

Aplikasi Metode Bioteknologi Fermentasi Kombucha Buah Nanas Madu (*Ananas comosus*) Subang Sebagai Antibakteri Gram Positif Dan Negatif Berdasarkan Konsentrasi Gula Yang Berbeda

Application Of The Biotechnology Method Of Kombucha Fermentation Of Honey Pineapple (*Ananas comosus*) Subang As Antibacteria Gram Positive And Negative Based On Different Concentrations Of Sugar

Firman Rezaldi^{*1)}, M. Fariz Fadillah²⁾, Lucky Dita Agustiansyah³⁾, Siti Aisyah Tanjung⁴⁾, Leni Halimatusyadiah⁵⁾, Endang Safitri⁵⁾

¹⁾Program Studi Farmasi, Fakultas Sains Farmasi Kesehatan, Universitas Mathla'ul Anwar Banten

²⁾Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi dan Informastika, Universitas Mathla'ul Anwar Banten

³⁾ Jurusan D3 Farmasi Akademi Farmasi Al-Islah, Cilegon Banten

⁴⁾UPT Puskesmas Bangkonol, Kabupaten Pandeglang

⁵⁾ Jurusan S1 Kebidanan dan Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Salsabila, Serang
*Korespondensi: firmanrezaldi417@gmail.com

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menghasilkan rata-rata diameter zona hambat pada bakteri keempat bakteri uji yang difermentasi oleh kombucha buah nanas madu Subang berdasarkan konsentrasi gula pasir putih yang berbeda-beda. Konsentrasi gula pasir putih yang digunakan dalam penelitian ini adalah 15%, 25%, dan 35%. Tahapan sebelum dilakukan aktivitas antibakteri gram positif dan negatif yaitu dengan cara mengidentifikasi kandungan metabolit sekunder pada ampas kulit buah nanas sebagai skrining awal dalam pembuatan kombucha buah nanas. Hasil skrining fitokimia pada ampas kulit buah nanas madu Subang mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Hasil fermentasi kombucha buah nanas madu Subang berpotensi sebagai antibakteri pada bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli*. Kombucha buah nanas madu Subang dapat dikategorikan sebagai antibakteri dalam spektrum luas yang telah terbukti berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Konsentrasi gula 35% merupakan konsentrasi terbaik pada kombucha buah nanas madu Subang dalam menghambat keempat bakteri uji yaitu terdiri dari dua bakteri gram positif dan dua bakteri gram negatif, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai minuman fungsional terkini pada produk bioteknologi konvensional.

Kata kunci: antimikroba, bioteknologi kombucha, buah nanas madu subang

ABSTRACT

The purpose of this study was to produce the average diameter of the inhibition zone on the four test bacteria fermented by Subang honey pineapple fruit kombucha based on different concentrations of white sugar. The concentration of white sugar used in this study was 15%, 25%, and 35%. The stage before the gram-positive and negative antibacterial activity was carried out was by identifying the secondary metabolite content in pineapple peel pulp as an initial screening in the manufacture of pineapple fruit kombucha. The results of phytochemical screening on the pulp of Subang honey pineapple peel contain alkaloids, flavonoids, saponins, and tannins. The kombucha fermented honey pineapple fruit in Subang has the potential as an antibacterial against *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Escherichia coli* bacteria. Subang honey pineapple fruit kombucha can be categorized as an antibacterial in a broad spectrum which has been shown to have the potential to inhibit the growth of pathogenic bacteria. The sugar concentration of 40% is the best concentration in Subang

honey pineapple fruit kombucha in inhibiting the four test bacteria consisting of two gram-positive bacteria and two gram-negative bacteria, so that it can be used as the latest functional drink in conventional biotechnology products.

Keywords: antimicrobial, kombucha biotechnology, pineapple honey subang

PENDAHULUAN

Kombucha ialah minuman probiotik berbahan dasar teh yang dihasilkan oleh konsorsium bakteri dan ragi melalui proses fermentasi disebut kombucha. Kombucha merupakan salah satu produk bioteknologi konvensional (Fadhillah et al., 2021) yang banyak sekali potensinya sebagai peningkat imunitas (Wistiana & Zubaidah, 2015), bahan aktif obat dan kosmetik halal dalam perspektif bioteknologi (Rezaldi et al., 2021), dan juga bahan baku sediaan pupuk. Aplikasi bioteknologi pada fermentasi kombucha telah banyak membuka peluang besar dalam meningkatkan sistem imun di era pandemic COVID-19 dimana Pasien COVID-19 per tanggal 6 April 2021 telah mengalami peningkatan (Rezaldi et al., 2021). Bahan dasar utama kombucha pada dasarnya selain dalam bentuk teh dapat menggunakan bahan lain yang kaya polifenol sebagai sumber antibakteri (Borkani et al., 2016), sumber antioksidan (Jayabalan et al., 2011), dan sumber antikanker (Jayabalan et al., 2014). Potensi kombucha yang dapat berkhasiat bagi perspektif kesehatan, pharmaceutical, nutraceutical, dan pertanian tentunya dipengaruhi oleh substrat dan konsentrasi daripada substrat tersebut.

Substrat yang dibutuhkan dalam fermentasi kombucha pada umumnya adalah gula. Gula dengan berbagai konsentrasi berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Marwati & Handria, 2013). Hasil penelitian tersebut sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Yanti et al (2020), menyimpulkan

bahwa konsentrasi 20% pada kombucha daun sirsak merupakan konsentrasi terbaik dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan sebesar 17,08 mm dengan kategori kuat dan gram negatif dengan rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan sebesar 16,28 mm masuk kategori kuat. Hasil penelitian yang didukung terbukti oleh Rezaldi et al (2021), membuktikan bahwa konsentrasi 40% merupakan konsentrasi terbaik pada fermentasi kombucha bunga telang dalam menghambat pertumbuhan bakteri dua gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan sebesar 13,22 mm kategori kuat, *Staphylococcus epidermidis* dengan rata-rata diameter zona hambat yang telah dihasilkan sebesar 10,78 mm kategori kuat, *Pseudomonas aeruginosa* dengan rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan sebesar 7,1 mm kategori sedang, dan *Escherichia coli* dengan rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan sebesar 6 mm kategori sedang.

Penelitian kombucha yang berbahan dasar teh hitam (Al-Kalifawi, 2014), teh hijau (Battikh et al., 2013), bunga telang (Rezaldi et al., 2021) sebagai antibakteri telah banyak dilakukan. Bunga telang merupakan mempunyai sumber metabolit sekunder (Pertiwi et al., 2022) yang dapat berpotensi sebagai antibakteri. Namun penelitian mengenai kombucha berbahan dasar buah nanas sebagai 2 antibakteri gram positif dan 2

antibakteri gram negatif berdasarkan konsentrasi gula yang berbeda-beda (15%, 25%, dan 35%) sama sekali belum ada yang melakukan. Mengacu pada hasil penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Husniah & Gunata (2020), terbukti bahwa Ekstrak kulit nanas memiliki potensi sebagai antibakteri, sehingga dalam penelitian ini akan menggunakan nanas madu Subang yang akan difermentasi oleh kombucha buah nanas pada konsentrasi gula 15%, 25%, dan 35% dengan harapan memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan dua bakteri gram positif berupa *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*, dan dua bakteri gram negatif yaitu *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober dan November yang dilakukan di Laboratorium UPTD Pengujian dan Penerapan Mutu Hasil Perikanan (PPMHP), Provinsi Banten.

Bahan Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah gula pasir putih, kombucha berbau dasar teh hijau sebagai kontrol positif, kultur awal kombucha (*Scoby*) yang telah dipesan dari rumah fermentasi Tangerang. Bakteri uji yang terdiri dari dua bakteri gram positif yaitu *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, dan dua bakteri uji gram negatif yaitu *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli*. Media Muller Hinton Agar (MHA), dan nanas madu Subang.

Prosedur Kerja

Persiapan Bahan Buah Nanas Madu Subang (*Ananas comosus*) dan *Scoby*

Buah nanas madu yang telah diperoleh dari kota subang dipotong kecil kecil dalam 15 kg untuk peras dan juga diambil airnya. Buah nanas yang sudah diperoleh airnya disimpan pada wadah yang steril untuk direbus dan juga difermentasi oleh *Scoby* jika air rebusan nanas sudah dingin.

Skrining Fitokimia

Ampas nanas yang tersisa dari hasil perasan dimanfaatkan untuk dilakukan identifikasi senyawa metabolit sekunder yang terdiri dari alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin.

Fermentasi Kombucha Buah Nanas Madu Subang (*Ananas comosus*)

Tahapan-tahapan yang perlu dilakukan dalam fermentasi kombucha buah nanas madu subang diantaranya adalah 1) Alat dan bahan yang disiapkan adalah alat-alat dan juga bahan-bahan utama yang terdiri dari toples kaca, gula sebagai substrat, dan kultur awal kombucha beserta *baby scoby* dalam bentuk kombucha cair. 2) Buah nanas ditimbang sebanyak 25% dalam 1 liter; 3) timbang 8,2% air hingga tersisa 1,8 air; 4) Gula ditambahkan sesuai konsentrasi yaitu 15%, 25%, dan 35%; 5) Gula dipanaskan sampai mendidih dalam waktu 15 menit kemudian masukkan ke dalam toples kaca disetiap perlakuan konsentrasi larutan gula; 6) masukkan air rebusan pada toples kaca bagian dalam yang sudah ditambahkan konsentrasi larutan gula masing masing; 7) Dinginkan air rebusan pada suhu 30°C kemudian tambahkan starter kombucha yang telah berusia 1 minggu sebanyak 10% (v/v) pada perlakuan secara keseluruhan. 8) tutup toples kaca menggunakan kain penutup yang

bertujuan untuk suksesnya fermentasi kombucha buah nanas secara statis selama 2 minggu.

Pengujian Antibakteri Gram Positif dan Negatif

Langkah-langkah dalam pengujian antibakteri gram positif dan negatif dengan difusi cakram yang pertama adalah siapkan 24 buah cawan petri untuk dituangkan pada media MHA (*Muller Hinton Agar*) sebesar 15 mL pada cawan petri secara keseluruhan. Kedua diamkan media tersebut sampai pada kondisi memadat. Ketiga celupkan lidi pada kapas steril didalam media bakteri uji yaitu 2 bakteri gram positif seperti *Staphylococcus aureus*, dan *Staphylococcus epidermidis*, dan 2 bakteri uji gram negatif yang terdiri dari *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*. Keempat usap pada media MHA sampai permukaan tertutup secara keseluruhan. Kelima tempelkan *disk* yang sudah direndam pada sediaan larutan fermentasi kombucha buah nanas pada konsentrasi gula yang bervariasi yaitu 15% pada cawan petri pertama, 25% pada cawan petri kedua, dan 35% pada cawan petri ketiga. Cawan petri keempat berisi kontrol positif dalam bentuk teh hijau, dan cawan petri kelima berisi kontrol negatif berupa akuades steril. Keenam lakukan pengulangan pada setiap perlakuan sebanyak 3 kali. Ketujuh Inkubasi selama 1 hari. Kedelapan Lakukan pengukuran rata-rata diameter zona hambat pada masing-masing konsentrasi gula pada fermentasi kombucha buah nanas disertai dengan kontrol positif dan juga negatif (Rezaldi et al., 2021).

Analisis Data

Data hasil penelitian yang diperoleh akan diolah datanya melalui

analisis statistik menggunakan ANOVA satu jalur pada taraf kepercayaan 95%. Data hasil penelitian yang memiliki perbedaan secara bermakna akan dilanjutkan dengan uji *pos hoc*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Skrining Fitokimia

Ampas nanas yang telah diskruining metabloit sekunder secara kualitatif mengandung alkaloid dengan pereaksi meyer dengan ciri terdapat endapan yang berwarna putih. Pereaksi atau reagen dragendrof tidak terdeteksi dengan ciri tidak adanya endapan berwarna merah. Alkaloid dengan reagen wegner terdeteksi dengan ciri adanya endapan putih. Flavonoid dengan ciri timbul warna merah atau jingga. Steroid melalui reagen Liebermann burchard tidak terdeteksi dengan ciri tidak adanya warna biru kehijauan yang dihasilkan. Terpenoid melalui reagen Liebermann Burchard tidak terdeteksi dengan ciri tidak adanya warna ungu atau merah yang dihasilkan. Saponin dengan cara pengocokan HCl terdeteksi dengan ciri terbentuk busa secara stabil. Tanin dengan perlakuan besi (III) klorida terdeteksi dengan ciri adanya warna biru atau hijau kehitaman yang dihasilkan.

Ampas nanas telah menunjukkan hasil positif pada tanin karena menghasilkan warna hijau kehitaman. Terjadinya sintesis warna hijau karena terbentuknya senyawa kompleks diantara logam Fe dan tanin. Senyawa kompleks terbentuk karena adanya ikatan kovalen koordinasi antara ion atau atom dengan atom (Illing et al., 2017). Ampas nanas positif mengandung alkaloid melalui reagen meyer dan wagner. Hasil positif alkaloid melalui reagen meyer ditandai dengan adanya endapan putih, sedangkan pada reagen wagner ditandai

dengan endapan coklat. Hasil positif alkaloid melalui reagen meyer yang telah ditandai dengan adanya endapan putih, dapat dipastikan endapan tersebut adalah senyawa alkaloid yang kompleks dan nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam Hg dari kalium tetraiodomercurat (II) dalam mensintesis merkuri yang telah mengalami pengendapan (Marlinda et al., 2012).

Pengujian flavonoid dilakukan dengan cara menambahkan metanol logam Mg, dan HCl yang bertujuan untuk mereduksi inti benzopiron yang terkandung dalam struktur flavonoid sehingga terjadi perubahan warna menjadi jingga atau merah. Reaksi oksidasi reduksi diantara logam Mg menyebabkan terbentuknya senyawa kompleks yang menyebabkan warna merah pada sampel. Ampas nanas mengandung saponin dengan ciri

timbulnya busa secara stabil yang menunjukkan adanya glikosida dan berpotensi untuk membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa atau senyawa lainnya (Illing et al., 2017).

Pengujian Antibakteri Gram Positif dan Negatif pada Kombucha Buah Nanas Madu Subang

Larutan fermentasi kombucha buah nanas yang telah diproduksi dari konsentrasi larutan gula pasir sebesar 15%, 25%, dan 35% membuktikan hasil yang berkolerasi secara positif sebagai antibakteri gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* serta bakteri gram negatif yaitu *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*. Hasil penelitian tersebut terlampir pada tabel 1 yang terletak dibawah ini.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat yang terbentuk pada media *Muller Hinton Agar* (MHA)

Jenis Bakteri	Diameter zona hambat (mm)	Kontrol negatif (mm)	kontrol positif (mm)	Diameter zona hambat setiap Konsentrasi		
				Fermentasi kombucha buah nanas madu Subang(mm)		
				15%	25%	35%
<i>Staphylococcus aureus</i>	I	0	18,75	17,76	18,40	19,90
	II	0	22,78	19,50	19,22	21,22
	III	0	23,09	20,71	21,70	22,50
	Rata-rata	0	21,54	19,32	20,71	24,16
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	I	0	17,71	15,60	17,22	18,52
	II	0	21,89	17,80	17,90	20,89
	III	0	22,60	19,90	21,00	21,22
	Rata-rata	0	20,73	17,76	18,70	20,21
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	I	0	16,50	14,62	15,00	17,88

	II	0	20,50	14,71	15,50	17,95
	III	0	21,54	16,60	16,90	18,00
	Rata-rata	0	19,51	15,31	15,80	17,94
<i>Escherichia coli</i>	I	0	16,00	14,25	14,50	16,80
	II	0	16,50	14,50	15,00	17,21
	III	0	20,70	15,71	16,50	17,50
	Rata-rata	0	17,63	14,82	15,33	17,17

Tabel 1 diatas telah membuktikan bahwa konsentrasi larutan gula pasir yang difermentasi oleh buah nanas berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan negatif. Konsentrasi gula pasir 35% merupakan konsentrasi terbaik dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen baik bakteri gram positif maupun negatif. 21,54 mm (kuat) merupakan rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan dari fermentasi kombucha buah nanas madu Subang pada konsentrasi gula pasir sebesar 35% bakteri *Staphylococcus aureus*. 20,73 mm (kuat) merupakan rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan dari fermentasi kombucha buah nanas madu Subang pada konsentrasi gula pasir sebesar 35% bakteri *Staphylococcus epidermidis*. 17,94 mm (kuat) merupakan rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan dari fermentasi kombucha buah nanas madu Subang

pada konsentrasi gula pasir sebesar 35% bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. 17,17 mm (kuat) merupakan rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan dari fermentasi kombucha buah nanas madu Subang pada konsentrasi gula pasir sebesar 35% bakteri *Escherichia coli*.

Data hasil penelitian yang telah diperoleh pada tabel 1 diatas kemudian diuji secara statistik melalui ANOVA satu jalur. Tahapan sebelum pengujian ANOVA satu jalur dibutuhkan pengujian normalitas data yang bertujuan dalam memastikan data-data hasil penelitian yang telah dihasilkan dapat tersebar atau terdistribusi secara normal artinya data hasil penelitian tersebut bersifat parametrik. Tahapan berikutnya sebelum pengujian ANOVA satu jalur dibutuhkan pengujian berupa uji varians data yang bertujuan untuk memperoleh data hasil penelitian bersifat homogen.

Tabel 2. Uji Normalitas

Uji Saphiro-Wilk	Sig
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,80
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0,69
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,47

<i>Escherichia coli</i>	0,36
-------------------------	------

Tabel 2 yang tersaji diatas merupakan hasil uji normalitas berupa Saphiro-wilk dan telah membuktikan bahwa data memiliki nilai $p > 0,05$ yang menunjukkan data dari hasil penelitian

tersebut terdistribusi secara normal atau bersifat parametrik. Sehingga dapat dilakukan tahapan berikutnya yaitu uji varians data yang terlampir pada tabel 3.

Tabel 3. Uji Varians Data

Uji Varians Data	Sig
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,77
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0,66
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,55
<i>Escherichia coli</i>	0,44

Tabel 3 yang terlampir diatas merupakan uji varians data dan telah membuktikan bahwa nilai $p > 0,05$ yang menunjukkan data yang dihasilkan dalam penelitian ini memiliki varian

data yang sama, sehingga dapat dilakukan pengujian melalui ANOVA satu jalur.

Tabel 4. Uji One Way Anova

Uji One Way Anova	Sig
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,000
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0,01
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,002
<i>Escherichia coli</i>	0,03

Tabel 4 yang terlampir diatas merupakan data hasil penelitian yang telah diuji melalui ANOVA satu jalur dan telah menunjukkan bahwa hasil uji ANOVA satu jalur terhadap kelompok perlakuan fermentasi kombucha bunga telang memiliki nilai P kurang dari 0,5

pada masing-masing perlakuan. Nilai rata-rata antar kelompok perlakuan fermentasi kombucha buah nanas madu memiliki perbedaan secara bermakna maka tahap selanjutnya dilakukan analisis *post-hoc*.

Tabel 5. Uji Analisis *Post-Hoc*

Jenis Bakteri		15%	25%	35%	Kontrol Positif	Kontrol Negatif
<i>Staphylococcus aureus</i>	15%	-	0,888	0,007*	0,000*	0,000*
	25%	0,888	-	0,233	0,000*	0,000*
	35%	0,007*	0,888	-	0,000*	0,000*
	Kontrol Positif	0,000*	0,000*	0,000*	-	0,000*
	Kontrol Negatif	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	15%	-	0,999	0,006*	0,000*	0,000*
	25%	0,999	-	0,244	0,000*	0,000*
	35%	0,006*	0,999	-	0,000*	0,000*
	Kontrol Positif	0,000*	0,000*	0,000*	-	0,000*
	Kontrol Negatif	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15%	-	0,777	0,004*	0,000*	0,000*
	25%	0,777	-	0,488	0,000*	0,000*
	35%	0,004*	0,777	-	0,000*	0,000*
	Kontrol Positif	0,000*	0,000*	0,000*	-	0,000*
	Kontrol Negatif	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	-
<i>Escherichia coli</i>	15%	-	0,666	0,003*	0,000*	0,000*
	25%	0,999	-	0,288	0,000*	0,000*
	35%	0,003*	0,666	-	0,000*	0,000*
	Kontrol Positif	0,000*	0,000*	0,000*	-	0,000*
	Kontrol Negatif	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	-

Keterangan: *: Menyatakan terdapat perbedaan bermakna ($p < 0,05$)

Tabel 5 yang tersaji diatas merupakan data hasil penelitian yang telah di uji *Post-Hoc* dan menunjukkan jika suatu data hasil penelitian menghasilkan nilai $p < 0,05$ maka data hasil penelitian tersebut signifikan atau berbeda bermakna pada konsentrasi lain. Jika $p > 0,05$, maka data tersebut mebukitkan tidak signifikan atau tidak

berbeda bermakna dengan konsentrasi lain. Uji *Pos-Hoc* yang tercantum pada tabel 5 telah membuktikan bahwa diameter zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli* pada konsentrasi gula pasir kombucha buah nanas madu Subang tidak memiliki perbedaan secara

bermakna atau tidak signifikan dengan konsentrasi fermentasi kombucha buah nanas madu Subang 35%, namun terdapat perbedaan secara bermakna dengan konsentrasi gula pasir kombucha buah nanas madu Subang 25%, kontrol positif, dan kontrol negatif. Konsentrasi gula pasir putih fermentasi kombucha buah nanas madu Subang 25% tidak mempunyai perbedaan secara bermakna baik pada konsentrasi gula pasir putih kombucha buah nanas madu Subang 15%, 35%, kontrol positif, dan kontrol negatif. Konsentrasi gula pasir putih 35% kombucha buah nanas madu Subang tidak memiliki perbedaan secara bermakna pada kontrol positif maupun negatif tetapi memiliki perbedaan secara bermakna pada konsentrasi gula pasir putih kombucha buah nanas 15% dan 25%.

Perhitungan aktivitas antibakteri kombucha buah nanas madu Subang yang telah dilakukan secara *in-vitro*, yaitu terbukti berdasarkan potensinya dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen yang telah diuji baik bakteri patogen jenis gram positif maupun negatif. Dua bakteri gram positif yang telah dilakukan dalam pengujian ini terdiri dari *Staphylococcus aureus*, dan *Staphylococcus epidermidis*, sedangkan dua bakteri uji berupa gram negatif terdiri dari *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*. Data perhitungan zona hambat dari hasil penelitian, telah terbukti bahwa fermentasi kombucha buah nanas madu Subang yang mengandung konsentrasi gula pasir putih yang bervariasi mengindikasikan terbentuknya suatu zona hambat berupa zona bening. Adanya aktivitas antibakteri pada kombucha buah nanas madu Subang disebabkan adanya

kandungan senyawa-senyawa kimia yang berperan penting dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen baik gram positif maupun negatif. Salah satu asam-asam kimia organik yang dihasilkan selama proses fermentasi kombucha pada umumnya adalah asam asetat. Asam asetat yang telah terbentuk melalui hasil fermentasi kombucha sangat berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan negatif. Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Kumar & Joshi (2016), menyimpulkan bahwa asam asetat yang telah terbentuk selama fermentasi kombucha akan terurai melalui mekanisme pelepasan proton-proton bebas sehingga menyebabkan pH media menjadi rendah (Yanti et al., 2020).

Asam asetat yang sudah tidak terdisosiasi idealnya berperan penting dalam merusak struktur bilayer lipid bakteri melalui pemasukan proton ke dalam sitoplasma, sehingga jumlah proton secara intraseluler yang banyak, menyebabkan sitoplasma berada dalam kondisi asam. Hal tersebut juga menyebabkan terjadinya denaturasi protein dan kehilangan energi. Semakin tinggi kandungan asam organik pada asam asetat semakin tinggi juga kemampuannya dalam mencegah pertumbuhan bakteri patogen. Asam organik yang telah terbentuk selama proses fermentasi kombucha idealnya berpotensi dalam menurunkan pH dari kondisi asam menjadi sangat asam artinya pH substrat yang berada dalam keadaan rendah mampu mempengaruhi pertumbuhan bakteri patogen menjadi asam. Aktivitas antibakteri yang ditunjukkan pada kombucha buah nanas madu Subang ditimbulkan karena adanya kandungan metabolit sekunder yang bekerja secara sinergis. Seperti

Alkaloid, Flavonoid, Saponin, dan Tanin.

Alkaloid bekerja sebagai antibakteri dengan cara mengganggu komponen peptidoglikan pada sel bakteri patogen sehingga mengalami lisis dan kematian (Cahyanta dan Ardianti, 2018). Flavonoid bekerja sebagai antibakteri dengan cara menghambat fungsi DNA gyrase sehingga kemampuan bakteri untuk melakukan replikasi DNA menjadi terhambat. Senyawa flavonoid memiliki jalur penghubung secara seluler pada DNA yang terkandung di dalam inti sel bakteri patogen, dikarenakan adanya perbedaan tingkat kepolaran diantara lipid penyusun DNA dengan gugus alkohol yang menyebabkan sel bakteri menjadi lisis dan mati. Flavonoid juga bekerja sebagai antibakteri dengan cara merespon daya hambat dengan adanya gangguan pada membran sel bakteri yang utuh sehingga terjadi pembentukan senyawa kompleks yang berasal dari protein ekstraseluler bersama flavonoid (Kumar & Pandey, 2013). Tanin bekerja sebagai antibakteri dengan cara mempresipitasi protein yang memiliki efek sama dengan fenolik (Courtney et al., 2016). Saponin bekerja sebagai antibakteri dengan cara menurunkan tegangan permukaan sehingga berpotensi dalam mengakibatkan peningkatan permeabilitas atau yang dikenal sebagai kebocoran sel. Sel yang mengalami kebocoran tersebut akan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar (Trissia et al., 2018).

Tabel 1 telah membuktikan bahwa kombucha buah nanas madu Subang pada perlakuan konsentrasi gula pasir sebesar 15%, 25%, dan 35% berpotensi dalam membentuk zona

bening pada sekeliling sumuran baik pada bakteri gram positif maupun negatif. Hal tersebut telah membuktikan bahwa kombucha buah nanas madu Subang berpotensi sebagai antibakteri sehingga mampu mencegah pertumbuhan bakteri uji. Hasil penelitian ini diperkuat dengan adanya pembentukan zona hambat dalam bentuk zona bening yang terjadi pada kontrol positif yaitu dalam bentuk teh hijau (Effendi et al., 2014). Potensi kombucha buah nanas madu Subang sebagai antibakteri dalam spektrum sangat luas. Hal tersebut sejalan dengan hasil penelitian Battikh et al (2013), membuktikan bahwa kombucha berbahan dasar teh hitam dan hijau berpotensi sebagai antibakteri dalam spektrum luas terutama dalam mencegah pertumbuhan bakteri.

KESIMPULAN

Kombucha buah nanas madu Subang berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif maupun negatif sebagai patogen. Ampas buah nanas mengandung metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibakteri dengan mekanisme seluler yang berbeda-beda. Konsentrasi gula pasir sebesar 35% merupakan konsentrasi gula pasir terbaik dalam menghambat pertumbuhan bakteri ke empat bakteri uji patogen.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Kalifawi, E. J. 2014. Antimicrobial Activity of Kombucha (KH) Tea against. Bacteria Isolated From Diabetic Foot Uleer. *International Journal for Sciences and Technology*, 9 (1), 49 – 56.

- <https://doi.org/10.12816/0010111>.
- 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. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2011.00629.x>
- Borkani, R. A., Doudi, M., & Rezayatmand, Z. (2016). Study of the Anti-Bacterial Effects of Green and Black Kombucha Teas and Their Synergetic Effect against Some Important Gram Positive Pathogens Transmitted by Foodstuff. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*, 7, 1741–1747. <https://bipublication.com/files/201603207Monir.pdf>
- Cahyanta, A. N., & Ardiyanti, N. Y. (2018). Uji Aktivitas Salep Anti Jerawat Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. *Parapemikir: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 7(2), 239-243. <http://dx.doi.org/10.30591/pjif.v7i2.938>.
- Courtney, R., Sirdaarta, J., Matthews, B., & Cock, I. E. (2015). Tannin components and inhibitory activity of Kakadu plum leaf extracts against microbial triggers of autoimmune inflammatory diseases. *Pharmacognosy Journal*, 7(1). <http://dx.doi.org/10.5530/pj.2015.7.2>.
- Effendi, F., Roswiem, A. P., & Stefani, E. (2014). Uji Aktivitas Antibakteri Teh Kombucha Probiotik Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *FITOFARMAKA: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 4(2), 1-9.
- Fadhilah, F. R., Rezaldi, F., Fadillah, M. F., Fathurohim, M. F., & Setiawan, U. (2021). Narrative Review: Metode Analisis Produk Vaksin Yang Aman dan Halal Berdasarkan Perspektif Bioteknologi. *International Journal Mathla'ul Anwar of Halal Issues*, 1(1), 64-80. <https://doi.org/10.30653/ijma.202111.12>.
- Husniah, I., & Gunata, A. F. (2020). Ekstrak Kulit Nanas sebagai Antibakteri. *Jurnal Penelitian Perawat Profesional*, 2(1), 85-90. <https://doi.org/10.37287/jppp.v2i1.51>.
- Illing, I., & Jelita, M. L. (2018). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Buah Dengan (*Dillenia serrata*). *Prosiding*, 4(1).
- Jayabalan, R., Chen, P. N., Hsieh, Y. S., Prabhakaran, K., Pitchai, P., Marimuthu, S., & Yun, S. E. (2011). Effect of solvent fractions of kombucha tea on viability and invasiveness of cancer cells—characterization of dimethyl 2-(2-hydroxy-2-methoxypropylidene) malonate and vitexin.
- 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.
- Kumar, V., & Joshi, V. K. (2016). Kombucha: Technology, microbiology, production, composition and therapeutic

- value. *International Journal of Food and Fermentation Technology*, 6(1), 13-24. <http://dx.doi.org/10.5958/2277-9396.2016.00022.2>.
- Marwati, H. S., & Handria, R. (2013). Pengaruh Konsentrasi Gula dan Starter terhadap Mutu Teh Kombucha. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 8(02), 49-53.
- Marlinda, M., Sangi, M. S., & Wuntu, A. D. (2012). Analisis senyawa metabolit sekunder dan uji toksisitas ekstrak etanol biji buah alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal Mipa*, 1(1), 24-28. <https://doi.org/10.35799/jm.1.1.2012.427>.
- Pertiwi, F. D., Rezaldi, F., & Puspitasari, R. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *BIOSAIN TROPIS (BIOSCIENCE-TROPIC)*, 7(2), 57-68. <https://doi.org/10.33474/e-jbst.v7i2.471>
- Rezaldi, F., Maruf, A., Pertiwi, F. D., Fatonah, N. S., Ningtias, R. Y., Fadillah, M. F., & Somantri, U. W. (2021). Narrative Review: Kombucha's Potential As A Raw Material For Halal Drugs And Cosmetics In A Biotechnological Perspective. *International Journal Mathla'ul Anwar of Halal Issues*, 1(2), 43-56. <https://doi.org/10.30653/ijma.202112.25>.
- Rezaldi, F., Taupiqurrohman, O., Fadillah, M. F., Rochmat, A., Humaedi, A., & Fadhilah, F. (2021). Identifikasi Kandidat Vaksin COVID-19 Berbasis Peptida dari Glikoprotein Spike SARS CoV-2 untuk Ras Asia secara In Silico. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*, 10(1), 77-85. <https://doi.org/10.22435/jbmi.v10i1.5031>.
- Rezaldi, F., Ningtias, R.Y., Anggraeni, S.D, Ma'ruf, A, Fatonah, N.S, Pertiwi, F.D, Fitriyani, A, Lucky, D, US, Sunarlin, Fadillah, M.F, Subekhi.A.I. 2021 Pengaruh Metode Bioteknologi Fermentasi Kombucha Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) Sebagai Antibakteri Gram Positif Dan Negatif. *Jurnal Biotek*. 9 (2). <https://doi.org/10.24252/jb.v9i2.25467>.
- Trisia, A., Philyria, R., & Toemon, A. N. (2018). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kalanduyung (*Guazuma ulmifolia* Lam.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi cakram (Kirby-Bauer). *Anterior Jurnal*, 17(2), 136-143. <https://doi.org/10.33084/anterior.v17i2.12>.
- Wistiana, D., & Zubaidah, D. (2015). E. Chemical and Microbiological Characteristics of Kombucha from Various High Leaf Phenols During Fermentation. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3(4), 1446-145.
- Yanti, N. A., Ambardini, S., Ardiansyah, A., Marlina, W. O. L., & Cahyanti, K. D. (2020). Aktivitas Antibakteri Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Dengan Konsentrasi Gula Berbeda. *Berkala Sainstek*, 8(2), 35-40. <https://doi.org/10.19184/bst.v8i2.15968>.