

PENGHAMBATAN PERTUMBUHAN *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi* oleh KOMBUCHA *Annona muricata* Linn

Kalyana Palupi, Reza Hakim, Dini Sri Damayanti*
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Probiotik adalah mikroorganisme hidup bersifat non-patogen, jika dikonsumsi dalam jumlah yang cukup dapat menjaga keseimbangan mikrobiota usus. Kombucha merupakan produk yang mengandung probiotik yakni berupa minuman fermentasi yang mengandung asam organik, etanol, polifenol dan bakteri asam laktat. Daun sirsak (*Annona muricata* Linn) yang kaya akan senyawa aktif polifenol, flavonoid dan alkaloid dapat dijadikan bahan dasar kombucha. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri kombucha *A. muricata* Linn pada *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*.

Metode: Pembuatan kombucha *A. muricata* Linn dimulai dengan merebus 1 L air hingga mendidih, kemudian menambahkan 100 gram gula pasir dan 5 gram serbuk *A. muricata* Linn, proses perebusan dilakukan selama 5 menit. Setelah itu, seluruh larutan didinginkan dan dimasukkan ke dalam jar tertutup. Kemudian menambahkan 24 gram *Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast* (SCOBY) ke dalamnya, lalu jar ditutup dengan kertas tissue. Proses fermentasi dilakukan selama 14 hari pada ruangan gelap dan suhu ruangan. Uji antibakteri menggunakan uji *Zone of Inhibition* (ZOI) dengan metode sumuran (tiga kali pengulangan). Konsentrasi *A. muricata* Linn adalah 25%, 50% dan 100%. Pengukuran zona hambat menggunakan aplikasi software OptiLab versi 1,5. Analisa data menggunakan uji *One Way ANOVA* yang dilanjutkan dengan *Post-Hoc Tukey* dengan signifikansi $p < 0,05$.

Hasil: Daya hambat kombucha *A. muricata* Linn konsentrasi 25, 50, 100% terhadap *Escherichia coli* adalah sebagai berikut $7,3 \pm 0,9$; $9,2 \pm 0,8$; $12,3 \pm 0,3$ mm ($p < 0,05$). Sedangkan gentamisin mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* sebesar $14,7 \pm 1,2$. Daya hambat kombucha *A. muricata* Linn konsentrasi 25, 50, 100% terhadap *Salmonella typhi* adalah sebagai berikut $5,23 \pm 3,7$; $8,47 \pm 0,3$; $10,36 \pm 0,7$ mm ($p < 0,05$). Sedangkan gentamisin mampu menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* sebesar $11,3 \pm 1,6$.

Kesimpulan: Kombucha *A. muricata* Linn konsentrasi 100% efektif menghambat *Escherichia coli* dengan derajat kuat. Sedangkan kombucha *A. muricata* Linn konsentrasi 50% efektif menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* dengan derajat kuat.

Kata Kunci: Kombucha, *Annona muricata* L, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*

*Korespondensi:

Dr.dr. Dini Sri Damayanti, M.Kes

Jl. MT Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65145

Telp. +62341- 558959

e-mail: dinisridamayanti@unisma.ac.id

GROWTH INHIBITION OF *Escherichia coli* and *Salmonella typhi* by KOMBUCHA *Annona muricata* Linn

Kalyana Palupi, Reza Hakim, Dini Sri Damayanti*
Faculty of Medicine, University of Islam Malang

ABSTRACT

Introduction: Probiotics are non-pathogenic living microorganisms which can be consumed to keep sufficient gut microbiota. Kombucha is a probiotic fermented beverage product that contains organic acids, ethanol, polyphenols and lactic acid bacteria. Soursop leaves (*Annona muricata* Linn) is rich of active compounds such as polyphenols, flavonoids and alkaloids that can be used as basic ingredients for kombucha. The study purposed to determine the antibacterial activity of kombucha made from *A. muricata* Linn. on *Escherichia coli* and *Salmonella typhi*.

Method: Kombucha was made by boiling 1 L water until it is boils, and then added 100 grams of sugar and 5 grams of *A. muricata* Linn leaves powder. It was boiled for 5 minutes. Afterward, the mixed solution was cooled and kept in a covered jar. Then 24 grams of *Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast* (SCOBY) was added kept the jar covered with tissue paper. The fermentation process was carried out for 14 days in a dark room at room temperature. The antibacterial evaluation was using *Zone of Inhibition* (ZOI) diameter measurement (three times repetition). The concentrations of *A. muricata* Linn were 25%, 50% and 100%. The measurement of the inhibition zone used the OptiLab software version 1.5.. Data were analysed using *One Way ANOVA* test followed by *Post-Hoc Tukey* with a significance of $p < 0.05$.

Results: The ZOI diameter at 25, 50, 100% *A. muricata* Linn concentrations in *Escherichia coli* were as follows 7.3 ± 0.9 ; 9.2 ± 0.8 ; 12.3 ± 0.3 mm, respectively ($p < 0.05$). While gentamicin was able to inhibit the growth of *Escherichia*

coli by 14.7 ± 1.2 . However, The ZOI diameter at 25, 50, 100% *A. muricata* Linn concentrations in *Salmonella typhi* was as follows 5.23 ± 3.7 ; 8.47 ± 0.3 ; 10.36 ± 0.7 mm, respectively ($p < 0.05$). Meanwhile, gentamicin was able to inhibit the growth of *Salmonella typhi* by 11.3 ± 1.6 .

Conclusion: Kombucha *A. muricata* Linn concentration of 100% effectively inhibited *Escherichia coli* with a strong degree. Meanwhile, kombucha *A. muricata* Linn concentration of 50% was effective in inhibiting the growth of *Salmonella typhi* with a strong degree.

Keywords: Kombucha, *Annona muricata* L, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*

*Corresponding Author:

Dr.dr. Dini Sri Damayanti, M.Kes

Jl. MT Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65145

Telp. +62341- 558959

e-mail: dinisridamayanti@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Prevalensi diare menurut Kemenkes RI mengalami peningkatan pada tahun 2018 dari tahun 2017¹. Data menurut Parija (2012), menyatakan terdapat 600 juta orang terinfeksi *Escherichia coli* dengan angka kematian 700.000 pertahun, sedangkan *Salmonella typhi* menginfeksi sebanyak 13 juta pasien dengan angka kematian 600.000 pertahun². Terapi antibiotik merupakan pengobatan lini pertama penyakit infeksi bakteri³.

Penggunaan antibiotik yang tidak benar seperti mengkonsumsi dalam jangka waktu yang panjang akan mengakibatkan penurunan mikroflora normal (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, dan *Bacteroides*) dan peningkatan mikroba patogen seperti bakteri Gram-negatif enterik aerob⁴. Untuk mencegah ketidakseimbangan mikrobiota intestinal dapat dilakukan dengan mengkonsumsi probiotik⁵. Salah satu minuman yang mengandung probiotik adalah kombucha⁶.

Kombucha adalah minuman tradisional berbahan dasar teh yang difermentasi oleh *Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast* (SCOBY)⁷. Dalam proses fermentasi, SCOBY mampu mengubah teh dan gula menjadi minuman berkarbonasi ringan yang memiliki rasa sedikit asam yang menyegarkan dan mengandung asam organik (asam asetat, asam glukonat, asam glukuronat dan asam laktat), vitamin, etanol, protein, polifenol, mineral dan anion⁸. Selama fermentasi, bakteri dan yeast akan mendegradasi polifenol sehingga akan meningkatkan aktivitas polifenol sebagai antibakteri⁹. Asam organik yang terproduksi akan menyebabkan penurunan pH sehingga lingkungan intestinal menjadi asam dan bakteri tidak dapat bertahan hidup¹⁰. Bakteri asam laktat (BAL) pada kombucha menghasilkan senyawa antibakteri seperti asam organik, etanol, hidrogen peroksida, dan bakteriosin sehingga digolongkan sebagai probiotik¹¹.

Kombucha yang banyak beredar di pasaran dan telah terbukti memiliki kemampuan sebagai antibakteri adalah kombucha daun teh¹². Bahan dasar selain teh masih sedikit digunakan, maka peneliti membuat inovasi baru dengan menggunakan daun sirsak karena memiliki kandungan polifenol yang sama dengan kandungan daun teh¹³. Kandungan bioaktif daun sirsak yaitu tannin, saponin, terpenoid, steroid, fenol, flavonoid, flavonol glikosida, alkaloid dan asetogenin yang sudah terbukti memiliki aktivitas antibakteri¹⁴. Untuk membuktikan keefektifan kombucha *Annona muricata* sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi* maka perlu dibuktikan dengan pengujian zona hambat.

METODE PENELITIAN

Desain, Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian eksperimental secara *in vitro* kolonisasi *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi* dan menggunakan desain *post-test control only group*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biomedik Universitas Muhammadiyah Malang (UMM) pada bulan Juli tahun 2021.

Pengambilan Sampel Penelitian

Sampel serbuk daun sirsak didapatkan dari Unit Pelaksana Teknis (UPT) Materia Medika Batu dan Kultur SCOBY dari Indokombucha.

Pembuatan Kombucha *A. muricata* Linn

Menurut Jayabalan *et al* (2018) pembuatan kombucha di lakukan dengan cara, pertama menyiapkan serbuk *A. muricata* Linn yang telah di masukkan ke dalam kantung teh sebanyak 5 gram. Selanjutnya proses perebusan serbuk *A. muricata* Linn dengan merebus 1000 mL air pada panci enamel hingga mendidih. Kemudian melarutkan 100 gram gula pasir ke dalamnya dan memasukkan kantung yang telah terisi serbuk *A. muricata* Linn dan dididihkan selama 5 menit pada suhu 100°C dengan kondisi panci ditutup. Selama proses perebusan di lakukan pengadukan beberapa saat. Selanjutnya, rebusan yang sudah mendidih di masukkan ke dalam jar kaca dan di dinginkan hingga mencapai suhu ruangan (20°C). Selanjutnya 24 g SCOBY dimasukkan ke dalam jar kaca dan ditutup dengan tissue kertas yang di ikat dengan karet. Proses fermentasi dilakukan selama 14 hari dengan suhu ruang dan tidak boleh langsung terkena sinar matahari¹⁵. Apabila proses fermentasi telah selesai, maka langkah selanjutnya adalah pembuatan suspensi bakteri uji.

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Menurut Hudzicki (2009), pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan cara mengambil bakteri yang telah ditumbuhkan pada media *Nutrient Agar* berumur 24 jam sebanyak 1-2 jarum inokulasi (ose) dan disuspensikan ke dalam larutan NaCl 0,9% steril pada tabung reaksi. Kemudian tabung reaksi diletakkan pada vortex mixer merk IKA vortex untuk menghomogenkan suspensi dan densitasnya disetarakan dengan standar Mc. Farland 0,5¹⁶. Bakteri uji yang digunakan yaitu *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. Kemudian melakukan uji zona hambat.

Uji ZOI

Metode pengujian zona hambat menurut Hudzicki (2009), dimulai dengan suspensi bakteri sebanyak 100 mikroliter dituangkan kedalam cawan petri steril, kemudian ditambahkan media *Nutrient Agar* cair yang suhunya tidak terlalu panas. Kemudian tutup cawan

petri dan homogenkan dengan cara memutar cawan membentuk angka 8, lakukan berulang hingga homogen dan biarkan media hingga memadat. Jika sudah memadat, maka buat sumuran dengan *cork borer* berdiameter 6 mm. Kombucha *A. muricata* Linn dimasukkan ke dalam sumuran sebanyak 50 μ L. Variasi kombucha *A. muricata* Linn yang digunakan yaitu 25%, 50% dan 100%. Pada pengujian ini digunakan kontrol antibiotik yaitu gentamisin 10 mcg dan kontrol pembanding yaitu rebusan *A. muricata* Linn. Setelah itu, media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona hambat yang terbentuk setelah masa inkubasi diamati dengan menggunakan aplikasi *software* OptiLab versi 1,5¹⁶.

Analisa Data Statistik

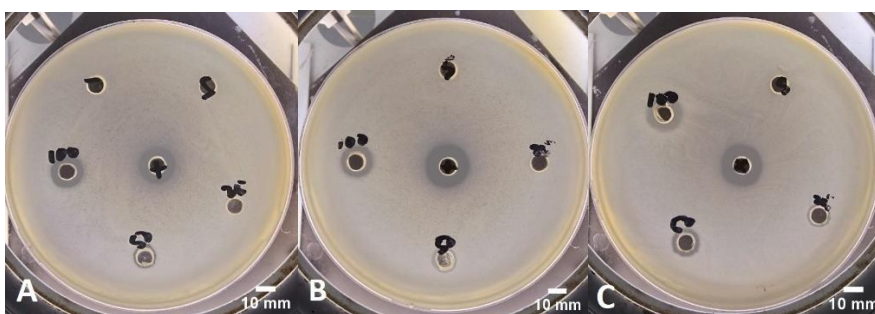
Data yang didapatkan diolah menggunakan *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versi 22 dengan uji homogenitas dan normalitas. Kemudian uji *One Way Analysis of Variance* (ANOVA), yang dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tukey* dengan signifikansi $p < 0,05$ ¹⁷.

HASIL DAN ANALISA DATA

Hasil Pengukuran Daya Hambat *Escherichia coli*

Tabel 1 menunjukkan diameter ZOI dari masing masing kombucha *A. muricata* Linn terhadap *Escherichia coli* dengan kontrol antibiotik yakni gentamisin dan kontrol pembanding yaitu rebusan *A. muricata* Linn. Berdasarkan kriteria daya hambat, kombucha *A. muricata* Linn konsentrasi 100% memiliki daya hambat kuat, sedangkan konsentrasi 50% dan 25% memiliki daya hambat sedang. Gentamisin sebagai kontrol antibiotik memiliki daya hambat kuat dan rebusan *A. muricata* Linn sebagai kontrol pembanding memiliki daya hambat lemah¹⁸.

Hasil analisa statistik menunjukkan bahwa kombucha *A. muricata* Linn dengan konsentrasi 25% dan 50% lebih rendah secara signifikan dibandingkan kombucha konsentrasi 100% dan gentamisin, tetapi lebih tinggi dibandingkan rebusan *A. muricata* Linn. Sedangkan kombucha *A. muricata* Linn konsentrasi 100% tidak berbeda signifikan dengan gentamisin ($p > 0,05$), namun lebih baik dibandingkan kombucha *A. muricata* Linn konsentrasi 25% dan 50%. Hasil zona hambat kombucha *A. muricata* Linn terhadap *Escherichia coli* ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil pengukuran daya hambat *Escherichia coli*

Keterangan: A. Replikasi 1; B. Replikasi 2; C. Replikasi 3. Skala menunjukkan 10 milimeter (mm). Sumuran dengan label 25 menunjukkan kombucha *A. muricata* Linn konsentrasi 25%; 50 menunjukkan kombucha *A. muricata* Linn konsentrasi 50%; 100 menunjukkan kombucha *A. muricata* Linn konsentrasi 100%; S menunjukkan rebusan *A. muricata* Linn; dan (+) menunjukkan gentamisin 10 mcg sebagai kontrol antibiotik.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Daya Hambat *Escherichia coli*

Diameter ZOI (mm)					
Replikasi	Kombucha <i>Annona muricata</i>			Rebusan <i>Annona muricata</i>	Gentamisin 10 mcg
	25%	50%	100%		
1	6,51	8,10	12,05	0	12,62
2	6,95	9,44	12,19	0	16,39
3	8,51	9,92	12,70	0	15,15
Mean±SD	7,3±0,9 ^b	9,2±0,8 ^b	12,3±0,3 ^c	0 ^a	14,7±1,2 ^c

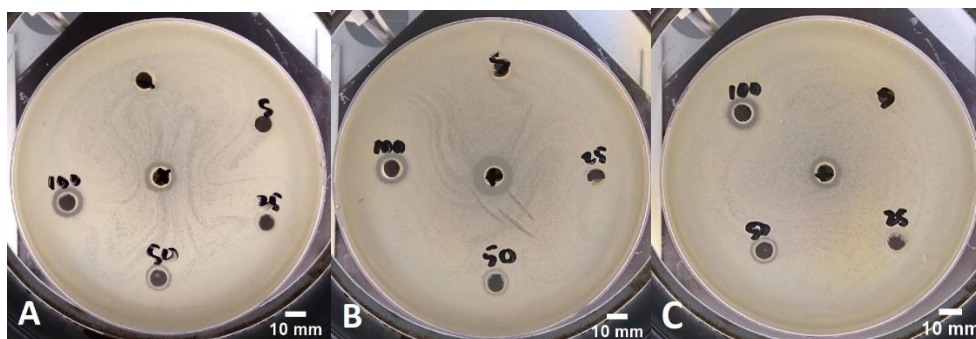
Keterangan: Tabel 1 menunjukkan hasil pengukuran daya hambat (mm) *Escherichia coli* oleh kombucha *A. muricata* Linn, dengan gentamisin 10 mcg sebagai kontrol antibiotik dan rebusan *A. muricata* Linn sebagai kontrol pembanding. Analisa statistik menggunakan uji *One Way ANOVA* yang dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tukey* dengan tingkat signifikansi $p < 0.05$. Notasi huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan.

Hasil Pengukuran Daya Hambat *Salmonella typhi*

Tabel 2 menunjukkan diameter ZOI dari masing masing kombucha *A. muricata* Linn terhadap *Salmonella typhi* dengan kontrol antibiotik yakni gentamisin dan kontrol pembanding yaitu rebusan *A. muricata* Linn. Berdasarkan kriteria daya hambat, kombucha *A. muricata* Linn konsentrasi 100% memiliki daya hambat kuat, sedangkan konsentrasi 50% dan 25% memiliki daya hambat sedang. Gentamisin sebagai kontrol antibiotik memiliki daya hambat kuat dan rebusan *A. muricata* Linn sebagai kontrol pembanding memiliki daya hambat lemah¹⁸.

Hasil analisa statistik menunjukkan bahwa kombucha *A. muricata* Linn dengan konsentrasi 25%

tidak berbeda signifikan dengan rebusan *A. muricata* Linn. Kombucha *A. muricata* Linn konsentrasi 50%, 100% berbeda signifikan lebih rendah dibandingkan gentamisin. Kombucha *A. muricata* Linn konsentrasi 50% tidak berbeda signifikan dengan konsentrasi 25%, 100% dan gentamisin, tetapi berbeda signifikan lebih tinggi dibandingkan rebusan *A. muricata* Linn. Kombucha *A. muricata* Linn konsentrasi 100% tidak berbeda signifikan dengan konsentrasi 50% dan gentamisin, tetapi berbeda signifikan lebih tinggi dibandingkan rebusan *A. muricata* Linn. Hasil zona hambat kombucha *A. muricata* Linn terhadap *Salmonella typhi* ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil pengukuran daya hambat *Salmonella typhi*

Keterangan : A. Replikasi 1; B. Replikasi 2; C. Replikasi 3. Skala menunjukkan 10 milimeter (mm). Sumuran dengan label 25 menunjukkan kombucha *A. muricata* Linn konsentrasi 25%; 50 menunjukkan kombucha *A. muricata* Linn konsentrasi 50%; 100 menunjukkan kombucha *A. muricata* Linn konsentrasi 100%; S menunjukkan rebusan *A. muricata* Linn; dan (+) menunjukkan gentamisin 10 mcg sebagai kontrol antibiotik.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Daya Hambat *Salmonella typhi*

Replikasi	Diameter ZOI (mm)			Rebusan <i>Annona muricata</i>	Gentamisin 10 mcg
	Kombucha <i>Annona muricata</i>				
	25%	50%	100%		
1	7,77	8,27	10,15	0	10,58
2	0	8,91	11,30	0	13,50
3	7,91	8,24	9,63	0	9,84
Mean±SD	5,23±3,7 ^{ab}	8,47±0,3 ^{bc}	10,36±0,7 ^{bc}	0 ^a	11,3±1,6 ^c

Keterangan: Tabel 2 menunjukkan hasil pengukuran daya hambat (mm) *Salmonella typhi* oleh kombucha *A. muricata* Linn, dengan gentamisin 10 mcg sebagai kontrol antibiotik dan rebusan *A. muricata* Linn sebagai kontrol pembanding. Analisa statistik menggunakan uji *One Way ANOVA* yang dilanjutkan dengan uji *Post Hock Tukey* dengan tingkat signifikansi $p < 0.05$. Notasi huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan.

PEMBAHASAN

Daya Hambat Kombucha *A. muricata* Linn Terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*

Berdasarkan hasil analisa menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi kombucha *A. muricata* Linn maka daya hambat terhadap bakteri semakin meningkat yang ditunjukkan dengan bertambahnya zona bening yang terbentuk. Dengan peningkatan konsentrasi maka kadar senyawa aktif yang terkandung lebih tinggi sehingga aktivitasnya meningkat¹⁹.

Hasil penelitian menyatakan bahwa kombucha *A. muricata* Linn konsentrasi 100% efektif dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, sedangkan pada konsentrasi 50% efektif dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*. Pada penelitian ini ditemukan bahwa senyawa kombucha *A. muricata* Linn lebih sulit untuk membunuh *Escherichia coli* dibandingkan dengan *Salmonella typhi*. Hal ini diduga disebabkan oleh kemampuan plastisitas dari dinding sel *Escherichia coli*. *Escherichia coli* dapat menyekresikan *PBP transpeptidase* dan atau *glycosyltransferase* yang

dibutuhkan untuk bertahan hidup melawan perubahan pH dan pembuatan dinding sel yang lebih kompleks²⁰.

Hasil kombucha *A. muricata* Linn tidak lebih besar dari pada kontrol antibiotik karena interaksi kombinasi bahan aktif pada obat multikomponen seperti herbal sangat mungkin terjadi. Kombinasi antar bahan aktif dapat menunjukkan efek sinergis dan antagonis. Kombinasi efek yang berbeda akan mengakibatkan sifat antibakterinya menurun²¹.

Hasil akhir kombucha berupa asam organik (asam asetat, asam glukonat, asam glukuronat dan asam laktat), vitamin, etanol, protein, polifenol, mineral dan anion⁸. Proses fermentasi berpengaruh pada kadar asam organik, protein, total bakteri dan polifenol⁹. Asam organik seperti asam asetat dan glukonat meningkat signifikan selama fermentasi, sedangkan asam laktat dan asam sitrat mengalami sedikit peningkatan. Asam organik dapat mengganggu keseimbangan pH sehingga merusak sintesis protein bakteri²². Flavonoid akan terdegradasi selama fermentasi sehingga aktivitasnya akan meningkat. Degradasi flavonoid disebabkan oleh *Candida tropicalis* yang menghasilkan enzim peroksisomal seperti katalase, dan bakteri *Clostridium*, *Bacteroides*, serta *Eubacterium* akan membelah cincin C dari flavonoid menjadi asam fenolik yaitu asam phloretic dan asam 3-hidroksifenilasetat^{23,24}. Flavonoid memiliki potensi sebagai antibakteri dengan menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma, menghambat metabolisme energi, menghambat perlekatan dan pembentukan biofilm, menghambat porin pada sel membran dan merubah permeabilitas membran²⁵.

Aktivitas antibakteri juga diakibatkan adanya bakteri asam laktat pada kombucha yang dapat membunuh bakteri patogen dengan cara memproduksi senyawa bioaktif peptida yaitu bakteriosin²⁶. Bakteriosin memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen dengan cara membunuh bakteri secara langsung, menghambat invasi bakteri patogen serta menyeimbangkan mikroflora normal di usus¹¹. Selain itu bakteri asam laktat juga dapat menghasilkan nisin yang merupakan bakteriosin tipe 1. Nisin akan mengikat lipid II yang merupakan transporter peptidoglikan dari sitoplasma menuju dinding sel sehingga mencegah pembentukan dinding sel yang sempurna dan memicu kematian sel. Selain itu, nisin juga akan menggunakan lipid II sebagai molekul untuk memicu proses insersi membran dan pembentukan pori yang menyebabkan kematian sel²⁷.

Rebusan *A. muricata* Linn mengandung senyawa aktif berupa flavonoid, polifenol dan alkaloid. Senyawa aktif ini merupakan senyawa aktif polar karena larut dalam pelarut air. Hasil penelitian

menyatakan bahwa rebusan *A. muricata* Linn tidak menghasilkan zona hambat, dikarenakan bakteri Gram negatif memiliki dinding sel yang strukturnya kompleks. Hal ini didukung oleh penelitian Sari (2010) bahwa infusa daun sirsak tidak menghasilkan zona hambat pada bakteri Gram negatif, namun menghasilkan zona hambat pada bakteri Gram positif²⁸.

Suatu produk dikatakan halal apabila kadar etanolnya kurang dari 1 persen²⁹. Dalam kombucha hasil akhir etanolnya berkisar 0,5 sampai 1%, sehingga dalam batas kadar etanol yang diperbolehkan. Kadar etanol yang rendah akan didapatkan apabila proses fermentasi semakin lama. Dimana semakin lama masa fermentasi, maka etanol akan digunakan bakteri asam asetat untuk menghasilkan asam asetat sehingga kadarnya akan menurun³⁰.

Penelitian *in vitro* merupakan landasan pengembangan penelitian lebih lanjut, karena penelitian *in vitro* tidak menggambarkan kondisi sebenarnya pada manusia sehingga tidak dapat dilihat pada kondisi kesehatan yang normal. Oleh sebab itu, dibutuhkan pembuktian lanjutan dengan cara melakukan penelitian secara *in Vivo*, yaitu memberikan kombucha *A. muricata* Linn pada hewan coba dalam kondisi seperti manusia sehat dan kombucha *A. muricata* Linn diberikan sebagai probiotik.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisa statistik dan studi literatur dapat disimpulkan bahwa:

1. Kombucha *A. muricata* Linn dengan konsentasi 100% efektif dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*.
2. Kombucha *A. muricata* Linn dengan konsentasi 50% efektif dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*.
3. Kombucha *A. muricata* Linn lebih mudah menghambat *Salmonella typhi* dibandingkan *Escherichia coli*.

SARAN

Adapun beberapa saran untuk meningkatkan penelitian ini di masa mendatang yaitu melakukan pengujian secara *in vivo* pada hewan coba, untuk membuktikan kombucha *A. muricata* Linn dapat dijadikan sebagai probiotik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Ikatan Orang Tua Mahasiswa (IOM) yang telah memberikan dana hibah kepada tim kelompok penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Kementerian Kesehatan RI. Profil Kesehatan Indonesia. Vol. 40, Journal of Clinical Pathology. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2019. 591–591 p.
- [2] Parija SC. Microbiology & Immunology. 2nd ed. Bhattacharya SM, Nasim S, Kumar S, Dutta S, editors. India: Elsevier; 2012. 252–260 p.
- [3] Jandhyala SM, Talukdar R, Subramanyam C, Vuyyuru H, Sasikala M, Reddy DN. Role of the normal gut microbiota. *World J Gastroenterol*. 2015;21(29):8836–47.
- [4] Noverr MC, Huffnagle GB. Does the microbiota regulate immune responses outside the gut? *Trends Microbiol*. 2004;12(12):562–8.
- [5] Goubeyre P, Denery S, Bodinier M. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: impact on the gut immune system and allergic reactions. *J Leukoc Biol*. 2011;89(5):685–95.
- [6] Kozyrovska NO, Reva OM, Goginyan VB, Devera JP. Kombucha microbiome as a probiotic: A view from the perspective of post-genomics and synthetic ecology. *Biopolym Cell*. 2012;28(2):103–13.
- [7] Laureys D, Britton SJ, De Clippeleer J. Kombucha Tea Fermentation: A Review. *J Am Soc Brew Chem* [Internet]. 2020;78(3):165–74. Available from: <https://doi.org/10.1080/03610470.2020.1734150>
- [8] Villarreal-Soto SA, Beaufort S, Bouajila J, Souchard JP, Taillandier P. Understanding Kombucha Tea Fermentation: A Review. *J Food Sci*. 2018;83(3):580–8.
- [9] Jayabalan R, Subathradevi P, Marimuthu. Changes in free-radical scavenging ability of kombucha tea during fermentation. *Food Chem*. 2008;109(1):227–34.
- [10] Ryan MP, O'Dwyer J, Adley CC. Evaluation of the Complex Nomenclature of the Clinically and Veterinary Significant Pathogen Salmonella. *Biomed Res Int*. 2017;2017.
- [11] Reis JA, Paula AT, Casarotti SN, Penna ALB. Lactic Acid Bacteria Antimicrobial Compounds : Characteristics and Applications. *Food Eng Rev*. 2012;4:124–40.
- [12] Battikh H, Chaieb K, Bakhrouf A, Ammar E. Antibacterial and antifungal activities of black and green kombucha teas. *J Food Biochem*. 2012;37(2):231–6.
- [13] Moghadamtousi SZ, Fadaeinasab M, Nikzad S, Mohan G, Ali HM, Kadir HA. *Annona muricata* (Annonaceae): A review of its traditional uses, isolated acetogenins and biological activities. *Int J Mol Sci*. 2015;16(7):15625–58.
- [14] Iyanda-Joel WO, Omonigbehin EA, Iweala EEJ, Chinedu SN. Antibacterial studies on fruit-skin and leaf extracts of *Annona muricata* in Ota, Nigeria. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci*. 2019;331(1).
- [15] Jayabalan R, Malbaša R V., Lončar ES, Vitas JS, Sathishkumar M. A review on kombucha tea-microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2014;13(4):538–50.
- [16] Hudzicki J. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. *Am Soc Microbiol* [Internet]. 2016;1–13. Available from: <https://www.asm.org/Protocols/Kirby-Bauer-Disk-Diffusion-Susceptibility-Test-Pro>
- [17] Susilawati LKPA, Supriyadi, Wilani ni made ari, Tobing david hizkia, Astiti dewi puri. Bahan Ajar Praktikum Statistik. Univ Udayana. 2017;68.
- [18] Susanto D, Sudrajat, Ruga R. Studi Kandungan Bahan Aktif Tumbuhan Meranti Merah (*Shorea leprosula* Miq) Sebagai Sumber Senyawa Antibakteri. *Mulawarman Sci*. 2012;11(2):181–90.
- [19] Lingga AR. Uji Antibakteri Ekstrak Batang Kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *JOM Faperta*. 2016;3(1).
- [20] Mueller EA, Egan AJF, Breukink E, Vollmer W, Levin PA. Plasticity of *Escherichia coli* cell wall metabolism promotes fitness and antibiotic resistance across environmental conditions. *Elife*. 2019;8:1–24.
- [21] Hilal A. Syahrir N, Mochamad Afendi F, Susetyo B. Efek Sinergis Bahan Aktif Tanaman Obat Berbasiskan Jejaring dengan Protein Target. *J Jamu Indones*. 2016;1(1):35–46.
- [22] Simanjuntak RJD, Mutiara H. Pengaruh Pemberian Teh Kombucha Terhadap Pertumbuhan *Salmonella Typhi*. *Majoriity*. 2016;5(5):48–54.
- [23] Ettayebi K, Errachidi F, Jamaï L, Tahri-Jouti MA, Sendide K, Ettayebi M. Biodegradation of polyphenols with immobilized *Candida tropicalis* under metabolic induction. *FEMS Microbiol Lett*. 2003;223(2):215–9.
- [24] Rechner AR, Smith MA, Kuhnle G, Gibson GR, Debnam ES, Srai SKS, et al. Colonic metabolism of dietary polyphenols: Influence of structure on microbial fermentation products. *Free Radic Biol Med*. 2004;36(2):212–25.
- [25] Xie Y, Yang W, Tang F, Chen X, Ren L.

- Antibacterial Activities of Flavonoids: Structure-Activity Relationship and Mechanism. *Curr Med Chem*. 2015;22(1):132–49.
- [26] Watawana MI, Jayawardena N, Gunawardhana CB, Waisundara VY. Health , Wellness , and Safety Aspects of the Consumption of Kombucha. *J of Chemistry Hindawi*. 2015;2015.
- [27] Punyauppa-path S, Phumkhachorn P, Rattanachaikunsopon P. NISIN : PRODUCTION AND MECHANISM OF ANTIMICROBIAL ACTION. *Int J Cur Res Rev*. 2015;7(2):47–53.
- [28] Sari YD. Uji Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Secara in Vitro Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 35128 Serta Profil kromatografi Lapis Tipisnya. *Kes Mas J Fak Kesehat Masy Univ Ahmad Daulan*. 2010;218–38.
- [29] Alzeer J, Abou Hadeed K. Ethanol and its Halal status in food industries. *Trends Food Sci Technol* [Internet]. 2016;58:14–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2016.10.018>
- [30] Tan WC, Muhiaddin BJ, Meor Hussin AS. Influence of Storage Conditions on the Quality, Metabolites, and Biological Activity of Soursop (*Annona muricata* L.) Kombucha. *Front Microbiol*. 2020;11(December):1–10.