

Potential Antioxidant Kombucha Fortified with Balinese Salak Juice (*Salacca zalacca* Var *Amboinensis*) From Karangasem District

Ida Ayu Putu Ary Widnyani^{1*}, Wahyu Krisna Yoga¹, Putu Rima Sintyadewi¹, Ni Komang Sri Ariani²

¹Program Studi Sarjana Teknologi Pangan, Institut Teknologi dan Kesehatan Bali, Denpasar, Bali, Indonesia;

²Program Studi Sarjana Kebidanan, Institut Teknologi dan Kesehatan Bali, Denpasar, Bali, Indonesia;

Article History

Received : October 02th, 2023

Revised : October 24th, 2023

Accepted : November 24th, 2023

*Corresponding Author:

Ida Ayu Putu Ary Widnyani,
Program Studi Sarjana
Teknologi Pangan, Institut
Teknologi dan Kesehatan Bali,
Denpasar, Bali, Indonesia;
Email: idaayu.aw@gmail.com

Abstract Salak (*Salacca zalacca* Var. *Amboinensis*) is widely spread in Indonesia. Processing salak using fermentation method can provide added value and extend the shelf life. Fermented salak product combined with kombucha from black tea is expected to increase the product's ability to inhibit free radicals and provide healthful effects for health, especially the digestive process. This research endeavors to assess the capacity and antioxidant activity (IC₅₀) from the product. The data that has been obtained was analyzed statistically using a completely randomized two-factor design. The first factor involves the ratio of salak extract to black tea, featuring three levels 80:20 ; 70:30 ; 60:40. The second factor encompasses varying fermentation duration with four levels 4,8,12, and 16 days fermentation. The experiment was replicated three times. The result is that the comparison of salak extract with black tea had an antioxidant capacity between 101,37-479,30 GAE/100g. The result for antioxidant activity (IC 50) between 97,77-179,61 ppm.

Keywords: Antioxidant capacity, IC 50, salak Bali.

Pendahuluan

Radikal bebas merupakan salah satu faktor pemicu munculnya penyakit degeneratif. Aktivitas radikal bebas dapat diturunkan dan dicegah menggunakan senyawa antioksidan. Salak Bali (*Salacca zalacca* Var *Amboinensis*) sebagai produk unggulan komoditas lokal Kabupaten Karangasem, Bali merupakan sumber karbohidrat (20,90 gram), protein (0,04 miligram), kalsium (28 miligram) vitamin B dan C, serat pangan dan senyawa bioaktif yang memiliki kemampuan sebagai antioksidan (Suica-Bunghez *et al.*, 2016). Senyawa bioaktif yang berperan sebagai antioksidan pada buah salak terdiri dari likopen, beta karoten, asam-asam organik, senyawa fenolik (Yoga & Rabani, 2022). Salak Bali memiliki kandungan total fenolik sebesar 6,34±1,21 mg/kg hasilnya lebih besar bila dibandingkan dengan varietas salak pondoh yaitu 4,60±1,10 mg/kg dan varietas salak

Nglumut sebesar 6,09±0,68 mg/kg (Ariviani dan Parnanto 2013).

Varietas salak Bali memiliki kandungan vitamin C sebesar 171,21 mg/kg lebih tinggi dari kadar vitamin C salak asal Malaysia yaitu 24 mg/kg (Zaini *et al.*, 2013). Aktivitas antioksidan pada bahan pangan akan meningkat sejalan dengan tingginya konsentrasi senyawa fenolik dan vitamin C pada bahan (Suica-Bunghez *et al.*, 2016). Buah salak matang dapat dikonsumsi langsung ataupun diolah menjadi buah salak dalam kaleng, minuman sari buah salak, buah salak kering, asinan, sirup dan produk fermentasi. Kandungan gula pada buah salak dapat berfungsi sebagai media pertumbuhan mikroorganisme selama proses fermentasi (Zubaidah *et al.*, 2017). Kombucha merupakan suatu produk fermentasi berbahan dasar teh (hitam, hijau atau oolong) yang ditambahkan kultur berupa simbion bakteri dan yeast dikenal

dengan nama SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*) (Jayabalan *et al.*, 2014).

Simbiosis antara bakteri dan khamir membuat minuman kombucha bersifat probiotik. Simbiosis antara bakteri dan khamir pada kombucha mampu menghasilkan berbagai komponen organik yang berfungsi sebagai antibakteri (Sintyadewi *et al.*, 2021). Kombucha umumnya difermentasi selama 7-18 hari pada suhu 27-30°C. Menurut penelitian Chakravorty *et al.*, (2016) kombucha dengan masa fermentasi hingga 7 hari menghasilkan peningkatan konsentrasi senyawa polifenol dan meningkatkan nilai IC 50. Teh hitam digunakan sebagai bahan baku paling umum untuk pembuatan kombucha, hal tersebut karena selain komponen fitokimianya yang kaya senyawa bioaktif jenis teh ini banyak beredar dimasyarakat, harga murah, dan masyarakat sudah familiar dengan cita rasanya. (Sintyadewi *et al.*, 2021).

Berbagai upaya dilakukan untuk meningkatkan aktivitas antioksidan produk minuman fermentasi (kombucha) dengan memodifikasi proses pengolahan, seperti penambahan sari buah salak (*Salacca zalacca* Var Amboinensis) yang diketahui memiliki senyawa bioaktif. Penelitian ini menggunakan perlakuan perbandingan sari buah salak dengan teh hitam (M) terdiri dari 3 taraf yaitu 80:20, 70:30, 60:40 dan waktu fermentasi (T) terdiri dari 4 taraf yaitu 4,6,8,12, dan 16 hari.. Diharapkan minuman kombucha yang dihasilkan memiliki kandungan probiotik sekaligus tinggi aktivitas antioksidan.

Bahan dan Metode

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan selama 3 bulan di UPT Laboratorium Analitik Univeritas Udayana pada bulan Juni - September 2022.

Desain dan analisa data

Penelitian ini merupakan penelitian percobaan (*experimental research*). Penelitian dirancang menggunakan rancangan acak lengkap faktorial 2 faktor. Faktor percobaan pertama adalah perbandingan sari buah salak dengan teh (M) ada 3 taraf yaitu M1 (80:20), M2 (70:30), M3 (60:40). Faktor percobaan kedua adalah lama fermentasi (T) ada 4 taraf yaitu T1 (4 hari fermentasi), T2 (8 hari fermentasi), T3 (12 hari fermentasi), dan T4 (16 hari fermentasi).

Alat dan bahan penelitian

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah salak Bali, stater SCOBY, gula, air mineral, sarung tangan latex, alcohol 70%. Alat yang digunakan adalah kertas filter, pinset plastik, stoples kaca, gelas ukur, timbangan digital, spektrofotometer

Prosedur Penelitian

Pembuatan teh hitam

Sebanyak 1 liter air dipanaskan selama 15 menit, dihitung mulai suhu mencapai 90°C, kemudian ditambahkan gula pasir hingga larut. Setelah gula pasir larut, matikan api kemudian ditambahkan campuran teh hitam, kemudian disaring dan dimasukkan kedalam toples kaca yang sudah steril. Seduhan teh hitam didinginkan sampai suhu 30°C

Proses pembuatan sari buah salak bali

Buah salak dikupas dari kulitnya dan dipisahkan bijinya kemudian dipotong ukuran 2 cm. Buah salak ditimbang menggunakan timbangan digital 1 kg, ditambahkan air dengan perbandingan (buah:air) 1:2. Campuran tersebut dipanaskan pada suhu 50°C selama 10 menit. Sari buah disaring, pisahkan filtrat dengan endapan. Filtrat ditambahkan gula dengan perbandingan (sari buah:gula) 1:4 dihomogenkan lalu didinginkan.

Pembuatan kombucha dengan penambahan sari buah salak bali

Seduhan teh hitam yang sudah berada pada suhu 30°C ditambahkan filtrat sari buah salak sesuai dengan kombinasi yang sudah ditentukan. Kemudian kultur SCOBY ditambahkan kedalam toples kaca steril. Toples kaca kemudian ditutup menggunakan serbet bersih dan diikat. Proses fermentasi dilakukan pada suhu ruang (35°C±2) dengan lama fermentasi sesuai perlakuan. Kombucha sari buah salak kemudian disaring menggunakan saringan kain steril untuk memisahkan lapisan selulosa yang terbentuk agar terlihat lebih jernih.

Hasil dan Pembahasan

Kapasitas antioksidan

Perlakuan kombinasi kombucha sari buah salak dengan teh hitam dan lama waktu fermentasi memberikan pengaruh sangat nyata

pada parameter uji kapasitas antioksidan ($P>0,01$). Interaksi antar perlakuan menghasilkan perlakuan MIT1 (perbandingan sari salak dengan teh 80:20 ; waktu fermentasi 4 hari) dan perlakuan MIT2 (perbandingan sari salak dengan teh 80:20; waktu fermentasi 8 hari) menghasilkan perbedaan yang tidak signifikan.

Tabel 1. Rata-Rata Kapasitas Antioksidan (mg GAE/100g)

Parameter	Rata-Rata Kapasitas Antioksidan (mg GAE/100g)
M1T1	471,367 ± 0,03
M1T2	479,30 ± 0,12
M1T3	370,49 ± 0,07
M1T4	354,17 ± 0,14
M2T1	317,59 ± 0,03
M2T2	293,95 ± 0,11
M2T3	275,76 ± 0,07
M2T4	250,43 ± 0,17
M3T1	211,38 ± 0,01
M3T2	175,21 ± 0,19
M3T3	159,91 ± 0,01
M3T4	101,37 ± 0,01

Kapasitas antioksidan tertinggi didapatkan pada perlakuan MIT2 (perbandingan sari salak dengan teh 80:20 ; waktu fermentasi 8 hari) sebesar 479,30 mg GAE/100g. Kombucha yang difermentasi mengandung gula, asam organik, ethanol, karbon dioksida, serat pangan, asam amino, mineral (Cu, Fe, Ni, Zn, Mn), turunan vitamin B, vitamin C, substansi antibiotik dan polifenol (Jayabalan *et al.*, 2014 ; Miranda *et al.*, 2016). Antioksidan merupakan komponen yang bertanggungjawab atas manfaat kesehatan setelah mengkonsumsi kombucha. Kapasitas antioksidan pada produk dipengaruhi oleh substansi senyawa fitokimia yang terdapat pada bahan baku.

Penelitian Sulaksono *et al.*, (2015) hasil pengujian kualitatif pada ekstrak etanol sari buah salak terdeteksi senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan seperti alkaloid, flavonoid, kuinon, tanin, sesquiterpen, monoterpen, dan polifenolat. Total fenol akan mempengaruhi peningkatan kapasitas antioksidan. Fenol memiliki gugus hidroksil yang terikat pada cincin aromatik. Pada daun teh hitam terdapat senyawa golongan flavonoid dan asam fenolik menyebabkan peningkatan sifat dan aktivitas penangkapan

radikal bebas (Srihari & Satyanarayana, 2012). Produk minuman fermentasi kombucha berbasis teh hitam memiliki potensi antioksidan lebih tinggi karena dipengaruhi oleh konsentrasi senyawa fenolik yang lebih tinggi, sementara kombucha berbasis daun teh hijau menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dan aktivitas anti tumor yang lebih besar (Cardoso *et al.*, 2020).

Komponen fenolik pada kombucha akan meningkat selama proses fermentasi. Peningkatan aktivitas kinetik mikroorganisme seperti bakteri asam asetat dan yeast dapat membebaskan enzim yang akan mengubah kompleks polifenol menjadi lebih sederhana (Bhattacharya, 2011). Proses fermentasi membuat senyawa fenol terbentuk. Komponen flavonoid pada bahan akan mempengaruhi jumlah senyawa fenol. Selama fermentasi, proses depolimerisasi thearubigin berlangsung sehingga kadar fenol akan meningkat (Wistiana & Zubaidah, 2015). Penelitian Yildiz *et al.*, (2020) peningkatan kapasitas antioksidan pada kombucha teh hijau yang dikombinasikan dengan ekstrak wortel hitam dipengaruhi oleh jenis bahan baku serta lama fermentasi. Kapasitas antioksidan yang dihasilkan mengalami peningkatan, sebelum fermentasi 2,98 $\mu\text{mole Trolox/g}$ setelah dilakukan proses fermentasi menjadi 3,38 $\mu\text{mol Trolox/g}$.

Penelitian Wistiana & Zubaidah (2015) nilai rata-rata senyawa fenol kombucha berbasis daun sirih dan daun salam mengalami peningkatan selama proses fermentasi. Pada fermentasi hari ke-0 didapatkan kadar fenol sebesar 350 $\mu\text{g/ml GAE}$, pada fermentasi hari ke-8 didapatkan kadar fenol sebesar 460 $\mu\text{g/ml GAE}$, dan fermentasi hari ke-14 sebesar 527 $\mu\text{g/ml GAE}$. Penurunan kapasitas antioksidan pada lama fermentasi 18 hari disebabkan semakin lama proses fermentasi, SCOBY SCOBY dapat memproduksi enzim tanase yang mampu mendegradasi galokatekin, epigalokatekin, epikatekin, dan epigalokatekin galat (Naland, 2004 ; Firdaus *et al.*, 2020).

Nilai IC 50

Perlakuan kombinasi kombucha sari buah salak dengan teh hitam dan lama waktu fermentasi memberikan pengaruh sangat nyata pada parameter uji IC 50 ($P>0,01$). Interaksi antar perlakuan menghasilkan, perlakuan MIT2 (perbandingan sari salak dengan teh 80:20;

waktu fermentasi 8 hari), MIT3 (perbandingan sari salak dengan teh 80:20 ; waktu fermentasi 12 hari) dan MIT4 (perbandingan sari salak dengan teh 80:20 ; waktu fermentasi 16 hari) menghasilkan perbedaan yang tidak signifikan. Untuk perlakuan lainnya menghasilkan disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-Rata Nilai IC 50

Parameter	IC 50 (ppm)
MIT1	101,38 ± 0,16
MIT2	97,77 ± 0,11
MIT3	107,40 ± 0,06
MIT4	110,45 ± 0,14
M2T1	128,39 ± 0,05
M2T2	130,96 ± 0,04
M2T3	149,26 ± 0,09
M2T4	151,36 ± 0,12
M3T1	160,49 ± 0,11
M3T2	167,43 ± 0,03
M3T3	171,01 ± 0,17
M3T4	179,61 ± 0,01

Aktivitas antioksidan tertinggi didapatkan pada perlakuan perlakuan MIT2 (perbandingan sari salak dengan waktu fermentasi 8 hari) menghasilkan nilai IC 50 97,77 ppm. Perlakuan MIT2 tergolong memiliki aktivitas antioksidan kategori sedang. Aktivitas antioksidan terdiri dari beberapa golongan diantaranya kategori kuat ($50 \leq$ ppm), sedang (50-100 ppm), lemah (100-150 ppm), kategori sangat lemah ($150 \geq 200$ ppm) (Muzaki *et al.*, 2018). Senyawa bioaktif golongan tanin, fenolik, flavonoid, likopen, dan asam organik lainnya yang terdapat secara alami pada buah salak bali mempengaruhi aktivitas antioksidan. Rasa salak Bali yang tergolong sepat, rasa sepat pada buah salak dipengaruhi oleh senyawa tannin (Zubaidah & Rosdiana, 2016). Komponen vitamin C pada salak Bali ikut memberikan kontribusi meningkatkan nilai IC 50 karena perannya sebagai senyawa antioksidan.

Penelitian ini menggunakan kultivar salak Bali sebagai bahan baku sari buah dengan kandungan vitamin C sebesar 171,21 mg/kg, bila dibandingkan dengan kultivar salak Pondoh (129,34 mg/kg) dan Nglumut (170,72 mg/kg) kandungan vitamin C pada kultivar salak Bali menjadi yang tertinggi (Ariviani & Parnanto, 2013). Vitamin C atau asam askorbat terdapat pada jaringan tanaman. Asam askorbat mampu mengeliminasi ROS (reactive oxygen species) dan berperan sebagai agen reduktor kuat. Hal ini

membuat asam askorbat berperan penting pada proses metabolisme sel. Pada uji reducing power asam askorbat digunakan sebagai pembanding. Reducing power merupakan pengujian yang dilakukan untuk kemampuan suatu bahan sebagai antioksidan sekunder (Hernandez *et al.*, 2006; Modi *et al.*, 2010). Penelitian Ariviani & Parnanto (2013) vitamin C memiliki kemampuan mereduksi ion logam dalam aktivitasnya sebagai antioksidan, dengan nilai uji reducing power sebesar 0,875. Profil polifenol teh hitam mengandung thearubigins, theaflavins, flavonol dan katekin memberikan pengaruh terhadap aktivitas antioksidan produk (Ozidal *et al.*, 2016).

Peningkatan nilai IC 50 disebabkan oleh adanya hasil metabolisme mikroorganisme pada kombucha saat fermentasi (Goh *et al.*, 2012). Asam laktat yang dihasilkan oleh bakteri probiotik ($\text{CH}_3\text{CHOHCOOH}$) mempengaruhi aktivitas antioksidan. Asam laktat dapat berfungsi sebagai donor atom hidrogen untuk atom atau molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan pada bagian orbit terluarnya (radikal bebas). Aktivitas antioksidan pada produk fermentasi merupakan antioksidan alami yang bersumber dari bakteri probiotik selama fermentasi berlangsung. Antioksidan akan diproduksi ketika bakteri memasuki fase stasioner. Antioksidan merupakan produk metabolit sekunder dari proses metabolisme bakteri (Widowati *et al.*, 2011).

Saccaromyces cereviceae mampu memproduksi enzim β -glukosidase yang berfungsi memecah ikatan glikosida (Jayabalan *et al.*, 2014). Pecahnya ikatan glikosida akan membebaskan senyawa fenol kedalam medium fermentasi. Senyawa fenol mengalami peningkatan selama fermentasi karena terjadi proses biotransformasi yang menggunakan enzim suatu sel tanaman untuk meningkatkan aktivitas biologis tertentu. Proses biotransformasi terjadi selama proses metabolisme mikroba (Jayabalan *et al.*, 2020). Senyawa fenolik bebas yang dihasilkan selama proses fermentasi akan meningkatkan aktivitas antioksidan.

Degradasi polifenol selama proses fermentasi terjadi akibat kerja enzim mikroba. Senyawa polifenol kompleks menjadi lebih sederhana sehingga meningkatkan aktivitas antioksidan. Proses hidrolisis polifenol selama fermentasi disebabkan oleh enzim tannase.

Enzim tersebut merupakan enzim ekstraseluler yang diproduksi oleh ragi dan bakteri. Hasil dari aktivitas enzim tersebut adalah tanin epigallocatechin gallat gallo, ester asam galat, dan epicatechin gallate. Produk dari hasil reaksi enzimatis aktivitas antioksidannya menjadi lebih tinggi bila dibandingkan dengan senyawa yang tidak terhidrolisis (Baik *et al.*, 2015; De Las Rivas *et al.*, 2019). Proses fermentasi membuat senyawa bioaktif yang masih berbentuk kompleks menjadi lebih sederhana (Bhattacharya *et al.*, 2013 ; Gamboa-Gomez *et al.*, 2016)

Nilai aktivitas antioksidan pada produk menurun seiring dengan semakin lamanya proses fermentasi, hal tersebut ditunjukkan pada fermentasi hari ke-12 (T3) dan fermentasi hari ke-16 (T4) yang masuk kategori aktivitas antioksidan lemah hingga sangat lemah. Pada penelitian Yoga & Rabani (2022) hasil uji senyawa total fenol, tanin, dan flavonoid menunjukkan hasil tertinggi pada fermentasi hari ke-9 yaitu 681,177 mg/100g untuk total fenol, 559,245 mg/100g untuk total flavonoid, serta 289,221 mg/100g untuk tanin, dimana komponen fenol, flavonoid dan tannin akan mempengaruhi aktivitas antioksidan. Fermentasi ke-12, 15, dan 18 hari tidak menghasilkan nilai yang signifikan. Penelitian Hassmy *et al.*, (2017) Proses fermentasi kombucha teh hijau menghasilkan penurunan kemampuan penghambatan DPPH pada fermentasi hari ke-15 sebesar 91,64%.

Aktivitas mikroorganisme pada kombucha meningkatkan jumlah asam-asam organik. Senyawa fenolik dalam suasana asam akan lebih stabil dan sulit melepas proton yang dapat berikatan dengan DPPH yang membuat penurunan aktivitas antioksidan cenderung mengalami penurunan. Pada penelitian Sukmawati *et al.*, (2013) penurunan aktivitas antioksidan kombucha teh hitam terjadi pada hari ke-15. Antioksidan berfungsi untuk memproteksi tubuh dari radikal bebas dan mencegah kondisi stress oksidatif. (Rahayu *et al.*, 2015; Werdhasari, 2014). Tingkat aktivitas antioksidan dapat ditentukan dari nilai IC 50.

Nilai tersebut menunjukkan kemampuan suatu bahan atau senyawa dalam menghambat 50% proses oksidasi, nilai IC 50 yang semakin rendah memiliki arti aktivitas antioksidan suatu bahan atau senyawa semakin tinggi. Semakin lama proses fermentasi, nilai IC 50 semakin tinggi yang berarti aktivitas antioksidan

mengalami penurunan (Pratama *et al.*, 2015). 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) merupakan suatu senyawa radikal bebas stabil berwarna ungu, dipakai untuk mengukur aktivitas penghambatan radikal bebas. Apabila kedalam DPPH ditambahkan senyawa yang diduga memiliki kandungan antioksidan maka konsentrasi DPPH akan mengalami penurunan. Penurunan konsentrasi DPPH akan mengakibatkan penurunan nilai absorbansi DPPH (Pourmorad *et al.*, 2006).

Kesimpulan

Perlakuan perbandingan sari salak dengan teh serta lama waktu fermentasi memiliki rata-rata kapasitas antioksidan antara 101,37-479,30 mg GAE/100 gram. Nilai rata-rata aktivitas antioksidan (IC 50) antara 97,77-179,61 ppm. Aktivitas antioksidan pada produk tergolong sedang hingga sangat lemah

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Yayasan Penyelenggara Pendidikan Latihan dan Pelayanan Kesehatan (YPPLPK) Bali dan Institut Teknologi dan Kesehatan Bali telah memberikan kesempatan dan pendanaan dalam penelitian ini.

Referensi

- Ariviani S., & Parnanto N. H. R. (2013). Kapasitas Antioksidan Buah Salak (*Salacca edulis Reinw*) Kultivar Pondoh, Nglumut Dan Bali Serta Korelasinya Dengan Kadar Fenolik Total Dan Vitamin C. *Agritech*, Vol. 33, No. 3, hal 324-33. DOI: <https://doi.org/10.22146/agritech.9555>
- Baik, J. H., K. S. Shin, Y. Park, K. W. Yu, H. J. Suh, & H. S. Choi. (2015). Biotransformation of catechin and extraction of active polysaccharide from green tea leaves via simultaneous treatment with tannase and pectinase. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95 (11):2337–2344. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.6955>
- Bhattacharya, S., P. Manna, R. Gachhui & P. C. Sil. (2011). Protective Effect of Kombucha

- Tea Against Tertiary Butyl Hydroperoxide Induced Cytotoxicity and Cell Death in Murine Hepatocytes. *Indian J. Exp. Biol.* 511-524. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21800502/>
- Bhattacharya, S., Gachhui, R., & Sill, P.C. (2013). Effect of Kombucha, a fermented black tea in attenuating oxidative stress mediated tissue damage in alloxan induced diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology* 60, pp.328-340. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.07.051>
- Cardoso, R. R., Oliveira, R., Fo., Santos D'Almeida, C. T., Nascimento, T. P., Pressete, C. G., Azevedo, L., Martino, H. S. D., Cameron, L. C., Ferreira, M. S. L., ... & Barros, F. A. R. (2020). Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities. *Food Research International*, 128, 108782. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108782>
- Chakravorty, S., Bhattacharya, S., Chatzinotas, A., Chakraborty, W., Bhattacharya, D., & Gachhui, R. (2016). Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. *International journal of food microbiology*, 220, 63-72. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.12.015>
- De las Rivas, B., H. Rodriguez, J. Anguita, & R. Mu~noz. (2019). Bacterial tannases: Classification and biochemical properties. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103 (2):603–623. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9519-y>
- Firdaus, S., A. Indah C., L. Isnaini., S. & Aminah (2020). “Review Kombucha Sebagai Minuman Fungsional Dengan Berbagai Bahan Dasar Teh. Prosiding Seminar Nasional Unimus. Semarang URL: <https://prosiding.unimus.ac.id/index.php/emnas/article/view/738/747>
- Gamboa-Gómez, C.I., González-Laredo, R.F., Gallegos-Infante, J.A., Pérez, M.M.L., Moreno-Jiménez, M.R., Flores-Rueda, A.G., & Rocha-Guzmán, N.E., (2016). Antioxidant and angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of Eucalyptus camaldulensis and Litsea glaucescens infusions fermented with Kombucha consortium. *Food Technol. Biotechnol.* 54 (3), 367–374. DOI: <https://doi.org/10.17113/2Fftb.54.03.16.4622>
- Goh, W.N., Rosma, A., Kaur, B., Fazilah, A., Karim, A.A & Bhat, R. (2012). Fermentation of Black Tea Broth (Kombucha): I. Effects of Sucrose Concentration and Fermentation Time on Yield of Microbial Cellulose. *International Food Reaserch Journal.* 19 (1):109117 URL: <https://www.scinapse.io/papers/138759812>
- Hassmy,N.P., J. Abidjulu., A. & Yudistira (2017). Analisis Aktivitas Antioksidan Pada Teh Hijau Kombucha Berdasarkan Waktu Fermentasi Yang Optimal. 2017. *J. Ilmiah Farmasi*, 6 (4) 67-74 DOI: <https://doi.org/10.35799/pha.6.2017.17719>
- Hernández, Y., Lobo, M.G. & González, M. (2006). Determination of vitamin C in tropical fruits: a comparative evaluation of methods. *Food Chemistry* 96: 654-664.
- Jayabalan, R., Malbaša, R. V., Lončar, E. S., Vitas, J. S., & Sathishkumar, M. (2014). A review on kombucha tea-microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4), 538-550. DOI: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12073>
- Jayabalan (2008). Changes in free-radical scavenging ability of kombucha tea during fermentation. *Food Chem.* 109: 227-234. DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.12.037
- Miranda, B., Lawton, N. M., Tachibana, S. R., Swartz, N. A., & Hall, W. P. (2016). Titration and HPLC characterization of kombucha fermentation: a laboratory experiment in food analysis. *Journal of Chemical Education*, 93(10), 1770-1775.
- Modi, A.J., Khadabadi, S.S., Deore, S.L. & Kubde, M.S. (2010). Antioxidant effects of leaves of *Clerodendrum Infortunatum* (Linn.). *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 1:

- 67-72. DOI: [http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.1\(4\).67-72](http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.1(4).67-72)
- Muzaki, A.F., W.A.Setyati., & R. Pramesti. (2018). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut Halimeda macrolaba Dari Pantai Teluk Awur, Jepara, Jawa Tengah. *Jurnal Enggano*, 3 (2) 144-155 URL: <https://ejournal.unib.ac.id/jurnalenggano/article/view/5755>
- Naland, H. (2004). *Kombucha Teh Ajaib Pencegah dan Penyembuh Aneka Penyakit*. Jakarta: PT. Agro Media Pustaka
- Ozidal, T., D. A. Sela, J. Xiao, D. Boyacioglu, F. Chen, & E. Capanoglu. (2016). The reciprocal interactions between polyphenols and gut microbiota and effects on bioaccessibility. *Nutrients*, 8 (2):78. DOI: <https://doi.org/10.3390%2Fnu8020078>
- Pourmorad,F.,S.J. Hosseinimehr, & N. Shahabimajd (2006). Antioxidant Activity, Phenol and Flavonoid Contents of Some Selected Iranian Medical Plants. *J. African of Biotechnology*, 5 (11) 1142-145. URL: <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/42999>
- Pratama, N. Pato, U., & Yusmarini (2015). Kajian Pembuatan Teh Kombucha Dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *J. Faperta*, 2 (2). URL: <https://jom.unri.ac.id/index.php/JOMFAPERTA/article/view/8965/8632>
- Rahayu, R., C. & Haryani, Y. (2015). Total Fenolik, Flavonoid, Dan Aktivitas Antioksidan Dari Produk Teh Hijau dan Teh Hitam Tanaman Bangun-Bangun (*Coleus Amboenicus*) Dengan Perlakuan ETT Rumput Paitan. *J FMIPA*, 2 (1) 170-171 URL: <https://jom.unri.ac.id/index.php/JOMFMIPA/article/view/4413>
- Sintyadewi, P. R., & Widnyani, I. A. P. A. (2021). Pengaruh Lama Waktu Fermentasi Terhadap Total Flavonoid Dan Uji Organoleptik Kombucha Teh Hitam Dan Infusa Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L.). *Media Ilm Teknol Pangan (Scientific J Food Technol)*, 8(2), 72-77. URL: <https://ojs.unud.ac.id/index.php/pangan/article/view/89984>
- Srihari, T.Karthikesan, K.,Ashokkumar, N., & Satyanarayan, U. (2013). Antihyperglycaemic efficacy of Kombucha in streptozotocin-induced rats. *Journal of Fuctional Foods* 5(4), pp.1794-1802. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.08.008>
- Suica-Bunghesz, I.R., Teodorescu, S., Dulama, I.D., Voinea, O.C., Simionescu, S., & Ion, R.M., (2016). Antioxidant activity and phytochemical compounds of snake fruit (*Salacca zalacca*). IOP Conference Series: *Materials Science and Engineering*, 133, 012051. URL: https://ui.adsabs.harvard.edu/link_gateway/2016MS&E..133a2051S/doi:10.1088/1757-899X/133/1/012051
- Sukmawati, P.P.A., Ramona, Y., & Leliqia, N.P.E. (2013). Penetapan Aktivitas Antioksidan Yang Optimal Pada Teh Hitam Kombucha Lokal Di Bali Dengan Variasi Waktu Fermentasi. *Jurnal Farmasi Udayana*. 2 (1) : 25-29. URL: <https://ojs.unud.ac.id/index.php/jfu/article/view/5750>
- Sulaksono,S. S.P. Fitrianiingsih, U. & Yuniarni (2015). Karakterisasi Simpliasia dan Ekstrak Etanol Buah Salak (*Salacca zalacca* (Gaertner) Voss. Prosiding KNMSA, URL: <https://onsearch.id/Record/IOS4254.123456789-745>
- Werdhasari, A. (2014). Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *J. Biotek Medisiana Indonesia*, 3 (2) 59-68. DOI: <https://doi.org/10.22435/jbmi.v3i2.1659>
- Widowati, E., Andriani., & A.P. Kusumaningrum (2011). Kajian Total Bakteri Probiotik dan Aktivitas Antioksidan Yoghurt Tempe Dengan Variasi Substrat. *J. Teknologi Hasil Pertanian*, 4(1) 18-31. DOI: <https://doi.org/10.20961/jthp.v0i0.13590>
- Wistiana, D., & Zubaidah, E. (2015). Karakteristik Kimiawi dan Mikrobiologi Kombucha dari Berbagai Daun Tinggi Fenol Selama Fermentasi. *J. Pangan dan Agroindustri*, 4(3) 1446-1457. URL: <https://jpa.ub.ac.id/index.php/jpa/article/view/268>
- Yildiz,E., Guldas, M., & Gurbuz, O. (2020). Determination of In Vitro Phenolic,

- Antioxidant Capacity and Bio Accessibility of Kombucha Tea Produced From Black Carrot Varieties Grwon in Turkey. *J. Food Science and Technology*, 4(1) 180-187. DOI: <https://doi.org/10.1590/fst.00320>
- Yoga, W., & Rabani, I.G.A.Y. (2022). Analisis Total Fenol, Total Flvonoid, dan Total Tanin Pada Produk Minuman Probiotik Sari Buah Salak (*Salacca zalaca* Var. *Ambonensis*). *Profood J. Ilm dan Teknologi Pangan*. 1(8) 69-76. DOI: <https://doi.org/10.29303/profood.v8i1.229>
- Zaini, Mohd., N.A., Osman A., Hamid, A.A., Ebrahimpour, A., & Saari, N., (2013). Purification and Characterization of Membrane -Bound Polyphenoloxidase (mPPO) From Snake Fruit (*Salacca zalacca* (Geartn.) Voss. *Food Chem.* 136, 407-414. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.08.034>
- Zubaidah, E. & Rosdiana, I. (2016). Efektifitas Cuka Salak dan Cuka Apel Terhadap Kadar Glukosa Darah dan Histopatologi Tikus Diabetes. *J. Pangan dan Agroindustri*, 4 (1), 170-179. DOI: <https://doi.org/10.21776/ub.jkb.2015.028.04.7>
- Zubaidah, E., Putri, W.D.R., Puspitasari, T., Kalsum, U., & Dianawati, D., (2017). The effectiveness of various salacca vinegars as therapeutic agent for management of hyperglycemia and dyslipidemia on diabetic rats (Article ID 8742514). *Int. J. Food Sci.* DOI: <https://doi.org/10.1155/2017/8742514>