

**PENGARUH PENAMBAHAN MADU DAN CENGKEH TERHADAP
KARAKTERISTIK MIKROBIOLOGI MINUMAN KOMBUCHA PULPA
KAKAO**

SKRIPSI

Oleh

**Nadila
2154231007**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

ABSTRACT

THE EFFECT OF THE ADDITION OF HONEY AND CLOVE ON THE MICROBIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF KOMBUCHA PULPA KAKAO DRINK

By

NADILA

This study aims to determine the effect of fermentation on total dominant microbes and nata randement, as well as the effect of adding honey and clove powder on pH characteristics, total dissolved solids (TPT), and antimicrobial activity in cocoa pulp kombucha drinks with the addition of honey and cloves. The research uses a Complete Group Random Design (RAKL) with a single factor and five repetitions. The treatment consists of four stages, namely: day 0 fermentation (F0), day 7 fermentation (F7), honey addition (FM), and honey addition and clove powder (FMC). Observed parameters include total khamir, lactic acid bacteria (BAL), acetic acid bacteria (BAA), nata randement, pH value, TPT, and antimicrobial activity against *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. The results of the study showed that fermentation for seven days (F7) significantly increased the number of dominant microbes, with a total yeast count of 9.28 log CFU/mL, LAB of 9.04 log CFU/mL, and AAB of 9.05 log CFU/mL, and produced a nata yield of 11.37%. The decrease in pH indicated an increase in organic acid throughout the fermentation process. The addition of honey increased the yield, while the addition of cloves caused an increase in pH value. Antimicrobial activity showed a significant increase, as shown by the diameter of the inhibition zone against *E. coli* and *B. subtilis* in the FMC treatment, which was categorized as medium inhibition.

Keyword: Kombucha, cocoa pulp, fermentation, honey, cloves, dominant microbes, antimicrobials

ABSTRAK

PENGARUH PENAMBAHAN MADU DAN CENGKEH TERHADAP KARAKTERISTIK MIKROBIOLOGI MINUMAN KOMBUCHA PULPA KAKAO

Oleh

NADILA

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh fermentasi terhadap total mikroba dominan dan rendemen nata, serta pengaruh penambahan madu dan serbuk cengkeh terhadap karakteristik pH, total padatan terlarut (TPT), dan aktivitas antimikroba pada minuman kombucha pulpa kakao dengan penambahan madu dan cengkeh. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) dengan faktor tunggal dan lima ulangan. Perlakuan terdiri atas empat tahap yaitu: hari ke-0 fermentasi (F0), hari ke-7 fermentasi (F7), penambahan madu (FM), dan penambahan madu dan serbuk cengkeh (FMC). Parameter yang diamati meliputi total khamir, bakteri asam laktat (BAL), bakteri asam asetat (BAA), rendemen nata, nilai pH, TPT, dan aktivitas antimikroba terhadap *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fermentasi selama tujuh hari (F7) meningkatkan jumlah mikroba dominan secara signifikan dengan total khamir 9,28 log CFU/mL; BAL 9,04 log CFU/mL; dan BAA 9,05 log CFU/mL, serta menghasilkan rendemen nata sebesar 11,37 %. Penurunan pH menunjukkan peningkatan produksi asam organik selama fermentasi. Penambahan madu meningkatkan nilai total padatan terlarut, sedangkan penambahan cengkeh menyebabkan peningkatan nilai pH. Aktivitas antimikroba menunjukkan peningkatan signifikan, ditunjukkan dengan diameter zona hambat terhadap *E. coli* dan *B. subtilis* pada perlakuan FMC, dikategorikan dalam daya hambat sedang.

Kata kunci: Kombucha, pulpa kakao, fermentasi, madu, cengkeh, mikroba dominan, antimikroba.

**PENGARUH PENAMBAHAN MADU DAN CENGKEH TERHADAP
KARAKTERISTIK MIKROBIOLOGI MINUMAN KOMBUCHA PULPA
KAKAO**

Oleh
Nadila

Skripsi
Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar

SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN

Pada

Jurusan Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas Pertanian Universitas Lampung



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

Judul Skripsi : PENGARUH PENAMBAHAN MADU DAN CENGKEH TERHADAP KARAKTERISTIK MIKROBIOLOGI MINUMAN KOMBUCHA PULPA KAKAO

Nama Mahasiswa : Nadifa

Nomor Pokok Mahasiswa : 2154231007

Program Studi : Teknologi Industri Pertanian

Jurusan : Teknologi Hasil Pertanian

Fakultas : Pertanian



Prof. Ir. Neti Yuliana, M. Si., Ph.D.
NIP. 196507251992032002

Prof. Dr. Dra. Maria Erna Kustyawati, M. Sc.
NIP. 1961112919870322010

2. Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian

Dr. Erdi Surso, S.T.P., M.T.A., C.EIA.
NIP. 19721006198031005

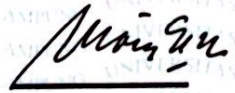
MENGESAHKAN

1. Tim penguji

Ketua : **Prof. Ir. Neti Yuliana, M.Si., Ph.D.**



Sekretaris : **Prof. Dr. Dra. Maria Erna Kustyawati, M.Sc.**



Penguji
Bukan Pembimbing: **Prof. Dr. Ir. Samsul Rizal, M.Si.**



2. Dekan Fakultas Pertanian



Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P.

NIP 196411181989021002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 13 Juni 2025

PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Nadila

NPM : 2154231007

Dengan ini menyatakan bahwa apa yang tertulis dalam karya ilmiah ini adalah hasil kerja saya sendiri yang berdasarkan pada pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Karya ilmiah tidak berisi material yang telah dipublikasikan sebelumnya atau dengan kata lain bukannya hasil dari plagiat karya orang lain.

Demikianlah pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan. Apabila dikemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 13 Juni 2025
Yang membuat pernyataan



Nadila

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Sukamaju pada tanggal 18 Maret 2004 sebagai anak ke dua dari dua bersaudara dari pasangan Bapak Bambang Pribadi dan Bunda Supiati. Penulisan menyelesaikan pendidikan sekolah dasar di MIN 1 Lampung Selatan Lampung yang diselesaikan pada tahun 2015, Sekolah Menengah Pertama di SMPN 1 Metro Kibang Lampung Timur yang diselesaikan pada tahun 2018, dan Sekolah Menengah Atas di SMAN 6 Metro yang diselesaikan pada tahun 2021.

Penulis diterima sebagai mahasiswa Program Studi Teknologi Industri Pertanian, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Mandiri Masuk Perguruan Tinggi Negeri di wilayah barat (SMMPTN-Barat) pada tahun 2021. Selama Perguruan Tinggi penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) di PT. New Hope Lampung dengan judul Penerapan Sanitasi dan *Personal Hygiene* di PT. New Hope Lampung, dan Kuliah Kerja Nyata di Kampung Margajaya Kecamatan Meraksa Aji Kabupaten Tulang Bawang pada bulan Januari 2024.

Selama menjadi mahasiswa penulis aktif dalam berbagai kegiatan perkuliahan. Penulis bergabung menjadi pengurus Koperasi Mahasiswa pada tahun 2024. Penulis menjadi Asisten Dosen mata kuliah Mikrobiologi Lingkungan (2025). Dengan ketekunan, motivasi tinggi, untuk terus belajar dan berusaha penulis telah berhasil menyelesaikan pengerjaan skripsi ini. Semoga penulisan tugas akhir ini memberikan kontribusi positif bagi dunia pendidikan.

SANWACANA

Allhamdulillah Robbi Aallamiin, ucapan syukur penulis hanturkan kehadiran Allah SWT, yang telah memberikan rahmat, pengetahuan, dan karunia serta kemudahan di dunia sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi ini yang berjudul **“PENGARUH PENAMBAHAN MADU DAN CENGKEH TERHADAP KARAKTERISTIK MIKROBIOLOGI MINUMAN KOMBUCHA PULPA KAKAO”**. Skripsi ini diajukan untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan Program Sarjana (S1) di Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Penyusunan Skripsi ini tidak lepas dari dukungan, bantuan, motivasi, dan bimbingan dari pihak, oleh karena itu pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung yang telah memfasilitasi penulis dalam menyelesaikan skripsi.
2. Bapak Dr. Erdi Suroso, S.T.P., M.T.A., C.EIA., selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian Universitas Lampung atas segala bantuan yang diberikan selama penulis menimba ilmu di Universitas Lampung.
3. Ibu Prof. Dr. Ir. Sri Hidayati, M.P., selaku Koordinator Program Studi Teknolgi Industri Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung yang telah membantu dan mendukung penulisan selama perkuliahan.
4. Ibu Prof. Ir. Neti Yuliana, M.Si., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing Akademik sekaligus Dosen Pembimbing Pertama yang telah banyak memberikan kesempatan, pengarahan dalam memfasilitasi penulis dalam menyelesaikan skripsi, memberikan kesempatan, bimbingan, dan masukan yang telah diberikan kepada penulis selama menjalani perkuliahan hingga menyelesaikan skripsi ini. Juga atas kesempatan dilibatkan dalam penelitian terkait pulpa kakao.

5. Ibu Prof. Dr. Dra. Maria Erna Kustyawati, M. Sc., selaku Pembimbing kedua yang telah banyak memberikan pengarahan, bimbingan, masukan dan dukungan dalam menyelesaikan skripsi penulis.
6. Bapak Prof. Dr. Ir. Samsul Rizal, M.Si., selaku Penguji yang telah memberikan saran, dan evaluasi terhadap karya skripsi penulis.
7. Seluruh Bapak dan Ibu dosen pengajar, staf dan karyawan di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Lampung, yang telah mengajari, membimbing, dan juga membantu penulis dalam menyelesaikan administrasi akademik.
8. Keluarga tercinta, Ayah Bambang, Ibu Supiati dan Kakak Wiwik Eka Saputri serta Keluarga Besar penulis yang telah mengasihi, memberikan dukungan, motivasi, semangat kepada penulis.
9. Sahabat seperjuangan penelitian Elvia Anggraini, Attika Nur Aisah, Shifa Aulia Wanda Azzizah, dan Julia Fitriani yang telah membantu penelitian penulis.
10. Sahabat seperjuangan Vianti Rista, Novi Triyana, Sabrina Martha, Nanda Ratri, Silviani Eka Safitri, Lisa Apriana yang selalu memberikan doa dan semangat kepada penulis.
11. Teman-teman TIP angkatan 2021 yang telah memberikan dukungan dan semangat kepada penulis.

Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat khususnya bagi penulis dan umumnya bagi pembaca.

Bandar Lampung, 13 Juni 2025

Nadila
NPM 2154231007

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang dab Masalah	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Kerangka Pemikiran	4
1.4 Hipotesis.....	6
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1. Pulpa kakao	8
2.2. Kombucha	10
2.3. Fermentasi	11
2.4. Cengkeh.....	12
2.5. Madu.....	14
2.6. Kultur Bakteri and Yeast (SCOBY)	15
2.7. Antimikroba	17
III. METODOLOGI PENELITIAN.....	19
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	19
3.2. Bahan dan Alat Penelitian	19
3.3. Metode Penelitian.....	20
3.4. Pelaksanaan Penelitian	20
3.4.1 Pembuatan Minuman Kombucha Pulpa Kakao	21
3.4.2 Penambahan Madu dan Serbuk Cengkeh pada Minuman Kombucha Pulpa Kakao	22

3.5 Pengamatan	22
3.5.1 Total Padatan Terlarut (TPT).....	22
3.5.2 Derajat Keasaman (pH)	23
3.5.3 Total Khamir, Bakteri Asam Laktat, Bakteri Asam Asetat ...	24
3.5.4 Rendemen Nata	25
3.5.5 Pengujian Aktivitas Antimikroba	25
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	27
4.1. Total Padatan Terlarut (TPT)	27
4.2. Derajat Keasaman (pH)	28
4.3. Total Khamir, Bakteri Asam Laktat, Bakteri Asam Asetat.....	30
4.4. Rendemen Nata	34
4.5. Aktivitas Antimikroba.....	36
V. KESIMPULAN DAN SARAN	40
5.1 Kesimpulan.....	40
5.2 Saran.....	40
DAFTAR PUSTAKA.....	41
LAMPIRAN.....	47

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan nutrisi pulpa kakao.....	9
2. Peran mikroorganisme dalam fermentasi kombucha	16
3. Perlakuan dan pengujian pada minuman kombucha pulpa	20
4. Hasil uji lanjut BNT 5% TPT minuman kombucha pulpa kakao	27
5. Hasil uji lanjut BNT 5% pH minuman kombucha pulpa kakao.....	29
6. Rendemen nata.....	34
7. Hasil uji lanjut BNT 5% aktivitas antimikroba kombucha pulpa	37
8. Data total padatan terlarut (TPT) minuman kombucha pulpa.....	48
9. Sidik ragam total padatan terlarut (TPT)	48
10. Analisis Beda Nyata Terkecil (BNT) 5%.....	48
11. Data total nilai pH minuman kombucha pulpa kakao dengan	49
12. Sidik ragam nilai pH minuman kombucha pulpa.....	49
13. Analisis Beda Nyata Terkecil (BNT) 5% nilai pH.....	50
14. Data total khamir sebelum dan setelah fermentasi.....	51
15. Data total bakteri asam laktat (BAL)	51
16. Data total bakteri asam asetat (BAA).....	51
17. Data total rendemen nata pada minuman kombucha pulpa	52
18. Data total berat nata pada minuman kombucha pulpa.....	52
19. Data total aktivitas antimikroba bakteri <i>E. Colli</i> pada minuman	53
20. Sidik ragam aktivitas antimikroba bakteri <i>E. Colli</i>	53
21. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5% aktivitas antimikroba <i>E.</i>	53
22. Data hasil aktivitas antimikroba bakteri <i>B. subtilis</i>	54
23. Sidik ragam aktivitas antimikroba bakteri <i>B. subtilis</i>	54
24. Uji beda Nyata Terkecil (BNT) 5% antimikroba bakteri <i>B.</i>	54

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka pemikiran karakteristik mikrobiologi minuman	6
2. Buah kakao.....	8
3. Diagram alir proses produksi minuman kombucha pulpa	21
4. Diagram alir penambahan madu dan serbuk cengkeh.....	23
5. Grafik perbandingan rerata total mikroorganisme	31
6. Proses pembuatan minuman kombucha pulpa kakao.....	55
7. Pengujian total padatan terlarut.....	56
8. Pengujian derajat keasaman (pH).....	56
9. Pengujian rendemen nata	56
10. Pengujian total khamir, BAL, BAA.....	57
11. Pengujian aktivitas antimikroba.....	58

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang dan Masalah

Kakao (*Theobroma cacao* L.) merupakan salah satu komoditas perkebunan utama di Indonesia, dengan produksi dan luas area perkebunan yang terus meningkat setiap tahun. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (2023), beberapa provinsi penghasil kakao terbesar pada tahun 2022 meliputi Sulawesi Tengah (20,11%), Sulawesi Tenggara (16,08%), Sulawesi Selatan (13,36%), Sulawesi Barat (10,73%), Lampung (7,41%), dan provinsi lainnya (32,31%). Dari keseluruhan buah kakao yang dihasilkan, hanya sekitar 10% yang dimanfaatkan, sedangkan sisanya berupa kulit buah kakao, plasenta, dan pulpa kakao (Yuliana *et al.*, 2022).

Pulpa kakao telah dimanfaatkan dalam pembuatan kombucha, yang pertama kali dilakukan oleh Yuliana *et al.*, (2019). Penelitian tentang kombucha berbahan dasar kakao terus berkembang, seperti yang dilakukan oleh Rahayu (2022) dan Wibowo (2023), yang meneliti pengaruh variasi waktu fermentasi terhadap aktivitas antioksidan serta karakteristik fisiko-kimia kombucha pulpa kakao. Penelitian lanjutan oleh Fauzan (2024) membahas aspek sensori kombucha pulpa kakao dengan penambahan madu dan cengkeh. Hal ini menunjukkan potensi besar pulpa kakao sebagai bahan baku dalam pengembangan produk fermentasi. Menurut Balladares *et al.*, (2022), pulpa kakao memiliki kandungan gula sebesar 8–14% dan kadar air 80–90%, dengan komposisi gula utama berupa glukosa (2,13–21,4%), fruktosa (1,06–4,42%), dan sukrosa (2,13–4,06%). Kandungan gula yang tinggi ini menjadikan pulpa kakao sangat cocok untuk pertumbuhan mikroorganisme, khususnya dalam proses fermentasi.

Kombucha merupakan fermentasi teh manis dengan bantuan simbiosis bakteri dan khamir. Fermentasi yang terjadi pada pembuatan teh kombucha merupakan aktivitas dari mikroorganisme yang terdapat dalam starter kultur kombucha yang dikenal sebagai SCOBY (Gumanti, 2023). SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*) adalah campuran dari bakteri dan khamir yang hidup dalam koloni yang sama dan berbentuk seperti lapisan gel. Bakteri pada kombucha didominasi oleh Bakteri Asam Laktat, Bakteri Asam Asetat, dan Khamir. Bakteri Asam Laktat seperti *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, dan *Weissella*. Bakteri Asam Asetat seperti *Acetobacter*, *Gluconobacter*, *Gluconacetobacter*, dan *Komagataeibacter*. Sedangkan khamir yang ada pada SCOBY terdiri dari *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhodotorula glutinis*, *Brettanomyces*, *Kloeckera sp*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Torulaspora sp*, *Pichia sp*, *Saccaromyces ludwigii*, dan *Zygosaccharomyces bailii* (Yuwono dan Nauval, 2022) .

Penelitian pendahuluan yang telah dilakukan oleh Fauzan (2024) menunjukkan bahwa penambahan serbuk cengkeh pada kombucha pulpa kakao memberikan hasil yang signifikan, terutama pada uji skoring terhadap aroma cengkeh, aroma asam, warna, rasa madu, dan *aftertaste*. Perlakuan terbaik diperoleh dengan penambahan 0,2% cengkeh dan 5,5% madu, yang dinilai paling disukai oleh panelis berdasarkan uji skoring pada 25 panelis dan uji hedonik pada 50 panelis. Penambahan serbuk cengkeh dalam kombucha pulpa kakao tidak hanya memberikan aroma dan cita rasa yang khas, tetapi juga berpotensi meningkatkan aktivitas antimikroba. Minyak cengkeh diketahui mengandung eugenol hingga 85% (Utami, 2010), yang berfungsi sebagai antimikroba, antijamur, insektisida, dan antioksidan (Pradana, 2024; Utami *et al.*, 2019). Menurut Ramadhani *et al.*, (2020), minyak cengkeh dengan konsentrasi minimum 10% memiliki zona hambat sekitar 17 mm terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Penelitian lainnya oleh Pradana *et al.*, (2023) menunjukkan bahwa ekstrak dari batang, daun, dan bunga cengkeh memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*, *S. aureus*, dan *Streptococcus mutans* dengan tingkat hambatan lebih dari 40% dan zona hambat mencapai 18,83 mm.

Menurut penelitian Rahardjo *et al.*, (2024) penambahan madu dalam kombucha dapat menutupi rasa dan aroma asam yang dihasilkan dari fermentasi kombucha melalui uji organoleptik pada 30 panelis. Selain itu penambahan madu dalam kombucha serbuk cengkeh diduga dapat mengurangi rasa pahit yang dihasilkan dari cengkeh. Madu alami tersusun dari 38% fruktosa, 31% glukosa, 12.90% gula lain, 17.10% air, 0.50% protein, asam amino, senyawa fenolik, vitamin, asam organik dan berbagai mineral (Sarwono, 2001). Madu kaya akan polyphenol, flavonoid, glikosida, serta senyawa fenolik lainnya (Intar, 2016). Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara merusak dinding sel bakteri (Ramadhan *et al*, 2022).

Kombucha pulpa kakao dengan penambahan serbuk cengkeh tidak hanya bertujuan untuk meningkatkan kualitas sensorinya, tetapi juga memiliki potensi manfaat kesehatan. Penambahan serbuk cengkeh dan madu dalam kombucha diharapkan dapat memberikan dampak yang lebih baik dari segi rasa, aroma, serta memberikan sifat-sifat antibakteri, untuk memahami manfaat kesehatan lebih lanjut, penting untuk mengetahui total dan jenis mikroba dominan (bakteri asam laktat, bakteri asam asetat dan khamir) yang berkembang selama proses fermentasi melalui metode *Total Plate Count*, serta pengaruh penambahan madu dan serbuk cengkeh terhadap sifat antimikroba kombucha pulpa kakao melalui metode difusi cakram. Mikroba yang berperan dalam fermentasi kombucha tidak hanya mempengaruhi rasa dan aroma, tetapi juga berkontribusi terhadap aktivitas bioaktif yang dapat berdampak pada kesehatan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian berjudul “Pengaruh Penambahan Madu dan Cengkeh Terhadap Sifat Mikrobiologi Minuman Kombucha Pulpa Kakao”.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui pengaruh fermentasi terhadap total mikroba dominan dan rendemen nata pada minuman kombucha pulpa kakao
2. Mengetahui pengaruh penambahan madu, dan serbuk cengkeh terhadap nilai pH, total padatan terlarut, dan aktivitas antimikroba pada minuman kombucha pulpa kakao.

1.3 Kerangka Pemikiran

Kombucha pulpa kakao merupakan minuman yang dibuat melalui proses fermentasi, menggabungkan rasa pulpa kakao dengan manfaat dari teh kombucha. Proses fermentasi dimulai dengan mencampurkan teh manis dengan kultur bakteri dan khamir (SCOBY). Setelah fermentasi selesai, penambahan herbal dan formulasi seperti cengkeh dan madu dapat meningkatkan sensori dan manfaat kesehatan salah satunya sifat antimikroba. Cengkeh dan madu dalam kombucha diketahui dapat menutupi aroma dan rasa asam yang dihasilkan akibat proses fermentasi (Fauzan, 2024).

Penambahan madu dan serbuk cengkeh tidak hanya meningkatkan sensori kombucha pulpa kakao tetapi berpengaruh pula terhadap aspek kesehatan salah satunya antimikroba. Komposisi dalam kombucha menunjukkan bahwa terdapat banyak senyawa di dalamnya, tergantung pada media kombucha, waktu dan suhu proses, serta mikroorganisme yang terdapat pada starter. Beberapa penelitian telah dilakukan dengan pembuatan kombucha dengan berbagai substrat, seperti ekstrak *Yerusalem artichoke*, kayu manis, jahe, dan daun *papermint*. Varietas daun teh yang berbeda, jenis bahan baku, jumlah gula, dan lama fermentasi akan mempengaruhi aktivitas biologis pada kombucha (Sumarmi, 2021).

Fauzan (2024) telah melakukan penelitian penambahan madu dan serbuk cengkeh dalam minuman fermentasi kombucha pulpa kakao original. Formulasi kombucha pulpa kakao madu dan serbuk cengkeh yang digunakan melalui beberapa perbedaan konsentrasi serbuk cengkeh dan madu. Setelah dilakukan uji sekroning pada 25 panelis dan hedonik 50 panelis maka didapatkan konsentrasi terbaik penambahan serbuk cengkeh 0,2% dan madu 5,5%. Hasil penelitian Fauzan (2024) belum diketahui karakteristik mikrobiologi yang terdapat pada minuman fermentasi kombucha pulpa kakao dengan penambahan madu dan serbuk cengkeh.

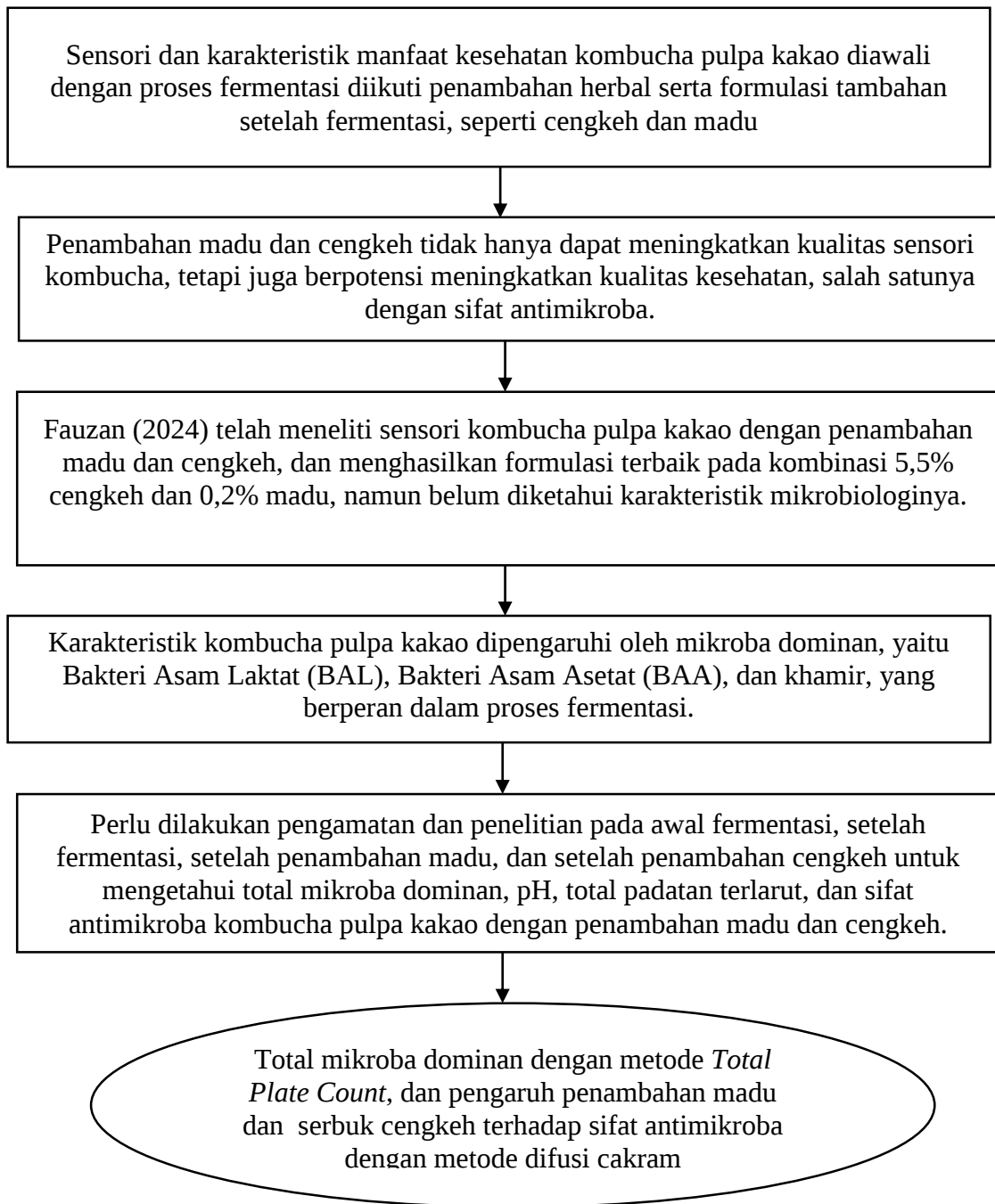
Hasil penelitian Nguyen *et al.*, (2015) mengenai suplementasi bakteri asam laktat dan khamir selama proses fermentasi kombucha menunjukkan bahwa terjadi

peningkatan fungsi biologis selama proses fermentasi, antara lain dapat meningkatkan produksi asam glukonat, dan aktivitas antibakteri dari kombucha. Peningkatan aktivitas antibakteri pada kombucha pulpa kakao didukung dengan penambahan serbuk cengkeh dan madu dalam kombucha setelah proses fermentasi. Cengkeh memiliki aktivitas antimikroba yang ada dalam senyawa fenol, salah satunya eugenol (Pradana 2024 ; Utami *et al*, 2019). Bakteri yang resisten terhadap antibiotik dapat memanfaatkan eugenol karena sifatnya yang hidrofobik, senyawa akan masuk kedalam membran sel melalui lipopolisakarida dan akan merusak struktur sel. Penelitian Pradana *et al.*, (2023) menunjukkan bahwa batang, daun dan bunga cengkeh memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli*, *S. aureus*, dan *S. mutans* dengan kadar hambat lebih dari 40% dan zona hambat 18,83 mm.

Menurut Devianti (2015), madu memiliki kandungan antimikroba yang signifikan, berkat komponen seperti hidrogen peroksida, flavonoid, dan asam fenolik. Penambahan madu dalam kombucha pulpa kakao selain dapat menutupi rasa pahit cengkeh, madu pula, memiliki sifat antibakteri seperti pada *Trigona sp.* menunjukkan aktivitas antimikroba yang efektif terhadap bakteri seperti *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*, dengan nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) masing-masing sebesar 0,83% dan 0,67% untuk khamir *Candida albicans*. Selain itu, madu hutan dan madu hitam juga terbukti efektif melawan bakteri patogen, dengan MIC yang bervariasi antara 12,5% hingga 25% (Kaligis, 2020).

Berdasarkan hasil penelitian fauzan (2024), bahwa perlu digali lagi mengenai mikroorganisme dominan yang berperan dalam proses fermentasi kombucha, serta pengaruh penambahan serbuk cengkeh dan madu terhadap aktivitas antimikroba yang dihasilkan. Pengamatan yang dilakukan pada penelitian ini adalah total bakteri asam laktat, total bakteri asam asetat, dan total khamir melalui metode *Total Plate Count*, antimikroba melalui metode difusi cakram, derajat keasaman dan total padatan terlarut. Penelitian dilakukan guna mengetahui total bakteri dominan, rendemen nata yang berperan dalam proses fermentasi serta nilai derajat keasaman, total padatan terlarut dan aktivitas antimikroba kombucha pulpa kakao

setelah penambahan madu dan cengkeh. Rangkuman kerangka pikir disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Kerangka pemikiran karakteristik mikrobiologi minuman kombucha pulpa kakao dengan penambahan serbuk cengkeh

Hipotesis dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Fermentasi mempengaruhi total mikroba dominan dan rendemen nata pada minuman kombucha pulpa kakao.
2. Penambahan madu dan serbuk cengkeh berpengaruh terhadap nilai pH, total padatan terlarut, dan aktivitas antimikroba pada minuman kombucha pulpa kakao.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Pulpa kakao

Pemanfaatan tanaman kakao saat ini masih terbatas pada biji dan kulit kakao, sedangkan bagian lainnya yaitu pulpa kakao belum banyak dimanfaatkan. Pada dasarnya buah kakao (Gambar 2) terdiri atas 4 bagian utama yaitu: kulit, plasenta, pulpa, dan biji. Buah kakao masak berisi 30-40 biji yang diselubungi oleh pulpa dan plasenta. Pulpa merupakan jaringan halus yang berlendir yang membungkus biji kakao (Kristiani *et al*, 2015). Komposisi kimia cairan pulpa kakao bergantung pada kondisi dan asal pulpa kakao. Sebanyak 80-86% pulpa kakao terdiri dari air dan sisanya adalah padatan dengan komposisi utama berupa gula, serat kasar, dan pektin, serta terdapat asam organik berupa asam sitrat dan asam asetat (Yuliana *et al*, 2022).



Gambar 2 Buah kakao
Sumber : Dokumentasi pribadi

Salah satu pemanfaatan cara memperoleh pulpa kakao adalah dengan dilakukan pengepresan biji kakao. Proses pengepresan akan menghasilkan hasil samping yaitu kulit buah kakao dan cairan pulpa kakao. Proses pengepresan 1 ton biji kakao dapat menghasilkan cairan pulpa kakao sebanyak 75-100 liter (Safitri, 2019). Selama proses fermentasi dihasilkan sekitar 15-20% cairan pulpa kakao (Ganda-putra *et al.*, 2008). Pulpa kakao mengandung gula dan polisakarida yang dapat digunakan oleh mikroorganisme untuk melakukan proses fermentasi (Rachmatullah *et al.*, 2021).

Tabel 1. Kandungan nutrisi pulpa kakao

Parameter	Satuan	Kandungan nutrisi rata-rata
Air	%	80-86****
Glukosa	%	2,13-21,4***
Fruktosa	%	1,06-4,42***
Sukrosa	%	2,13-4,06**
Karbohidrat	%	19,50**
Lemak	%	1,45**
Protein	%	0,62**
pH		3,50**
kalsium	mg/L	171,5*
Magnesium	mg/L	82,5*
Fosfor	mg/L	62,47*
Pektin		0,51**

Sumber: *Anvoh *et al.*, (2009); **Nunes *et al.*, (2020); ***Yuliana *et al.*, (2022)

Tingginya kandungan gula pada pulpa kakao menjadikannya bahan baku potensial untuk digunakan sebagai media fermentasi. Salah satu pemanfaatan pulpa kakao yaitu dengan pembuatan kombucha pulpa kakao. Kombucha adalah minuman berasa sedikit manis, sedikit asam yang terbuat dari fermentasi teh dan gula yang ditambahkan kultur simbiosis dan khamir (SCOBY) (Yuliana *et al.*, 2022).

2.2. Kombucha

Kombucha merupakan minuman hasil fermentasi teh dengan tambahan gula, menggunakan kultur mikroorganisme berupa biofilm yang dikenal sebagai SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*) (Pratama, 2015). Fermentasi kombucha berlangsung selama 7 hingga 12 hari, menghasilkan minuman bersoda dengan aroma tajam seperti cuka dan cita rasa khas (Dongoran *et al.*, 2023). Proses fermentasi ini memungkinkan bakteri dan khamir menghasilkan senyawa bioaktif seperti asam organik, vitamin, dan senyawa fenolik yang bermanfaat bagi tubuh (Wijaya *et al.*, 2017).

Kombucha dapat dibuat dengan berbagai jenis teh, termasuk teh hitam, hijau, atau daun lokal yang kaya fenol seperti daun salam, daun sirih, daun jambu, daun kopi, daun teh, dan daun sirih. Kandungan fenol dan zat terlarut dalam daun, seperti gula, asam amino, dan kafein, berfungsi sebagai nutrisi yang mendukung pertumbuhan mikroorganisme selama fermentasi (Nainggolan, 2009). Penelitian Wistiana (2015) menunjukkan perbedaan jumlah mikroba tergantung pada jenis daun yang digunakan. Sebagai contoh, pada fermentasi hari ke-8, kombucha daun teh memiliki total bakteri sekitar $4,40 \times 10^6$ cfu/ml, lebih tinggi dibandingkan kombucha daun salam yang mencapai $1,32 \times 10^6$ cfu/ml.

Kombucha mengandung banyak zat penting yang dibutuhkan oleh tubuh seperti vitamin C, vitamin B kompleks, berbagai asam organik dan enzim (Dongoran *et al.*, 2023). Enzim merupakan senyawa organik yang berperan memperlancar metabolisme zat-zat dalam tubuh (Miranda *et al.*, 2016). Mikroorganisme dalam kombucha akan bermetabolisme terhadap gula sehingga menjadi berbagai jenis asam, alkohol dan vitamin yang berkhasiat bagi kesehatan (Falahuddin *et al.*, 2017).

Manfaat kombucha menurut berbagai penelitian sangat beragam dan mendukung kesehatan tubuh secara menyeluruh. Kombucha diketahui memiliki sifat probiotik yang dapat meningkatkan keseimbangan mikrobiota usus, sehingga membantu memperbaiki fungsi pencernaan dan meningkatkan sistem imun (Vina *et al.*, 2013). Selain itu, kandungan antioksidan dalam kombucha, terutama dari senyawa

fenolik dan asam organik, berperan dalam melawan radikal bebas yang dapat menyebabkan stres oksidatif (Jayabalan *et al.*, 2014). Kombucha juga dilaporkan memiliki efek antimikroba yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, sehingga membantu mencegah infeksi saluran pencernaan (Mohammadi *et al.*, 2021). Teh kombucha dapat dianggap sebagai minuman fungsional karena memberikan dampak positif terhadap kesehatan dan kebugaran tubuh.

2.3. Fermentasi

Fermentasi merupakan teknik pengolahan makanan yang telah digunakan secara tradisional untuk mengawetkan bahan pangan sekaligus meningkatkan nilai gizi dan keamanan konsumsi. Proses fermentasi melibatkan aktivitas mikroorganisme seperti khamir, bakteri asam laktat, maupun bakteri asam asetat yang mengubah komponen substrat menjadi metabolit yang bermanfaat, seperti asam organik, gas, dan alkohol. Substrat dalam fermentasi bisa berupa bahan pangan yang kaya akan karbohidrat atau gula, seperti buah-buahan, sayuran, susu, atau sereal (Kurnianto dan Munarko, 2022).

Substrat yang digunakan dalam fermentasi akan memengaruhi keberhasilan proses serta karakteristik produk akhir yang dihasilkan. Substrat ideal untuk fermentasi mengandung sumber karbon (glukosa, fruktosa, sukrosa), nitrogen, vitamin, serta mineral yang dapat mendukung pertumbuhan mikroorganisme. Kandungan gula dalam substrat berfungsi sebagai bahan baku utama yang akan dikonversi menjadi metabolit selama proses fermentasi. Lama fermentasi dapat mempengaruhi kualitas mikrobiologis dan fisikokimia produk fermentasi.

Fermentasi kombucha dilakukan selama 7 hingga 14 hari pada suhu ruang. Selama proses fermentasi, terjadi peningkatan jumlah mikroorganisme hingga mencapai titik optimum, diikuti dengan penurunan pH dan peningkatan kandungan asam organik (Jayabalan *et al.*, 2007). Penelitian oleh Yuwono dan Naufal (2022) menyatakan bahwa lama fermentasi memengaruhi rasa, aroma, dan

aktivitas biologis kombucha, di mana fermentasi terlalu lama dapat menghasilkan rasa yang terlalu asam atau produk yang tidak disukai secara organoleptik.

Fermentasi kombucha merupakan contoh nyata dari fermentasi simbiotik antara khamir dan bakteri. SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*) yang digunakan dalam fermentasi kombucha bekerja secara bertahap, di mana khamir memecah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa, yang kemudian difermentasi menjadi etanol. Etanol selanjutnya dioksidasi oleh bakteri asam asetat menjadi asam asetat, yang berkontribusi terhadap rasa asam dan efek antimikroba pada kombucha (Jayabalan *et al.*, 2014). Proses fermentasi kombucha optimal pada suhu 25–30°C dan pH awal sekitar 4,5, kemudian menurun menjadi sekitar 2,5–3 setelah 7–14 hari fermentasi (Wijaya *et al.*, 2023). Total mikroba yang diinginkan dalam produk fermentasi seperti kombucha umumnya berada pada kisaran $\geq 6 \log$ CFU/mL agar memberikan manfaat fungsional yang optimal sesuai standar SNI 7552:2009.

2.4. Cengkeh

Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) adalah tanaman rempah bernilai ekonomi tinggi, yang telah lama dikenal dan digunakan dalam berbagai bidang, mulai dari kuliner, kesehatan tradisional, hingga industri obat dan kosmetik. Bagian tanaman cengkeh yang umum dimanfaatkan meliputi bunga, tangkai bunga, gagang, dan daun (Wiranto, 2009). Bagian yang paling umum digunakan dalam pemanfaatan cengkeh adalah kuncup bunga yang dikeringkan, yang dikenal kaya akan senyawa bioaktif. Berikut klasifikasi ilmiah cengkeh menurut Mustapa (2020).

Devisi : Spermatophyta
 Subdevisi : Angiospermae
 Kelas : Dicotyledoneae
 Bangsa : Myrtales
 Famili : Myrtaceae
 Marga : *Syzygium*
 Spesies : *Syzygium aromaticum* (L.)

Kandungan utama dalam cengkeh adalah senyawa eugenol, yang mencapai sekitar 70–90% dari total minyak atsiri yang dimilikinya (Salsabila *et al.*, 2023). Selain eugenol, cengkeh juga mengandung tanin, flavonoid, saponin, dan senyawa fenolik lainnya yang bersifat antioksidan dan antimikroba (Dewi dan Astuti, 2023). Kandungan senyawa-senyawa tersebut menjadikan cengkeh tidak hanya berfungsi sebagai penyedap makanan, tetapi juga sebagai agen terapeutik yang potensial dalam pengobatan tradisional dan modern.

Salah satu manfaat utama dari senyawa eugenol dalam cengkeh adalah sifat antibakteri. Eugenol bekerja dengan cara merusak integritas membran sel bakteri, mengganggu metabolisme sel, dan menyebabkan kebocoran komponen intraseluler, sehingga menyebabkan kematian sel bakteri (Ramadhani *et al.*, 2020). Beberapa studi menunjukkan bahwa ekstrak cengkeh mampu menghambat pertumbuhan berbagai jenis bakteri patogen seperti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella typhi* (Suhendar dan Fathurrahman, 2019). Kandungan fenoliknya juga memberikan efek sinergis terhadap aktivitas antimikroba melalui pengikatan pada protein dan enzim mikroba, serta gangguan terhadap sistem transport nutrisi mikroorganisme. Efektivitas ini membuat cengkeh sering dimanfaatkan sebagai pengawet alami dan bahan tambahan dalam formulasi produk pangan fungsional.

Penambahan cengkeh dalam minuman fermentasi telah terbukti meningkatkan aktivitas antimikroba serta kualitas sensorik produk. Kombinasi antara senyawa bioaktif dari cengkeh dan metabolit hasil fermentasi seperti asam asetat dan etanol, memberikan efek sinergis dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Penelitian oleh Utami *et al.*, (2010) menunjukkan bahwa penambahan bubuk cengkeh pada produk olahan seperti selai nanas dapat meningkatkan nilai pH serta memperpanjang daya simpan karena efek antibakteri yang ditimbulkan. Penelitian lainnya oleh Pradana (2024), menyatakan bahwa senyawa aktif dalam cengkeh memiliki potensi sebagai bahan antibakteri alami yang efektif terhadap mikroorganisme Gram positif dan Gram negatif. Dengan demikian, cengkeh tidak

hanya unggul sebagai penguat rasa, tetapi juga berperan dalam aspek kesehatan salah satunya aktivitas antimikroba.

2.5. Madu

Madu merupakan cairan alami hasil sekresi lebah madu (*Apis mellifera*) yang dikumpulkan dari nektar bunga dan mengalami transformasi biokimia selama proses penyimpanan dalam sarang (Putri, 2023). Madu telah digunakan sejak ribuan tahun sebagai bahan pangan, obat alami, dan antiseptik tradisional. Kandungan utama madu terdiri dari gula sederhana seperti fruktosa (30–44%) dan glukosa (25–40%), disertai air (17–20%), asam organik, mineral, vitamin, enzim, serta senyawa fenolik dan flavonoid (Ratnayani *et al.*, 2008; Adityarini *et al.*, 2020). Komposisi ini tidak hanya memberikan rasa manis, tetapi juga menjadikan madu sebagai bahan pangan dengan nilai gizi dan aktivitas biologis yang tinggi.

Madu memiliki kandungan antioksidan yang terdiri dari senyawa enzimatik dan non-enzimatik. Antioksidan enzimatik dalam madu meliputi katalase, glukosa oksidase, dan peroksidase, sementara antioksidan non-enzimatik mencakup asam askorbat, flavonoid, asam amino, protein, karotenoid, produk reaksi Maillard, dan asam fenolat (Evahelda *et al.*, 2017). Aktivitas antioksidan madu berasal dari kandungan senyawa fenolik dan flavonoid yang mampu menangkal radikal bebas, memperlambat oksidasi, dan melindungi sel tubuh dari kerusakan oksidatif (Kunat *et al.*, 2023). Madu juga berperan dalam mempercepat penyembuhan luka, meningkatkan sistem imun, serta menjaga keseimbangan mikrobiota usus. Kandungan asam glukonat dan hidrogen peroksida yang dihasilkan dari enzim glukosa oksidase memberikan sifat antibakteri alami (Kaligis *et al.*, 2020).

Masyarakat Indonesia sering memanfaatkan madu sebagai bahan campuran jamu tradisional untuk meningkatkan khasiat penyembuhan, seperti mengatasi infeksi saluran cerna dan pernapasan, serta meningkatkan kebugaran tubuh (Wineri, 2014). Aktivitas antibakteri madu juga telah terbukti efektif melawan bakteri patogen, termasuk *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Penelitian menunjukkan bahwa madu alami memiliki diameter zona hambat yang lebih besar

dibandingkan madu olahan, menandakan efektivitas yang lebih tinggi dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Suwito *et al.*, 2024).

2.6. Kultur Bakteri and Yeast (SCOBY)

SCOBY merupakan singkatan dari *Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*, yaitu suatu kultur mikroorganisme berbentuk biofilm yang terbentuk selama proses fermentasi kombucha. SCOBY terdiri atas bakteri dan khamir yang hidup secara simbiotik dalam substrat berbasis gula dan teh atau medium lain yang mengandung nutrisi cukup. Dalam proses fermentasi, khamir menghidrolisis sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa, yang selanjutnya difermentasi menjadi etanol dan karbon dioksida. Bakteri kemudian mengoksidasi etanol menjadi asam asetat dan senyawa organik lainnya yang memberikan rasa asam khas pada kombucha (Jayabalan *et al.*, 2014). SCOBY memiliki bentuk seperti lapisan gelatinous tipis berwarna putih atau krem yang mengapung di permukaan cairan fermentasi. Struktur ini terbentuk sebagai hasil sekresi selulosa oleh bakteri asam asetat, terutama *Acetobacter xylinum*.

Mikroorganisme utama yang terdapat dalam SCOBY adalah berbagai spesies khamir (*Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces bailii*, *Brettanomyces*, *Saccharomices pombe*.), bakteri asam asetat (*Acetobacter xylinum*, *Acetobacter xylinoides*, dan *Acetobacter ketogenum*) dan bakteri asam laktat (*Lactobacillus*, *Pediococcus*, dan *Gluconobacter*) (Zubaidah *et al.*, 2022). Khamir berperan dalam menghasilkan alkohol dan metabolit primer lain, sedangkan bakteri mengubah alkohol tersebut menjadi asam asetat serta mensintesis selulosa bakteri. Kombinasi aktivitas kedua kelompok mikroba ini menghasilkan berbagai senyawa bioaktif, seperti asam organik, vitamin B, senyawa fenolik, serta senyawa dengan efek antimikroba dan antioksidan (Marsh *et al.*, 2014). Keberagaman spesies mikroba dalam SCOBY dapat bervariasi tergantung pada kondisi lingkungan fermentasi, seperti suhu, pH, jenis substrat, dan asal kultur awal. Peran mikroorganisme dalam fermentasi kombucha disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Peran mikroorganisme dalam fermentasi kombucha

Mikroorganisme	Spesies	Peran
Khamir	<i>Saccharomyces pombe</i> <i>Saccharomyces ludwigii</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Zygaromyces</i> <i>Brettanomyces</i>	Menguraikan sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa, dan memproduksi etanol dan CO ₂ .
Bakteri asam asetat	<i>Acetobacter xylinum</i> <i>Acetobacter xylinoides</i> <i>Acetobacter ketagonum</i>	Memproduksi asam asetat dan asam glukoronat, menghasilkan rasa asam, serta membentuk selulosa/nata.
Bakteri asam laktat	<i>Lactobacillus spp</i> <i>Pediococcus spp</i> <i>Glucobacter kombucha</i>	Memproduksi asam laktat, menghasilkan rasa asam.

Sumber: Zubaidah *et al.*, (2022).

Proses pembentukan SCOBY dimulai ketika bakteri asam asetat mensintesis dan mensekresikan selulosa dalam bentuk mikrofibril yang saling berikatan dan membentuk jaringan tiga dimensi. Jaringan ini kemudian menebal dan membentuk lapisan biofilm yang kita kenal sebagai SCOBY. Pembentukan SCOBY dimulai dalam 3–5 hari awal fermentasi (Greenwalt *et al.*, 2000). SCOBY akan mengapung di permukaan karena gas karbon dioksida yang dihasilkan khamir selama fermentasi menyebabkan biofilm terangkat. Proses ini berlangsung dalam kondisi aerobik, di mana keberadaan oksigen sangat penting bagi aktivitas bakteri penghasil selulosa. Struktur fisik dari SCOBY akan terus berkembang dan menebal seiring bertambahnya waktu fermentasi.

Berdasarkan penelitian Ramdhani *et al.*, (2021), SCOBY memiliki rata-rata ketebalan 0,77 cm, diameter 6,89 cm, dan kadar air sebesar 62,45%. Menurut Standar Nasional Indonesia (SNI), kadar serat yang terkandung dalam nata maksimal adalah 4,5%. Dalam proses fermentasi kombucha, terdapat tiga mikroba dominan, yaitu bakteri asam asetat, bakteri asam laktat, dan khamir, yang masing-masing berperan penting dalam pembentukan rasa dan karakteristik produk. Secara mikrobiologis, SCOBY merupakan indikator kualitas dan keberhasilan

fermentasi kombucha. SCOBY yang tumbuh sehat menunjukkan bahwa kondisi fermentasi berlangsung optimal, dengan keseimbangan mikroorganisme yang stabil.

2.7. Antimikroba

Antimikroba adalah senyawa yang memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme seperti bakteri, jamur, dan virus. Senyawa antimikroba bisa bersifat alami, sintetis, maupun semi-sintetis dan telah banyak dimanfaatkan dalam bidang pangan, farmasi, dan medis. Dalam pangan, senyawa antimikroba digunakan untuk meningkatkan keamanan dan memperpanjang masa simpan produk dengan cara menghambat pertumbuhan mikroba pembusuk atau patogen (Yanis *et al.*, 2017). Senyawa antimikroba dapat ditemukan dalam berbagai ekstrak tumbuhan yang tumbuh di Indonesia seperti madu, cengkeh, bawang putih, dan tanaman herbal lainnya mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, eugenol, tannin, dan asam fenolat yang telah terbukti memiliki efek antimikroba (Ramadhani *et al.*, 2020).

Senyawa-senyawa bioaktif pada tanaman bekerja dengan merusak membran sel bakteri, mendenaturasi protein, dan mengganggu metabolisme sel, sehingga efektif sebagai agen antimikroba, termasuk dalam pembuatan produk seperti hand sanitizer (Puspita *et al.*, 2021). Selain itu, penelitian Wijaya dan Masfufatun (2022) menunjukkan bahwa *Aloevera* atau lidah buaya memiliki potensi antimikroba berkat kandungan antrakuinon yang efektif melawan berbagai jenis jamur dan bakteri. Ekstrak lidah buaya terbukti mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen, sehingga sering dimanfaatkan dalam produk kesehatan dan kecantikan.

Pengujian aktivitas antimikroba dari suatu senyawa atau ekstrak bahan alami, diperlukan metode pengujian laboratorium yang dapat menunjukkan efektivitasnya terhadap mikroorganisme target. Uji aktivitas antimikroba dilakukan dengan cara mengukur kemampuan bahan untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme seperti *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*,

dan *Bacillus subtilis*. Pengujian biasanya menggunakan metode uji difusi atau pengenceran, tergantung pada tujuan dan karakteristik bahan uji. Salah satu metode yang paling umum digunakan adalah metode difusi cakram (*disk diffusion*), karena praktis, cepat, dan dapat digunakan untuk berbagai jenis ekstrak atau senyawa uji (Ariyani *et al.*, 2018). Dalam metode ini, cakram kertas berisi larutan bahan uji diletakkan pada permukaan media agar yang telah diinokulasi dengan mikroba uji. Setelah inkubasi, diameter zona bening di sekitar cakram diukur sebagai indikator daya hambat antimikroba.

Metode cakram difusi merupakan metode kuantitatif sederhana dan cukup akurat untuk mengevaluasi potensi antimikroba suatu bahan. Ukuran zona bening (zona hambat) menunjukkan sejauh mana bahan tersebut dapat menghambat pertumbuhan mikroba uji. Semakin besar diameter zona hambat, maka semakin kuat aktivitas antimikroba dari bahan tersebut. Berdasarkan klasifikasi Saraswati (2015), daya hambat antimikroba dikategorikan menjadi lemah (≤ 5 mm), sedang (6–10 mm), kuat (11–20 mm), dan sangat kuat (> 20 mm). Metode difusi cakram cocok untuk membandingkan efektivitas antimikroba dari beberapa perlakuan sekaligus, seperti dalam penelitian kombucha dengan penambahan madu dan cengkeh. Metode ini telah digunakan dalam berbagai penelitian yang menguji senyawa antimikroba dari bahan alam seperti ekstrak tanaman, madu, dan minyak atsiri (Suhendar dan Fathurrahman, 2019).

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Pengolahan Hasil Pertanian, Laboratorium Mikrobiologi Hasil Pertanian Univeritas Lampung, dan Laboratorium Bakteriologi, Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner (BPPV) Regional III Bandar Lampung. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai Maret 2025.

3.2. Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah cairan pulpa kakao yang diperoleh dari kelompok tani di Desa Suka Agung, Kec. Bulok Tanggamus, Provinsi Lampung. Bahan lain yang digunakan yaitu serbuk cengkeh (Delta Agro), gula pasir (Gulaku), starter SCOBY (Tertatea House), madu (madu sehat KS), alkohol 96%, antibiotik (*Chloramphenicol*), cakram kosong, mikroba uji (*E. coli* dan *B. subtilis*), Kalsium karbonat, *Natrium Agar* (NA), *Natrium Broth* (NB), *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Media De Man Rogosa and Sharpe* (MRSA), *Malt Extract Agar* (MEA), dan *Glucose Yeast extract Calsium Carbonat* (GYC).

Alat yang digunakan antara lain timbangan analitik, baskom, kompor, wadah botol kaca, inkubator (MEMMERT IN30), pisau, neraca analitik, tisu, aluminium foil, batang pengaduk, kapas, vortex, hot plate, jarum ose, bunsen, tabung reaksi, erlenmeyer, labu ukur, gelas ukur, mikropipet, pipet tetes, labu ukur, laminar air flow, autoclave, pH meter, saringan, refraktometer, cawan petri, inkubator, gelas beaker, gelas ukur, thermometer, corong, dan buret.

3.3. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) dengan satu faktor perlakuan dan 5 ulangan. Faktor tunggal yang diteliti adalah kombucha pulpa kakao dengan penambahan madu dan cengkeh, terdiri atas 4 taraf perlakuan yaitu pada hari ke-0 fermentasi (F0), hari ke-7 fermentasi (F7), penambahan madu setelah fermentasi (FM), dan penambahan madu dan serbuk cengkeh setelah fermentasi (FCM), sehingga diperoleh sebanyak 20 satuan percobaan. Seluruh perlakuan minuman kombucha pulpa kakao dilakukan pengujian untuk parameter derajat keasaman (pH), total padatan terlarut (TPT), serta aktivitas antimikroba. Sementara itu, pengujian total khamir, BAL, BAA dilakukan pada perlakuan F0 dan F7, pengujian rendemen nata dilakukan pada F7. Data hasil pengamatan pH, TPT, dan daya hambat antimikroba dianalisis secara statistik menggunakan analisis ragam (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf 5%. Rincian perlakuan dan pengujian yang dilakukan dalam penelitian disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Perlakuan dan Pengujian pada Minuman Kombucha Pulpa Kakao

Perlakuan	Pengujian
F0	pH, TPT, aktivitas antimikroba, dan total khamir, BAL, dan BAA
F7	pH, TPT, aktivitas antimikroba, total khamir, BAL, BAA, dan rendemen nata
FM	pH, TPT, dan aktivitas antimikroba
FMC	pH, TPT, dan aktivitas antimikroba

Keterangan:

F0 : Hari pertama fermentasi

F7 : Hari ke-tujuh fermentasi

FM : Penambahan madu setelah fermentasi

FMC : Penambahan madu dan cengkeh setelah fermentasi

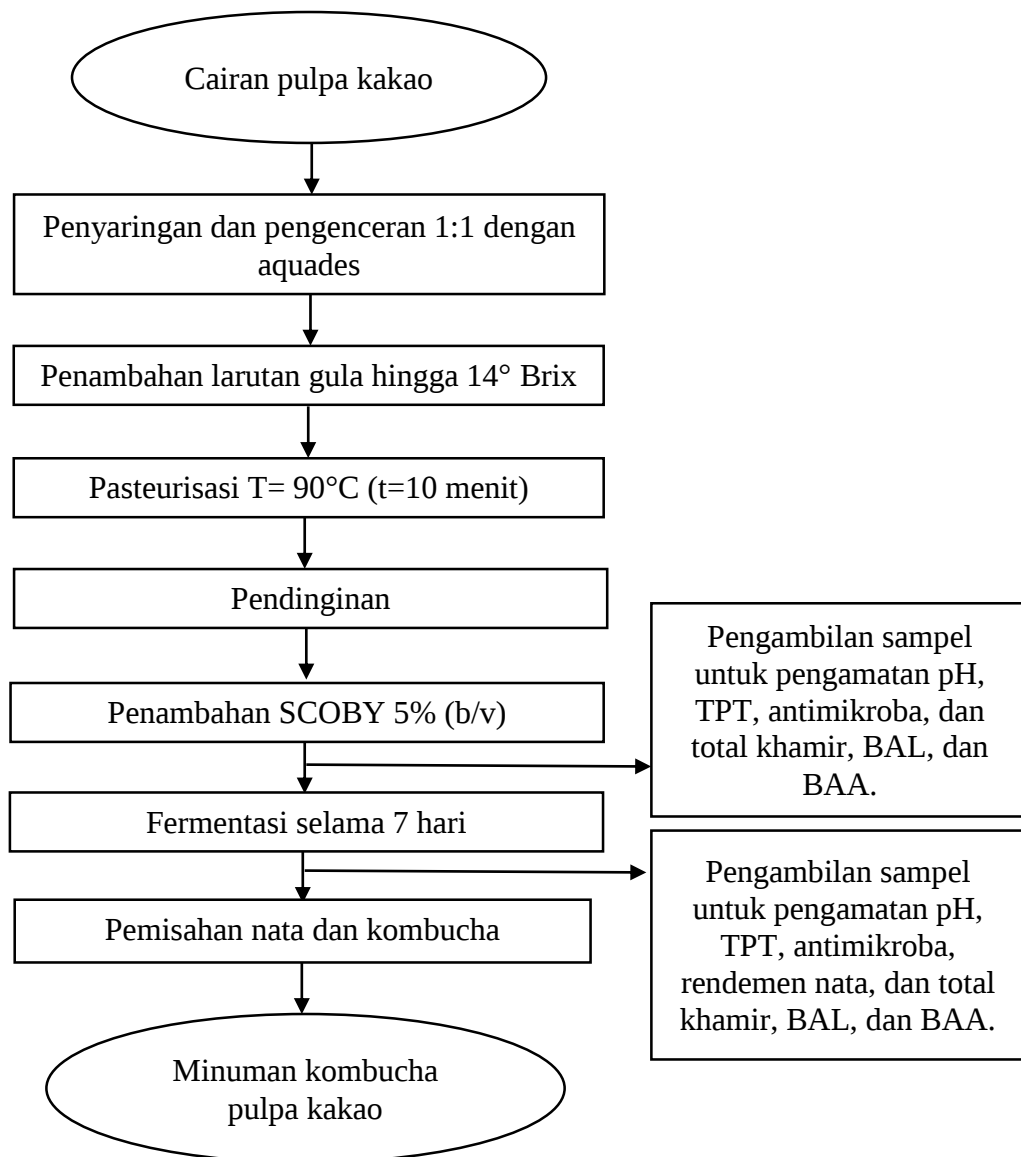
3.4. Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini terdiri dari dua tahapan yaitu proses pembuatan kombucha pulpa kakao dan penambahan madu dan cengkeh pada kombucha pulpa kakao.

Penelitian dilakukan sebanyak 5 kali ulangan dengan data disajikan dalam bentuk grafik dan dilengkapi rata-rata dan standar deviasi.

3.4.1 Pembuatan Minuman Kombucha Pulpa Kakao

Proses pembuatan kombucha pulpa kakao dilakukan dengan mengikuti prosedur oleh Fauzan (2024). Prosedur pembuatan minuman kombucha pulpa kakao disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Diagram alir proses produksi minuman kombucha pulpa kakao

Pembuatan kombucha diawali dengan menyiapkan cairan pulpa kakao sebagai media fermentasi. Pulpa kemudian disaring dan diencerkan dengan aquades pada perbandingan 1:1. Selanjutnya, dilakukan penambahan cairan gula secara bertahap

hingga mencapai 14° Brix. Pulpa kakao kemudian dipasteurisasi pada suhu 92°C selama 15 menit. Setelah pasteurisasi, larutan pulpa kakao dituangkan ke dalam wadah fermentasi dan didinginkan hingga mencapai suhu 25°C. Setelah larutan dingin, ditambahkan SCOBY sebanyak 5% (b/v) dan dilakukan pengambilan sampel untuk pengamatan pH, TPT, aktivitas antimikroba, dan total BAL, BAA, dan khamir. Fermentasi berlangsung selama 7 hari pada suhu ruang. Setelah fermentasi selesai, dilakukan pemisahan SCOBY dan dilakukan pengambilan sampel kembali untuk dilakukan pengamatan pH, TPT, aktivitas antimikroba, rendemen nata, dan total BAL, BAA, dan khamir.

3.4.2 Penambahan Madu dan Serbuk Cengkeh pada Minuman Kombucha Pulpa Kakao

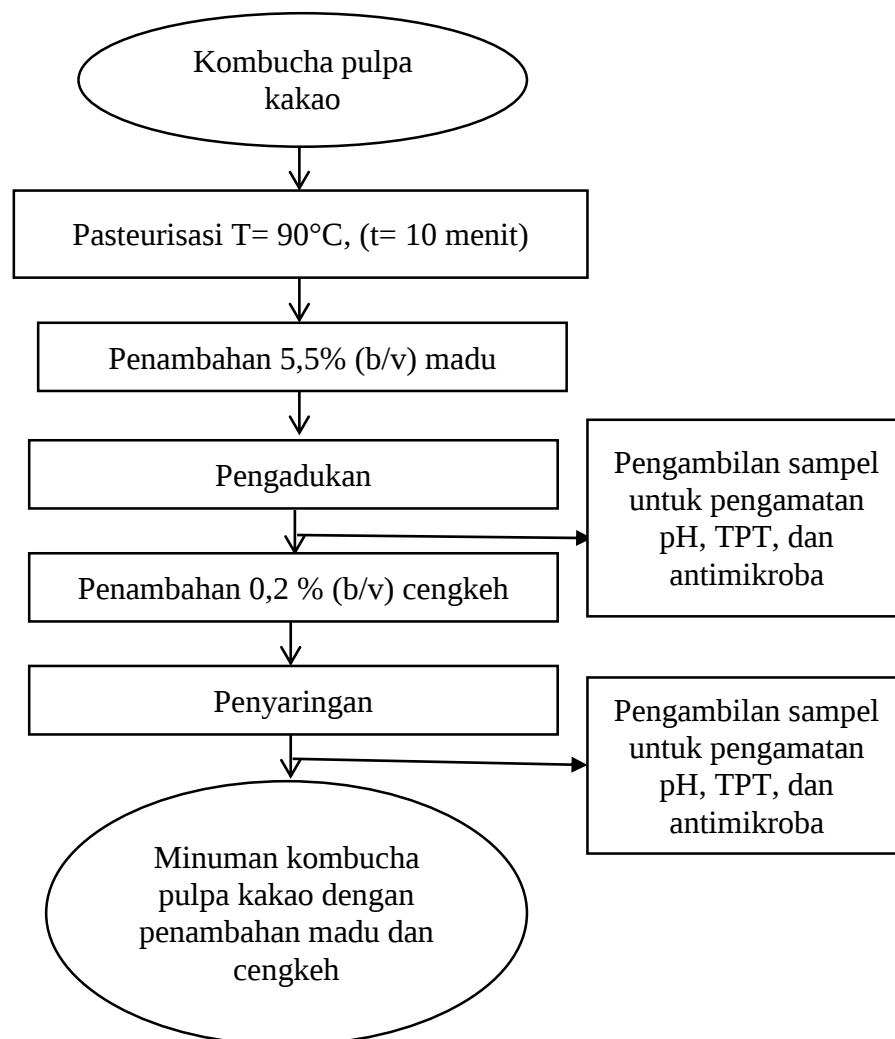
Proses penambahan madu dan cengkeh pada kombucha pulpa kakao dilakukan dengan mengikuti konsentrasi terbaik penelitian Fauzan, (2024). Penambahan madu dan cengkeh dilakukan setelah kombucha telah difermentasi selama 7 hari. Kemudian dilakukan pasteurisasi pada suhu 90°C dalam waktu 10 menit. Selanjutnya, dilakukan penambahan madu sebanyak 5,5% (b/v) kombucha dalam keadaan panas. Kemudian larutan diaduk hingga homogen dan dilakukan pengambilan sampel untuk pengujian pH, TPT, dan antimikroba. Kemudian, ditambahkan cengkeh sebanyak 0,2% (b/v) dari larutan kombucha dalam keadaan panas yang dihasilkan kemudian disaring hingga serbuk cengkeh berkurang kemudian dilakukan pengambilan sampel kembali untuk parameter pengujian pH, TPT, dan antimikroba. Diagram alir kombucha pulpa kakao dengan penambahan madu dan cengkeh disajikan pada Gambar 4.

3.5 Pengamatan

3.5.1 Total Padatan Terlarut (TPT)

Kadar total padatan terlarut ditentukan dengan menggunakan *hand refractometer*. *Hand refractometer* membaca total padatan terlarut pada larutan dengan bantuan indeks bias atau refraksi cahaya. Sebelum digunakan, *refractometer* dikalibrasi

terlebih dahulu dengan menggunakan aquades lalu dilap dengan kain *microfiber*. Pengukuran sampel kombucha pulpa kakao diambil dengan menggunakan pipet tetes, kemudian ditetaskan pada prisma biru lalu ditutup dengan *day light plate*. Selanjutnya, akan terlihat Brix sampel saat alat diarahkan pada cahaya matahari.



Gambar 4. Diagram alir penambahan madu dan serbuk cengkeh pada minuman kombucha pulpa kakao

3.5.2 Derajat Keasaman (pH)

Pengukuran pH minuman sinbiotik menggunakan pH meter, yang telah dikalibrasi dengan larutan *buffer* pH 7.01 dan pH 4.01. Bilas elektroda pH meter dengan

aquades sebelum digunakan, lalu keringkan dengan kain *microfiber*. Pengujian dilakukan dengan penuangan sample pulpa dalam gelas beker sebanyak 30 ml. Selanjutnya, pH meter dicelupkan kedalam sampel, dan tunggu sampai angka pada layar pH meter stabil.

3.5.3 Total Khamir, Bakteri Asam Laktat, Bakteri Asam Asetat

Proses Pengujian total mikroba dapat dilakukan dengan metode yang diadaptasi dari penelitian Yuliana *et al.*, (2023). Proses pengujian menggunakan tiga media agar yang berbeda untuk setiap mikroorganisme dominan yang diamati yaitu, khamir menggunakan *Malt Extract Agar* (MEA), bakteri asam asetat (BAA) menggunakan *Glucose Yeast Extract and Calcium Carbonat* (GYC), bakteri asam laktat (BAL) menggunakan *Media De Man Rogosa and Sharpe* (MRSA) dengan penambahan kalsium karbonat 1,0%. Proses pengujian dimulai dengan memasukkan 1 mL sampel ke dalam tabung reaksi berisi 9 mL larutan garam fisiologis steril, lalu campuran tersebut dihomogenkan menggunakan *vortex mixer*. Campuran ini merupakan pengenceran 10^{-1} . Selanjutnya, 1 mL larutan dari pengenceran 10^{-1} dipindahkan ke tabung reaksi lain yang berisi 9 mL larutan garam fisiologis steril untuk menghasilkan pengenceran 10^{-2} .

Proses pengenceran diulangi hingga mencapai pengenceran 10^{-8} . Pengenceran 10^{-6} , 10^{-7} , dan 10^{-8} , sebanyak 1 mL sampel diambil dan dimasukkan ke masing-masing cawan petri steril menggunakan mikropipet. Kemudian, ditambahkan 15 mL media agar stereril sesuai dengan jenis mikroba yang diuji ke dalam cawan petri, dan campuran tersebut dihomogenkan. Selanjutnya, cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C (BAL dan BAA) dan 25°C (khamir) selama 48 jam dengan posisi cawan terbalik. Jumlah koloni dihitung menggunakan *colony counter*, dan perhitungan dilakukan sesuai dengan standar *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* (ICMSF), yaitu koloni yang dihitung harus berjumlah antara 30 hingga 300 koloni per cawan petri. Perhitungan total koloni dapat dilakukan dengan persamaan sebagai berikut.

$$\text{Total Mikroba} \left(\frac{\text{Koloni}}{\text{mL}} \right) = \text{Jumlah koloni terhitung} \times \frac{1}{\text{Faktor pengenceran}}$$

3.5.4 Rendemen Nata

Analisis rendemen dilakukan berdasarkan metode AOAC (2016), yaitu dengan menimbang berat nata yang diperoleh, kemudian membaginya dengan berat media yang digunakan dan dikalikan 100%. Persentase rendemen dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\text{Rendemen (100\%)} = \frac{\text{Berat Nata}}{\text{Berat Medium}} \times 100\%$$

3.5.5 Pengujian Aktivitas Antimikroba

Pengujian aktivitas antimikroba mengikuti prosedur oleh Magfirah *et al.*, (2019), tetapi pengujian ini menggunakan sampel minuman kombucha pulpa kakao dengan bakteri uji berupa bakteri gram negatif yang diwakili oleh *Escherichia coli* dan bakteri gram positif yang diwakili oleh *Bacillus subtilis*. Pengujian ini dimulai dengan menumbuhkan bakteri *E. coli* dan *B. subtilis* dengan menggunakan media *Natrium Broth* (NB). Selanjutnya, cakram ditetesi dengan kombucha pulpa kakao dan ditunggu sampai meresap. Kemudian, media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dituang kedalam cawan petri. *E. coli* atau *B. subtilis* yang tumbuh pada NB diambil 1 ml kemudian di *swab* diatas media MHA dan diletakkan cakram yang telah berisi kombucha pulpa kakao steril sebanyak 2 cakram sebagai pengulangan, serta satu cakram antibiotik (*Cloramphenicol*) sebagai kontrol positif. Cakram tersebut diletakkan dengan jarak antar cakram sekitar 3 cm dan jarak cakram dari tepi cawan adalah 2 cm. Inkubasi dilakukan selama 24 jam, kemudian aktifitas antimikroba dapat diamati berdasarkan terbentuknya zona bening (zona hambat) di sekeliling cakram dan diukur dengan menggunakan jangka sorong.

Pengukuran zona bening (zona hambat) dilakukan dengan mengambil dua garis yang saling tegak lurus melalui titik pusat cakram. Garis pertama adalah diameter

zona hambar horizontal, garis kedua adalah zona hambar vertikal, dan garis ketiga adalah diameter kertas cakram. Jumlah diameter garis pertama dikurangi diameter garis ketiga ditambahkan dengan jumlah diameter garis kedua yang dikurangi diameter garis ketiga. Kedua hasil diameter garis tersebut dibagi dua, maka akan diperoleh luas diameter zona hambat, dengan rumus sebagai berikut.

$$L = \frac{(D1 - D3) + (D2 - D3)}{2}$$

Keterangan

L	:	Luas zona hambat
D1	:	Diameter zona hambat horizontal
D2	:	Diameter zona hambat vertical
D3	:	Diameter cakram

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan kesimpulan sebagai berikut.

1. Fermentasi kombucha pulpa kakao selama tujuh hari (F7) meningkatkan jumlah mikroorganisme dominan, yaitu khamir (5,11 menjadi 9,28 log CFU/mL), BAL (5,00 menjadi 9,04 log CFU/mL), dan BAA (4,95 menjadi 9,05 log CFU/mL). Perlakuan F7 menunjukkan peningkatan total populasi mikroba yang signifikan. Seiring dengan peningkatan BAA, fermentasi juga menghasilkan rendemen nata yang cukup tinggi yaitu 11,37%, yang dapat mencerminkan keberhasilan proses fermentasi secara optimal.
2. Penambahan madu (FM) dan madu dan serbuk cengkeh (FMC) meningkatkan nilai pH (3,34), total padatan terlarut (11,5 menjadi 17 °Brix), dan aktivitas antimikroba ditunjukkan oleh diameter zona hambat terhadap *Escherichia coli* (3,48 10,82 mm), dan bakteri *Bacillus subtilis* (3,44 \ menjadi 8,87 mm).

5.2 Saran

Pada penelitian selanjutnya disarankan agar kondisi lingkungan fermentasi, seperti kebersihan tempat penyimpanan, diperhatikan secara optimal sebelum memulai proses fermentasi kombucha. Selain itu, penting untuk menerapkan prosedur pembuatan kombucha secara aseptik guna mencegah kontaminasi dan memastikan pertumbuhan mikroorganisme berlangsung secara optimal, sehingga proses fermentasi berjalan efektif dan pembentukan nata dapat terjadi secara maksimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Adityarini, D., Suedy, S. W. A., dan Darmanti, S. 2020. Kualitas Madu Lokal Berdasarkan Kadar Air, Gula Total dan Keasaman dari Kabupaten Magelang. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. 5(1), 18-24.
- Ariyani, H., Nazemi, M., Hamidah, H., dan Kurniati, M. 2018. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Limau Kuning (*Cytrus hystrix* Dc) Terhadap Beberapa Bakteri. *JCPS (Journal of Current Pharmaceutical Sciences)*, 2(1), 136-141.
- Badan Pusat Statistik. 2023. Statistika Kakao Indonesia 2022. Badan Pusat Statistik, Jakarta, 10-11.
- Balladares, Burgos, J., dan Valverde, Berrocoso, J. 2022. The TPACK Technopedagogical Model and its Impact on Teacher training. *RECIE. Caribbean Journal of Educational Research*, 6(1), 63-72.
- Dewi, G. A. S. C., dan Astuti, N. M. W. 2023. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) sebagai Sediaan Pasta Gigi. *Prosiding Workshop dan Seminar Nasional Farmasi*.1(2), 403-415.
- Dongoran, M. 2023. Identify The Ingredients in Kombucha, Which is Safe for Magh and Gerd Sufferers. *Bioedunis Journal*, 2(2), 83-89.
- Duma, V. C. P., Permana, I. D. G. M., dan Darmayanti, L. P. T. 2025. Pola Pertumbuhan Mikroba Dominan pada Fermentasi Alami Buah Jeruk Siam (*Citrus nobilis*) untuk Produksi Arak. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 14(1), 98-107.
- Falahuddin, I., I. Apriani, dan Nurfadilah. 2017. Pengaruh Proses Fermentasi Kombucha Daun Sirsak (*Anona muricata* L.) Terhadap Kadar Vitamin C. *Jurnal biota*. 3 (2), 90-91.
- Fauzan, F. 2024. Pengaruh Penambahan Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Terhadap Sifat Sensori dan Analisis Nilai Tambah Minuman Kombucha Pulpa Kakao. *Skripsi*. Universitas Lampung, Lampung.34-50.
- Ganda-Putra, G.P., Harijono, S. Kumalaningsih dan Aulani'am. 2008. Optimasi Kondisidepolimerisasi Pulp Biji Kakao oleh Enzim Poligalakturonase Endojinus. *Jurnal Teknik Industri*. 9 (1), 24-34.

- Gumanti, Z., Salsabila, A.P. and Sihombing, M.E. 2023. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Mutu Organoleptik pada Proses Pembuatan Kombucha Sari Kulit Buah Naga Merah (*hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Pengolahan Pangan*, 8(1), 25-32.
- Hardianti, B. D., dan Wahyudiati, D. 2019. Pengaruh Penambahan Jenis Gula Terhadap Berat dan Tebal Nata de Soya. *Sainstech Innovation Journal*, 2(1), 12-18.
- Jayabalan, R., Malbasa, R. V., dan Sathishkumar, M. 2017. *Kombucha Tea: Metabolites, Fungal metabolites*. 965-978.
- Jayabalan, R., Malbasa, R. V., Loncar, E. S., Vitas, J. S., dan 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.
- Kaligis, C. J., Nangoy, E., dan Mambo, C. D. 2020. Uji Efek Antibakteri Madu Hutan dan Madu Hitam Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Biomedik*. 8(1), 112-119.
- Karyatina, S. (2021). Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Kombucha Rosella. *Agrointek: Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 15(1), 244-252.
- Kristiani, R., dan Haeruddin, H. 2013. Waktu Optimum Fermentasi Limbah Pulp Kakao (*Theobroma Cacao L.*) Menggunakan Kulit Bakau (*Sonneratia SP.*) Dalam Produksi Bioetanol. *Indonesian Ministry of Research, Technology and Higher Education*. 5(1)16-25.
- Kunat, V., et al. 2023. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of New Honey Varietals. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 20(3), 1-23.
- Kurnianto, M. A., dan Munarko, H. 2022. Pengaruh Penambahan Kultur Starter dan Metabolit *Lactobacillus casei* Terhadap Mutu Mikrobiologi Sosis Fermentasi Ikan Patin (*Pangasius sp.*). *Jurnal Kelautan Dan Perikanan Terapan (JKPT)*, 5(1), 27-37.
- Magfirah, T., Marwati, M., dan Ardhani, F. 2020. Uji Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus* Menggunakan Ekstrak Daun Tahongai (*Kleinhovia hospital L.*). *Jurnal Peternakan Lingkungan Tropis*, 2(2), 41-50.
- Mohammadi, A. R., Ismaiel, A. A., Ibrahim, R. A., Moustafa, A. H., Abou Zeid, A., dan Enan, G. 2021. Chemical Constitution and Antimicrobial Activity of Kombucha Fermented Beverage. *Molecules*, 26(16), 500-5026.
- Nainggolan, J. 2009. Kajian Pertumbuhan Bakteri *Acetobacter sp.* dalam Kombucha Rosela Merah (*Hibiscus Sabdariffa*) pada Kadar Gula dan

Lama Fermentasi yang Berbeda. *Tesis*. Universitas Sumatra Utara: Medan.53-60.

- Nasution, I. W., dan Nasution, N. H. 2022. Peluang Minuman Teh Kombucha dan Potensinya Sebagai Minuman Kesehatan Pencegah dan Penyembuh Aneka Penyakit. *Journal of Comprehensive Science (JCS)*. 1(1), 9-16.
- Nunes, C, S, o., Silva, M,L, C., Camilloto, G, P., and Uetanabar, A, P, T. 2020. Potential Applicability of Cocoa Pulp as an Adjunct for Beer Production. *The Scientific World Journal*. 5(4)15-23.
- Nguyen, N. K., Dong, N. T. N., Nguyen, H. T., dan Le, P. H. 2015. Lactic Acid Bacteria: Promising Supplements for Enhancing The Biological Activities of Kombucha. *Springerplus*, 4, 1-6.
- Norsela, R., *et al.* 2024. Pengaruh Penambahan Bubuk Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Sebagai Pengawet Alami Terhadap Daya Simpan Selai Cempedak (*Artocarpus campeden*). *Jurnal Pendidikan Sains dan Teknologi*, 3(4), 999-1005.
- Parhusip, A. J. 2022. Aktivitas Antioksidan dan Kadar Kafein Kombucha Kopi (*Antioxidant Activity and Caffeine Content of Coffee Kombucha*). *Fast-Jurnal Sains dan Teknologi*, 6(1)40-51.
- Pradana, A. 2023. Optimasi Tablet Ekstrak Etanol Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) Sebagai Antibakteri. *Doctoral dissertation*. Universitas Gadjah Mada. 13-16.
- Pradana, A., Santosa, D. and Sulaiman, T.N.S. 2024. Potensi Cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr and Perry) di Indonesia Sebagai Sumber Daya Alam dan Bahan Baku Obat Antibakteri dan Antijamur. *Majalah Farmaseutik* 20(1).70-78.
- Pratama, P. Usman dan Yusmarini. 2015. Kajian Pembuatan Teh Kombucha dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jom Faperta*. 2(2)1-12.
- Pratiwi, A., Elfita, dan Aryawati, R. 2012. Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Sifat Fisik dan Kimia pada Pembuatan Minuman Kombucha dari Rumput Laut *Sargassum* sp. *Maspari Journal*. 4, 131-136.
- Primiani, C. N., Mumtahanah, M., dan Ardhi, W. 2018. Kombucha Fermentation Test Used for Various Types of Herbal Teas. *Journal of Physics: Conference Series*. 1025(1)1207-1222.
- Putri, D. A., Komalasari, H., Ulpiana, M., Salsabilah, A., dan Arianto, A. R. 2023. Produksi Kombucha Teh Hitam Menggunakan Jenis Pemanis dan Lama Fermentasi Berbeda. *Jurnal Kolaboratif Sains*, 6(7), 640-656.

- Putri, S. N. Y., Syaharani, W. F., Utami, C. V. B., Safitri, D. R., Arum, Z. N., Prihastari, Z. S., dan Sari, A. R. 2021. Pengaruh Mikroorganisme, Bahan Baku, dan Waktu Inkubasi pada Karakter Nata. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*, 14(1), 62-74.
- Rachmatullah, D., Desiana, N. P., Fiki, H., Noor, H. 2021. Karakteristik Biji Kakao (*Theobroma cacao L.*) Hasil Fermentasi Dengan Ukuran Wadah Berbeda. *Jurnal Viabel Pertanian*. 15 (1), 32-44.
- Ramadhani, A., et al. 2020. Efek Antibakteri Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia (JBBI)*, 7(2), 203-214.
- Ratnayani, K., Adhi, D. S. N. M. A., dan Gitadewi, I. G. A. M. A. S. 2008. Penentuan Kadar Glukosa dan Fruktosa pada Madu Randu dan Madu Kelengkeng dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Jurnal Kimia*. 2(2), 77-86.
- Retnaningtyas, A. Y., Hidayat, R. R., Widiyastuti, W., dan Winardi, S. 2017. Studi Awal Proses Fermentasi pada Desain Pabrik Bioethanol dari Molasses. *Doctoral dissertation*. Sepuluh Nopeber Institute of Technology. 23-25.
- Rosaline, Mentari. 2025. Pengaruh Penambahan Gula Terhadap Karakteristik Nata De Kakao (*Theobroma cacao L.*) Selama Fermentasi. *Thesis*. Universitas Lampung. 45-50.
- Safitri, D. 2019. Pengaruh lama fermentasi limbah cair pulp kakao (*Theobroma cacao L.*) sebagai bioherbisida gulma belulang (*Eleusine indica L.*). *Skripsi*. Universitas Islam Negeri. Lampung. 25-27.
- Simon, F.J., Porong, J.V. and Ogie, T.B., 2022. Study Of Clove Plant Cultivation Techniques (*Syzygium aromaticum L.*) In Sangihe Islands Regency. *Jurnal Agroekoteknologi Terapan*, 3(2), 153-166.
- Siregar., Vidya., S., M. 2023. Pembuatan Kombucha The Secang (*Caesalpinia sappan L.*) dengan Penambahan Berbagai Konsentrasi SCOBY dan Madu. *skripsi*. Universitas Sriwijaya. 60-64.
- Suhendar, U., dan Fathurrahman, M. 2019. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *FITOFARMAKA: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 9(1), 26-34.
- Sumarmi, S. 2021. Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Kombucha Rosella. *Agrointek: Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 15(1), 244-252.
- Sutanto, A., dan Suarsini, E. 2011. Nata de Pina dari Limbah Sari Nanas. Universitas Muhammadiyah Malang, Malang. 230-240.

- Suwito, W., Andriani, I. A., Rohmayanti, T., Haris, H., dan Karimy, M. F. 2024. Aktivitas Madu sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* O157: H7 Antibacterial Activity Honey Against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157: H7. *Jurnal Sain Veteriner*. 42(1),37-40.
- Tuntun, M. 2016. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kesehatan*, 7(3), 497-502.
- Utami, R. T. 2019. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Batang Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Methicillin Resisten Staphylococcus aureus* (MRSA). Prosiding Seminar Nasional Mahasiswa Unimus. 56-60.
- Utami, R., Kawiji, K., dan Parwitasari, S. 2010. Pengaruh Bubuk Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Terhadap Selai Nanas Sebagai Antimikroba Alami dan Antioksidan. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*. 3(2), 127-134.
- Wibowo, K. C. 2023. Kajian Derajat Brix dan Waktu Fermentasi Pulpa Kakao (*Theobroma cacao* Linn.) Terhadap Total Fenol, Aktivitas Antioksidan, dan Sifat Sensori pada Pembuatan kombucha. *Skripsi*. Universitas Lampung, Lampung 45-50.
- Wijaya, A. A. N. D. A., Putra, W. K. Y., dan Fitriani, P. P. E. 2023. Total Asam, pH, dan Karakteristik Mikrobiologi Minuman Kombucha dari Daun Takokak (*Solanum torvum* Swartz.) sebagai Produk Pangan Fungsional. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 14(1), 124-134.
- Wijaya, H. W., Muin, R., dan Permata, E. 2017. Karakteristik fisik produk fermentasi kombucha dari berbagai daun berflavanoid tinggi. *Jurnal Teknik Kimia*. 23(4), 255-262.
- Wistiana, D., dan Zubaidah, E. 2014. Karakteristik Kimiawi dan Mikrobiologis Kombucha dari Berbagai Daun Tinggi Fenol Selama Fermentasi. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3(4) 15-20.
- Wulandari, D. D. 2017. Analisa Kualitas Madu (Keasaman, Kadar Air, dan Kadar Gula Pereduksi) Berdasarkan Perbedaan Suhu Penyimpanan. *Jurnal Kimia Riset*. 2(1), 16-22.
- Yuliana, N., Nurainy, F., dan Sari, G. W. 2023. Total Microbe, Physicochemical Property, and Antioxidative Activity During Fermentation of Cocoa Honey Into Kombucha Functional Drink. *Applied Food Research*, 3(1), 1-6.

- Yuliana, N., Widiastuti, E, L., dan Setiawan, T. 2019. Paten Kombucha Pulpa Coklat 001 Plus. 61-70.
- Yuliana, N., Nurainy, F., dan Sumardi. 2022. Pengolahan Hasil Samping Buah Kakao. Pusaka Media, Bandar Lampung. 22-30.
- Yuliana, N., Sari, G, W., Widiastuti, E, L., Suharyono., and Setiawan, T. 2022. The Sensory of Kombucha Cacao Pulp Fermented Using Symbiotic Culture Bacteria and Yeast (SCOBY) as Starter. *The 1 international Conference on agricurlural, Nutraceutical, and Food Science (ICANFS)* 2(2), 16-21.
- Yuliati, Y. 2017. Uji Efektivitas Larutan Madu Sebagai Antibakteri Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosae* dengan Metode Disk Diffusion. *Jurnal Profesi Medika: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 11(1), 16-23.
- Yusmita, L., dan Mutiar, S. 2023. Pengaruh Gula Pasir Dan Madu Sebagai Sumber Karbon Dalam Fermentasi Kombucha Air Kelapa Sebagai Minuman Fungsional. *Menara Ilmu: Jurnal Penelitian dan Kajian Ilmiah*, 17(1) 23-30.
- Yuwono, D. S., dan Naufal, A. M. 2022. Soko Dalem Kombucha (Menenal Fermentasi Menyehatkan). Forbil Institute, Yogyakarta 14-23.
- Zubaidah, E., Effendi, F,D., dan Afgani, C. A. 2022. Kombucha: Mikrobiologi, Teknologi, dan manfaat Kesehatan. Universitas Brawijaya Press. Malang. 160-170.