

AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBUCHA *Annona muricata* Linn, *Clitoria ternatea* DAN KOMBINASI KEDUANYA TERHADAP *Salmonella* sp

Sinta Lutfiah, Yoyon Arif Martino, Dini Sri Damayanti*
Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Kombucha merupakan minuman fermentasi mengandung bakteri asam laktat, asam organik dan fenol. Daun *Annona muricata* L. dan bunga *Clitoria ternatea* mengandung kaya akan fenol sehingga dapat dijadikan bahan dasar kombucha. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi kombucha *Annona muricata* L. dan *Clitoria ternatea* dalam menghambat bakteri *Salmonella* sp.

Metode: Pembuatan kombucha menggunakan simplisia kering *Annona muricata* L., simplisia *Clitoria ternatea*, gula dan *Symbiotic Culture of Bacteria and yeast* (SCOBY). Proses fermentasi kombucha dilakukan selama 14 hari. Uji antibakteri menggunakan *Zone of Inhibition* (ZOI) dengan metode difusi cakram (sembilan kali pengulangan). Antibiotik kloramfenikol digunakan sebagai kontrol. Pengukuran zona hambat bakteri *Salmonella* sp. dilakukan dengan mengukur diameter ZOI menggunakan *software* OptiLab versi 2.2. Analisa data menggunakan uji *One Way Analysis of Variance* (ANOVA). Kemudian dilanjutkan uji *Post-Hoc Tukey* dengan signifikansi $p < 0,05$.

Hasil: Zona hambat kombucha *Annona muricata* L., *Clitoria ternatea* dan Kombinasi keduanya didapatkan hasil sebagai berikut $8,54 \pm 0,53$; $8,42 \pm 0,35$; $9,13 \pm 0,6$ mm dan daya hambat antibiotik kloramfenikol sebagai kontrol $21,15 \pm 1,01$ mm. Berdasarkan analisa data, Kombucha *Annona muricata* L, *Clitoria ternatea* dan Kombinasi tidak berbeda signifikan namun lebih rendah dari antibiotik kloramfenikol.

Simpulan: Kombucha *Annona muricata* Linn, Kombucha *Clitoria ternatea* dan kombucha kombinasi keduanya memiliki potensi menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella* sp.

Kata Kunci: Kombucha, *Annona muricata* Linn, *Clitoria ternatea*, *Salmonella* sp

*Korespondensi:

Dr.dr. Dini Sri Damayanti, M.Kes

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

e-mail: dinisridamayanti@unisma.ac.id

ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF KOMBUCHA *Annona muricata* Linn, *Clitoria ternatea* AND THEIR COMBINATION AGAINST *Salmonella* sp

Sinta Lutfiah, Yoyon Arif Martino, Dini Sri Damayanti*
Medical Faculty, University Islam Malang

ABSTRACT

Introduction: Kombucha is a fermented drink that contains lactic acid bacteria, organic acids and phenols. The leaves of *Annona muricata* L. and the flowers of *Clitoria ternatea* have rich phenols so they can be used as basic ingredients for kombucha. This study aimed to determine the potency of kombucha *Annona muricata* L. and *Clitoria ternatea* in inhibiting *Salmonella* sp.

Methods: Kombucha was made by mixing dried *Annona muricata* L. simplicia, *Clitoria ternatea*, sugar and *Symbiotic Culture of Bacteria and yeast* (SCOBY). The kombucha fermentation process was carried out for 14 days. The antibacterial test used the *Zone of Inhibition* (ZOI) test with the disc diffusion method (nine repetitions). Chloramphenicol was used a control. The inhibition zone of *Salmonella* sp. was measured using OptiLab software version 2.2. Data analysis used the *One Way Analysis of Variance* (ANOVA) test. Then continued Tukey's Post-Hoc test with a significance $p < 0.05$.

Results: The ZOI of kombucha *Annona muricata* L, *Clitoria ternatea* and the combination obtained following results 8.54 ± 0.53 ; 8.42 ± 0.35 ; 9.13 ± 0.6 mm and chloramphenicol as a control 21.15 ± 1.01 mm. Based on analytical data, Kombucha *Annona muricata* L, *Clitoria ternatea* and the combination were not significantly different but lower than chloramphenicol.

Keywords: Kombucha, *Annona muricata* Linn, *Clitoria ternatea*, combination, *Salmonella* sp

*Correspondence:

Dr.dr. Dini Sri Damayanti, M.Kes

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

E-mail: dinisridamayanti@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Mikrobiota dalam tubuh manusia banyak tumbuh pada saluran intestinal yang umumnya berasal dari filum *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* dan *Proteobacteria*.^{15,19} Salah satu contoh mikrobiota intestinal dari filum *Proteobacteria* adalah *Salmonella sp* yang bersifat avirulen apabila jumlahnya sedikit.³¹ Komposisi mikrobiota intestinal dipengaruhi oleh asupan makanan, antibiotik, aktivitas fisik, usia serta genetik.²⁵ Apabila komposisi mikrobiota intestinal tidak seimbang maka dapat menyebabkan infeksi pada intestinal seperti Salmonellosis yang disebabkan karena jumlah *Salmonella sp* meningkat.^{13,19}

Insiden dengan etiologi *Salmonella sp*. Khususnya demam tifoid menurut WHO (*World Health Organisation*) terdapat 11-21 juta kasus dengan kematian sebanyak 128.000-161.000 setiap tahun di dunia. Oleh karena itu, diperlukan adanya upaya menjaga keseimbangan mikrobiota intestinal untuk mencegah pertumbuhan *Salmonella sp*. yang dapat menginfeksi intestinal. Salah satu caranya dengan mengonsumsi probiotik.²⁸ Contoh produk probiotik yaitu kombucha.³¹ Kombucha adalah minuman dari fermentasi teh serta gula oleh SCOBY.³⁰

Proses fermentasi kombucha selama 7-14 hari melibatkan simbiosis bakteri asam laktat *Acetobacter xylium* dan khamir *Saccharomyces cerevisiae* menghasilkan asam organik yang berperan dalam penurunan pH sehingga menghambat pertumbuhan bakteri seperti *Salmonella sp*.^{29,30} Selain itu, simbiosis tersebut juga dapat mendegradasi fenol sehingga potensi antibakteri meningkat.¹⁷ Umumnya kombucha berasal dari daun teh (*Camellia sinensis*) dan dapat diganti dengan daun yang mengandung kaya akan fenol seperti *Annona muricata* Linn dan *Clitoria ternatea*.³⁰ Selain tinggi fenol, *Annona muricata* Linn mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, tannin, steroid, vitamin c dan asetogenin sehingga dapat berperan sebagai antioksidan, antiinflamasi dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif seperti *Salmonella sp*.^{5,8,25} Sedangkan *Clitoria ternatea* (*Clitoria ternatea*) atau sering disebut *butterfly pea* mengandung antosianin,

steroid, alkaloid, triterpenoid, tannin, antrakuinon dan saponin sehingga dapat bermanfaat sebagai antidiabetes, antioksidan serta menghambat pertumbuhan bakteri seperti *salmonella sp*.^{1,9}

Pada penelitian ini menggunakan metode pengukuran zona hambat untuk membuktikan potensi antibakteri kombucha *Annona muricata* Linn, *Clitoria ternatea* dan kombinasi *Annona muricata* Linn serta *Clitoria ternatea* terhadap *Salmonella sp*. Penelitian ini belum dilakukan sebelumnya. Oleh karena itu, saya ingin melakukan penelitian secara in vitro untuk mengetahui potensi antibakteri dengan mengukur zona hambat bakteri *Salmonella sp*.

METODE PENELITIAN

Desain, Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian laboratorium secara *in vitro* menggunakan desain *Post-test control only group*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biomedik Universitas Muhammadiyah Malang (UMM) pada bulan Desember tahun 2022 hingga Januari 2023.

Pengambilan Sampel Penelitian

Sampel simplisia daun sirsak (*Annona muricata* L.) didapatkan dari Unite Pelaksana Teknis (UPT) Matera Medika Kota Batu, bunga telang (*Clitoria ternatea*) dari took Rosellaku dan Kultur SCOBY dari took Natsilver.

Pembuatan Kombucha

Pembuatan kombucha *Annona muricata* L. menggunakan kantong teh yang telah terisi simplisia *Annona muricata* L. sebanyak 12 g. Kombucha *Clitoria ternatea* menggunakan kantong teh yang telah dimasukkan simplisia *Clitoria ternatea* sebanyak 12 g. Kombucha kombinasi menggunakan kantong teh yang telah terisi 6 g simplisia *Annona muricata* L dan 6 g simplisia *Clitoria ternatea*. Pembuatan kombucha dilakukan dengan merebus aquades sebanyak 1000 ml pada panci enamel hingga mendidih. Setelah itu, kantong teh yang telah terisi simplisia dan 100 g gula dimasukkan kedalam panci kemudian diaduk selama 5 menit. Selanjutnya, rebusan tersebut didinginkan dan dimasukkan kedalam jar kaca. Setelah itu, ditambahkan SCOBY dan ditutup kain katun serta diikat karet.² Kemudian difermentasi

dalam 14 hari di suhu ruang serta terhindar dari sinar matahari secara langsung.¹⁷

Peremajaan Bakteri

Peremajaan bakteri dilakukan untuk menumbuhkan kembali bakteri menjadi baru dan muda sehingga dapat mengoptimalkan pertumbuhan bakteri dan fungsinya. Peremajaan bakteri dilakukan dengan menumbuhkan bakteri pada media NA (*Nutrient Agar*) menggunakan metode *streak plate* dan diinkubasi selama 24 jam.³³

Pembuatan Suspensi Bakteri

Proses pembuatan suspensi bakteri dimulai dengan NaCl 0,9% ditambahkan ke dalam tabung reaksi berisi *Salmonella sp.* yang telah ditumbuhkan pada media NA. Kemudian kekeruhan disetarakan dengan standar Mc Farland 0,5 yakni $1,5 \times 10^8$ cfu/mL.

Uji ZOI

Uji ZOI untuk melihat potensi kombucha dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Proses ini dimulai dengan 7,6 g serbuk Muller Hinton Agar (MHA) dimasukkan dalam tabung Erlenmeyer yang telah terisi 200 ml aquades serta diaduk hingga larut. Kemudian disterilkan dalam autoklaf.

HASIL DAN ANALISIS DATA

Hasil Pengukuran Daya Hambat *Salmonella sp.*

Daya hambat menurut Davis dan Stout (1971), apabila diameter zona hambat ≤ 5 mm menunjukkan daya hambat lemah, diameter 5-10 mm daya hambat sedang, diameter 10-20 mm daya hambat kuat dan diameter zona hambat ≥ 20 mm memiliki daya hambat sangat kuat. Berdasarkan kriteria tersebut, kombucha *Annona muricata* Linn, *Clitoria ternatea* dan kombinasi keduanya memiliki daya hambat sedang karena memiliki diameter zona hambat 5-10 mm. Namun, kombucha kombinasi *Clitoria ternatea* dan *Annona muricata* Linn memiliki daya hambat lebih kuat dibandingkan

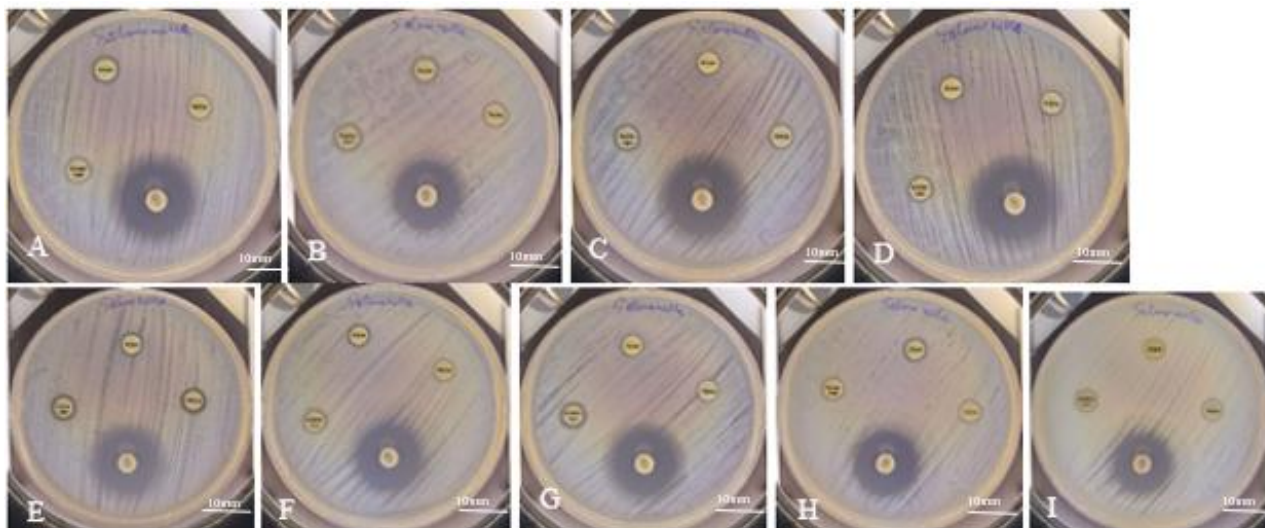
Media MHA steril dituangkan ke cawan petri steril masing masing 20 ml dan dibiarkan memadat. Setelah itu, suspensi bakteri yang telah distandarkan dengan standar Mc Farland 0,5 diambil dan diletakkan pada media MHA dengan metode *spread plate*. Kemudian diinkubasi selama 24 jam.³³

Setelah diinkubasi, kertas cakram direndam dalam kombucha *Annona muricata* Linn, kombucha *Clitoria ternatea* dan kombucha kombinasi keduanya. Proses perendaman kertas cakram dilakukan selama ± 15 menit. Setelah itu, kertas cakram yang telah direndam dan cakram antibiotik kloramfenikol diletakkan menggunakan pinset steril dengan 4 kuadran. Zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan aplikasi *software* OptiLab versi 2.2. Uji daya hambat diulang 9 kali pengulangan.³³

Teknik Analisis Data

Data yang didapatkan diolah dengan *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) edisi 26 dengan uji homogenitas serta normalitas. Setelah data terdistribusi homogen dan normal ($p > 0,05$) selanjutnya dilakukan uji *One Way Analysis of Variance* (ANOVA). Kemudian dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc Tukey* signifikansi $p < 0,05$.⁷

kombucha *Annona muricata* Linn dan kombucha *Clitoria ternatea*. Antibiotik kloramfenikol sebagai kontrol memiliki daya hambat sangat kuat karena diameter zona hambat ≥ 20 mm. **Tabel 1** Hasil Analisa statistik menunjukkan pada kombucha *Annona muricata* Linn, *Clitoria ternatea* dan kombinasi keduanya tidak berbeda signifikan ($p = 0,161$) namun lebih rendah dari antibiotik kloramfenikol ($p = 1,000$). Hasil zona hambat kombucha *Annona muricata* Linn, *Clitoria ternatea* dan kombucha kombinasi keduanya terhadap *Salmonella sp.* ditunjukkan pada **Gambar 1**.



Keterangan: A. Replikasi1; B. Replikasi2; C. Replikasi3; D. Replikasi4; E. Replikasi5; F. Replikasi6; G. Replikasi7; H. Replikasi8; I. Replikasi9. Skala menunjukkan 10 milimeter (mm).. Label sirsak menunjukkan kombucha *Annona muricata* L; telang menunjukkan kombucha *Clitoria ternatea*; kombinasi menunjukkan kombucha kombinasi keduanya dan C menunjukkan kloramfenikol

Tabel 1. Hasil Pengukuran Daya Hambat *Salmonella sp.*

Replikasi	Diameter ZOI (mm)			
	Kombucha <i>Annona muricata</i> Linn	Kombucha <i>Clitoria ternatea</i>	Kombucha kombinasi keduanya	Kloramfenikol
1	9,42	8,45	8,52	21,36
2	9,35	8,36	10,17	21,08
3	7,98	8,54	9,07	22,19
4	8,41	8,35	8,27	21,76
5	8,40	8,92	9,18	21,33
6	7,84	8,03	9,14	21,68
7	8,25	7,72	10,09	21,29
8	8,95	8,57	8,83	21,19
9	8,28	8,82	8,95	18,44
Mean±SD	8,54±0,53 ^a	8,42±0,35 ^a	9,13±0,6 ^a	21,15±1,01 ^b

Keterangan: Tabel 1 menunjukkan hasil pengukuran daya hambat (mm) kombucha *Annona muricata* Linn, *Clitoria ternatea* dan kombinasi keduanya terhadap *Salmonella sp* dengan antibiotik kloramfenikol sebagai kontrol. Analisa statistik menggunakan uji *One Way ANOVA* kemudian dilanjut uji *Post Tukey* menggunakan tingkat signifikan $p < 0,05$. Perbedaan yang signifikan ditunjukkan dengan notasi huruf yang berbeda.

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil Analisa menunjukkan bahwa kombucha *Annona muricata* Linn, kombucha *Clitoria ternatea* dan kombucha kombinasi keduanya memiliki daya hambat terhadap bakteri *Salmonella sp.* yang ditunjukkan dengan zona bening yang terbentuk. Menurut Davis dan Stout (1971), kombucha *Annona muricata* L., *Clitoria ternatea* dan kombucha kombinasi keduanya memiliki daya hambat sedang serta antibiotik kloramfenikol daya hambat sangat kuat terhadap *Salmonella sp.* Dari analisa statistik, kombucha *Annona muricata* L., *Clitoria ternatea*

dan kombucha kombinasi keduanya tidak berbeda signifikan, tetapi berbeda signifikan lebih rendah dibandingkan antibiotik kloramfenikol. Hal ini terjadi karena kombucha mengandung berbagai macam senyawa aktif. Interaksi dari berbagai senyawa aktif pada kombucha dapat menunjukkan efek antagonis serta sinergis. Kombinasi efek yang berbeda dapat menurunkan aktivitas antibakteri.²⁷

Proses fermentasi kombucha melibatkan simbiosis bakteri *Acetobacter xylosum* dan khamir *Saccharomyces cerevisiae*. Khamir memecah sukrosa menjadi fruktosa serta glukosa. Glukosa diubah menjadi etanol dan karbon dioksida. Kemudian alcohol dioksidasi *Acetobacter* menjadi

asetaldehid dan diubah menjadi asam asetat.²¹

Asam asetat merusak struktur bilayer lipid bakteri serta proton dimasukkan ke sitoplasma. Hal ini mengakibatkan sitoplasma menjadi asam sehingga terjadi denaturasi protein sehingga menghambat pertumbuhan bakteri.²⁹ Selain itu, hasil fermentasi kombucha berupa polifenol, mineral, protein, vitamin dan asam organik berperan dalam penurunan pH sehingga dapat merusak sel bakteri.^{10,29}

Aktivitas antibakteri pada kombucha juga diakibatkan oleh bakteri asam laktat (BAL) dengan menghasilkan senyawa bioaktif peptide yaitu bakteriosin. Bakteriosin membunuh bakteri secara langsung, menyeimbangkan mikroflora normal di usus dan menghambat invasi bakteri patogen seperti *Salmonella sp.*²³ Selain itu, BAL menghasilkan nisin (bakteriosin tipe I). Nisin mengikat lipid II (transporter peptidoglikan ke dinding sel dari sitoplasma) sehingga pembentukan dinding sel tidak sempurna dan dapat membuat kematian sel.²⁰

Pada kombucha *Annona muricata* Linn selain mengandung asam organik dan bakteri asam laktat juga mengandung flavonoid, saponin, tannin, alkaloid yang dapat berperan juga sebagai antibakteri. Flavonoid berperan sebagai antibakteri dengan cara menghambat fungsi membrane sel bakteri dengan mengganggu permeabilitas membrane sel, menghambat ikatan enzim phospholipase dan ATPase. Selain itu, flavonoid juga menghambat sitokrom C reductase sehingga metabolisme energi terhambat. Flavonoid membentuk senyawa kompleks bersama protein ekstraseluler menyebabkan membrane sel bakteri rusak.⁶

Saponin memiliki zat aktif dengan permukaan mirip detergen sehingga tegangan dari permukaan dinding sel bakteri menurun serta terjadi kerusakan permeabilitas membrane sel bakteri sehingga saponin dapat berdifusi dan mengikat membrane sitoplasma. Hal ini mengakibatkan kestabilan membrane sel terganggu dan kebocoran sitoplasma. Kebocoran pada sitoplasma menyebabkan kematian sel bakteri. Selain itu, saponin juga dapat membuat kebocoran pada enzim serta protein dalam sel bakteri.¹⁸

Alkaloid dapat menyebabkan lapisan dinding sel tidak terbentuk sempurna dan

mengganggu komponen penyusun peptidoglikan menyebabkan kematian sel⁶ Sedangkan, Tannin sebagai antibakteri dengan cara enzim *DNA topoisomerase* dan *reverse transcriptase* dihambat sehingga sel bakteri tidak terbentuk.¹⁸ Selain itu, tannin sebagai antiibakteri dengan menginaktifkan adhesin sel bakteri serta menghambat transpor protein pada lapisan dalam sel bakteri.⁶

Pada kombucha *Clitoria ternatea* selain mengandung bakteri asam laktat, dan asam organik juga mengandung alkaloid, saponin, tannin, flavonoid serta antosianin yang dapat berperan sebagai antibakteri.¹⁶ Antosianin berpotensi sebagai antibakteri dengan mengganggu permeabilitas membrane sel mengakibatkan kebocoran sel bakteri. Hal ini membuat komponen sel bakteri keluar menyebabkan kematian sel bakteri.²² Proses fermentasi kombucha oleh BAL dapat meningkatkan kestabilan dari antosianin dengan berperan dalam penurunan pH.¹¹

Menurut Majelis Ulama Indonesia (MUI) nomor 10 tahun 2018 tentang produk makanan serta minuman halal mengandung etanol kurang dari 0,5%. Kombucha mengandung etanol kurang dari 0,5% sehingga halal untuk dikonsumsi.¹² Hal ini dibuktikan pada penelitian (Rizwanto dan Rizaldi, 2021) kombucha mengandung 0,055% etanol. Namun pada penelitian ini belum dilakukan uji kadar etanol pada Kombucha *Annona muricata* L., *Clitoria ternatea* dan kombinasi keduanya sehingga dapat dilakukan pengujian kadar etanol terlebih dahulu untuk mengetahui kadar etanol secara pasti.

Menurut peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia nomor 28 tahun 2021, antibiotik kloramfenikol digunakan untuk menghambat penyakit yang disebabkan *Salmonella sp.* seperti demam tifoid. Oleh karena itu, penelitian ini menjadikan antibiotik kloramfenikol sebagai kontrol. Kloramfenikol menghambat bakteri dengan cara sintesis protein bakteri dihambat. Antibiotik kloramfenikol berikatan dengan subunit 50s ribosom bakteri mengakibatkan enzim peptidyl-transferase tidak dapat berikatan dengan ribosom sehingga tidak terbentuknya ikatan peptide dan sintesis protein terhambat.⁴ Penggunaan antibiotik dalam jangka panjang dapat mengakibatkan resistensi sehingga perlu adanya alternatif seperti kombucha.³⁰

Pada penelitian ini kombucha *Annona muricata* Linn, *Clitoria ternatea* dan kombucha kombinasi keduanya mempunyai efek sebagai antibakteri namun belum diketahui mekanisme kerja secara pasti sehingga perlu adanya penelitian lanjutan untuk mengetahui apakah senyawa aktif kombucha bekerja secara sinergis, antagonis kompetitif, atau non kompetitif terhadap antibiotik kloramfenikol dan untuk mengetahui apakah

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang didapatkan dapat disimpulkan bahwa kombucha *Annona muricata* Linn, kombucha *Clitoria ternatea*, kombucha kombinasi keduanya memiliki potensi menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella sp.*

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan diperlukan penelitian lebih lanjut untuk melihat apakah senyawa aktif kombucha bekerja secara sinergis, antagonis kompetitif atau non kompetitif terhadap antibiotik kloramfenikol dan

terdapat efek toksik dari penggunaan jangka panjang kombucha perlu adanya penelitian lebih lanjut dengan mengidentifikasi jumlah koloni bakteri patogen dan non patogen terbanyak di intestinal. Selain itu, kombucha *Annona muricata* L, *Clitoria ternatea* dan Kombinasi keduanya belum diketahui secara pasti kadar etanolnya sehingga perlu dilakukan uji kadar etanol.

untuk melihat efek toksik dari penggunaan kombucha jangka panjang dengan mengidentifikasi jumlah koloni bakteri patogen dan non patogen di intestine. Selain itu, diperlukan uji kadar etanol pada kombucha daun sirsak, bunga telang dan kombinasi keduanya untuk membuktikan kehalalannya.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih penulis sampaikan kepada Ikatan Orang Tua Mahasiswa (IOM) yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Budiasih, K. S. 2017. Kajian Potensi Farmakologis Bunga Telang (*Clitoria ternatea*). *Prosiding Seminar Nasional Kimia*.
- Cardoso, R. R., Neto, R. O., dos Santos D'Almeida, C. T., do Nascimento, T. P., Pressete, C. G., Azevedo, L., Martino, H. S. D., Cameron, L. C., Ferreira, M. S. L., & Barros, F. A. R. de. 2020. Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities. *Food Research International*, 128.
- Davis, W.W. and T.R Stout. 1971. Disc plate methods of microbiological antibiotic assay. *Journal Microbiology*. (4):659-665.
- Dian, R., farimawali, & Budiarmo, F. 2015. Uji Resistensi Bakteri *Escherichia coli* yang Diisolasi dari Plak Gigi Terhadap Merkuri dan Antibiotik Kloramfenikol. *Jurnal E-Biomedik (EBM)*, 3(1), 59–63.
- Falahuddin, I., Apriani, I., & Nurfadilah. 2017. Pengaruh Proses Fermentasi Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap Kadar Vitamin C. *Jurnal Biota*. 3(2).
- Hanafing, S. 2020. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Secara *In Vivo*.
- Hasanah, R. U., Yuziani, & Rahayu, M. S. 2023. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus Altilis*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Manusia Dan Kesehatan*, 6(1), 11–18
- Hasmila, I. 2019. Efektivitas Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) Fortifikasi Nanokitosan Sebagai Antibakteri dan

- Antioksidan. Universitas Hasanuddin.
- 9 Ketut Ayu Martini, N., Gusti Ayu Ekawati, I., Timur Ina, P., Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, M., Teknologi Pertanian, F., Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, D., & Kampus Bukit Jimbaran, U. 2020. Pengaruh Suhu dan Lama Pengeringan Terhadap Karakteristik Teh Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*). *Jurnal Itepa*, 9(3).
 - 10 Khamidah, A., & Antarlina, S. S. 2020. Peluang Minuman Kombucha sebagai Pangan Fungsional. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*, 14(2), 184–200.
 - 11 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.
 - 12 Majidah, L., Gadizza, C., & Gunawan, S. (2022). Analisis pengembangan produk halal minuman kombucha. In *Halal Research*. 2 (1).
 - 13 Manurung, E. 2018. Analisa Bakteri *Salmonella sp* pada Cincau Hitam yang Diperdagangkan di Pasar Sukaramai Medan.
 - 14 Menteri Kesehatan RI. 2021. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2021.
 - 15 Melizah Kurniati, A. 2016. Mikrobiota Saluran Cerna: Tinjauan dari Aspek Pemilihan Asupan Makanan. *JK Unila*, 1(2).
 - 16 Nabila, F. syehrin, Radhityaningtyas, D., Yurisna, V. C., Listyaningrum, F., & Aini, N. 2022. Potensi Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) Sebagai Antibakteri pada Produk Pangan. *JITIPARI*, 7(1), 68–77.
 - 17 Palupi, K., Hakim, R., & Sri Damayanti, D. 2021. Penghambatan Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi* oleh Kombucha *Annona muricata Linn.*
 - 18 Pn, P., & Ma, H. 2021. Efek Ekstrak Metanol Daun Sirsak (*Annona muricata*) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Salmonella typhi* secara *In Vitro*. *Jurnal Medika Udayana*, 10(6), 97–101.
 - 19 Pratama, R. B., Berawi, K. N., & Islamy, N. 2021. Mikrobiota Usus dan Osteoarthritis. *Jurnal Ilmu Medis Indonesia*, 1(1), 1–6
 - 20 Punyaappa-Path, S., Phumkhachorn, P., & Rattanachaikunsopon, P. 2015. NISIN: Production and Mechanism of Antimicrobial Action. *Int J Cur Res Rev*, 7(2), 47–53.
 - 21 Rakhmatullah, R. 2022. Aktivitas Antibakteri Kombucha Buah Nanas (*Ananas comosus*) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan Konsentrasi Gula yang Berbeda.
 - 22 Rakasiwi, B. L., & Soegihardjo, C. J. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daging Buah Buni (*Antidesma bunius (L.) Spreng*) Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25922 dan *Escherichia coli* ATCC 25923. *Jurnal Farmasi Sains Dan Komunitas*, 11(1), 23–31.
 - 23 Reis, J. A., Paula, A. T., Casarotti, S. N., & Penna, A. L. B. 2012. Lactic Acid Bacteria Antimicrobial Compounds: Characteristics and Applications. *Food Engineering Reviews*, 4(2), 124–140.
 - 24 Riswanto, D., & Rezaldi, D. F. (2021). Studi Kritis Tingkat Kehalalan Minuman Kombucha. 20 (2). 207-216
 - 25 Sulastrianah, Imran, & Fitria, E. S. 2014. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) dan Daun Sirih (*Piper betle L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Medula: Jurnal Ilmiah Fakultas Kedokteran Universita Halu Oleo*, 1(2).
 - 26 Susmiati, S. 2019. Peran Mikrobiota Usus dalam Perkembangan Obesitas. *Majalah Kedokteran Andalas*, 42(1), 41–49.
 - 27 Syahrir, N. H. A., Afendi, M. F., & Susetyo, B. 2016. Efek Sinergis Bahan Aktif Tanaman Obat Berbasiskan Jejaring Dengan Protein Target. *Jurnal Jamu Indonesia*, 1(1), 35–46.
 - 28 Umasugi, A., Tumbol, R. A., Kreckhoff, R. L., Manoppo, H., Pangemanan, N. P. L., & Ginting, E. L. 2018. Penggunaan Bakteri Probiotik Untuk Pencegahan Infeksi Bakteri *Streptococcus agalactiae* pada Ikan Nila, *Oreochromis niloticus*. *Budidaya Perairan*, 6(2), 39–44.
 - 29 Winandari, O. P., Utami, W. I., Kamelia, M., & Widiani, N. 2021. Daya Hambat Teh Kombucha terhadap Pertumbuhan Bakteri dan Jamur pada Bahan Pangan Hewani. *Seminar Nasional Biologi*. 6.
 - 30 Yanti, N. A., Ambardini, S., Ardiansyah, Marlina, W. O. L., & Cahyanti, K. D. 2020.

- Aktivitas Antibakteri Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) dengan Konsentrasi Gula Berbeda (Antibacterial Activity of Soursoup Leaves Kombucha (*Annona muricata L.*) With Different Sugar Concentration). *Berkala Sainstek*, 8(2), 35–40.
- 31 Zubaidah, E., Fibrianto, K., & Kartikaputri, S. D. 2021. Bioteknologi & Biosains Indonesia Potensi Kombucha Daun Teh (*Camellia sinensis*) dan Daun Kopi Robusta (*Coffea robusta*) sebagai Minuman Probiotik. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*, 8(2).
- 32 Zelpina, E., Walyani, S., Niasono, A. B., & Hidayati, F. 2020. Dampak Infeksi *Salmonella sp.* dalam Daging Ayam dan Produknya terhadap Kesehatan Masyarakat. *Journal of Health Epidemiology and Communicable Diseases*, 6(1), 25–34.
- 33 Zeniusa, P., Ramadhian, M. R., Nasution, S. H., & Karima, N. 2019. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Teh Hijau terhadap *Escherichia coli* secara *In Vitro*. 8(2), 136–143.