

## Potensi Aktivitas Antibakteri Minuman Fungsional Kombucha Berbahan Dasar Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior*) Berdasarkan Lamanya Waktu Fermentasi

Putu Rima Sintyadewi<sup>1\*</sup>, Pande P Elza Fitriani<sup>1</sup>, Ida Ayu Putu Ary Widnyani<sup>1</sup>, Putu Indrayoni<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Sarjana Teknologi Pangan, Institut Teknologi dan Kesehatan Bali, Denpasar, Bali, Indonesia;

<sup>2</sup>Program Studi Farmasi Klinik dan Komunitas, Institut Teknologi dan Kesehatan Bali, Denpasar, Bali, Indonesia;

### Article History

Received : October 02<sup>th</sup>, 2023

Revised : October 24<sup>th</sup>, 2023

Accepted : November 24<sup>th</sup>, 2023

\*Corresponding Author:

**Putu Rima Sintyadewi**,  
Program Studi Sarjana  
Teknologi Pangan, Institut  
Teknologi dan Kesehatan Bali,  
Denpasar, Bali, Indonesia;  
Email:

[rima.itekesbali@gmail.com](mailto:rima.itekesbali@gmail.com)

**Abstract:** According to some reports, kombucha is a functional beverage that has the ability to boost immune system function by increasing T cells and containing antimicrobial substances that guard against microbial illness. The antibacterial properties of kombucha derived from kecombrang flowers have not been examined in any of the numerous studies conducted on the beverage's antimicrobial activity. The purpose of this study is to investigate how the length of fermentation affects the kecombrang flower kombucha antibacterial effectiveness. Fermentation times for the treatments were as follows (P1) 0 days, (P2) 3 days, (P3) 6 days, and (P4) 9 days. The commensal pathogenic microorganisms *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus* were employed in this study. According to the research findings, the antibacterial activity of kecombrang flower kombucha was significantly impacted ( $P < 0,01$ ) by the duration of fermentation. The maximum antibacterial activity was found in kecombrang flower kombucha that was fermented for nine days (P4). It had an inhibitory power of 12,0 mm against *Escherichia coli*, 11,5 mm against *Salmonella typhimurium*, and 14,5 mm against *Staphylococcus aureus*. Kecombrang flower kombucha is known for its broad spectrum of antibacterial activity, which can suppress the growth of both gram-positive and gram-negative pathogenic bacteria. Based on these results, kecombrang flower kombucha has the potential to be an antibacterial agent and can function as an alternative approach to functional drinks to control commensal pathogenic bacteria.

**Keywords:** Antibacterial, functional drink, kecombrang flower, probiotic.

### Pendahuluan

*Gastrointestinal infections* (GI) merupakan masalah kesehatan serius di seluruh dunia yang menyebabkan terjadinya peradangan di saluran pencernaan (*gastroenteritis*). GI dengan manifestasi klinis berupa diare merupakan penyakit menular dengan morbiditas dan mortalitas yang tinggi terutama di negara berkembang. Bakteri yang umum menyebabkan gastroenteritis terutama berasal dari famili *Enterobacteriaceae*. *Enterobacteriaceae* adalah bakteri gram negatif berbentuk basil yang ditemukan pada usus besar manusia yang

sebagian besar merupakan bagian dari mikroflora normal saluran pencernaan dan pada kondisi tertentu dapat bersifat patogen serta menyebabkan infeksi. *Escherichia coli*, *Shigella sp.*, *Salmonella sp.*, dan *Yersinia enterocolitica* merupakan beberapa jenis bakteri penyebab infeksi saluran cerna yang tergolong dalam famili *Enterobacteriaceae*. Selain dari famili *Enterobacteriaceae*, terdapat juga beberapa patogen yang dianggap menyebabkan infeksi saluran cerna seperti *Vibrio cholerae*, *Camphylobacter jejuni*, *Helicobacter pylori* dan *Staphylococcus aureus* (Polman *et al.*, 2018).

Pencegahan dan pengobatan infeksi

bakteri biasanya dilakukan dengan pemberian terapi antibiotik. Namun, terapi antibiotik yang kurang tepat seringkali menimbulkan terjadinya resistensi. Kondisi ini menyebabkan beberapa jenis antibiotik tidak lagi efektif untuk membunuh mikroba patogen. Pemanfaatan probiotik sebagai alternatif pilihan terapi penyakit infeksi pengganti antibiotik sangat menarik untuk diteliti, mengingat manfaat kesehatan dari konsumsi probiotik telah banyak dilaporkan. Mekanisme yang mendasari efek menguntungkan dari probiotik cenderung multifaktorial (Bermudez *et al.*, 2012). Mekanisme ini meliputi produksi agen antimikroba, modifikasi mikrobiota usus, berkompetisi dengan mikroba patogen untuk dapat melekat pada mukosa dan epitel usus serta memodulasi sistem kekebalan tubuh. Genus bakteri asam laktat dan asam asetat serta beberapa yeast merupakan jenis mikroba yang saat ini paling banyak dimanfaatkan sebagai probiotik. Kelompok bakteri ini digunakan dalam berbagai jenis pangan fungsional serta suplemen makanan (Enan *et al.*, 2013; Ismaiel *et al.*, 2014; Osman *et al.*, 2016).

Kombucha merupakan salah satu minuman fungsional yang dibuat dari fermentasi larutan teh yang ditambahkan kultur simbiosis bakteri (asam asetat dan asam laktat) dan ragi (SCOBY) (Bermudez *et al.*, 2012). Beberapa penelitian melaporkan manfaat konsumsi kombucha, seperti menstimulasi sistem kekebalan tubuh, peningkatan fungsi saluran pencernaan (Ilicic *et al.*, 2012), pencegahan kanker dan penyakit kardiovaskuler, pencegahan infeksi mikroba (Vitas *et al.*, 2013), memiliki sifat hipoglikemik (Bellassoued *et al.*, 2015) dan antilipidemik (Bhattacharya *et al.*, 2013). Kombucha juga dilaporkan memiliki efek imunomodulator yang dapat meningkatkan proliferasi sel limfosit serta mencegah infeksi mikroba patogen karena adanya senyawa antibakteri (Sreeramulu *et al.*, 2000; Kumar *et al.*, 2016).

Beberapa penelitian telah melaporkan aktivitas antibakteri sediaan kombucha. Menurut Bhattacharya *et al.*, (2016), kombucha mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen enterik yaitu, *Shigella flexneri*, *Eschericia coli*, *Salmonella typhimurium* dan *Vibrio cholera*. Disisi lain Vorha *et al.*, (2019), melaporkan bahwa aktivitas antibakteri kombucha teh hitam meningkat seiring waktu fermentasi dan mampu

menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*, *Stapylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* dan *Serratia marcescen*. Kaewkod *et al.* (2019), melaporkan hal serupa bahwa teh kombucha menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*, *S. typhi*, *V. cholera*, dan *S. dysentriae*.

Penelitian mengenai aktivitas antibakteri kombucha telah banyak dilaporkan, namun belum ada penelitian terkait untuk melihat potensi aktivitas antibakteri kombucha berbahan baku bunga kecombrang. Bunga kecombrang selama ini hanya dimanfaatkan masyarakat Indonesia sebagai bumbu berbagai masakan, namun pengembangannya menjadi produk pangan variatif belum banyak dilakukan. Oleh karena itu, terdapat kebutuhan mendesak untuk meneliti sumber probiotik lain yang memiliki aktivitas antimikroba untuk pengembangan minuman fungsional. Melihat hal tersebut, peneliti tertarik mempelajari potensi aktivitas antibakteri kombucha bunga kecombrang dengan menentukan aktivitasnya pada waktu fermentasi terbaik untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen *E.coli*, *S.thypimurium* dan *S. aureus*.

## Bahan dan Metode

### Metode

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi, ITEKES Bali. Masing-masing perlakuan dilakukan sebanyak tiga kali ulangan dengan empat variasi lama waktu fermentasi yaitu 0 hari/tanpa fermentasi (P1), 3 hari (P2), 6 hari (P3), dan 9 hari (P4) dengan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL). Bakteri patogen yang digunakan adalah bakteri patogen komensal yaitu; *E. coli*, *S. thypimurium* dan *S. aureus*. Tahapan penelitian ini meliputi: (1) pembuatan kombucha bunga kecombrang, (2) peremajaan isolat bakteri patogen uji, (3) uji aktivitas antibakteri, (4) analisis aktivitas antibakteri

### Pembuatan kombucha bunga kecombrang

Sebanyak 10% (b/v) gula pasir dan 2,5% (b/v) simplisa bunga kecombrang dilarutkan dalam 1 liter air yang sebelumnya sudah dididihkan pada suhu 90°C selama 15 menit. Sediaan yang sudah diseduh disaring kedalam toples steril dan

dicukupkan volumenya dengan air matang hingga 1 liter. Seduhan dalam toples didinginkan sampai suhu 30°C, lalu ditambahkan lembaran SCOBY 10% (b/v) yang diperoleh dari WikiKombucha Bali, kemudian ditutup dengan kain serbet steril dan diikat. Kombucha di fermentasi selama waktu perlakuan (0 hari, 3 hari, 6 hari, dan 9 hari) dan di panen dengan memisahkan selulosa yang terbentuk dengan media fermentasi untuk selanjutnya dilakukan pengujian (Kallel *et al.*, 2012).

### Peremajaan isolat bakteri patogen

Peremajaan isolat bakteri patogen uji yaitu; *E. coli*, *S. thymurium* dan *S. aureus* dilakukan dengan menstransfer biakan dari stok kultur yang terdapat di Laboratorium Mikrobiologi Teknologi Pangan ITEKES Bali ke Media Nutrien Agar (NA) miring baru. Sebelum digunakan, isolat diinkubasi terlebih dahulu di inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam.

### Uji aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri kombucha bunga kecombrang menggunakan metode difusi sumur. Bakteri uji yang telah diremajakan diambil sebanyak 1-2 ose pada medium NA miring, kemudian disuspensikan ke dalam larutan NaCl 0,85% steril dan disetarakan densitasnya dengan standar Mc. Farland 0,5. Langkah selanjutnya adalah memipet 1 ml suspensi bakteri uji ke dalam media NA yang masih cair dan dihomogenkan. Media NA yang telah tercampur dengan suspensi bakteri uji dituang ke dalam cawan petri dan dibiarkan hingga mengeras. Setelah media padat/mengeras, dibuat sumur dengan menggunakan ujung tip yang telah dipotong. Sebanyak 50 uL sediaan kombucha sesuai perlakuan, dimasukkan ke dalam sumuran dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Aktivitas antibakteri diamati dengan mengukur zona hambat yang ditunjukkan oleh area terang atau bening di sekitar sumur dengan jangka sorong.

### Analisis aktivitas antibakteri

Analisis aktivitas antibakteri dilakukan dengan mengukur zona hambat yang terbentuk pada media uji menggunakan jangka sorong. Hasil pengukuran yang didapat dihitung menggunakan rumus pada persamaan 1.

$$Z = \frac{(D1-Ds)+(D2-Ds)+(D3-Ds)}{3} \quad (1)$$

Keterangan:

Z (Zona Bening), D1 (Diameter Vertikal), D2 (Diameter Horizontal), D3 (Diameter Diagonal)  
Ds (Diameter Sumuran) (Nurhayati *et al.*, 2020)

### Analisis data

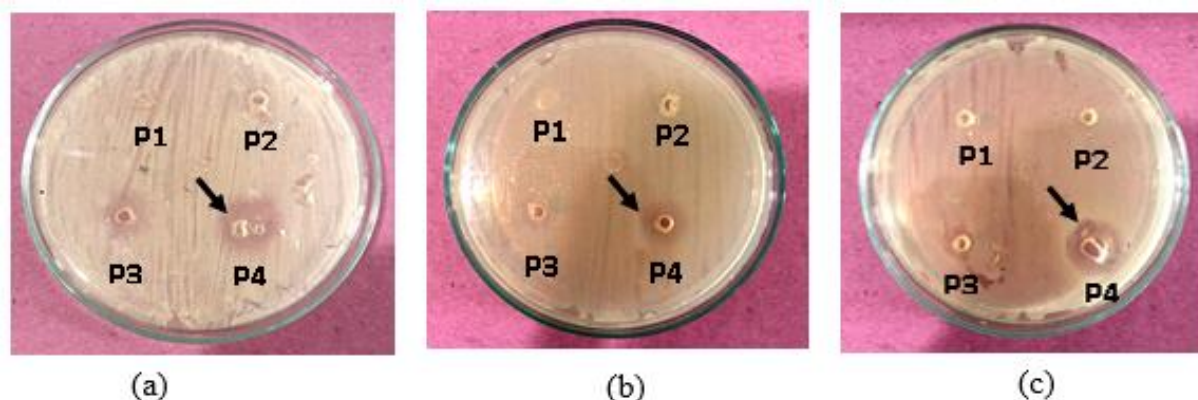
Data dianalisis secara statistik dengan *Analysis of Variance* (ANOVA). Apabila hasil yang diperoleh berbeda nyata pada  $p \leq 0,05$  maka analisis dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) yang bertujuan untuk melihat interaksi antar perlakuan

### Hasil dan Pembahasan

#### Aktivitas antibakteri kombucha bunga kecombrang

Pengujian secara *in vitro* dilakukan untuk melihat aktivitas antibakteri kombucha bunga kecombrang dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen komensal *E. coli*, *S. typhimurium* dan *S. aureus*. Gambar 1 menunjukkan adanya zona bening/hambat disekitar sumur difusi yang menandakan adanya aktivitas antibakteri pada seluruh bakteri patogen uji dengan aktivitas yang berbeda-beda. Zona hambat ditunjukkan pada sediaan kombucha bunga kecombrang yang difermentasi selama 6 hari (P3) dan 9 hari (P4). Namun, pada sediaan bunga kecombrang yang tidak difermentasi (P0) dan sediaan kombucha yang hanya difermentasi selama 3 hari (P1) tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri pada semua bakteri uji yang ditunjukkan dengan tidak terbentuknya zona bening disekitar sumur difusi (Gambar 1). Hasil tersebut menunjukkan bahwa bunga kecombrang mempunyai efek antibakteri bila difermentasi menjadi kombucha.

Hasil serupa dilaporkan oleh Kaewkod *et al.*, (2019), bahwa teh kombucha menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*, *S. typhi*, *V. cholera* dan *S. dysenteriae*, sedangkan kombucha yang dinetralkan tidak menunjukkan adanya aktivitas antimikroba terhadap mikroorganisme tersebut. Penelitian terbaru melaporkan bahwa aktivitas antimikroba kombucha terhadap bakteri patogen sebagian besar disebabkan oleh nilai pH yang rendah, terutama disebabkan oleh adanya senyawa asam organik seperti asam asetat dan asam laktat (Villareal *et al.*, 2018).



**Gambar 1.** Zona hambat kombucha bunga kecombrang pada bakteri patogen (a) *Staphylococcus aureus*, (b) *Salmonella typhimurium* dan (c) *Escherichia coli*. Keterangan: P1 (tanpa fermentasi), P2 (fermentasi hari ke 3), P3 (fermentasi hari ke 6) dan P4 (fermentasi hari ke 9), tanda panah : zona bening/hambat

**Tabel 1.** Aktivitas antibakteri kombucha bunga kecombrang selama waktu fermentasi

Perlakuan	Diameter zona hambat (mm)			Interpretasi (*)
	<i>E. coli</i>	<i>S. thypimurium</i>	<i>S. aureus</i>	
P1 (tanpa fermentasi)	0	0	0	-
P2 (fermentasi hari ke 3)	0	0	0	-
P3 (fermentasi hari ke 6)	5,2 ± 0,62	4,7 ± 0,47	5,3 ± 0,47	lemah
P4 (fermentasi hari ke 9)	12,0 ± 0,82	11,5 ± 0,41	14,5 ± 0,41	Intermediet

Asam - asam organik yang terbentuk selama fermentasi merupakan hasil dari konversi sukrosa oleh bakteri dan yeast yang terdapat dalam konsorsium kombucha. Akumulasi asam organik dalam medium fermentasi menyebabkan pH medium menjadi asam (>4) (Sreeramulu *et al.*, 2000). Menurut Kaewkod *et al.*, (2019), asam organik dapat melepaskan proton bebas dan masuk ke dalam sitoplasma sel bakteri, sehingga menyebabkan pH sitoplasma menurun. Banyaknya proton intraseluler membuat protein sel mengalami denaturasi yang berujung pada kematian sel, akibat sel bakteri kehilangan banyak energi. Selain itu, asam asetat yang tidak terdisosiasi dapat merusak struktur lapisan ganda lipid pada dinding sel bakteri.

Velicanski *et al.*, (2014), menambahkan bahwa asam asetat dapat menghambat sejumlah mikroorganisme melalui pengasaman sitoplasma dan akumulasi anion asam terdisosiasi hingga tingkat toksik. Aktivitas antibakteri senyawa hasil fermentasi kombucha juga dapat diinterpretasikan berdasarkan tekanan osmotik zat terlarut dalam media hipertonik yang memfasilitasi difusi senyawa bioaktif dari membran sel melalui permeabilitas selektif. Sifat lipofilik dari beberapa zat terlarut memfasilitasi

pelekatannya pada membran sel bakteri yang menyebabkan kematian sel (Osman *et al.*, 2020).

Selain asam organik, senyawa fenolik pada kombucha juga dilaporkan berperan sebagai agen antimikroba potensial yang mengatur komposisi mikroba usus untuk mencegah penyakit infeksi dengan mengganggu kestabilan permukaan sel mikroba dan membran sitoplasma (Verrillo *et al.*, 2021). Bhattacharya *et al.*, (2016), melaporkan bahwa senyawa fenolik isoharmnetin dan katekin pada kombucha teh hitam terbukti sebagai agen antimikroba utama yang memiliki aktivitas bakterisida yang kuat terhadap bakteri patogen enterik yaitu, *S. flexneri*, *E. coli*, *S. typhimurium* dan *V. kolera*.

Bakteri uji *S.aureus* merupakan organisme yang paling rentan terhadap aktivitas antimikroba kombucha bunga kecombrang dibandingkan dengan *E.coli* dan *S.typhimurium* (Tabel 1). Hasil tersebut menunjukkan bahwa efek antibakteri kombucha bunga kecombrang lebih efektif menekan pertumbuhan bakteri gram positif dibandingkan dengan bakteri gram negatif. Tan *et al.*, (2020) melaporkan hasil serupa, dimana kombucha memiliki aktivitas antimikroba paling tinggi terhadap *S.aureus* yang tergolong dalam bakteri gram positif. Menurut

Kohanski *et al.*, (2010), Senyawa antimikroba menyebabkan kerusakan dinding sel bakteri gram positif dikarenakan dinding sel bakteri gram positif tersusun dari peptidoglikan. Peptidoglikan memiliki permeabilitas tinggi terhadap suatu senyawa, sehingga senyawa antimikroba dengan mudah masuk dan menembus dinding sel bakteri.

Sediaan kombucha yang difermentasi selama 9 hari (P4) menunjukkan aktivitas antibakteri yang paling besar dan signifikan dibandingkan dengan sediaan kombucha yang lain (Tabel 1). Hal ini diduga disebabkan karena pada fermentasi hari ke 9, konsorsium bakteri asam asetat dan bakteri asam laktat berada pada fase eksponensial sampai menuju fase stationer. Menurut Ruiz *et al.*, (2010), pada fase eksponensial hingga awal fase stationer bakteri umumnya menghasilkan senyawa metabolit primer seperti asam asetat, asam laktat, etanol, diasetil, dan karbondioksida yang bersifat antimikroba. Selanjutnya, memasuki fase stationer bakteri akan menghasilkan metabolit sekunder seperti bakteriosin dan senyawa hydrogen peroksida yang juga memiliki sifat antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan sel bahkan menyebabkan kematian sel bakteri patogen.

Beberapa penelitian telah membuktikan aktivitas antimikroba kombucha tidak hanya disebabkan oleh asam asetat dan senyawa fenolik tetapi juga disebabkan oleh asam laktat dan komponen aktif seperti bakteriosin (Alizadeh *et al.*, 2020; Kadyan *et al.*, 2021). Mekanisme antimikroba asam laktat yang di produksi oleh bakteri asam laktat (BAL) dapat mengubah metabolisme sel bakteri dengan merusak enzim dan substruktur serta fungsi dinding dan membran sel, mengganggu penyerapan nutrisi serta menghambat sintesis protein (Gao *et al.*, 2019). Selain asam laktat, bakteriosin adalah agen antimikroba yang diproduksi oleh beragam spesies bakteri termasuk bakteri yang terdapat pada kombucha. Bakteriosin mampu mengubah struktur membran dengan cara merusak ion kalium dan ATP, sehingga menyebabkan kegagalan sel bakteri untuk menyeimbangkan pH intraseluler (Simons *et al.*, 2020).

Menurut Harmita dan M Radji (2008), interpretasi aktivitas antibakteri suatu agensia digolongkan dalam tiga katagori yaitu, (1) katagori lemah memiliki diameter zona bening

sebesar  $\leq 11$  mm, (2) kataogori intermediet/sedang memiliki diameter zona bening berkisar antara 12-21mm, (3) dan katagori kuat memiliki diameter zona bening  $\geq 22$  mm. Mengacu pada pengkatagorian tersebut dapat ditentukan bahwa aktivitas antibakteri sediaan kombucha bunga kecombrang yang difermentasi selama 9 hari (P4) termasuk dalam katagori intermediet/sedang untuk seluruh strain bakteri uji *S. aureus*, *E.coli* dan *S. typhimurium* dengan zona hambat berturut- turut sebesar 14,5 mm, 12,0 mm dan 11,5 mm. Hasil ini juga menunjukkan bahwa kombucha bunga kecombrang memiliki aktivitas antibakteri yang luas karena mampu menekan pertumbuhan kedua golongan bakteri tersebut. Hasil ini sejalan dengan yang dilaporkan oleh Battikh *et al.*, (2013), bahwa kombucha teh hitam dan teh hijau memiliki aktivitas antibakteri yang luas karena kemampuannya menekan pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif.

Aktivitas antibakteri dengan spektrum luas yang ditunjukkan oleh sediaan kombucha bunga kecombrang merupakan data penting, mengingat spesies bakteri patogen uji merupakan mikroorganisme enteropatogen paling umum yang menyebabkan infeksi dan bakteremia. Pengobatan terhadap infeksi akhir-akhir ini menjadi semakin sulit karena munculnya resistensi antimikroba. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan kombucha bunga kecombrang memiliki potensi menjadi agensia antibakteri, sehingga diharapkan dapat dijadikan salah satu alternatif sebagai minuman fungsional. Berdasarkan hasil analysis of variance (ANOVA) diketahui bahwa waktu fermentasi berpengaruh sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap pertumbuhan tiga bakteri patogen uji *E.coli*, *S.aureus* dan *S.typhimurium*. Berdasarkan uji BNT untuk melihat interaksi antarperlakuan diketahui bahwa tidak ada interkasi antara lama waktu fermentasi dengan jenis bakteri patogen uji terhadap zona bening/zona hambat yang terbentuk.

## Kesimpulan

Waktu fermentasi berpengaruh sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap aktivitas antibakteri kombucha bunga kecombrang. Kombucha bunga kecombrang yang difermentasi selama 9 hari

memiliki aktivitas antibakteri paling tinggi dengan daya hambat sebesar 12,0 mm terhadap *Escherichia coli*, 11,5 mm terhadap *Salmonella thypimurium* dan 14,5 mm terhadap *Staphylococcus aureus*. Kombucha bunga kecombrang memiliki aktivitas antibakteri yang luas karena dapat menekan pertumbuhan bakteri patogen gram positif dan negatif. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kombucha bunga kecombrang dapat menjadi agen antibakteri serta dapat berfungsi sebagai salah satu pendekatan alternatif minuman fungsional untuk mengendalikan bakteri patogen komensal.

### Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu selama kegiatan penelitian. Kepada Ketua Yayasan Penyelenggara Pendidikan Latihan dan Pelayanan Kesehatan (YPPLPK) Bali tahun anggaran 2023 yang menjadi penyandang dana dalam penelitian ini.

### Referensi

- Alizadeh, A.M., Hashempour-Baltork, F., Alizadeh-Sani, M., Maleki, M., Azizi-Lalabad, M. & Khosravi-Darani, K. (2020). Inhibition of *Clostridium botulinum* and its toxins by probiotic bacteria and their metabolites: an update review. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 12: 59–68. Doi: <https://doi.org/10.15586/qas.v12iSP1.823>
- Battikh, K., Chaeib, A. Bakhrouf & E. Ammar. (2013). Antibacterial and Antifungal Activities of Black and Green Kombucha Teas. *Journal of Food Biochemistry*, 37(2): 231-236. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2011.00629.x>
- Bhattacharya, D., Bhattacharya, S., Patra, M.M., Chakravorty, S., Sarkar, S., Chakraborty, W., et al., (2016). Antibacterial activity of polyphenolic fraction of kombucha against enteric bacterial pathogens. *Current Microbiology* 73: 885–896. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00284-016-1136-3>
- Bellassoued, K., Ferdaws, G., Fatma, M.A. Josh, V.P., Abdelfattah, E., & Emna, A. (2015). Protective Effect of Kombucha on Rats Fed A Hypercholesterolemic Diet is Mediated by its Antioxidant Activity. *Journal Pharmaceutical Biology*, 53(11): 199-1709. Doi: <https://doi.org/10.3109/13880209.2014.1001408>
- Bermudez-Brito, M., Plaza-Diaz, J., Munoz-Quezada, S., Gomez-Llorente, C., & Gil, A. (2012). Probiotic mechanisms of action. *Ann. Nutr. Metab*, 61: 160–174. Doi: <https://doi.org/10.1159/000342079>
- Bhattacharya, S., Gachhui, R., & Sill, P.C. (2013). Effect of Kombucha, a fermented blacktea in attenuating oxidative stress mediated tissue damage in alloxan induced diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology*, 60: 328-340. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.07.051>
- Bhattacharya, D., Bhattacharya, S., Patra, M. M., Chakravorty, S., Sarkar, S., Chakraborty, W., Koley H., ... & Gachhui, R. (2016). Antibacterial activity of polyphenolic fraction of kombucha against enteric bacterial pathogens. *Current Microbiology*, 73:885–896. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00284-016-1136-3>
- Enan, G., Abdel-Shafi, S., Abdel-Haliem, M.F & Negm, S. (2013). Characterization of probiotic lactic acid bacteria to be used as starter and protective cultures for dairy fermentations. *Int. J. Probiotics Prebiotics*, 8:157–163.
- Gao, Z.H., Daliri, E.B.M., Wang, J., Liu, D.H., & Chen, S.G.(2019). Inhibitory effect of lactic acid bacteria on foodborne pathogens: a review. *Journal of Food Protection*, 82: 441– 453. Doi: <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-18-303>
- Harmita & M. Radji (2008). Kepekaan Antibiotik dalam Buku Ajar Analisis Hayati Ed. 3, EGC, Jakarta, pp. 1- 5, 2008
- Ilicic, M., Kanuric, K., Milanovic, S., Loncar, E.

- S., Djuric, M. S., & Malbasa, R. V. (2012). Lactose fermentation by Kombucha-a process to obtain new milk-based beverages. *Romanian Biotechnological Letters*, 17(1), 7013-7021.
- Ismaiel, A.A., Ali, A.E.-S & Enan, G. (2014). Incidence of Listeria in Egyptian meat and dairy samples. *Food Sci. Biotechnol*, 23: 179–185. Doi: <https://doi.org/10.1007/s10068-014-0024-5>
- Kadyan, S., Rashmi, H.M., Pradhan, D., Kumari, A., Chaudhari, A & Deshwal, G.K. (2021). Effect of lactic acid bacteria and yeast fermentation on antimicrobial, antioxidative and metabolomic profile of naturally carbonated probiotic whey drink. *LWT Food Science and Technology*, 142: 111059. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111059>
- Kaewkod, T., Bovonsombut, S. & Tragoolpua, Y. (2019). Efficacy of kombucha obtained from green, oolong, and black teas on inhibition of pathogenic bacteria, antioxidation, and toxicity on colorectal cancer cell line. *Microorganisms*, 7: 700. Doi: <https://doi.org/10.3390/microorganisms7120700>
- Kallel L, Desseaux V, & Hamdi M. (2012). Insights into the fermentation biochemistry of Kombucha teas and potential impacts of Kombucha drinking on starch digestion. *Food Res Int* 49:226–32, Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2012.08.018>
- Kumar V & V.K. Joshi. (2016). Kombucha: Technology Microbiology, Production, Composition and Therapeutic Value. *Intl. J. Food. Ferment. Technol*, 6(1), 13-24. Doi: <http://dx.doi.org/10.5958/2277-9396.2016.00022.2>
- Kohanski, M.A., D.J. Dwyer & J.J. Collins. (2010). How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. *Nat Rev Microbiol*, 8 (6): 423–435. Doi: <https://doi.org/10.1038%2Fnrmicro2333>
- Nurhayati, L.S., Nadhira, Y & Akhmad, H. 2020. Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Stater Yougurt Dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2):41-46. Doi: <https://doi.org/10.24198/jthp.v1i2.27537>
- Osman, A., El-Didamony, G., Sitohy, M., Khalifa, M & Enan, G. (2016). Soybean glycinin basic subunit inhibits methicillin resistant vancomycin intermediate Staphylococcus aureus (MRSA-VISA) in vitro. *Int. J. Appl. Res. Nat. Prod.* 9: 17–26. [https://www.researchgate.net/publication/298413768\\_Soybean\\_glycinin\\_basic\\_subunit\\_inhibits\\_methicillin\\_resistant-vancomycin\\_intermediate\\_Staphylococcus\\_aureus\\_MRSA-VISA\\_in\\_vitro](https://www.researchgate.net/publication/298413768_Soybean_glycinin_basic_subunit_inhibits_methicillin_resistant-vancomycin_intermediate_Staphylococcus_aureus_MRSA-VISA_in_vitro)
- Osman, A., Bin-Jumah, M., Abd El-Hack, M., Elaraby, G., Swelum, A.A., Taha, A.E., Sitohy, M., Allam, A.A & Ashour, E.A. (2020). Dietary supplementation of soybean glycinin can alter the growth, carcasses traits, blood biochemical indices, and meat quality of broilers. *Poult. Sci*, 99:820–828. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.12.026>
- Poolman, J.T & Anderson, A.S. (2018). *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*: Leading bacterial pathogens of healthcare associated infections and bacteremia in older-Age populations. *Expert Rev. Vaccines*, 17:607–618. Doi: <https://doi.org/10.1080/14760584.2018.1488590>
- Ruiz, B., A. Chavez, A. Forero, Y. GarcíaHuante, A. Romero, & M. Sánchez (2010). Production of microbial secondary metabolites: regulation by the carbon source. *Crit. Rev. Microbiol*, 36: 146–167. Doi: <https://doi.org/10.3109/10408410903489576>
- Simons, A., Alhanout, K. & Duval, R.E. (2020). Bacteriocins, antimicrobial peptides from bacterial origin: overview of their biology and their impact against multidrug-resistant bacteria. *Microorganisms* 8: 639. Doi: <http://doi.org/10.3390/microorganisms8050639>
- Sreeramulu, G., Zhu, Y. & Knol, W. (2000). Kombucha fermentation and its antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48:

- 2589–2594. Doi: <http://doi.org/10.1021/jf991333m>
- Tan, W.C., Muhialdin, B.J., & Hussin, A.S.M., (2020). Influence of storage conditions on the quality, metabolites, and biological activity of Soursop (*Annona muricata*. L.) kombucha. *Frontiers in Microbiology*, 11: 603481. Doi: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2020.603481>
- Vitas, J., Malbasa, R., Grahovac, J., & Loncar, E. (2013). The antioxidant activity of Kombucha fermented milk products with stinging nettle and winter savory. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, 19(1):129–139. Doi: <https://doi.org/10.1016/j>
- Verrillo, M., Salzano, M., Cozzolino, V., Spaccini, R. & Piccolo, A., 2021. Bioactivity and antimicrobial properties of chemically characterized compost teas from different green composts. *Waste Management* 120: 98–107. Doi: <http://doi.org/10.1016/j.wasman.2020.11.013>
- Velićanski, A., Cvetković, D.D., Markov, S.L., Šaponjac, V.T.T. & Vulić, J.J., (2014). Antioxidant and antibacterial activity of the beverage obtained by fermentation of sweetened lemon balm (*Melissa officinalis* L.) tea with symbiotic consortium of bacteria and yeast. *Food Technology and Biotechnology*, 52: 420–429. Doi: <http://doi.org/10.17113/b.52.04.14.3611>
- Vorha, B.M., Shazrul, F., Fareed S., & Othman, B.A. (2019). Effects of Medium Variation and Fermentation Time on the Antiokxidant and Antimicrobial Properties of Kombucha. *Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences*. 298-302. Doi: <https://doi.org/10.11113/mjfas.v15n2-1.1536>