

**EFEKTIVITAS DAN KUALITAS PRODUK FERMENTASI KOMBUCHA
DENGAN KOMBINASI SUBSTRAT TEH DAUN SUKUN (*Artocarpus altilis*
(Parkinson) Fosberg) DAN LEMON (*Citrus limon* (L.) Burm. f.)**

***EFFECTIVENESS AND QUALITY OF KOMBUCHA FERMENTED
PRODUCT WITH COMBINATION OF BREAD FRUIT LEAF TEA
(Artocarpus altilis (Parkinson) Fosberg) AND LEMON (Citrus limon (L.)
Burm. f.) SUBSTRATES***

Ardhelia Christy Anggraini¹, Endah Retnaningrum^{2*}

¹Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada

²Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada
Jalan Teknik Selatan, Sekip Utara, Yogyakarta 55281

ABSTRAK

Daun sukun dapat dimanfaatkan sebagai minuman fungsional, salah satunya teh herbal yang kemudian dapat dibuat menjadi kombucha dan dikombinasikan dengan lemon. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari senyawa fenolik, organoleptik, nilai pH, persentase asam asetat, total gula, total mikrobial dan berat bioselulosa, serta efektivitas antibakteri kombucha teh daun sukun dan lemon. Cara kerja pada penelitian ini terdiri dari pembuatan kombucha, skrining fitokimia, pengujian organoleptik, perhitungan nilai pH, persentase asam total, gula total, dan pengujian aktivitas antibakteri. Hasil skrining fitokimia menunjukkan kombucha mengandung senyawa fenolik berupa flavonoid dan tanin. Hasil organoleptik menunjukkan produk kombucha yang difermentasi selama 15 hari dapat diterima dalam kategori suka dan agak suka. Nilai pH menurun sebesar 2,31-2,96, Persentase asam asetat meningkat sebesar 0,348-0,038%, gula total secara umum mengalami penurunan sebesar 1,42-10,90%, total bakteri meningkat dari hari ke-0 hingga 7 dan menurun pada hari ke-15, total khamir meningkat selama 15 hari, Bioselulosa hari ke-15 memiliki berat basah (127,73g) dan kering (35,21g). Kombucha memiliki efektivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif.

Kata kunci: daun sukun; kombucha; lemon; SCOBY; teh herbal

ABSTRACT

Breadfruit leaves can be used as functional drinks, one of which is herbal tea, which can then be made into kombucha and combined with lemon. This study aims to study phenolic compounds, organoleptic, pH value, percentage of acetic acid, total sugar, total microbial, biocellulose weight, and antibacterial effectiveness of kombucha breadfruit and lemon leaf tea. The working methods in this study consisted of kombucha making, phytochemical screening, organoleptic testing, calculating pH values, percentage of total acid, total sugar, and testing of antibacterial activity. The results of the phytochemical screening showed that kombucha contains phenolic compounds in the form of flavonoids and tannins. Organoleptic results showed that kombucha fermented for 15 days could be accepted in the like and rather like category. The pH value decreased by 2.31-2.96, percentage of acetic acid increased by 0.348-0.038%, in general, total sugar decreased by 1.42-10.90%, total bacteria increased from day 0 to 7 and decreased on day 15, total yeast increased for 15 days, biocellulose on day 15 had a wet (127.73g) and dry (35.21g) weight. Kombucha has antibacterial effectiveness against Gram positive and Gram negative bacteria.

Keywords: breadfruit leaf; herbal tea; kombucha, lemon

^{*}) Penulis Korespondensi.

E-mail: endahr@ugm.ac.id

Pendahuluan

Sukun merupakan tumbuhan yang dapat berkembang dengan baik di negara tropis seperti di Indonesia. Sukun (*Artocarpus altilis*) merupakan tumbuhan multifungsi yang secara umum telah diketahui dapat dimanfaatkan oleh manusia mulai dari buah, daun, getah, bunga, batang, maupun akarnya (Supriati, 2010). Salah satu bagian dari tumbuhan sukun yang dapat dimanfaatkan sebagai minuman fungsional yaitu bagian daunnya, salah satunya dengan diolah menjadi teh herbal. Teh herbal merupakan minuman yang umumnya diseduh dari campuran beberapa bahan seperti daun, buah, atau tanaman obat lain (Lubis & Mutia, 2018). Teh daun sukun dapat diolah menjadi produk fermentasi yang disebut dengan kombucha, yaitu merupakan minuman tradisional hasil fermentasi teh dan gula yang dibuat menggunakan kultur simbiosis bakteri dan khamir yaitu SCOBY (*Symbiotic Cultures of Bacteria and Yeast*) (Antolak *et al.*, 2021). Produk teh kombucha dapat dibuat variasinya dengan mengkombinasikan buah ke dalam larutan kombucha. Pembuatan kombucha dengan kombinasi substrat teh daun sukun dan lemon sebelumnya belum pernah dilaporkan. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari senyawa fenolik, proses fermentasi ditinjau berdasarkan aspek organoleptik, nilai pH, persentase asam asetat, total gula, total mikrobial, berat bioselulosa, serta efektivitas antibakteri pada produk fermentasi kombucha dengan kombinasi substrat teh daun sukun (*Artocarpus altilis*) dan lemon (*Citrus limon*).

Metode Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain yaitu SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*) strain RTS, air mineral, gula pasir (Rose brand), teh daun sukun (Laasyaka), buah lemon, larutan NaOH 0,1 M, larutan asam oksalat 0,1 N, indikator fenoltalein 1%, reagen DNS, serbuk Magnesium, larutan NaCl fisiologis 0,85%, alkohol 70%, alkohol 96%, HCl 5 M, larutan FeCl₃ 1%, larutan H₂SO₄ 1%, larutan BaCl₂ 1%, Mueller Hinton Agar (MHA), *Plate Count Agar* (PCA), nystatin, amoxicillin, akuades, kertas cakram, isolat *Escherichia coli*, isolat *Staphylococcus aureus*, dan *Nutrient Agar* (NA).

Pembuatan kombucha

Komposisi yang digunakan dalam pembuatan kombucha teh daun sukun dan lemon yaitu gula pasir 20% (w/v), SCOBY 11% (w/v), dan cairan kombucha RTS 10% (v/v) (Battikh *et al.*, 2013; Khamidah & Antarlina, 2020). Teh daun sukun disiapkan sebanyak 8 kantong teh, 1 buah lemon segar yang telah dipotong-potong, gula pasir sebanyak 600 gram, dan air sebanyak 3 liter. Air sebanyak 3 liter direbus hingga mendidih, kemudian kompor dimatikan. Teh daun sukun dimasukkan dalam rebusan air dan diaduk selama 15 menit, kemudian lemon yang telah dipotong-potong dimasukkan lalu diaduk. Gula pasir sebanyak 600g kemudian dimasukkan pada larutan yang sudah agak mendingin, diaduk hingga bercampur, kemudian didiamkan hingga mencapai suhu ruang. Campuran yang telah dingin tersebut kemudian disaring dan dituangkan ke dalam toples kaca. Larutan teh dan lemon dalam toples tersebut kemudian dimasukan dalam toples kaca berukuran 500ml sebanyak hari fermentasi yang dijadikan sampel uji yaitu pada hari ke-0, 3, 6, 9, 12, dan 15 fermentasi. Masing-masing toples diisi larutan teh sebanyak 300ml, kemudian ditambahkan SCOBY 11% (b/v) dan starter cair RTS 10% (v/v). Toples kaca kemudian ditutup menggunakan kain bersih dan diikat dengan karet. Masing-masing sampel larutan teh daun sukun dan lemon di fermentasi selama 15 hari.

Skrining fitokimia

Skrining fitokimia kombucha teh daun sukun dan lemon terdiri dari uji flavonoid dan tanin. Pengujian flavonoid dilakukan dengan cara sampel kombucha diambil sebanyak 2ml, kemudian ditambahkan dengan serbuk Mg serta beberapa tetes HCl 5M. Adanya flavonoid ditandai dengan timbulnya warna merah, jingga, merah jambu atau ungu. Pengujian tanin dilakukan dengan cara sampel diambil sebanyak 2ml, kemudian ditambahkan 3 tetes FeCl₃ 1%. Adanya tanin ditandai dengan terjadinya perubahan warna pada sampel kombucha beberapa saat setelah diberi FeCl₃ 1% (Ogori *et al.*, 2017).

Pengujian organoleptik

Pengujian organoleptik dilakukan dengan cara menggunakan kemampuan indra kita untuk dapat melihat warna, mencium bau, dan merasakan dari kombucha (Cholidah *et al.*, 2020). Pengujian organoleptik pada kombucha dilakukan pada saat hari ke-0 dan 15 fermentasi

dan diujikan pada 15 panelis untuk diamati dan dicicipi kemudian penilaian dilakukan secara daring menggunakan *Google Formulir*. Indikator yang diamati yaitu perubahan warna, aroma, rasa, tingkat kemanisan, dan tingkat keasaman pada kombucha teh daun sukun dan lemon.

Perhitungan nilai pH

Cara kerja yang dilakukan dalam pengukuran pH kombucha teh daun sukun dan lemon yaitu sampel kombucha diambil sebanyak 25 mL dengan pengulangan sebanyak tiga kali, kemudian masing-masing pengulangan diukur pH nya menggunakan pH meter digital. Nilai pH dapat dicatat pada saat pH meter menunjukkan kata “Ready”. Pengukuran pH dilakukan setiap tiga hari selama 15 hari fermentasi dengan interval waktu tiga hari, yaitu pada hari ke-0, 3, 6, 9, 12, dan 15 (Cholidah *et al.*, 2020).

Perhitungan persentase asam asetat

Pengujian persentase asam asetat pada kombucha dilakukan dengan metode titrasi alkalimetri. Pengambilan data dilakukan selama 15 hari fermentasi dengan interval waktu tiga hari, yaitu pada hari ke-0, 3, 6, 9, 12, dan 15. Normalitas NaOH ditentukan dengan standardisasi menggunakan asam oksalat. Titrasi dilakukan dengan mengambil sampel sebanyak 10ml kemudian dimasukkan dalam labu ukur 100ml dan ditambahkan dengan akuades hingga tanda batas. Sampel pada labu ukur dihomogenisasi kemudian diambil sebanyak 10ml pada Erlenmeyer sebanyak tiga kali ulangan. Sampel pada erlenmeyer kemudian ditambahkan 3 tetes indikator fenoltalein. Sampel kemudian dititrasi menggunakan larutan NaOH 0,1M hingga warnanya berubah menjadi merah muda.

Perhitungan total gula

Perhitungan total gula pada kombucha teh daun sukun dan lemon dilakukan selama 15 hari fermentasi dengan interval waktu tiga hari yaitu hari ke-0, 3, 6, 9, 12, dan 15. Perhitungan total gula diawali dengan pembuatan kurva standar konsentrasi glukosa. Konsentrasi glukosa yang digunakan yaitu 0 g/10ml, 0,5 g/10ml, 1 g/10ml, 1,5 g/10ml, dan 2 g/10ml. Akuades diambil sebanyak 10 ml kedalam tabung reaksi untuk masing-masing konsentrasi glukosa. Glukosa dihomogenasikan lalu diambil sebanyak 1 ml, ditambahkan akuades 2 ml dan ditambahkan reagen DNS sebanyak 1 ml. Tabung reaksi

tersebut kemudian diletakkan pada gelas beker berisi akuades dan dipanaskan menggunakan *hot plate* pada suhu 90-100°C selama 5 menit. Tabung reaksi setelah dipanaskan selama 5 menit kemudian diletakkan pada gelas beker berisi akuades dingin untuk didinginkan selama 5 menit. Pembuatan blanko dilakukan dengan diambil akuades sebanyak 3ml, kemudian ditambahkan dengan reagen DNS sebanyak 1 ml. Masing-masing konsentrasi glukosa diuji dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 560nm. Nilai absorbansi yang diperoleh diolah menggunakan *Microsoft Excel* hingga memperoleh kurva standar glukosa dan nilai regresi. Pengujian pada sampel kombucha dilakukan dengan cara yang sama dengan pembuatan kurva standar, yaitu dengan cara sampel kombucha pada masing-masing hari diambil sebanyak 1ml kedalam tabung reaksi yang telah berisi akuades 2ml. Reagen DNS kemudian diambil sebanyak 1ml kedalam masing-masing tabung reaksi yang telah berisi akuades dan sampel. Tabung reaksi dipanaskan selama 5 menit kemudian didinginkan selama 5 menit. Sampel kombucha diuji menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 560nm dan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Nilai absorbansi yang diperoleh diolah menggunakan *Microsoft Excel* untuk menghitung total gula dari kurva standar yang telah diperoleh.

Perhitungan total mikrobial dan berat bioselulosa

Perhitungan total mikroorganisme pada kombucha teh daun sukun dan lemon dilakukan dengan metode *Total Plate Count* (TPC). Perhitungan dilakukan untuk mengetahui total bakteri dan khamir dalam kombucha pada awal hari ke-0, 7, dan 15 fermentasi. Sampel kombucha teh daun sukun dan lemon diambil sebanyak 1 ml kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi berisi 9 ml akuades steril (pengenceran 10^{-1}) dan dilanjutkan pengenceran bertingkat 10^{-2} hingga 10^{-3} . Hasil pengenceran dari 10^{-1} , 10^{-2} dan 10^{-3} diambil sebanyak 100 μ l dan diinokulasi pada medium *Plate Count Agar* (PCA) secara *pour plate*. Medium PCA yang digunakan untuk bakteri berbeda dengan khamir, dimana untuk bakteri, medium PCA diberi nystatin (antijamur), sedangkan untuk khamir diberi amoxicillin (antibiotik). Masing-masing pengenceran dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali, baik untuk khamir maupun bakteri. Medium untuk menumbuhkan bakteri diinkubasi

pada suhu 37°C selama 24 jam, sedangkan khamir diinkubasi pada suhu 30°C selama 72 jam. Hasil perhitungan yang diperoleh dinyatakan sebagai *colony forming units/ml* (CFU/ml) (Tan *et al.*, 2020).

Penentuan berat bioselulosa pada kombucha teh daun sukun dan lemon dilakukan dengan cara menimbang SCOBY menggunakan timbangan digital analitik. Angka yang tertera pada timbangan menunjukkan berat basah SCOBY. Berat kering bioselulosa ditentukan dengan cara SCOBY dikeringkan terlebih dahulu menggunakan oven selama hingga memperoleh berat konstan, kemudian ditimbang menggunakan timbangan digital analitik dan dicatat hasil pengukurannya.

Pengujian aktivitas antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri pada kombucha teh daun sukun dan lemon dilakukan menggunakan metode *Disc Diffusion* (Tes Kirby-Bauer) (Sari *et al.*, 2017). Aktivitas antibakteri diujikan menggunakan isolat bakteri *E. coli* dan *S. aureus* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi di Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada. Pengujian aktivitas antibakteri terdapat tiga tahapan, yaitu persiapan yang meliputi peremajaan bakteri, pembuatan suspensi bakteri, dan pengukuran zona hambat. Tahap pertama yaitu peremajaan bakteri *E. coli* dan *S. aureus* menggunakan medium agar miring dan ditumbuhkan pada 37°C selama 24 jam. Tahap selanjutnya ialah pembuatan suspensi bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dengan menyamakan tingkat kekeruhannya mencapai seperti larutan standar McFarland 0,5 yang sebanding dengan jumlah koloni sel sekitar $1,5 \times 10^8$ CFU/ml. Suspensi selanjutnya diuji menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 600 nm dan memiliki absorbansi 0,1 (Nasab & Tabari, 2018). Suspensi bakteri yang telah sesuai kemudian diinokulasikan pada MHA secara merata. Kertas cakram diambil dan dicelupkan ke dalam sampel kombucha sebagai kontrol positif dan dicelupkan dalam akuades steril sebagai kontrol negatif, kemudian diletakkan pada permukaan medium MHA. Medium kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Adanya aktivitas antibakteri ditandai dengan munculnya diameter zona hambat (mm) antibakteri yang dihasilkan di sekitar kertas cakram (Sari *et al.*, 2017).

Data yang telah diperoleh kemudian diolah menggunakan program *Microsoft Excel* dan dianalisis menggunakan ANOVA dan DMRT

(*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf 95% dengan signifikansi 0,05 dalam program IBM SPSS 2.0. Hasil disajikan dalam bentuk histogram yaitu histogram nilai pH, persentase asam asetat, dan total gula per lama fermentasi (hari). Hasil yang disajikan dalam bentuk tabel terdiri dari skrining fitokimia, organoleptik, total mikrobial, berat bioselulosa, serta diameter zona hambat.

Hasil dan Pembahasan

Skrining fitokimia

Skrining fitokimia, yaitu tahap awal untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada sampel yang diujikan dengan cara direaksikan dengan bahan kimia tertentu, kemudian diamati perubahan yang terjadi seperti terbentuk endapan, buih, atau perubahan warna (Kayaputri *et al.*, 2014; Shaikh & Patil, 2020). Pada penelitian ini, metabolit sekunder yang ingin diketahui pada produk fermentasi kombucha yaitu flavonoid dan tanin.

Berdasarkan Tabel 1. dapat diketahui bahwa kombucha dengan substrat teh daun sukun dan lemon pada hari ke-0 dan 15 fermentasi terdapat metabolit sekunder yaitu flavonoid dan tanin. Adanya flavonoid ditunjukkan melalui perubahan warna sampel menjadi kuning pada hari ke-0 dan 15 fermentasi. Hal ini sesuai dengan literatur, yakni adanya flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna kuning, jingga, atau merah pada sampel setelah direaksikan dengan serbuk magnesium dan asam klorida (Nor *et al.*, 2018). Tanin terdapat pada sampel kombucha pada hari ke-0 dan 15 fermentasi yang ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna pada sampel menjadi cokelat. Hal ini sesuai dengan literatur, yaitu adanya tanin pada sampel diindikasikan dengan terjadinya perubahan warna setelah ditetesi dengan FeCl_3 1% (Ogori *et al.*, 2017).

Senyawa fenolik seperti flavonoid dan tanin yang terdapat pada kombucha memiliki aktivitas antioksidan karena dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan menangkap berbagai spesies oksigen reaktif (ROS). Flavonoid sebagai antibakteri memiliki mekanisme kerja dengan merusak membran sel bakteri, menghambat DNA gyrase dan aktivitas enzim ATPase sehingga bakteri tidak dapat tumbuh. Tanin sebagai antibakteri bekerja dengan cara mengubah permeabilitas membran sitoplasma bakteri sehingga pertumbuhannya terhambat hingga mati. Bakteri seperti *E. coli* dan

S. aureus dapat dihambat pertumbuhannya dengan adanya senyawa tanin dan flavonoid (Kayaputri *et al.*, 2014; Noer & Pratiwi, 2016; Marfuah *et al.*, 2018).

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia kombucha dengan substrat teh daun sukun dan lemon

Hari ke-	Uji	Pereaksi	Hasil		Hasil pengujian
			Kontrol	Sampel	
0	Flavonoid	Mg + HCl	-	+	Kuning
	Tanin	FeCl ₃	-	+	Cokelat
15	Flavonoid	Mg + HCl	-	+	Kuning
	Tanin	FeCl ₃	-	+	Cokelat

Keterangan:

+ terdapat metabolit sekunder

- tidak terdapat metabolit sekunder

Organoleptik

Pengujian organoleptik didasarkan pada indera manusia seperti penciuman, perasa, dan penglihatan. Indikator yang dinilai pada uji organoleptik antara lain yaitu warna, aroma, rasa, tingkat kemanisan, dan keasaman. Berdasarkan hasil yang diperoleh pada Tabel 2 dapat diketahui bahwa pada hari ke-0 fermentasi tingkat kesukaan panelis terhadap warna, aroma, dan rasa kombucha dengan rentang 4,53-4,73 yang dikategorikan sangat suka, sedangkan tingkat kemanisan dan keasaman kombucha pada hari ke-0 fermentasi dengan nilai rerata organoleptik dalam rentang 3,93-4,13 yang dikategorikan suka. Pada hari ke-15, tingkat kesukaan panelis terhadap warna dan rasa kombucha dalam rentang 3,53-4,13 yang dikategorikan suka, sedangkan kesukaan terhadap aroma, tingkat kemanisan dan keasaman dalam rentang 2,73-3,27.

Perbedaan kesukaan panelis pada produk kombucha hari ke-0 dan 15 fermentasi dikarenakan terjadi perubahan pada warna, aroma, rasa, tingkat kemanisan, dan tingkat keasaman akibat proses fermentasi kombucha. Kombucha pada hari ke-0 fermentasi memiliki warna yang paling disukai panelis daripada kombucha hari ke-15 fermentasi, hal ini bergantung pada starter yang digunakan dan lamanya fermentasi. Warna kombucha pada hari ke-0 fermentasi yaitu kuning muda karena belum ditambahkan dengan starter, sedangkan kombucha pada hari ke-15 fermentasi berubah warna menjadi cokelat muda karena telah ditambahkan starter RTS yang berwarna ungu tua. Aroma yang sangat disukai panelis yaitu pada kombucha hari ke-0 daripada hari ke-15 fermentasi, hal ini karena pada hari ke-0

kombucha memiliki aroma harum yang berasal dari asam sitrat pada buah lemon (Saragih *et al.*, 2017). Aroma kombucha pada hari ke-15 agak disukai karena panelis menyatakan bahwa aroma kombucha yang dominan adalah asam dan alkoholik. Hal ini terjadi karena semakin lama fermentasi maka pH akan semakin turun yang berarti sifat kombucha menjadi semakin asam dan kandungan alkohol semakin meningkat, akibatnya berpengaruh pada aroma kombucha yang didominasi asam asetat sehingga beraroma asam seperti cuka (Kumar & Joshi, 2016). Kombucha pada hari ke-0 memiliki rasa yang sangat disukai panelis dibandingkan dengan hari ke-15. Hal ini karena pada kombucha hari ke-0 masih terasa manis, sedangkan kombucha hari ke-15 sudah terfermentasi dan berasa asam, sedikit rasa buah, dan alkoholik. Tingkat kemanisan kombucha pada hari ke-0 lebih disukai panelis daripada hari ke-15 fermentasi karena pada hari ke-15 sukrosa telah banyak dihidrolisis oleh mikroorganisme sehingga tingkat kemanisan menurun namun asam organik meningkat (Jayabalan *et al.*, 2014). Tingkat kemanisan dan keasaman kombucha pada hari ke-0 lebih disukai panelis daripada hari ke-15 dengan kategori agak suka, hal ini karena panelis lebih menyukai rasa manis kombucha pada hari ke-0 dibandingkan dengan rasa asam kombucha setelah fermentasi selama 15 hari.

Tabel 2. Rerata nilai organoleptik kombucha teh daun sukun dan lemon pada hari ke-0 dan 15 fermentasi

Hari ke-	Warna	Aroma	Rasa	Tingkat Kemanisan	Tingkat keasaman
0	4,53	4,73	4,73	4,13	3,93
15	4,13	3,27	3,53	2,93	2,73

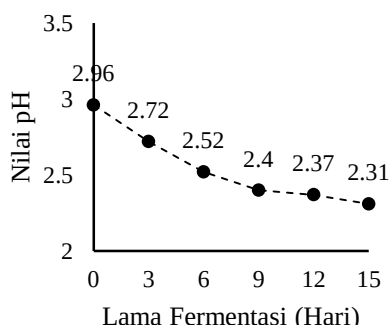
Keterangan: angka merupakan rerata nilai organoleptik. Kategori nilai antara lain 1: sangat tidak suka; 2: tidak suka; 3: agak suka; 4: suka; 5: sangat suka.

Nilai pH

Nilai pH merupakan indikator penting dalam proses fermentasi. Penurunan nilai pH kombucha dengan substrat teh daun sukun dan lemon selama 15 hari fermentasi terjadi karena terdapat peningkatan jumlah proton (H^+) dari asam-asam organik yang dihasilkan melalui aktivitas metabolisme mikroorganisme (Sulistiyawati & Solihat, 2022). Berdasarkan Gambar 1, dapat diketahui bahwa perlakuan lama fermentasi berhubungan dengan nilai pH, yaitu nilai pH semakin rendah. Rata-rata nilai pH kombucha dengan substrat teh daun sukun dan lemon yang diberi perlakuan lama fermentasi selama 15 hari yaitu 2,31 hingga 2,96 seperti yang ditunjukkan pada

Gambar 4. Nilai pH tertinggi diperoleh pada hari ke-0 yang merupakan kontrol perlakuan yaitu sebesar 2,96. Nilai pH terendah yang diperoleh yaitu 2,31 pada hari ke-15 yang merupakan hari terakhir fermentasi. Semakin lama waktu fermentasi, kadar asam asetat semakin banyak sehingga semakin banyak proton (H^+) dalam medium yang mengakibatkan pH semakin turun dan kombucha semakin asam.

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Puspaningrum *et al.* (2022) yang melaporkan bahwa semakin lama waktu fermentasi pH kombucha cascara mengalami penurunan yaitu berkisar antara 6,30 hingga 1,46 selama 14 hari. Nilai pH kombucha yang aman untuk dikonsumsi berkisar antara 4,2 – 2,5 dimana pada hasil penelitian ini menyatakan bahwa nilai pH yang berada dalam rentang tersebut yaitu pada lama fermentasi 6 hari dan dapat dikatakan aman untuk dikonsumsi. Nilai pH bila berada diatas 4,2 memiliki risiko terhadap keamanan mikrobiologis, sedangkan pH dibawah 2,5 dapat menimbulkan masalah kesehatan karena adanya asam asetat dengan konsentrasi tinggi pada kombucha (Cardoso *et al.*, 2020). Minuman dengan pH yang sangat rendah ketika dikonsumsi dapat membahayakan kesehatan seperti dapat melukai dinding organ pencernaan, sehingga kombucha yang memiliki pH rendah tetap dapat dikonsumsi dengan cara diencerkan atau melarutkan kombucha dengan air (Lestari & Sa'diyah, 2020).

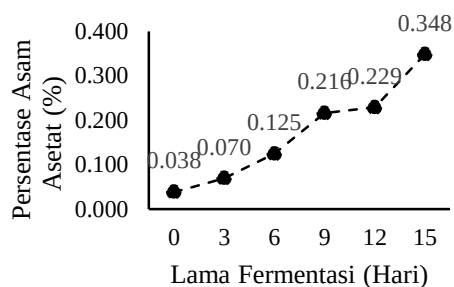


Gambar 1. Nilai pH teh daun sukun dan lemon pada selama 15 hari fermentasi

Persentase asam asetat

Berdasarkan Gambar 2, dapat diketahui bahwa perlakuan lama fermentasi berhubungan dengan persentase asam asetat pada kombucha yaitu semakin tinggi. Persentase asam asetat kombucha dengan substrat teh daun sukun dan lemon yang diberi perlakuan lama fermentasi selama 15 hari yaitu 0,038% hingga 0,348% dimana hasil tersebut menunjukkan bahwa persentase asam asetat semakin hari semakin meningkat. Kenaikan persentase asam asetat terjadi karena peningkatan produksi asam asetat oleh bakteri asam asetat sebagai mikroorganisme aerobik dominan pada kombucha. Asam asetat

juga bertanggung jawab atas rasa dan aroma seperti cuka pada kombucha (Tan *et al.*, 2020; Bishop *et al.*, 2022). Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Ardheniati *et al.* (2009) yang melaporkan bahwa kadar asam asetat pada kombucha teh hijau mengalami peningkatan pada hari ke-0 hingga hari ke-5 fermentasi dari 0,602% menjadi 1,151%, sedangkan pada kombucha teh hitam mengalami peningkatan kadar asam asetat sebesar 0,620% menjadi 1,160% selama 6 hari fermentasi.

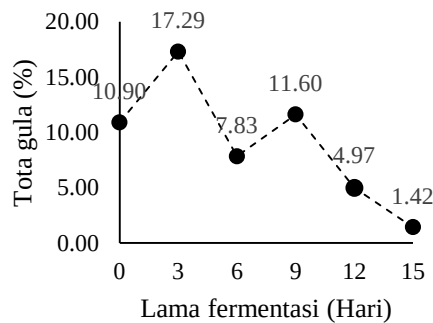


Gambar 2. Persentase asam asetat kombucha teh daun sukun dan lemon selama 15 hari fermentasi

Total gula

Berdasarkan Gambar 3, dapat diketahui bahwa lama fermentasi berpengaruh terhadap total gula pada kombucha teh daun sukun dan lemon. Rata-rata total gula yang diperoleh selama 15 hari fermentasi yaitu berkisar antara 10,90% hingga 1,42% seperti yang ditunjukkan Gambar 3. Total gula yang digunakan mikroorganisme pada hari ke-0 fermentasi sebesar 10,90% kemudian meningkat menjadi 17,29% pada hari ke-3 fermentasi. Total gula kemudian menurun pada hari ke-6 fermentasi sebesar 7,83% kemudian meningkat menjadi 11,60% pada hari ke-9 dan terus mengalami penurunan hingga hari ke-15 fermentasi. Penurunan dan peningkatan total gula terjadi karena khamir dan bakteri memanfaatkan sukrosa sebagai sumber energi. Sukrosa dimanfaatkan oleh khamir untuk dihidrolisis menggunakan enzim invertase sehingga menghasilkan glukosa dan fruktosa, selain itu khamir juga menghasilkan karbondioksida dan air melalui respirasi aerob, serta alkohol yang dihasilkan melalui respirasi anaerob. Bakteri asam asetat kemudian menggunakan glukosa, fruktosa, serta alkohol untuk memproduksi asam asetat dan bioselulosa (Ardheniati *et al.*, 2009; Nhan *et al.*, 2020). Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Puspaningrum *et al.*, (2022) yang melaporkan bahwa selama 14 hari fermentasi, total gula mengalami kenaikan dan penurunan,

yaitu pada hari ke-0 fermentasi sebesar 7,49% menurun menjadi 4,96% dan 4,44% pada hari ke-4 dan 8 fermentasi. Total gula meningkat pada hari ke-10 fermentasi menjadi 6,15% kemudian menurun menjadi 3,60% dan 2,85% pada hari ke-12 dan 14 fermentasi.



Gambar 6. Total gula pada kombucha teh daun sukun dan lemon selama 15 hari fermentasi

Total mikrobial dan berat bioselulosa

Perhitungan mikrobial pada kombucha teh daun sukun dan lemon dilakukan menggunakan uji *Total Plate Count* (TPC) yang bertujuan untuk menentukan jumlah mikrobial pada sampel kombucha, dalam hal ini bakteri dan khamir sebagai mikrobial yang terdapat pada kombucha dengan cara menghitung koloni masing-masing mikrobial yang ditumbuhkan pada media agar yaitu *Plate Count Agar* (PCA) (Yunita *et al.*, 2015). Koloni mikrobial yang terhitung dilaporkan sebagai *Colony Forming Units/ml* (CFU/ml) (Tan *et al.*, 2020). Berdasarkan Tabel 3, dapat diketahui bahwa koloni bakteri pada kombucha teh daun sukun dan lemon pada hari ke-0 fermentasi berjumlah $0,3 \times 10^1$ CFU/ml kemudian mengalami kenaikan pada hari ke-7 menjadi $1,7 \times 10^4$ CFU/ml dan menurun pada hari ke-15 menjadi $3,3 \times 10^1$ CFU/ml. Koloni khamir pada hari ke-0 berjumlah $0,3 \times 10^1$ CFU/ml meningkat pada hari ke-7 menjadi $5,3 \times 10^1$ CFU/ml dan meningkat lagi pada hari ke-15 menjadi $2,8 \times 10^3$ CFU/ml.

Peningkatan jumlah koloni bakteri disebabkan karena terjadi peningkatan gula reduksi yang dihasilkan dari hidrolisis khamir pada sukrosa yang terdapat pada kombucha. Sukrosa yang dihidrolisis oleh khamir menjadi glukosa dan fruktosa dimanfaatkan oleh bakteri yang dominan pada kombucha yaitu bakteri asam asetat untuk digunakan sebagai sumber karbon dan nutrisi yang berpengaruh pada pertumbuhan sel bakteri. Pada hari ke-15, jumlah koloni bakteri mengalami penurunan yang disebabkan oleh nutrisi yang terkandung dalam media

mengalami penurunan atau telah habis dan tingginya kondisi asam pada media (Nhan *et al.*, 2020; Tan *et al.*, 2020). Kenaikan jumlah koloni khamir selama 15 hari dapat terjadi karena nutrisi yang diperoleh khamir masih mencukupi untuk pertumbuhan, namun kemampuan khamir dalam menghidrolisis sukrosa menurun (Tan *et al.*, 2020).

Pertumbuhan mikrobial dan pembentukan metabolit sekunder merupakan konversi dari substrat yang dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi. Bakteri asam asetat memanfaatkan glukosa dari hasil hidrolisis sukrosa oleh khamir untuk membentuk selulosa di permukaan media. Bakteri asam asetat seperti *Acetobacter* sp. mengubah glukosa menjadi prekursor pada membran sel kemudian disekresikan ke luar sel menjadi selulosa atau disebut juga dengan bioselulosa. Lapisan bioselulosa semakin lama waktu fermentasi semakin menebal dan jatuh ke dasar karena semakin berat, namun dapat membentuk lapisan baru di permukaan media setelah bioselulosa yang lama turun. Pertambahan berat bioselulosa yang dihasilkan pada fermentasi kombucha dapat mengindikasikan pertumbuhan mikroorganisme. Bioselulosa dapat diketahui beratnya dengan cara menimbang berat basah dan berat kering SCOBY. Berat basah ditentukan nilainya dengan menimbang SCOBY yang masih terdapat kandungan air, sedangkan berat kering dilakukan dengan menimbang SCOBY yang telah dikeringkan hingga tidak terdapat kandungan air sehingga bertujuan untuk mengetahui akumulasi senyawa organik yang dihasilkan mikrobial selama proses fermentasi (Kusumaningrum *et al.*, 2007). Berdasarkan hasil pada Tabel 4, dapat diketahui bahwa berat basah bioselulosa kombucha berbeda pada hari ke-0 yaitu sebesar 33 gram, sedangkan pada hari ke-15 sebesar 127,73g. Berat kering bioselulosa juga berbeda pada hari ke-0 yaitu sebesar 9,18g, sedangkan pada hari ke-15 sebesar 35,21 gram.

pada hari ke-0, berat bioselulosa setelah dikeringkan mengalami penurunan yang menunjukkan akumulasi senyawa organiknya. Akumulasi senyawa organik pada kombucha berdasarkan berat kering yang menunjukkan hasil tertinggi terdapat pada hari ke-15 karena merupakan hari terakhir fermentasi. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Sulistyawati & Solihat (2022), yang melaporkan bahwa selama 12 hari fermentasi berat bioselulosa pada kombucha teh

hijau dan teh hitam mengalami peningkatan dari 100 g (hari ke-0) menjadi 130 gram (hari ke-15).

Tabel 3. Total bakteri dan khamir pada kombucha teh daun sukun dan lemon

Hari ke-	Koloni Bakteri (CFU/ml)	Koloni Khamir (CFU/ml)
0	$0,3 \times 10^1$	$0,3 \times 10^1$
7	$1,6 \times 10^4$	$5,3 \times 10^1$
15	$3,3 \times 10^1$	$2,8 \times 10^3$

Tabel 4. Berat bioselulosa kombucha teh daun sukun dan lemon

Hari ke-	Berat basah (g)	Berat kering (g)
0	33	9,18
15	127,73	35,21

Aktivitas antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri kombucha dengan kombinasi substrat teh daun sukun dan lemon dilakukan untuk mengetahui pengaruhnya terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif. Bakteri Gram positif yang digunakan pada penelitian ini yaitu *Staphylococcus aureus* dan bakteri Gram negatif yaitu *Escherichia coli*. Kedua bakteri tersebut mudah ditumbuhkan dalam kondisi pertumbuhan yang berbeda sehingga lebih mudah digunakan sebagai model untuk mengamati dan menjelaskan aktivitas antibakteri di laboratorium (Lopes *et al.*, 2021).

Kombucha dengan kombinasi substrat teh daun sukun dan lemon menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif yang ditunjukkan pada Tabel 5. Berdasarkan Tabel 5., dapat diketahui bahwa diameter zona hambat dapat diamati pada hari ke-0, 7, dan 15 fermentasi. Perlakuan kontrol negatif yang diberikan yaitu menggunakan akuades steril dan hasil yang diperoleh pada hari ke-0, 7, dan 15 fermentasi yaitu tidak terbentuk zona hambat di sekitar kertas cakram sehingga tidak ada perbedaan signifikan. Rerata diameter zona hambat pada *S. aureus* meningkat pada hari ke-0 hingga 15 sebesar 5,95-21,78 mm. Zona hambat pada *E. coli* juga mengalami peningkatan pada hari ke-0 hingga 15 sebesar 3,93-15,81 mm. Aktivitas antibakteri terbaik ditunjukkan ketika melawan bakteri Gram positif yaitu *S. aureus* dengan menghasilkan rerata zona hambat sebesar 21,78 mm. Diameter zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *S. aureus* tersebut menunjukkan aktivitas antibakteri kombucha berada dalam kategori sangat kuat karena menghasilkan diameter zona hambat lebih dari 21 mm (Winastri *et al.*, 2020).

Aktivitas antibakteri pada kombucha teh daun sukun dan lemon terhadap bakteri Gram positif lebih tinggi daripada Gram negatif. Hal ini karena bakteri Gram positif memiliki peptidoglikan pada dinding sel bakteri lebih tebal daripada bakteri Gram negatif, sehingga dinding sel bakteri Gram positif lebih mudah dirusak oleh kombucha yang mengandung asam organik, khususnya asam asetat. Peptidoglikan pada dinding sel bakteri juga dapat dirusak oleh metabolit sekunder dari tumbuhan yang digunakan sebagai substrat. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Tan *et al.*, (2020) yang membuktikan adanya aktivitas antibakteri kombucha sirsak terhadap *S. aureus* dan *E. coli* dan diperoleh hasil bahwa kombucha tersebut mampu menghasilkan zona hambat baik pada bakteri Gram positif dan Gram negatif, namun zona hambat yang dihasilkan pada *S. aureus* lebih besar daripada *E. coli*. Adanya asam asetat yang tinggi pada media juga berperan sebagai antibakteri karena mampu membuat sitoplasma bakteri menjadi asam sehingga mengalami disosiasi dan mengganggu fungsi sel bakteri, sehingga berpotensi merusak struktur bilayer lipid bakteri (Tan *et al.*, 2020; Fadillah, 2022). Komponen bioaktif yang dapat berperan sebagai antibakteri selain asam asetat yaitu adanya senyawa fenolik yang terdapat pada kombucha (Kluz *et al.*, 2022). Kombucha dengan kombinasi substrat teh daun sukun dan lemon dapat dikatakan memiliki aktivitas antibakteri berspektrum luas karena kemampuannya dalam menghambat bakteri patogen yang berasal dari Gram positif dan Gram negatif (Tan *et al.*, 2020; Yanti *et al.*, 2020).

Tabel 5. Rerata diameter zona hambat (mm) kombucha terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Hari ke-	Diameter zona hambat (mm)		
	Kontrol negatif	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
0	$0,00 \pm 0,00^a$	$5,95 \pm 1,08^b$	$3,93 \pm 0,79^d$
7	$0,00 \pm 0,00^a$	$11,62 \pm 5,65^b$	$9,45 \pm 3,03^e$
15	$0,00 \pm 0,00^a$	$21,78 \pm 2,01^c$	$15,81 \pm 3,18^f$

Keterangan: rerata diameter zona hambat (mm) $\pm$ SD. Nilai yang diikuti notasi huruf tidak serupa menyatakan berbeda nyata menurut uji Duncan pada taraf signifikansi $p < 0,05$.

Kesimpulan

Senyawa fenolik yang terkandung dalam kombucha teh daun sukun dan lemon yaitu flavonoid dan tanin. Kombucha dengan kombinasi substrat teh daun sukun dan lemon

memiliki warna dan rasa dalam kategori suka, sedangkan aroma, tingkat kemanisan dan tingkat keasaman kombucha pada lama fermentasi 15 hari dalam kategori agak suka berdasarkan pengujian organoleptik. Nilai pH kombucha mengalami penurunan dari 2,96 (hari ke-0) menjadi 2,31 (hari ke-15). Persentase asam asetat mengalami peningkatan dari 0,038% (hari ke-0) menjadi 0,348% (hari ke-15). Total gula pada kombucha secara umum mengalami penurunan sebesar 1,42-7,83%. Total bakteri pada kombucha mengalami peningkatan dari hari ke-0 hingga hari ke-7 ($0,3 \times 10^1$ - $1,6 \times 10^4$ CFU/ml) dan terjadi penurunan menjadi $3,3 \times 10^1$ pada hari ke-15 fermentasi. Total khamir pada kombucha terus meningkat dari hari ke-0, hingga hari ke-15 fermentasi ($0,3 \times 10^1$ - $2,8 \times 10^3$ CFU/ml). Berat bioselulosa yang dihasilkan semakin bertambah pada hari ke-15 fermentasi yakni memiliki berat basah sebesar 127,73g dan berat kering sebesar 35,21g. Efektivitas antibakteri terbaik kombucha yaitu pada hari ke-15 fermentasi terhadap *S. aureus* dan *E. coli* dengan diameter zona hambat yang diperoleh masing-masing sebesar 21,78 mm dan 15,81 mm.

Daftar Pustaka

- Antolak, H., Piechota, D. & Kucharska, A. 2021. Kombucha tea – a double power bioactive compounds from tea and symbiotic culture of bacteria and yeast (SCOBY). *Antioxidants*, 10: 1-20.
- Ardheniati, M., Andriani, M. A. M. & Amanto, B. S. 2009. Kinetika fermentasi pada teh kombucha dengan variasi jenis the berdasarkan pengolahannya. *Biofarmasi*, 7(1): 48-55.
- Battikh, H., Chaieb, K., Bakhrouf, A., & Ammar, E. 2013. Antibacterial and antifungal activities of black and green kombucha teas. *Journal of Food Biochemistry*, 37(2), 231–236.
- Bishop, P., Pitts, E. R., Budner, D. & Thompson-Witrick, K. A. 2022. Chemical composition of kombucha. *Beverages*, 8(45): 1-17.
- Cardoso, R. R., Neto, R. O., Dos Santos D'almeida, C. T., Do Nascimento, T. P., pressete, c. G., 105haract, l., martino, h. S. D., 105haract, l. C., ferreira, m. S. L., & barros, f. A. R. De. 2020. Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities. *Food research international*, 128.
- Cholidah, A. I., Danu, D. & Nurrosyidah, I. H. 2020. Pengaruh lama waktu fermentasi kombucha rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap aktivitas antibakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 2(3): 186-210.
- 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. In *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4): 538–550.
- Kayaputri, I. L., Sumanti, D. M., Djali, M., Indiarto, R. & Dewi, D. L. 2014. Kajian fitokimia ekstrak kulit biji kakao (*Theobroma cacao* L.). *Chimica et Natura Acta*, 2(1): 83-90.
- Kluz, M. I., Pietrzyk, K., Pastuszczyk, M., Kacaniova, M., Kita, A., Kapusta, I., Zagula, G., Zagrobelna, E., Strus, K., Marciniak-Lukasiak, K., Stanek-Tarkowska, J., Timar, A. V., & Puchalski, C. 2022. Microbiological and Physicochemical Composition of Various Types of Homemade Kombucha Beverages Using Alternative Kinds of Sugars. *Foods*, 11(10): 1-15.
- Kumar, V. & Joshi, V. K. 2016. Kombucha: technology, microbiology, production, composition and therapeutic value. *International Journal of Food Fermentation Technology*, 6(1): 13-24.
- Kusumaningrum, I., Hastuti, R. B. & Haryanti, S. 2007. Pengaruh perasan *Sargassum crassifolium* dengan konsentrasi ayng berbeda terhadap pertumbuhan tanaman kedelai. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 15(2): 1-7.
- Lestari, K. A. P. & Sa'diyah, L. 2020. Karakteristik kimia dan fisik I hijau kombucha pada waktu pemanasan berbeda. *Journal of Pharmacy and Science*, 5(1): 15-20.
- Lopes, D. R., Santos, L. O., & Prentice-Hernández, C. 2021. Antioxidant and antibacterial activity of a beverage obtained by fermentation of yerba-maté (*Ilex paraquariensis*) with symbiotic kombucha

- culture. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(2): 1-24.
- Lubis, N. & Mutia, H. Z. N. A. 2018. Pengabdian masyarakat pemanfaatan daun sukun (*Artocarpus altilis*) sebagai minuman kesehatan di Kelurahan Tanjung Selamat – Kotamadya Medan. *Journal of Animal Science and Agronomy Panca Budi*, 3(1): 18-21.
- Marfuah, I., Dewi, E. N. & Rianingsih, L. 2018. Kajian potensi ekstrak anggur laut (*Caulerpa 106haracte*) sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, 7(1): 7-14.
- Nasab, M. S. & Tabari, M. 2018. Antimicrobial properties and permeability of Poly lactic acid nanocomposite films containing zinc oxide. *Nanomed Research Journal*, 3(3): 125-132.
- Nhan, H. T. H., Vy, C. T. T., Nhat, N. T. M. & Linh, V. T. K. 2020. Development of fermented beverage from white mulberry juice using the kombucha consortium. *Journal of Technical Education Science*, 60(10): 44-57.
- Noer, S. & Pratiwi, R. D. 2016. Uji kualitatif fitokimia daun *Ruta angustifolia*. *Faktor Exacta*, 9(3): 200-206.
- Ogori, A. F., Wakawa, L. D. & Makinde, O. J. 2017. Phytochemical and mineral content of pulp drink and analogue yoghurt from pretreated *Balanites aegyptiaca* fruit pulp. *Journal of Nutritional Health & Food Engineering*, 6(6): 1-6.
- Puspaningrum, D. H. D., Sumandewi, N. L. U. & Sari, N. K. 2022. Karakteristik kimia dan aktivitas antioksidan selama fermentasi kombucha cascara kopi arabika (*Coffea arabica* L.) Desa Catur Kabupaten Bangli. *Jurnal Sains dan Edukasi Sains*, 5(2): 44-51.
- Saragih, C., Herawati, N. & Efendi, R. 2017. Pembuatan sirup ubi jalar ungu (*Ipomea batatas* L.) dengan penambahan sari lemon (*Citrus limon* L.). *Jurnal Online Mahasiswa*, 4(1): 1-15.
- Sari, R., Muhani, M. & Fajriaty, I. 2017. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun gaharu (*Aquilaria macrocarpa* Baill.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Proteus mirabilis*. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 4(3): 143-154.
- Sulistiawaty, L. & Solihat, I. 2022. Kombucha: fisikokimia dan studi kritis tingkat kehalalan. *WARTA AKAB*, 46(1): 21-27.
- Supriati, Y. 2010. Sukun sebagai sumber pangan alternatif substitusi beras. *Iptek Tanaman Pangan*, 5(2): 219-231.
- Tan, W. C., Muhiaddin, 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: 1-10.
- Winastri, N. L. A., Muliasari, H. & Hidayati, E. 2020. Aktivitas antibakteri air perasan dan rebusan daun calincing (*Oxalis corniculata* L.) terhadap *Streptococcus mutans*. *Jurnal Ilmu-ilmu Hayati*, 19(1): 223-230.
- Yanti, N. A., Ambardini, S., Marlina, W. O. L. & Cahyanti, K. D. 2020. Aktivitas antibakteri kombucha daun sirsak (*Annona muricata* L.) dengan konsentrasi gula berbeda. *BERKALA SAINTEK*, 8(2): 35-40.
- Yunita, M., Hendrawan, Y. & Yulianingsih R. 2015. Analisis kuantitatif mikrobiologi pada makanan penerbangan (Aerofood ACS) garuda Indonesia berdasarkan TPC (Total Plate Count) dengan metode pour plate. *Jurnal Keteknik Pertanian Tropis dan Biosistem*, 3(3): 237-248.
- Medikasari, Nudjanah, S., Yuliana, N. & Lintang, N. 2009. Sifat amilografi pasta pati sukun termodifikasi menggunakan sodium tripolifosfat. *Jurnal Teknologi dan Industri Hasil Pertanian*. 14(2): 173-177.