren, berpotensi dalam menyimpan cadangan makanan berupa amilum atau pati. Pengeluaran cairan yang berasal dari tangkai bunga dikenal sebagai Nira. Nira berfungsi dalam pembuatan gula maupun minuman beralkohol. Minuman yang beralkohol dan dihasilkan melalui metode bioteknologi fermentasi dikenal sebagai Kombucha. Minuman fermentasi teh tersebut dapat digunakan oleh substrat berupa gula yang nantinya akan dirombak oleh konsorsium bakteri maupun ragi menjadi berbagai senyawa-senyawa organik, etanol, dan CO₂ (Rezaldi, Ningtyas, et al., 2021). Rendahnya kadar alkohol yang dihasilkan melalui metode bioteknologi fermentasi menyebabkan kombucha memiliki nilai gizi yang tinggi, sehingga berperan penting sebagai antibakteri (Rezaldi, Ningtyas, et al., 2021) (Al-Kalifawi, 2014), antioksidan dan antikanker (Rasu Jayabalan, 2011). Bahan-bahan dasar yang digunakan dalam proses pembuatan kombucha diantaranya adalah teh hitam, dan teh hijau atau bahan-bahan lainnya yang mengandung komponen bioaktif yang tinggi dan telah memenuhi standard SNI (Majidah, Gadizza, & Gunawan, 2022). Bahan lain yang dapat digunakan dalam pembuatan kombucha adalah bunga telang (*Clitoria ternatea L*). Bunga telang mengandung antosianin yang berkhasiat sebagai antioksidan maupun antibakteri (Pertiwi, Rezaldi, & Puspitasari, 2022). Antosianin akan lebih stabil jika difermentasi oleh BAL (Bakteri Asam Laktat) yang terdapat pada kombucha dengan cara menurunkan pH, dan inaktivasi enzim PPO (Polifenol Oksidasi). Proses pembuatan kombucha idealnya dipengaruhi oleh konsentrasi gula (Friska Damayanthi, et al, 2019).

Konsentrasi gula yang berbeda-beda dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba kombucha dalam menghasilkan asam-asam organik (Simanjuntak, R & Siahaan, N, 2011) yang berpotensi sebagai

antibakteri. Penelitian kombucha berdasarkan konsentrasi gula yang berbeda-beda telah dilakukan oleh Yanti et., (Yanti, Ambardini, et al, 2020), dimana pada konsentrasi gula 20% kombucha yang berbahan dasar daun sirsak mempunyai aktivitas sebagai antibakteri pada bakteri gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata diameter zona hambat 17,08 mm dengan kategori kuat, dan bakteri gram negatif yaitu *Escherichia coli* dengan rata-rata diameter zona hambat 16, 28 mm dengan kategori kuat. (Rezaldi, Maruf, et al., 2021) menyatakan bahwa fermentasi kombucha bunga telang (*Clitoria ternatea* L) memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan negatif. Konsentrasi gula 40% merupakan konsentrasi terbaik dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan negatif. Nilai rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* adalah sebesar 13,2 mm dengan kategori kuat. Nilai rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus epidermidis* adalah sebesar 10,78 mm dengan kategori kuat. Nilai rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan pada fermentasi kombucha bunga telang pada konsentrasi 40% dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah sebesar 7,1 mm dengan kategori sedang. Nilai rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan pada fermentasi kombucha bunga telang pada konsentrasi 40% dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* adalah sebesar 6 mm dengan kategori sedang.

Pembentukan asam-asam organik pada kombucha menyebabkan kadar asam semakin tinggi, sehingga berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri pada kombucha bunga telang serta konsentrasi gula aren yang berbeda-beda dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen gram positif yaitu *Staphylococcus aureus*, dan *Staphylococcus epidermidis* maupun bakteri gram negatif yaitu *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*.

2. Metode

Bahan-Bahan Penelitian

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 (Scoby) sebagai starter, bakteri uji berupa bakteri gram positif dan negatif seperti *Staphylococcus aureus* TCC 2593, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 25924, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli* ATCC 25922, dan Media MHA (*Muller Hinton Agar*).

Alat-Alat Penelitian

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

Prosedur Kerja

Persiapan Bahan Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L)

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

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

Tahapan-tahapan dalam melakukan fermentasi kombucha bunga telang diantaranya adalah 1) mempersiapkan bahan-bahan yang prioritas seperti toples kaca, gula aren 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 aren 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 aren; 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 (Yanti et al., 2020) (Rezaldi, Ningtyas, et al., 2021).

Uji Antibakteri Menggunakan Metode Difusi Cakram

Tahapan-tahapan uji antibakteri yang dilakukan dengan metode difusi cakram diantaranya adalah ; 1) menyiapkan cawan petri sebanyak 24 buah untuk dituangkan pada media MHA (*Muller Hinton Agar*) dalam 15 mL pada masing-masing cawan petri; 2) menunggu media tersebut sampai pada kondisi padat ; 3) memasukkan lidi kapas steril pada bagian dalam suspensi bakteri uji yaitu *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli*; 4) mengusapkan media MHA sampai permukaan tertutup rapat secara keseluruhan; 5) menempelkan *disk* yang sudah direndam pada sediaan larutan fermentasi kombucha bunga telang dengan variasi konsentrasi gula aren 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; 6) melakukan pengulangan sebanyak 3 kali; 7) menginkubasi selama 24 jam; 8) melakukan pengukuran diameter zona hambat pada masing-masing konsentrasi dari fermentasi kombucha bunga telang beserta kontrol positif dan negatif (Handayani, Sundu, & Sari, 2017).

Pengukuran Zona Bening untuk Menghitung Rata-Rata Diameter Zona Hambat

Perhitungan diameter zona hambat adalah salah satu aktivitas yang dilakukan dalam menentukan zona bening serta bertujuan untuk mengetahui adanya daya hambat yang terbentuk pada suatu agen antibakteri. Agen antibakteri yang dimaksud dapat berupa ekstrak kental maupun larutan fermentasi. Alat yang digunakan dalam menghitung diameter zona hambat secara idealnya adalah berupa jangka sorong analitik.

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*.

3. Hasil

Tabel 1 menunjukkan bahwa konsentrasi dari larutan fermentasi kombucha bunga telang yang mengandung gula aren dengan berbagai konsentrasinya berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri baik bakteri gram positif maupun negatif. Data hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi larutan fermentasi kombucha bunga telang yang mengandung gula aren sebesar 40% merupakan konsentrasi terbaik dalam membentuk zona hambat pada setiap biakan bakteri uji. Nilai rata-

rata diameter zona hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 23,63 mm dengan kategori sangat kuat, *Staphylococcus epidermidis* 22,67 mm dengan kategori sangat kuat, *Pseudomonas aeruginosa* 22,16 mm dengan kategori sangat kuat, dan *Escherichia coli* 21,13 mm dengan kategori sangat kuat.

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

Jenis Bakteri	Diameter zona hambat (mm)	Kontrol negatif (mm)	kontrol positif (mm)	Diameter zona hambat setiap Konsentrasi Fermentasi kombucha bunga telang(mm)		
				20%	30%	40%
<i>Staphylococcus aureus</i>	I	0	20,1	15,70	16,78	20,30
	II	0	25,52	16,80	19,80	24,89
	III	0	27,89	18,90	21,90	25,70
	Rata-rata	0	24,50	17,13	19,49	23,63
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	I	0	19,78	13,29	15,80	19,80
	II	0	22,50	15,70	18,80	23,50
	III	0	23,40	16,60	20,50	24,70
	Rata-rata	0	21,89	15,19	18,36	22,67
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	I	0	17,70	12,34	14,56	19,50
	II	0	20,60	14,40	15,71	22,30
	III	0	22,71	16,50	15,88	24,69
	Rata-rata	0	20,36	14,41	15,38	22,16
<i>Escherichia coli</i>	I	0	16,70	11,73	13,64	18,80
	II	0	19,80	12,67	14,78	21,70
	III	0	21,72	15,25	15,60	22,89
	Rata-rata	0	19,40	13,21	14,67	21,13

Data hasil penelitian yang diperoleh pada tahap berikutnya akan diuji statistik menggunakan ANOVA satu jalur. Sebelum Pengujian ANOVA satu jalur dibutuhkan untuk pengujian normalitas data yang bertujuan untuk lebih memastikan data-data dari hasil penelitian dapat terdistribusi/tersebar secara normal atau bersifat parametrik serta uji varians data yang bertujuan untuk menghasilkan data-data dari hasil penelitian yang bersifat homogen.

Tabel 2. Uji Normalitas

Uji saphiro-Wilk	Sig
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,89
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0,78
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,67
<i>Escherichia coli</i>	0,56

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

Tabel 3. Uji Varians Data

Uji Varians Data	Sig
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,33
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0,22
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,44
<i>Escherichia coli</i>	0,11

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 5. Uji Analisis Pos-Hoc

Jenis Bakteri		20%	30%	40%	Kontrol Positif	Kontrol Negatif
<i>Staphylococcus aureus</i>	20%	-	0,166	0,005*	0,000*	0,000*
	30%	0,166	-	0,133	0,000*	0,000*
	40%	0,005*	0,166	-	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%	-	0,155	0,005*	0,000*	0,000*
	30%	0,177	-	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%	-	0,177	0,005*	0,000*	0,000*
	30%	0,177	-	0,177	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%	-	0,188	0,003*	0,000*	0,000*
	30%	0,188	-	0,188	0,000*	0,000*
	40%	0,003*	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*	-
Keterangan:						
*: Menyatakan terdapat perbedaan bermakna ($p < 0,05$)						

Tabel 3 merupakan uji varians data dan menunjukkan bahwa nilai $p > 0,05$ yang menunjukkan data yang dihasilkan dalam penelitian ini memiliki varian data yang sama, sehingga dapat dilakukan pengujian melalui ANOVA satu jalur. Tabel 4 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 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 aren 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 aren kombucha bunga telang 30%, kontrol positif, dan kontrol negatif. Konsentrasi gula aren fermentasi kombucha bunga telang 30% tidak mempunyai perbedaan secara bermakna baik pada konsentrasi larutan gula aren kombucha bunga telang 20%, 40%, kontrol positif, dan kontrol negatif. Konsentrasi gula aren 40% kombucha bunga telang tidak memiliki perbedaan secara bermakna pada kontrol positif maupun negatif tetapi memiliki perbedaan secara bermakna pada konsentrasi gula aren kombucha bunga telang 20% dan 30%.

4. Pembahasan

Perhitungan aktivitas antibakteri kombucha bunga telang yang sudah dilakukan secara *in-vitro*, yaitu terukur berdasarkan potensinya dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen yang telah diuji baik bakteri patogen jenis gram positif maupun negatif. Bakteri gram positif yang diuji terdiri dari *Staphylococcus aureus*, dan *Staphylococcus epidermidis*, sedangkan bakteri uji 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 kimia organik yang dihasilkan selama proses fermentasi kombucha pada umumnya adalah asam asetat. Asam asetat yang telah terbentuk melalui hasil fermentasi kombucha sangat berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan negatif. Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh (Kumar & Joshi, 2016), menyimpulkan bahwa asam asetat yang telah terbentuk selama fermentasi kombucha akan terurai melalui mekanisme pelepasan proton-proton bebas sehingga menyebabkan pH media menjadi rendah (Yanti et al., 2020).

Asam asetat yang sudah tidak terdisosiasi idealnya berperan penting dalam merusak struktur bilayer lipid bakteri melalui pemasukan proton ke dalam sitoplasma, sehingga jumlah proton secara intraseluler yang banyak, menyebabkan sitoplasma berada dalam kondisi asam. Hal tersebut juga menyebabkan terjadinya denaturasi protein dan kehilangan energi. Semakin tinggi kandungan asam organik pada asam asetat semakin tinggi juga kemampuannya dalam mencegah pertumbuhan bakteri patogen. Asam organik yang telah terbentuk selama proses fermentasi kombucha idealnya berpotensi dalam menurunkan pH dari kondisi asam menjadi sangat asam artinya pH substrat yang berada dalam keadaan rendah mampu mempengaruhi pertumbuhan bakteri patogen menjadi asam. Selain itu, adanya kandungan antosianin yang berasal dari bunga telang itu sendiri berperan sebagai antioksidan maupun antibakteri. Sehingga berpotensi untuk dikembangkan melalui proses fermentasi kombucha tanpa mengurangi kestabilannya yang sangat dipengaruhi oleh pH, cahaya, suhu, dan kondisi enzim. Hasil penelitian yang mendukung telah dilakukan oleh Loypimay (P, A, & P, 2016), menyatakan bahwa proses fermentasi BAL (Bakteri Asam Laktat) memiliki kemampuan dalam meningkatkan kestabilan antosianin dimana antosianin akan cenderung lebih stabil pada pH yang rendah. (H Kunnaryo & P R Wikandari, 2021), menyatakan bahwa antosianin merupakan senyawa antioksidan yang kestabilannya dipengaruhi oleh pH, suhu, dan enzim PPO (Polifenol Oksidasi). Antosianin idealnya stabil pada pH 1-4, suhu optimum sebesar 30°C dan inaktivasi enzim PPO, sehingga antosianin berpotensi untuk dipertahankan melalui fermentasi BAL dengan cara menurunkan pH, dan inaktivasi enzim PPO yang menyebabkan tingginya aktivitas sebagai antioksidan.

Kandungan antosianin yang 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 (Konczak & Zhang, 2004). Aktivitas lainnya secara biologis antosianin berpotensi sebagai pencegah terjadinya kanker usus, antihiperlipidemia, dan juga antibakteri seperti *Salmonella thypi* dan *Escherichia coli* (Saati, 2016). Pada tabel 1 menunjukkan bahwa kombucha

bunga telang pada perlakuan konsentrasi gula aren 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 aren dan konsentrasi gula aren yang difermentasi oleh kombucha bunga telang secara keseluruhan berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen baik gram positif maupun negatif. Hasil penelitian yang telah dihasilkan didukung oleh hasil penelitian yang telah dilakukan oleh (Khaleil, et al 2020) yang menyatakan bahwa kombucha yang berbahan dasar teh hitam berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Dan hasil penelitian yang dilakukan oleh (Rezaldi, Maruf, et al., 2021), kombucha bunga telang yang memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen baik gram positif maupun negatif pada konsentrasi gula 20%, 30%, dan 40%. Kemampuan kombucha bunga telang dari hasil penelitian ini yang diperoleh memiliki aktivitas sebagai antibakteri dalam spektrum luas. Hal tersebut didukung oleh hasil penelitian yang telah dilakukan oleh (Battikh, et al, 2013), yang menyimpulkan bahwa kombucha yang berbahan dasar teh hitam dan teh hijau berpotensi sebagai penghambat pertumbuhan bakteri gram positif maupun negatif, sehingga dapat disimpulkan sebagai antibakteri dalam spektrum luas.

Pada tabel 1 menunjukkan bahwa rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan pada fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi larutan gula aren 20% adalah 17,13 mm dengan kategori kuat, fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi larutan gula aren 30% adalah 19,49 mm dengan kategori kuat, dan fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi larutan gula aren 40% adalah 23,63 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 aren 20% adalah 15,19 mm dengan kategori kuat, fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi larutan gula aren 30% adalah 18,36 mm dengan kategori kuat, dan fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi larutan gula aren 40% adalah 22,67 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 aren 20% adalah 14,41 mm dengan kategori kuat, fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi larutan gula aren 30% adalah 15,38 mm dengan kategori kuat, dan fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi larutan gula aren 40% adalah 22,16 mm dengan kategori sangat kuat pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan pada fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi larutan gula aren 20% adalah 13,21 mm dengan kategori kuat, fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi larutan gula aren 30% adalah 14,67 mm dengan kategori kuat, dan fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi larutan gula aren 40% adalah 21,13 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 (Allison & Lambert, 2014). Hasil penelitian ini telah terukur bahwa kombucha bunga telang yang telah ditambahkan konsentrasi gula aren sebesar 40% memiliki aktivitas sebagai antibakteri yang terbaik. Konsentrasi larutan fermentasi kombucha bunga telang yang mengandung gula aren 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 (Sreeramulu, Zhu, & Knol, 2000). Hal tersebut didukung oleh hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Borkani et al., (R A Borkan, et al, 2016) yang menyatakan bahwa kombucha mempunyai aktivitas tertinggi pada bakteri gram positif khususnya spesies *Staphylococcus aureus*. Sensitivitas bakteri terhadap suatu antibiotik dipengaruhi oleh potensinya dalam merusak dinding sel bakteri. Antibiotik secara umum lebih banyak memberikan pengaruh besar terhadap cara kerja pada bakteri gram positif dibandingkan dengan bakteri gram negatif. Hal tersebut disebabkan karena permeabilitas dinding sel bakteri gram positif lebih tinggi dibandingkan dengan bakteri gram negatif, selain itu bakteri gram negatif pada dasarnya memiliki kapsul yang tebal sehingga tidak mudah dirusak oleh agen antimikroba lainnya.

5. Kesimpulan

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 aren sebesar 40% memiliki aktivitas sebagai antibakteri tertinggi jika dibandingkan dengan fermentasi kombucha bunga telang pada larutan gula aren konsentrasi 20% dan 30%. Nilai rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* adalah sebesar 23,63 mm dengan kategori sangat kuat, *Staphylococcus epidermidis* 22,67 mm dengan kategori sangat kuat, *Pseudomonas aeruginosa* 22,16 mm dengan kategori sangat kuat, dan *Escherichia coli* 21,13 mm dengan kategori sangat kuat.

Referensi

- Al-Kalifawi, E. J. (2014). Antimicrobial Activity of Kombucha (KH) Tea against Bacteria Isolated From Diabetic Foot Ulcer. *International Journal for Sciences and Technology*, 9(1), 49–56. doi:10.12816/0010111
- Allison, D. G., & Lambert, P. A. (2014). Modes of action of antibacterial agents. In Y.-W. Tang, M. Sussman, D. Liu, & et al (Eds.), *Molecular medical microbiology* (Vol. 1, pp. 583–598). Elsevier. Retrieved from <http://www.scopus.com/inward/record.url?scp=84961158172&partnerID=8YFLogxK>
- Arnoni, M. V., Berezin, E. N., & Martino, M. D. V. (2007). Risk factors for nosocomial bloodstream infection caused by multidrug resistant gram-negative bacilli in pediatrics. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases: An Official Publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases*, 11(2), 267–271. doi:10.1590/s1413-86702007000200020
- 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. doi:10.1111/j.1745-4514.2011.00629.x
- Friska Damayanthi, 143020088, Yusep Ikrawan, D. S., & Hasnelly, D. S. (2019). Pengaruh konsentrasi gula dan lama fermentasi terhadap karakteristik kombucha daun cincau hijau (*Cyclea Barbata L Miers*) (other). Fakultas Teknik Unpas. Retrieved from <http://repository.unpas.ac.id/41053/http://www.teknik.unpas.ac.id>
- 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. doi:10.25026/jsk.v1i8.62
- Herman Joseph Bimo Kunnaryo, & Prima Retno Wikandari. (2021). Antosianin dalam Produksi Fermentasi dan Perannya sebagai Antioksidan | *Unesa Journal of Chemistry*, 10(1). Retrieved from <https://ejournal.unesa.ac.id/index.php/unesa-journal-of-chemistry/article/view/40298>

- I gede oka darsana, I nengah kerta besung, & Hapsari mahatmi. (2012). Potensi Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Tenore) Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* secara In Vitro | Indonesia Medicus Veterinus, 1(3). Retrieved from <https://ojs.unud.ac.id/index.php/imv/article/view/1879>
- Khaleil, M. M., Ellatif, S. A., Soliman, M. H., Elrazik, E. S. A., & 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.
- Konczak, I., & Zhang, W. (2004). Anthocyanins—More Than Nature’s Colours. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2004(5), 239. doi:10.1155/S1110724304407013
- Kumar, V., & Joshi, V. K. (2016). *Kombucha*: Technology, Microbiology, Production, Composition and Therapeutic Value. *International Journal of Food and Fermentation Technology*, 6(1), 13. doi:10.5958/2277-9396.2016.00022.2
- M.Wasitaatmadja, S. (1997). *Penuntun ilmu kosmetik medik*. UI-Press. Retrieved from [//katalog.pustaka.unand.ac.id/index.php/3Fp%3Dshow_detail%26id%3D53708](http://katalog.pustaka.unand.ac.id/index.php/3Fp%3Dshow_detail%26id%3D53708)
- Majidah, L., Gadizza, C., & Gunawan, S. (2022). Analisis Pengembangan Produk Halal Minuman Kombucha. *Halal Research Journal*, 2(1), 36–51. doi:10.12962/j22759970.v2i1.198
- P, L., A, M., & P, C. (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). doi:10.1007/s13197-015-2002-1
- 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. doi:10.33474/e-jbst.v7i2.471
- Pontoh, J. (2012). Metode Analisa dan Komponen Kimia dalam Nira dan Gula Aren (pp. 66–71). Presented at the AREN UNTUK PANGAN DAN ALTERNATIF ENERGI TERBARUKAN-Prosiding Seminar Nasional Aren, Balikpapan. Retrieved from <http://repo.unsrat.ac.id/647/>
- Rahayu, T, Ardhi, M. W, & Tyastuti, E. (2014). *Modul Praktikum. Mikrobiologi*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Raheleh Ahmadi Borkan, Monir Doudi, & Zahra Rezayatmand. (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 (IJBR)*, 7(3), 1741–1747.
- Rasu Jayabalan, Pei-Ni Chen, Yih-Shou Hsieh, & Kumaresan Prabhakaran. (2011). Effect of solvent fractions of kombucha tea on viability and invasiveness of cancer cells—Characterization of dimethyl 2-(2-hydroxy-2-methoxypropylidene) malonate *ResearchGate*, 10(1). Retrieved from https://www.researchgate.net/publication/268277223_Effect_of_solvent_fractions_of_kombucha_tea_on_viability_and_invasiveness_of_cancer_cells-Characterization_of_dimethyl_2-2-hydroxy-2-methoxypropylidene_malonate
- Rezaldi, F., Maruf, A., Pertiwi, F. D., Fatonah, N. S., Ningtias, R. Y., Fadillah, M. F., Sasmita, H., et al. (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. doi:10.30653/ijma.202112.25
- Rezaldi, F., Ningtyas, R. Y., Anggraeni, S. D., Ma’ruf, A., Fatonah, N. S., Pertiwi, F. D., Fitriyani, F., et al. (2021). Pengaruh metode bioteknologi fermentasi kombucha bunga telang (*Clitoria ternatea L*) sebagai antibakteri gram positif dan negatif. *Jurnal Biotek*, 9(2), 169–185. doi:10.24252/jb.v9i2.25467
- Saati, E. A. (2016). Antioxidant power of rose anthocyanin pigment. *ARPN Journal of Engineering and Applied Sciences*, 11(17), 1201–1204.
- Simanjuntak, R, & Siahaan, N. (2011). Pengaruh Konsentrasi Gula dan Lama Fermentasi Terhadap Mutu Teh Kombucha, 4(2), 81–91.
- Siti Chotiah. (2009). CEMARAN *Staphylococcus aureus* PADA DAGING AYAM DAN OLAHANNYA (pp. 682–687). Presented at the Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 2009.

- Sreeramulu, G., Zhu, Y., & Knol, W. (2000). Kombucha fermentation and its antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6), 2589–2594. doi:10.1021/jf991333m
- Warsiti, W., Wardani, S. D., Ramadhan, A. A., & Yuliani, R. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 15(2), 75–82. doi:<https://doi.org/10.23917/pharmacon.v15i2.6526>
- 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:10.19184/bst.v8i2.15968