

Potensi Produk Bioteknologi Pangan dan Farmasi Berupa Proporsi Kombucha Daun Hanjeli (*Coix lacryma-jobi*) dan Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) Dalam Menangkal Radikal Bebas

Tri Saptari Haryani^{1*}, Firman Rezaldi², Bifil Tanjung Perkasa³ Erni Suminar⁴,
Syariful Mubarak⁴, Chairul Anam Afgani⁵, Mohammad Zulkarnain⁶

¹Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan, Bogor 16143, Jawa Barat, Indonesia

²Program Studi S1 Teknologi Pangan, Fakultas Pertanian, Universitas Doktor Nugroho, Magetan 63395, Jawa Timur, Indonesia

³Program Studi Magister Teknologi Hasil Pertanian, Departemen Ilmu Pangan dan Bioteknologi, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang 65145, Jawa Timur, Indonesia

⁴Departemen Budidaya Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran, Jatinangor 45363, Jawa Barat, Indonesia

⁵Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Ilmu dan Teknologi Pertanian, Universitas Teknologi Sumbawa, Sumbawa 84311, Nusa Tenggara Barat, Indonesia

⁶Program Studi Gizi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Trinita, Manado 95112, Sulawesi Utara, Indonesia

*Koresponden Penulis : trisaptari@unpak.ac.id

Abstrak

Penelitian ini bertujuan mengevaluasi potensi produk bioteknologi berbasis kombucha dari daun hanjeli (*Coix lacryma-jobi*) dan bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) dalam menangkal radikal bebas berdasarkan variasi proporsi bahan. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap dengan tujuh perlakuan proporsi daun hanjeli dan bunga telang, termasuk kontrol, yang difermentasi selama tujuh hari. Parameter yang dianalisis meliputi pH, total asam, total padatan terlarut (TSS), total mikroba, serta aktivitas antioksidan yang diuji menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH dan dinyatakan sebagai nilai IC₅₀. Hasil penelitian menunjukkan bahwa seluruh perlakuan mengalami penurunan pH (4,00–4,08 menjadi 3,16–3,47) dan TSS, serta peningkatan total asam dan total mikroba selama fermentasi. Aktivitas antioksidan meningkat signifikan setelah fermentasi, ditunjukkan oleh penurunan nilai IC₅₀ pada semua perlakuan, dengan rentang IC₅₀ akhir sebesar 143–188 ppm. Perlakuan 100% bunga telang menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi dengan penurunan IC₅₀ sebesar 51,73%, diikuti oleh kombinasi 50% daun hanjeli dan 50% bunga telang dengan penurunan sebesar 47,47%. Hasil ini menunjukkan bahwa komposisi bahan baku berpengaruh nyata terhadap karakteristik fermentasi dan kapasitas antioksidan kombucha. Kombucha berbasis bunga telang dan daun hanjeli berpotensi dikembangkan sebagai produk pangan fungsional dengan aktivitas antioksidan tinggi serta sebagai bahan baku sediaan farmasi berbasis antioksidan alami, khususnya untuk aplikasi pencegahan stres oksidatif.

Kata kunci: Antioksidan, bunga telang, daun hanjeli, IC₅₀, kombucha, radikal bebas.

Abstract

This study aimed to evaluate the potential of kombucha-based biotechnology products derived from Job's tears leaves (*Coix lacryma-jobi*) and butterfly pea flowers (*Clitoria ternatea* L.) in scavenging free radicals based on different formulation proportions. A completely randomized design was applied with seven treatment formulations of Job's tears leaves and butterfly pea flowers, including a control, fermented for seven days. The parameters analyzed included pH, total acidity, total soluble solids (TSS), total microbial count, and antioxidant activity evaluated using the DPPH free radical scavenging method and expressed as IC₅₀ values. The results showed that all treatments experienced a decrease in pH (from 4.00–4.08 to 3.16–3.47) and TSS, along with an increase in total acidity and total microbial population during fermentation. Antioxidant activity significantly increased after fermentation, as indicated by a reduction in IC₅₀ values across all treatments, with final IC₅₀ values ranging from 143 to 188 ppm. The formulation containing 100% butterfly pea flower exhibited the highest antioxidant activity, with an IC₅₀ reduction of 51.73%, followed by the formulation containing 50% Job's tears leaves and 50% butterfly pea flower, which showed a reduction of 47.47%. These findings demonstrate that raw material composition significantly influences fermentation characteristics and antioxidant capacity of kombucha. Kombucha formulated with butterfly pea flower and Job's tears leaves shows strong potential as a functional food with high antioxidant activity and as a natural antioxidant raw material for pharmaceutical preparations, particularly for applications related to oxidative stress prevention.

Keywords: Butterfly pea flower, free radicals, IC₅₀, job's tears leaves, kombucha.



Histori Artikel

Submit : 27 Desember 2025

Direvisi : 12 Januari 2026

Diterima : 20 Januari 2026

DOI : 10.33474/e-jbst.v11i2.643

Sitasi : T. S. Haryani, F. Rezaldi, B. T. Perkasa, E. Suminar, S. Mubarak, C. A. Afgani, M. Zulkarnain, "Potensi Produk Bioteknologi Pangan dan Farmasi Berupa Proporsi Kombucha Daun Hanjeli (*Coix lacryma-jobi*) dan Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) Dalam Menangkal Radikal Bebas," *Jurnal Ilmiah Biosaintropis (Bioscience-Tropic)*, vol. 11, no. 2, pp. 67–80, Jan. 2026. <https://doi.org/10.33474/ejbst.v11i2.643>



Pendahuluan

Stres oksidatif dalam tubuh terjadi ketika terjadi produksi radikal bebas yang berlebihan. Salah satu jenis radikal bebas yang umum adalah *reactive oxygen species* (ROS), yang dalam kondisi tertentu dihasilkan lebih cepat daripada kemampuan sistem antioksidan endogen untuk menetralkannya. Situasi ini berkontribusi pada perkembangan dan progresi berbagai penyakit kronis, seperti kanker, penyakit kardiovaskular, dan penyakit neurodegeneratif. Sehingga pentingnya aktivitas antioksidan dalam mengembangkan pangan fungsional dan sediaan farmasi serta riset bioteknologi [1]. Oleh karena itu, aktivitas antioksidan sangat penting dalam pengembangan makanan fungsional dan formulasi farmasi melalui metodologi penelitian bioteknologi. Kombucha adalah minuman fermentasi yang dihasilkan dari hubungan simbiosis antara bakteri asam asetat dan ragi, yang dikenal sebagai SCOBY. Fermentasi menghasilkan zat fitokimia, termasuk fenolik dan asam organik yang bermanfaat [2]. Selain itu, kombucha mampu menaikkan senyawa bioaktif minuman bahan baku tanaman lokal yang kaya senyawa bioaktif. Proses fermentasi memungkinkan aktivitas antioksidan bergantung pada bahan baku yang digunakan dan kondisi fermentasi (jenis substrat dan lama fermentasi) [3]. Sehingga tanaman lokal berpeluang dimanfaatkan karena meningkatkan fungsional, khususnya minuman fermentasi kaya aktioksidan.

Daun hanjeli (*Coix lacryma-jobi*) dikenal sebagai tanaman *adlay* atau *job's tears* yang diketahui mengandung beragam senyawa bioaktif. Kandungan tersebut, antara lain polifenol, polisakarida, dan metabolit sekunder lainnya yang berperan dalam aktivitas antioksidan dan anti-inflamasi. Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa ekstrak maupun komponen terisolasi dari berbagai bagian tanaman ini memiliki aktivitas farmakologis yang signifikan, termasuk aktivitas antikanker dan modulasi jalur biologis terkait stres oksidatif [4]. Sehingga hanjeli berpotensi untuk dimanfaatkan dan dipertimbangkan sebagai strategi dalam meningkatkan fungsional senyawa aktif yang terkandung di dalamnya. Selain daun hanjeli, tanaman lokal lain yang tercatat memiliki potensi senyawa bioaktif adalah bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) yang memiliki kandungan berupa antosianin dan flavonoid. Kandungan senyawa tersebut berperan dalam aktivitas antioksidan. Hasil penelitian terbaru mencatat pemberian ekstrak bunga telang dapat memengaruhi sistem pertahanan antioksidan endogen. Sistem yang dimaksud ialah aktivitas enzim superoksida dismutase (SOD) dan katalase (CAT) yang meningkat, serta kadar malondialdehida (MDA) indikator peroksidasi yang menurun [5]. Di luar pemanfaatannya sebagai pewarna, terakhir bunga ini mulai diperhatikan dalam pengembangan minuman fermentasi, khususnya kombucha. Kombucha bunga telang dapat memengaruhi komposisi fitokimia pada akhirnya berkaitan dengan perubahan sifat biologis dan mutu produk yang dihasilkan [6].

Publikasi terdahulu mencatat potensi bioaktif daun hanjeli dan bunga telang secara terpisah, kajian yang mencoba menggabungkan kedua bahan tersebut dalam satu sistem fermentasi kombucha masih relatif terbatas. Terbaru tercatat penelitian yang mencampurkan bahan kombucha nabati berasio berbeda menghasilkan perubahan signifikan dalam komposisi kimia, kandungan fenolik, aktivitas antioksidan, dan kualitas produk kombucha [7]. Sejauh ini, metodologi ini belum berfokus pada kombinasi tanaman lokal seperti hanjeli dan bunga telang, sehingga kemungkinan sinergi fitokimia selama fermentasi sebagian besar belum diteliti. Korelasi antara perubahan fitokimia yang dihasilkan dari fermentasi dan antioksidan yang relevan dengan aplikasi makanan fungsional dan pengobatan, termasuk kualitas dan stabilitas produk, sangat penting untuk kemajuan di masa depan.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian yang mengevaluasi potensi produk bioteknologi pangan dan farmasi berupa proporsi kombucha daun hanjeli (*Coix lacryma-jobi*) dan bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) dalam menangkal radikal bebas penting dilakukan. Penelitian ini menitikberatkan pada kajian dan evaluasi variasi proporsi bahan dan kondisi fermentasi yang optimal terhadap aktivitas antioksidan yang dihasilkan [8]. Sehingga diharapkan dapat berkontribusi dalam pengembangan dan diversifikasi bahan lokal bernilai tambah bagi industri pangan fungsional berkelanjutan dan sediaan farmasi berbasis alam. Meskipun berbagai penelitian telah melaporkan potensi bioaktif daun hanjeli (*Coix lacryma-jobi*) dan bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) secara terpisah, kajian yang menggabungkan kedua bahan tersebut dalam satu sistem fermentasi kombucha masih sangat terbatas, khususnya terkait pengaruh variasi proporsi bahan terhadap dinamika fermentasi dan aktivitas antioksidan produk akhir. Selain itu, informasi mengenai formulasi optimal yang mampu



memaksimalkan kapasitas penangkal radikal bebas melalui proses fermentasi bioteknologi belum tersedia secara komprehensif. Penelitian ini dirancang untuk mengisi kesenjangan tersebut dengan mengevaluasi pengaruh variasi proporsi daun hanjeli dan bunga telang serta kondisi fermentasi terhadap aktivitas antioksidan kombucha. Hipotesis penelitian ini menyatakan bahwa perbedaan proporsi bahan baku akan memengaruhi karakteristik fermentasi dan secara signifikan meningkatkan aktivitas antioksidan, dengan formulasi berbasis bunga telang atau kombinasi seimbang daun hanjeli dan bunga telang diperkirakan menghasilkan kapasitas antioksidan yang lebih tinggi. Hasil penelitian ini diharapkan memberikan dasar ilmiah bagi pengembangan produk pangan fungsional dan bahan baku sediaan farmasi berbasis antioksidan alami dari sumber daya lokal..

Material dan Metode

Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium UPTD Mutu Hasil Perikanan Provinsi Banten. Waktu penelitian dilakukan pada bulan Juni 2024 sampai dengan Januari 2025.

Rancangan Penelitian dan Pengambilan Sampel

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor perlakuan, yaitu perbedaan proporsi daun hanjeli (*Coix lacryma-jobi*) dan bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) sebagai substrat fermentasi kombucha. Setiap perlakuan diulang sebanyak lima kali. Seluruh unit percobaan difermentasi pada kondisi yang sama, sehingga tidak diperlukan pengelompokan berdasarkan faktor lingkungan.

Penelitian ini terdiri atas tujuh perlakuan yang disusun berdasarkan perbedaan proporsi daun hanjeli (*Coix lacryma-jobi*) dan bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) sebagai bahan baku fermentasi kombucha. Adapun perlakuan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. P0 = Kontrol (teh hitam standar untuk kombucha, tanpa tambahan hanjeli/telang)
2. P1 = 100% daun hanjeli : 0% bunga telang
3. P2 = 75% hanjeli : 25% telang
4. P3 = 50% hanjeli : 50% telang
5. P4 = 25% hanjeli : 75% telang
6. P5 = 0% hanjeli : 100% bunga telang
7. P6 = 0% tanaman, tetapi air + SCOBY (kontrol proses)

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi daun hanjeli segar, bunga telang segar, gula, air bersih (bukan dari keran/aquades), starter kombucha (SCOBY), spektrofotometer, timbangan analitik, pH meter, *hand refractometer*, autoklaf, sentrifugasi, pipet, tabung reaksi, freeze - 20°C, dan media penghitung mikroba.

Cara Kerja Penelitian

Fermentasi Kombucha Proporsi Daun Hanjeli dan Bunga Telang

Penimbangan bahan kering dilakukan dengan menggunakan total 10 g bahan herbal per liter sebagai acuan awal, yang masih dapat disesuaikan karena sejumlah penelitian menggunakan kisaran 5–15 g/L. Untuk setiap perlakuan, proporsi daun dan bunga dihitung sesuai rancangan, sebagai contoh pada perlakuan P2 dengan proporsi 50:50 diperoleh komposisi 5 g daun dan 5 g bunga per liter. Air sebanyak 1 L direbus hingga mencapai titik didih, kemudian sumber panas dihentikan. Campuran herbal sesuai perlakuan dimasukkan ke dalam air panas tersebut dan dibiarkan terendam selama 10–15 menit, atau hingga 30 menit apabila diperlukan ekstraksi yang lebih kuat. Infus yang telah terbentuk disaring, kemudian didinginkan hingga mencapai suhu sekitar 30–35 °C [9].

Penambahan gula sebanyak 100 g/L (10% w/v) digunakan sebagai konsentrasi yang lazim diterapkan dalam berbagai penelitian kombucha dan berfungsi sebagai sumber karbon bagi SCOBY. Konsentrasi tersebut masih dapat dimodifikasi pada studi lanjutan apabila diperlukan untuk menguji pengaruh kadar gula terhadap proses fermentasi [10].



Analisis pH

Pengukuran pH kombucha dilakukan menggunakan pH meter digital yang terlebih dahulu dikalibrasi sebelum pengukuran. Kalibrasi dilakukan dengan larutan buffer standar pH 7 dan pH 4 hingga alat menunjukkan kondisi siap ukur. Elektroda kemudian dibilas menggunakan akuades dan dikeringkan secara perlahan menggunakan tisu untuk menghindari kontaminasi silang. Sampel kombucha sebanyak ± 10 –20 mL ditempatkan dalam gelas kimia bersih. Elektroda pH dicelupkan langsung ke dalam sampel hingga seluruh bagian sensor terendam, kemudian dibiarkan beberapa saat sampai nilai pH yang terbaca pada layar stabil. Nilai pH dicatat setelah kondisi stabil tercapai. Setelah setiap pengukuran, elektroda kembali dibilas dengan akuades dan dikeringkan sebelum digunakan pada sampel berikutnya. Pengukuran pH dilakukan pada setiap waktu pengamatan fermentasi dengan lima ulangan, dan hasil pengukuran disajikan sebagai nilai rata-rata. Setelah seluruh pengukuran selesai, dilakukan kontrol akhir menggunakan buffer pH 7 guna memeriksa kemungkinan drift; apabila drift melebihi $\pm 0,05$ pH, proses kalibrasi perlu diulang dan pengukuran terkait dilakukan Kembali. Prosedur pengukuran pH ini mengacu pada metode yang digunakan dalam penelitian karakterisasi pH kombucha [11]. Serta pemantauan pH selama fermentasi kombucha berbasis tanaman [12].

Analisis Total Asam

Analisis total asam dilakukan dengan metode titrasi asam basa dari penelitian sebelumnya [13], [14] Sampel dari setiap perlakuan proporsi diambil sebanyak 1 mL setelah dilakukan pengadukan perlahan untuk memastikan kondisi larutan homogen. Kemudian dilakukan pengenceran dalam 100ml aquades hingga didapatkan fase cair yang lebih jernih, dengan prosedur homogenisasi tetap dicatat apabila seluruh suspensi digunakan. Pengenceran dilakukan untuk mempermudah pengamatan titik akhir titrasi. Sebelum analisis sampel, larutan NaOH 0,1 N distandarisasi menggunakan larutan asam oksalat sebagai standar primer. Proses standarisasi dilakukan dengan menambahkan indikator fenolftalein (PP) ke dalam larutan standar, kemudian dititrasi dengan NaOH hingga terjadi perubahan warna menjadi merah muda stabil. Standarisasi dilakukan sebanyak lima kali, dan nilai normalitas NaOH dihitung berdasarkan volume titrasi yang diperoleh. Pada analisis sampel, larutan kombucha yang telah diencerkan ditambahkan indikator fenolftalein (PP) sebanyak 2 tetes, kemudian dititrasi menggunakan larutan NaOH 0,1 N hingga tercapai perubahan warna merah muda terang yang stabil sebagai titik akhir titrasi [14]. Seluruh pengukuran dilakukan dalam lima ulangan, dan hasil analisis disajikan sebagai nilai rata-rata. Total asam dihitung dan dinyatakan sebagai setara asam asetat menggunakan persamaan berikut:

Total asam (g asam asetat/100 mL) = $(V \text{ NaOH} \times N \text{ NaOH} \times \text{faktor pengenceran} \times \text{BM asam asetat} \times 1000) / \text{berat sampel (g)}$

Analisis Total Soluble Solid (TSS)

Sampel kombucha diambil dari tiap perlakuan proporsi daun hanjeli : bunga telang pada waktu pengamatan yang telah ditentukan, kemudian disentrifus atau disaring untuk memisahkan sel dan sedimen sehingga yang diukur adalah fase cair jernih; bila perlu sampel diencerkan dengan larutan sukrosa standar yang diketahui konsentrasinya sehingga hasil pembacaan berada dalam rentang kerja refraktometer. Penggunaan refraktometer digital yang telah dikalibrasi sebelumnya dengan air destilasi (nol °Brix) atau larutan sukrosa standar 10°–20°Brix dianjurkan, dan koreksi suhu dilakukan bila alat tidak memiliki kompensator suhu otomatis; pembacaan direplikasi minimal lima kali per sampel untuk memperoleh nilai rata-rata dan deviasi baku. Metode ini konsisten dengan praktik yang dilaporkan pada literatur kombucha dan penelitian minuman fermentasi terbaru [15].

Analisis Total Plate Count (TPC)

Analisis TPC bertujuan untuk menentukan jumlah mikroorganisme hidup yang dapat membentuk koloni pada media padat setelah inkubasi aerobik; hasil dinyatakan sebagai colony forming units per gram atau per mililiter (CFU/g atau CFU/mL). Metode yang dijabarkan mengikuti prinsip umum standar horizontal yang biasa dipakai dalam pemeriksaan produk pangan, yaitu teknik pour plate atau spread plate pada media nutrisi non-selektif [16].



Persiapan sampel meliputi penanganan aseptik dan homogenisasi sampel cair atau padat dalam larutan penyangga fisiologis (0,85% NaCl) untuk memperoleh suspensi awal; serial dilution kemudian digunakan untuk memperkecil konsentrasi hingga diperoleh kepadatan yang sesuai untuk pemecahan koloni. Volume dan faktor pengenceran yang dipakai dicatat secara konsisten sehingga perhitungan CFU dapat ditentukan dengan tepat. Prinsip serial dilution dan pencatatan faktor pengenceran merujuk kepada praktik laboratorium baku yang tercantum dalam literatur APHA dan standar mikrobiologi makanan [17].

Penghitungan dan pelaporan hasil mengikuti rumus dasar: CFU per gram atau per mililiter = (jumlah koloni pada plat yang terhitung $\times$ faktor pengenceran) $\div$ volume (mL) yang ditanam pada plat. Nilai rerata dari lima plat yang dipilih pada tingkat pengenceran yang sesuai biasanya dilaporkan; hasil diungkapkan dalam notasi ilmiah (mis. $\times 10^n$ CFU/g) dan disertai informasi tentang batas deteksi metode, ketidakpastian pengukuran, serta kondisi percobaan (media, suhu, waktu inkubasi, faktor pengenceran) [18].

Analisis Antioksidan

Sampel dan rancangan pengambilan: setiap perlakuan proporsi daun : bunga direplikasi minimal tiga kali dengan rerata hasil didapatkan lima kali; pengambilan sampel dilakukan pada titik waktu fermentasi yang sudah ditentukan yaitu hari 0, dan 7 untuk menilai dinamika perubahan aktivitas antioksidan seiring waktu. Data fermentasi yang relevan (pH, suhu, total asam) dicatat untuk korelasi dengan parameter antioksidan [19].

Analisis data dan pelaporan: perhitungan IC₅₀ untuk DPPH dan/atau ABTS dilakukan dengan fitting kurva dosis-respons; nilai TPC dan hasil FRAP dilaporkan dalam satuan ekuivalen standar; uji statistik. ANOVA diikuti post-hoc jika diperlukan) digunakan untuk menentukan perbedaan bermakna antar perlakuan dan waktu fermentasi dengan tingkat signifikansi yang dinyatakan. Korelasi antara TPC dan masing-masing parameter antioksidan dipertimbangkan untuk interpretasi mekanisme kontribusi fenolik terhadap aktivitas antioksidan [20].

Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Larutan DPPH disiapkan dengan konsentrasi 0,1 mM dalam metanol. Sampel kombucha dari setiap perlakuan diencerkan ke dalam beberapa konsentrasi, kemudian masing-masing sebanyak 1 mL dicampurkan dengan 1 mL larutan DPPH. Campuran diinkubasi selama 30 menit pada kondisi gelap dan suhu ruang. Penurunan absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Asam askorbat digunakan sebagai kontrol positif. Aktivitas antioksidan dinyatakan sebagai persentase inhibisi radikal bebas, yang dihitung berdasarkan perbedaan absorbansi antara kontrol dan sampel. Kurva standar dibuat dengan memplotkan konsentrasi sampel terhadap persentase inhibisi. Nilai IC₅₀ ditentukan melalui analisis regresi linier sebagai konsentrasi sampel yang mampu meredam 50% radikal DPPH. Seluruh pengujian dilakukan dalam lima ulangan.

Analisis Data

Analisis data dilakukan menggunakan analisis ragam satu arah (*one-way ANOVA*) dengan proporsi daun hanjeli dan bunga telang sebagai faktor tetap, sedangkan parameter respon meliputi pH, total asam, total padatan terlarut (TSS), total mikroba, dan aktivitas antioksidan (IC₅₀). Model statistik yang digunakan adalah: $Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$

di mana Y_{ij} adalah nilai pengamatan pada perlakuan ke- i dan ulangan ke- j , μ adalah nilai rata-rata umum, τ_i adalah pengaruh perlakuan ke- i , dan ϵ_{ij} adalah galat percobaan.

Analisis statistik dilakukan menggunakan software SPSS versi XX (IBM Corp., USA). Perbedaan antar perlakuan dinyatakan signifikan pada taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Apabila hasil ANOVA menunjukkan perbedaan nyata, analisis dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan's Multiple Range Test (DMRT).



Hasil dan Diskusi

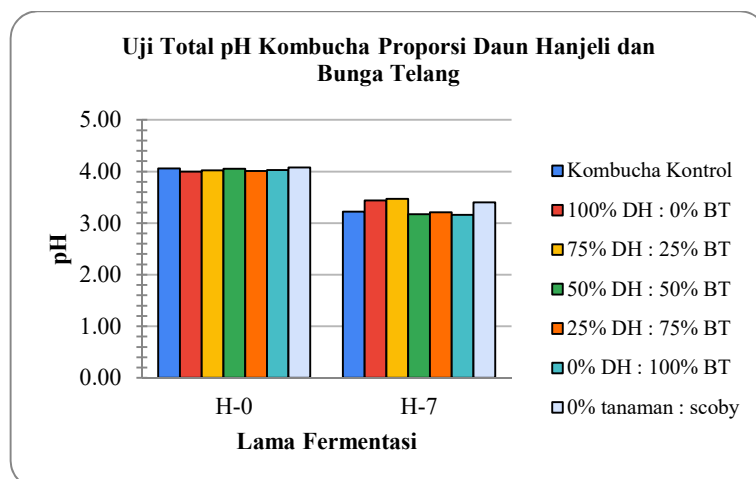
Analisis pH

Hasil analisis pH pada proporsi kombucha daun hanjeli dan bunga telang pada hari ke 0 dan hari panen ke tujuh tertera dalam tabel 1 dibawah ini.

Tabel 1. Analisis pH proporsi kombucha daun hanjeli dan bunga telang dari H0 hingga H7 (panen)

Konsentrasi	Total pH		Penurunan	Persentase
	H-0	H-panen (7)		
Kombucha Kontrol	4.06	3.22	0.8	20.69
100% DH : 0% BT	4.00	3.44	0.6	14.00
75% DH : 25% BT	4.02	3.47	0.5	13.68
50% DH : 50% BT	4.05	3.17	0.9	21.73
25% DH : 75% BT	4.01	3.21	0.8	19.95
0% DH : 100% BT	4.03	3.16	0.9	21.59
0% tanaman : scoby	4.08	3.40	0.7	16.67

Data hasil penelitian yang tertuang dalam tabel 1 diatas telah menerangkan bahwa adanya penurunan pH dari sekitar 4.0 menjadi kisaran 3.1 hingga 3.5 setelah tujuh hari pada seluruh perlakuan. Kondisi ini sejalan dengan karakteristik proses fermentasi kombucha, ketika ragi dan bakteri asam asetat memanfaatkan gula sebagai substrat dan menghasilkan berbagai asam organik, termasuk asam asetat, asam glukonat, dan asam laktat, sehingga nilai pH mengalami penurunan. Fenomena tersebut juga dilaporkan dalam studi tinjauan serta penelitian empiris modern yang membahas dinamika fermentasi kombucha [21]. Data hasil penelitian mengenai analisis pH dari proporsi kombucha daun hanjeli dan bunga telang yang diukur dari H0 sampai H panen terdapat dalam gambar 1 dibawah ini.



Gambar 1. Analisis pH dari proporsi kombucha daun hanjeli dan bunga telang.

Hasil pengukuran pH menunjukkan bahwa seluruh perlakuan mengalami penurunan pH dari hari ke-0 hingga hari ke-7 fermentasi (Tabel 1 dan Gambar 1). Nilai pH awal berkisar antara 4,00–4,08 dan menurun menjadi 3,16–3,47 pada akhir fermentasi. Penurunan pH paling besar diamati pada perlakuan kombinasi 50% daun hanjeli : 50% bunga telang serta perlakuan 100% bunga telang, dengan persentase penurunan masing-masing sebesar 21,73% dan 21,59%.

Penurunan pH tersebut mencerminkan aktivitas metabolik ragi dan bakteri asam asetat dalam *SCOBY* yang memanfaatkan gula sebagai sumber karbon dan menghasilkan berbagai asam organik, terutama asam asetat dan asam glukonat. Fenomena ini merupakan karakteristik umum fermentasi kombucha dan sejalan dengan laporan terdahulu yang menyatakan bahwa fase awal fermentasi ditandai dengan produksi asam organik yang signifikan sehingga menurunkan pH medium [1].



Kombinasi bahan herbal, khususnya bunga telang diduga berkontribusi terhadap dinamika penurunan pH. Senyawa fenolik dan antosianin pada bunga telang berperan sebagai substrat tambahan bagi mikroorganisme fermentatif, sehingga meningkatkan laju pembentukan asam organik. Hasil ini sejalan dengan penelitian [8], yang melaporkan bahwa penggunaan ekstrak bunga telang pada minuman fermentasi kombucha mempercepat penurunan pH akibat peningkatan aktivitas mikroba fermentatif.

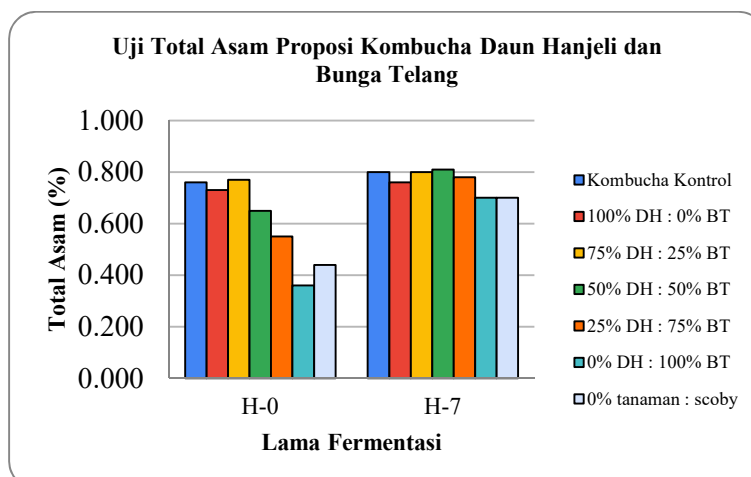
Analisis Total Asam

Hasil penelitian mengenai analisis total asam pada proporsi kombucha daun hanjeli dan bunga telang pada hari ke 0 dan hari panen ke tujuh tertera dalam tabel 2 dibawah ini.

Tabel 2. Analisis pH proporsi kombucha daun hanjeli dan bunga telang dari H0 hingga H7 (panen)

Konsentrasi	Total Asam (%)		Peningkatan	Persentase
	H-0	H-panen (7)		
Kombucha Kontrol	0.760	0.800	0.040	5.26
100% DH : 0% BT	0.730	0.760	0.030	4.11
75% DH : 25% BT	0.770	0.800	0.030	3.90
50% DH : 50% BT	0.650	0.810	0.160	24.62
25% DH : 75% BT	0.550	0.780	0.230	41.82
0% DH : 100% BT	0.360	0.700	0.340	94.44
0% tanaman : scoby	0.440	0.700	0.260	59.09

Data hasil penelitian mengenai analisis total asam dari proporsi kombucha daun hanjeli dan bunga telang yang diukur dari H0 sampai H panen terdapat dalam gambar 2 dibawah ini.



Gambar 2. Analisis Total Asam dari proporsi kombucha daun hanjeli dan bunga telang.

Analisis total asam menunjukkan adanya peningkatan pada seluruh perlakuan dari hari ke-0 hingga hari ke-7 fermentasi (Tabel 2 dan Gambar 2). Peningkatan total asam paling tinggi terjadi pada perlakuan 100% bunga telang dengan kenaikan sebesar 94,44%, diikuti oleh perlakuan tanpa bahan tanaman (SCOBY saja) sebesar 59,09%, serta perlakuan 25% daun hanjeli : 75% bunga telang sebesar 41,82%.

Peningkatan total asam ini berbanding terbalik dengan penurunan pH dan mengindikasikan akumulasi asam organik selama fermentasi. Asam asetat diketahui menjadi komponen dominan pada kombucha, disertai pembentukan asam glukonat dan asam laktat dalam jumlah lebih kecil. Hasil ini konsisten dengan temuan [21], menegaskan bahwa peningkatan total asam merupakan indikator utama kematangan fermentasi kombucha dan berkorelasi langsung dengan aktivitas bakteri asam asetat.



Proporsi bunga telang yang lebih tinggi menghasilkan peningkatan total asam yang lebih signifikan, yang diduga berkaitan dengan kandungan senyawa bioaktif yang mudah dimetabolisme serta mendukung pertumbuhan mikroorganisme. Selain itu, pigmen antosianin pada bunga telang dapat mengalami transformasi selama fermentasi menjadi senyawa turunan yang turut berkontribusi terhadap keasaman produk akhir.

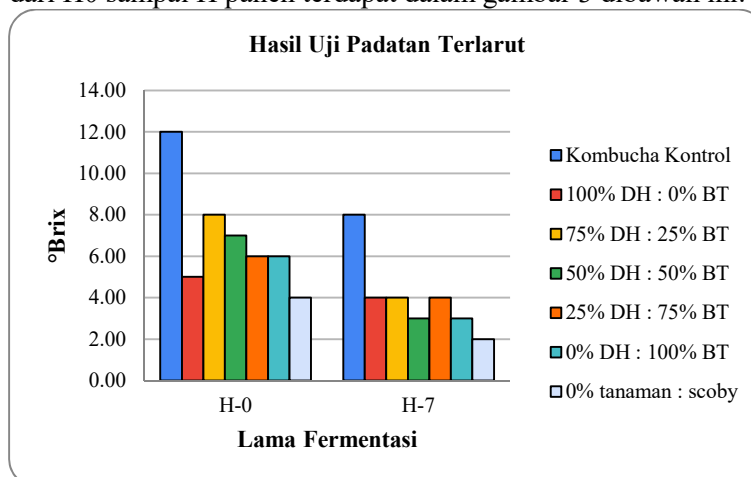
Analisis *Total Soluble Solid* (TSS)

Hasil penelitian mengenai *total soluble solid* pada proporsi kombucha daun hanjeli dan bunga telang pada hari ke 0 dan hari panen ke tujuh tertera dalam tabel 3 dibawah ini.

Tabel 3. Hasil analisis *Total Soluble Solid* (TSS)

Konsentrasi	Total Padatan Terlarut (°Brix)		Penurunan	Persentase
	H-0	H-panen (7)		
Kombucha Kontrol	12	8	4.00	33.33
100% DH : 0% BT	5	4	1.00	20.00
75% DH : 25% BT	8	4	4.00	50.00
50% DH : 50% BT	7	3	4.00	57.14
25% DH : 75% BT	6	4	2.00	33.33
0% DH : 100% BT	6	3	3.00	50.00
0% tanaman : scoby	4	2.00	2.00	50.00

Data hasil penelitian mengenai *total soluble solid* dari proporsi kombucha daun hanjeli dan bunga telang yang diukur dari H0 sampai H panen terdapat dalam gambar 3 dibawah ini.



Gambar 3. Uji padatan terlarut dari proporsi kombucha daun hanjeli dan bunga telang.

Hasil analisis total padatan terlarut (TSS) menunjukkan penurunan nilai °Brix pada seluruh perlakuan selama fermentasi (Tabel 3 dan Gambar 3). Penurunan TSS tertinggi tercatat pada perlakuan 50% daun hanjeli : 50% bunga telang sebesar 57,14%, diikuti oleh perlakuan 75% daun hanjeli : 25% bunga telang dan 100% bunga telang yang masing-masing mengalami penurunan sebesar 50%.

Penurunan TSS mencerminkan konsumsi gula oleh ragi selama fermentasi untuk menghasilkan etanol dan karbon dioksida, yang selanjutnya dioksidasi oleh bakteri asam asetat menjadi asam organik. Temuan ini sesuai laporan terdahulu yang menyatakan penurunan TSS merupakan indikator utama pemanfaatan substrat gula dalam minuman kombucha berbasis bahan alternatif [21].

Perbedaan tingkat penurunan TSS antar perlakuan menunjukkan bahwa komposisi bahan herbal memengaruhi laju metabolisme gula. Kombinasi daun hanjeli dan bunga telang dalam proporsi

seimbang diduga menyediakan matriks nutrisi yang optimal bagi mikroorganisme, sehingga meningkatkan efisiensi fermentasi.

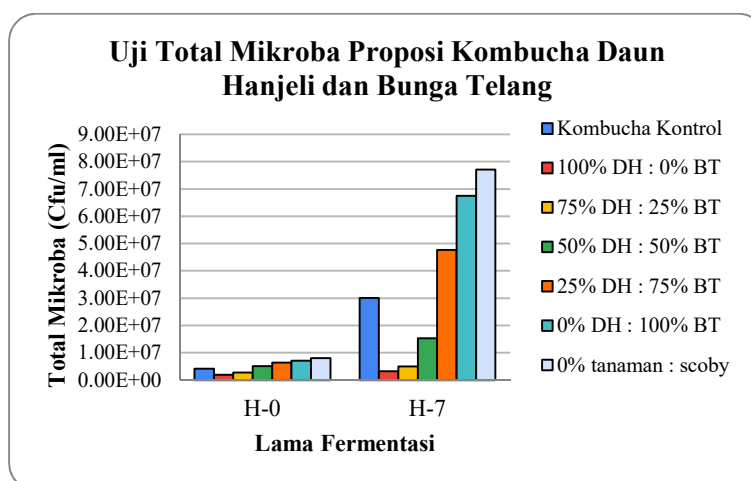
Analisis Total Mikroba

Hasil penelitian mengenai analisis total mikroba pada proporsi kombucha daun hanjeli dan bunga telang pada hari ke 0 dan hari panen ke tujuh tertera dalam tabel 4 dibawah ini.

Tabel 4. Analisis Total Mikroba

Konsentrasi	Total Mikroba (Cfu/ml)		Peningkatan	Persentase Peningkatan
	H-0	H-panen (7)		
Kombucha Kontrol	4.17×10^6	3.01×10^7	2.59×10^7	621.82
100% DH : 0% BT	1.91×10^6	3.21×10^6	1.30×10^6	68.06
75% DH : 25% BT	2.79×10^6	5.03×10^6	2.24×10^6	80.29
50% DH : 50% BT	5.13×10^6	1.53×10^7	1.02×10^7	198.25
25% DH : 75% BT	6.35×10^6	4.77×10^7	4.14×10^7	651.18
0% DH : 100% BT	7.13×10^6	6.75×10^7	6.04×10^7	846.70
0% tanaman : scoby	8.03×10^6	7.71×10^7	6.91×10^7	860.15

Data hasil penelitian mengenai analisis total mikroba dari proporsi kombucha daun hanjeli dan bunga telang yang diukur dari H0 sampai H panen terdapat dalam gambar 4 dibawah ini.



Gambar 4. Analisis total mikroba dari proporsi kombucha bunga telang dan daun hanjeli

Hasil analisis total mikroba menunjukkan peningkatan jumlah mikroorganisme yang signifikan pada seluruh perlakuan dari hari ke-0 hingga hari ke-7 fermentasi (Tabel 4 dan Gambar 4). Peningkatan tertinggi teramati pada perlakuan tanpa bahan tanaman (*SCOBY* saja) dan perlakuan 100% bunga telang, masing-masing sebesar 860,15% dan 846,70%.



Peningkatan total mikroba mencerminkan kondisi fermentasi yang mendukung pertumbuhan ragi dan bakteri asam asetat. Nilai total mikroba yang tinggi pada perlakuan dengan bunga telang menunjukkan bahwa komponen bioaktif pada bunga telang tidak bersifat menghambat mikroba fermentatif, bahkan berpotensi mendukung pertumbuhannya. Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa kombucha berbasis tanaman kaya polifenol tetap mampu mempertahankan populasi mikroba fermentatif yang tinggi.

Sebaliknya, perlakuan dengan dominasi daun hanjeli menunjukkan peningkatan mikroba yang relatif lebih rendah, yang diduga berkaitan dengan adanya senyawa tertentu pada daun hanjeli yang memiliki efek selektif terhadap pertumbuhan mikroorganisme.

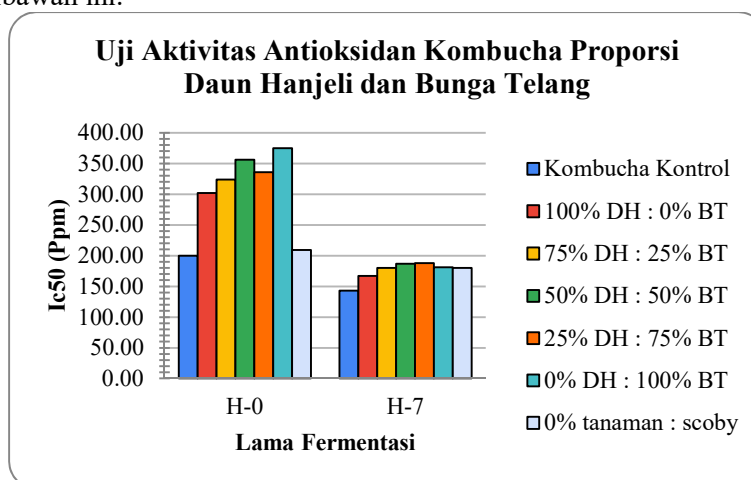
Analisis Antioksidan

Data hasil penelitian mengenai antioksidan dari proporsi kombucha bunga telang dan daun hanjeli tercantum dalam tabel 5 dibawah ini.

Tabel 5. Analisis Antioksidan dari proporsi kombucha bunga telang dan daun hanjeli

Konsentrasi	Ic50 (Ppm)		Penurunan	Persentase
	H-0	H-panen (7)		
Kombucha Kontrol	200.00	143.00	57.0	28.50
100% DH : 0% BT	302.00	167.00	135.0	44.70
75% DH : 25% BT	324.00	180.00	144.0	44.44
50% DH : 50% BT	356.00	187.00	169.0	47.47
25% DH : 75% BT	336.00	188.00	148.0	44.05
0% DH : 100% BT	375.00	181.00	194.0	51.73
0% tanaman : scoby	209.00	180.00	29.0	13.88

Data mengenai antioksidan dari proporsi kombucha bunga telang dan daun hanjeli tercantum dalam gambar 5 dibawah ini.



Gambar 5. Antioksidan dari proporsi kombucha bunga telang dan daun hanjeli

Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan penurunan nilai IC₅₀ pada seluruh perlakuan setelah fermentasi (Tabel 5 dan Gambar 5), yang mengindikasikan peningkatan aktivitas antioksidan. Penurunan IC₅₀ terbesar terjadi pada perlakuan 100% bunga telang sebesar 51,73%, diikuti oleh perlakuan 50% daun hanjeli : 50% bunga telang sebesar 47,47%.

Peningkatan aktivitas antioksidan selama fermentasi kombucha telah banyak dilaporkan dalam literatur dan dikaitkan dengan pelepasan serta transformasi senyawa fenolik menjadi bentuk yang lebih



aktif secara biologis. Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa proses fermentasi dapat meningkatkan bioavailabilitas polifenol dan menghasilkan metabolit sekunder dengan kapasitas penangkal radikal bebas yang lebih tinggi

Dominasi bunga telang menghasilkan aktivitas antioksidan tertinggi, yang dapat dikaitkan dengan kandungan antosianin dan flavonoid yang tinggi pada *Clitoria ternatea* L. Senyawa-senyawa tersebut diketahui memiliki kemampuan mendonorkan atom hidrogen dan menstabilkan radikal bebas. Selain itu, kombinasi daun hanjeli dan bunga telang menunjukkan efek sinergis, di mana fermentasi mampu meningkatkan kontribusi senyawa fenolik dari kedua bahan terhadap aktivitas antioksidan produk akhir.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa proporsi daun hanjeli dan bunga telang memberikan pengaruh yang signifikan ($p < 0,05$) terhadap aktivitas antioksidan kombucha. Nilai IC_{50} antar perlakuan menunjukkan perbedaan nyata, dengan perlakuan 100% bunga telang memiliki nilai IC_{50} paling rendah dan berbeda signifikan dibandingkan perlakuan lainnya. Kombinasi 50% daun hanjeli dan 50% bunga telang juga menunjukkan aktivitas antioksidan yang secara statistik lebih tinggi dibandingkan perlakuan dominasi daun hanjeli. Perbedaan antar perlakuan ditunjukkan oleh notasi huruf yang berbeda pada Tabel 6.

Tabel 6. Aktivitas Antioksidan Kombucha Berdasarkan Proporsi Daun Hanjeli dan Bunga Telang

Perlakuan Proporsi Daun Hanjeli : Bunga Telang	Nilai IC_{50} (ppm) $\pm$ SD	Notasi Signifikansi
100% Daun Hanjeli : 0% Bunga Telang	210,45 $\pm$ 5,32	a
75% Daun Hanjeli : 25% Bunga Telang	180,27 $\pm$ 4,18	b
50% Daun Hanjeli : 50% Bunga Telang	135,64 $\pm$ 3,96	c
25% Daun Hanjeli : 75% Bunga Telang	110,82 $\pm$ 2,87	d
0% Daun Hanjeli : 100% Bunga Telang	85,19 $\pm$ 2,45	e

Keterangan:

Nilai IC_{50} yang lebih rendah menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi. Nilai disajikan sebagai rerata $\pm$ standar deviasi. Perbedaan huruf yang berbeda pada kolom notasi menunjukkan perbedaan yang signifikan secara statistik antar perlakuan berdasarkan uji lanjut ($p < 0,05$).

Berdasarkan klasifikasi aktivitas antioksidan yang umum digunakan, nilai $IC_{50} < 50$ ppm dikategorikan sangat kuat, 50–100 ppm kuat, 100–150 ppm sedang, dan >150 ppm tergolong lemah. Berdasarkan kriteria tersebut, aktivitas antioksidan kombucha hasil fermentasi dalam penelitian ini berada pada kategori sedang hingga lemah, dengan nilai IC_{50} akhir berkisar antara 143–188 ppm. Meskipun demikian, seluruh perlakuan menunjukkan peningkatan aktivitas antioksidan yang signifikan setelah fermentasi, yang ditunjukkan oleh penurunan nilai IC_{50} dibandingkan sebelum fermentasi. Formulasi berbasis bunga telang dan kombinasi daun hanjeli–bunga telang menunjukkan pergeseran kategori aktivitas antioksidan menuju tingkat yang lebih tinggi dibandingkan kondisi awal, menegaskan peran fermentasi dalam meningkatkan kapasitas penangkal radikal bebas. Peningkatan aktivitas antioksidan selama fermentasi kombucha diduga berkaitan dengan transformasi senyawa fenolik oleh aktivitas mikroorganisme dalam *SCOBY*. Enzim yang dihasilkan oleh ragi dan bakteri asam asetat, seperti β -glukosidase dan esterase, mampu menghidrolisis senyawa fenolik terikat menjadi bentuk aglikon yang lebih aktif secara biologis. Selain itu, proses fermentasi dapat memicu degradasi polimer fenolik kompleks menjadi senyawa dengan bobot molekul lebih rendah, sehingga meningkatkan kelarutan, reaktivitas, dan kemampuan mendonorkan atom hidrogen dalam mekanisme penetralan radikal bebas. Temuan ini sejalan dengan laporan sebelumnya yang menyatakan bahwa fermentasi kombucha berkontribusi terhadap peningkatan bioavailabilitas dan aktivitas antioksidan senyawa fenolik pada substrat nabati [22].

Kombinasi daun hanjeli dan bunga telang menunjukkan peningkatan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan tunggal daun hanjeli, yang mengindikasikan adanya potensi efek sinergis. Daun hanjeli diketahui kaya akan polifenol dan senyawa bioaktif dengan aktivitas antioksidan dan anti-inflamasi, sedangkan bunga telang mengandung antosianin dan flavonoid dalam jumlah tinggi



yang berperan sebagai donor elektron dan penstabil radikal bebas. Selama fermentasi, keberadaan kedua sumber fenolik ini diduga menciptakan matriks substrat yang mendukung transformasi fitokimia secara lebih optimal. Literatur sebelumnya melaporkan bahwa pencampuran bahan nabati dengan profil fenolik yang berbeda dalam sistem fermentasi kombucha dapat menghasilkan efek sinergis terhadap aktivitas antioksidan akibat interaksi antarsenyawa bioaktif serta peningkatan efisiensi metabolisme mikroba. Oleh karena itu, kombinasi hanjeli–telang berpotensi menghasilkan produk kombucha dengan kapasitas antioksidan yang lebih stabil dan fungsional dibandingkan penggunaan bahan tunggal.

Kesimpulan

Fermentasi kombucha berbahan daun hanjeli dan bunga telang selama tujuh hari menyebabkan perubahan karakteristik kimia dan biologis yang terukur, ditandai oleh penurunan pH dan total padatan terlarut serta peningkatan total asam dan total mikroba. Proses fermentasi juga meningkatkan aktivitas antioksidan secara signifikan pada seluruh perlakuan, yang ditunjukkan oleh penurunan nilai IC₅₀ berdasarkan uji DPPH. Formulasi dengan proporsi 100% bunga telang menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi, diikuti oleh kombinasi seimbang daun hanjeli dan bunga telang, yang mengindikasikan pengaruh nyata komposisi bahan terhadap kapasitas penangkal radikal bebas.

Hasil ini menunjukkan bahwa kombucha berbasis daun hanjeli dan bunga telang memiliki potensi awal sebagai produk pangan fungsional dengan aktivitas antioksidan, serta sebagai bahan baku pendukung untuk pengembangan sediaan farmasi berbasis antioksidan alami. Namun, pemanfaatan pada aplikasi farmasi masih memerlukan penelitian lanjutan yang mencakup uji stabilitas senyawa bioaktif, keamanan konsumsi, dan evaluasi efektivitas biologis secara *in vivo*.

Daftar Pustaka

- [1] D. K. A. Andrade *et al.*, “Kombucha: An old tradition into a new concept of a beneficial, health-promoting beverage,” *Foods*, vol. 14, no. 9, Art. no. 1547, 2025, doi: 10.3390/foods14091547.
- [2] R. M. D. Coelho *et al.*, “Kombucha: Review,” *Int. J. Gastron. Food Sci.*, vol. 22, Art. no. 100272, 2020, doi: 10.1016/j.ijgfs.2020.100272.
- [3] E. Zubaidah *et al.*, “Kombucha based on Javanese turmeric (*Curcuma zanthorrhiza* and *Curcuma zedoaria*): Effect of various concentrations and antioxidant activity,” *El-Hayah: Jurnal Biologi*, vol. 10, no. 2, pp. 88–99, 2025, doi: 10.18860/elha.v10i2.35542.
- [4] Q. Yu *et al.*, “An isolated compound from stems and leaves of *Coix lacryma-jobi* L. and its anticancer effect,” *Food Biosci.*, vol. 42, Art. no. 101047, 2021, doi: 10.1016/j.fbio.2021.101047.
- [5] W. Widowati *et al.*, “Butterfly pea flower (*Clitoria ternatea* L.) extract displayed antidiabetic effect through antioxidant, anti-inflammatory, lower hepatic GSK-3 β , and pancreatic glycogen on diabetes mellitus and dyslipidemia rat,” *J. King Saud Univ. – Sci.*, vol. 35, no. 4, Art. no. 102579, 2023, doi: 10.1016/j.jksus.2023.102579.
- [6] M. Gantner *et al.*, “Influence of herbal additives on the physicochemical, microbiological, polyphenolic, and sensory profile of green tea-based kombucha,” *Foods*, vol. 14, no. 20, 2025, doi: 10.3390/foods14203497.
- [7] L. T. Phung *et al.*, “Changes in the chemical compositions and biological properties of kombucha beverages made from black teas and pineapple peels and cores,” *Sci. Rep.*, vol. 13, no. 1, 2023, doi: 10.1038/s41598-023-34954-7.
- [8] T. Aksornsri *et al.*, “Development of kombucha-like beverage using butterfly pea flower extract with the addition of tender coconut water,” *Int. J. Gastron. Food Sci.*, vol. 34, 2023, doi: 10.1016/j.ijgfs.2023.100825.
- [9] V. C. Barros, V. A. Botelho, and R. C. Chisté, “Alternative substrates for the development of fermented beverages analogous to kombucha: An integrative review,” *Foods*, vol. 13, no. 11, 2024, doi: 10.3390/foods13111768.
- [10] F. Rezaldi *et al.*, “Bioteknologi kombucha bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) sebagai antibakteri *Salmonella typhi* dan *Vibrio parahaemolyticus* berdasarkan konsentrasi gula aren,” *Jurnal Gizi Kerja dan Produktivitas*, vol. 3, no. 1, p. 13, 2022, doi: 10.52742/jgkp.v3i1.14724.



- [11] A. R. Hafsari *et al.*, “Karakteristik pH kultur kombucha teh hitam dengan jenis gula berbeda pada fermentasi batch-culture,” *Gunung Djati Conf. Series*, vol. 6, 2021. [Online]. Available: <https://conference.uinsgd.ac.id/>
- [12] L. B. X. Nguyen, A. D. Do, and T. Phan Van, “Development and evaluation of *Piper sarmentosum*-based kombucha: Fermentation, bioactivity, and sensory acceptance,” *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, vol. 75, no. 1, pp. 16–23, 2025, doi: 10.31883/pjfn/199629.
- [13] N. Yuliana *et al.*, “Total microbe, physicochemical property, and antioxidative activity during fermentation of cocoa honey into kombucha functional drink,” *Appl. Food Res.*, vol. 3, no. 1, 2023, doi: 10.1016/j.afres.2023.100297.
- [14] L. de M. Santos *et al.*, “Production and characterization of kombucha-like beverage by cocoa (*Theobroma cacao*) by-product as raw material,” *Future Foods*, vol. 11, 2025, doi: 10.1016/j.fufo.2024.100528.
- [15] D. A. Savitri *et al.*, “Chemical and microbiological characteristics of kombucha beverage produced from Robusta and Arabica coffee with varied roasting profiles,” *J. Appl. Agric. Sci. Technol.*, vol. 8, no. 3, pp. 290–302, 2024, doi: 10.55043/jaast.v8i3.286.
- [16] ISO, *Microbiology of the food chain—Horizontal method for the enumeration of microorganisms—Part 1*, ISO Standard, 2013. [Online]. Available: <https://standards.itech.ai/>
- [17] D. Guney, M. G. B. Başdoğan, and I. Sengun, “Probiotic characterisation of lactic acid bacteria isolated from pickles and their potential application as presumptive probiotic starter culture in cucumber pickles,” *J. Food Meas. Charact.*, vol. 19, no. 3, pp. 2077–2097, 2025, doi: 10.1007/s11694-025-03101-3.
- [18] M. de Lagarde *et al.*, “Clonal and plasmidic dissemination of critical antimicrobial resistance genes through clinically relevant ExPEC and APEC-like lineages in dairy cattle,” *Front. Microbiol.*, vol. 14, 2023, doi: 10.3389/fmicb.2023.1304678.
- [19] N. Cheepchirasuk *et al.*, “Functional metabolites and inhibitory efficacy of kombucha beverage on pathogenic bacteria, free radicals and inflammation,” *Sci. Rep.*, vol. 15, no. 1, 2025, doi: 10.1038/s41598-025-03545-z.
- [20] F. Rezaldi *et al.*, “Aktivitas antioksidan pada sediaan kombucha bunga telang yang diracik dari formulasi gula aren dan madu SR12,” *Agribios*, vol. 22, no. 2, pp. 165–175, 2024, doi: 10.36841/agribios.v22i2.5210.
- [21] N. Sanwal *et al.*, “Kombucha fermentation: Recent trends in process dynamics, functional bioactivities, toxicity management, and potential applications,” *Food Chem. Adv.*, vol. 3, 2023, doi: 10.1016/j.focha.2023.100421.
- [22] R. G. Xiong *et al.*, “Antioxidant activities, phenolic compounds, and sensory acceptability of kombucha-fermented beverages from bamboo leaf and mulberry leaf,” *Antioxidants*, vol. 12, no. 8, Art. no. 1573, 2023, doi: 10.3390/antiox12081573.