



Uji Aktivitas dan Karakteristik Kombucha Sari Buah Markisa (*Passiflora edulis Sims*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* Secara In Vitro



Gothrunnada Shafa Salsabila^{*}, Ulfayani Mayasari, Irda Nila Selvia

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Sumatera Utara

^{*}Email: gothrunnada0704202057@uinsu.ac.id

DOI: <https://doi.org/10.33369/pendipa.8.3.449-454>

ABSTRACT

Fermented drinks are drinks that due to the fermentation process produce lactic acid bacteria (LAB) which are good for human digestion. Kombucha is a fermented drink produced from the symbiosis between bacteria and yeast known as SCOBY (Symbiotic Culture Bacteria & Yeast). This study aims to determine the characteristics and antibacterial activity of passion fruit kombucha (*Passiflora edulis Sims*) against the growth of *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* bacteria in vitro. The method used in the antibacterial activity test uses the disc diffusion method with concentrations of 20%, 30%, 40% and 50%. This study shows the antibacterial activity of passion fruit kombucha (*Passiflora edulis Sims*) using concentrations of 20%, 30%, 40% and 50% with the results of the inhibition zone diameter of *Escherichia coli* bacteria of 10.4 mm, 12.3 mm, 14.2 mm, and 16.3 mm. While *Bacillus subtilis* bacteria are 14.5 mm, 16.6 mm, 17.8 mm and 18.3 mm. The characteristics of passion fruit kombucha juice have a pH value that is increasingly acidic when the concentration given is higher. Concentrations of 20%, 30%, 40% and 50% have a distinctive kombucha aroma and are golden yellow in color. Concentrations of 40% and 50% have a sour taste. Based on an average concentration of 50% on *Escherichia coli* bacteria and a concentration of 30% on *Bacillus subtilis* bacteria, it has effective inhibitory power in inhibiting bacteria.

Keywords: Kombucha; Passion Fruit; *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*.

ABSTRAK

Minuman fermentasi adalah minuman yang karena proses fermentasi menghasilkan bakteri asam laktat (BAL) yang baik bagi pencernaan manusia. Kombucha adalah minuman fermentasi yang dihasilkan dari simbiosis antara bakteri dan yeast dikenal dengan nama SCOBY (Symbiotic Culture Bacteria & Yeast). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik dan aktivitas antibakteri kombucha sari buah markisa (*Passiflora edulis Sims*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* secara in vitro. Metode yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram dengan konsentrasi 20%, 30%, 40% dan 50%. Penelitian ini menunjukkan adanya aktivitas antibakteri kombucha sari buah markisa (*Passiflora edulis Sims*) dengan menggunakan konsentrasi 20%, 30%, 40% dan 50% dengan hasil diameter zona hambat bakteri *Escherichia coli* 10,4 mm, 12,3 mm, 14,2 mm, dan 16,3 mm. Sedangkan bakteri *Bacillus subtilis* yaitu 14,5 mm, 16,5 mm, 17,8 mm dan 18,3 mm. Karakteristik kombucha sari buah markisa memiliki nilai pH yang semakin asam apabila konsentrasi yang diberikan semakin tinggi. Konsentrasi 20%, 30%, 40% dan 50 % memiliki beraroma khas fermentasi kombucha dan berwarna kuning keemasan. Konsentrasi 40% dan 50% memiliki rasa yang sangat asam. Berdasarkan rata-rata konsentrasi 50% pada bakteri *Escherichia coli* dan konsentrasi 30% pada bakteri *Bacillus subtilis* memiliki daya hambat yang efektif dalam menghambat bakteri.

Kata kunci: Kombucha; Passion Fruit; *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*.

PENDAHULUAN

Bakteri gram positif dan gram negatif menjadi masalah dalam kehidupan sehari-hari, terutama dalam hal kesehatan. *Bacillus subtilis* gram positif dan patogen merupakan bakteri yang hidup di saluran pencernaan manusia. Apabila populasi *Bacillus subtilis* bertambah banyak, bakteri ini akan menjadi berbahaya karena dapat mengganggu metabolisme tubuh dan menyebabkan gangguan sistem imun, termasuk meningitis dan gastroenteritis berat, terutama pada saluran pencernaan. *Escherichia coli* merupakan gram negatif yang dapat menyebabkan penyakit dan dapat menyusup ke dalam makanan dan minuman melalui debu (Abdilah dkk., 2022).

Minuman yang telah mengalami fermentasi menghasilkan bakteri asam laktat (BAL) yang bermanfaat bagi pencernaan manusia. Kombucha merupakan minuman fermentasi yang terbuat dari simbiosis SCOBY (*Symbiotic Culture Bacteria & Yeast*) antara bakteri dan ragi. Minuman yang terbuat dari kombucha memiliki nilai gizi yang tinggi yang terbentuk selama fermentasi. Kombucha memiliki kemampuan untuk meningkatkan kekebalan tubuh, menghasilkan lebih banyak sel T (limfosit T) dan memiliki sifat antibakteri yang membantu melindungi tubuh dari infeksi mikroba yang berbahaya. Kandungan zat dalam kombucha yang berfungsi sebagai agen antibakteri adalah asam organik, terutama asam asetat (Rosita dkk., 2021).

Buah markisa memiliki kandungan vitamin A, vitamin C, serat, β -karoten, flavonoid, saponin, dan tanin yang dapat menghambat dan bahkan membunuh bakteri patogen. Kandungan fitokimia pada buah markisa yang memberinya sifat antimikroba. Biji buah markisa kaya akan fenolik dan flavonoid. Banyak zat kimia polifenol yang terdapat dalam biji markisa memiliki potensi sebagai antioksidan (Anabel dkk., 2020).

Pertumbuhan bakteri kombucha dan konsentrasi komponen kimia seperti asam organik dipengaruhi oleh konsentrasi gula. Kandungan asam dalam kombucha meningkat akibat produksi asam organik yang mencegah pertumbuhan bakteri yang merugikan. Penelitian Chakravorty (2016) menunjukkan bahwa setelah 7 hari fermentasi, kadar polifenol dan aktivitas

antioksidan kombucha meningkat. Fermentasi kombucha sebaiknya berlangsung tidak lebih dari 10 hari dengan pH minimum 2,5 (Sintyadewi & Widnyani, 2021).

Penelitian tentang fermentasi kombucha telah banyak diteliti dengan menggunakan variasi yang berbeda, seperti kopi, bunga rosella dan berbagai jenis daun. Namun, fermentasi kombucha dengan variasi sari buah belum pernah dilakukan. Sari buah markisa mengandung fitokimia seperti fenolik, maka sari buah markisa merupakan bagian buah yang paling banyak digunakan. Hal ini yang mendasari peneliti untuk menggunakan bahan alami yang sifatnya memiliki antibakteri dengan buah markisa ungu untuk dilakukan uji antibakteri Berdasarkan hal tersebut, penulis tertarik untuk melakukan penelitian mengenai “Uji Aktivitas dan Karakteristik Kombucha Sari Buah Markisa (*Passiflora edulis* Sims) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* Secara In – Vitro”.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli 2024 dan dilaksanakan pada dua lokasi berbeda yaitu, Laboratorium Herbarium Medanense FMIPA Universitas Sumatera Utara dan Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri Sumatera Utara.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pH meter, timbangan analitik, inkubator, autoklaf, oven, hotplate, tabung reaksi, jarum ose, cawan petri, erlenmeyer, beaker glass, bunsen, spatula, batang pengaduk, toples kaca, pipet tetes dan jangka sorong.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu buah markisa, starter kombucha, gula pasir, media NA (*Nutrient Agar*), Media MHA (*Muller Hinton Agar*), aquadest, kloramfenikol, DMSO (*Dimetil sulfoksida*), alkohol 96%, bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode difusi cakram (*Kirby-bauer*). Konsentrasi sari buah markisa yang digunakan bervariasi yaitu 20%, 30%, 40% dan 50%. Kontrol positif berupa kloramfenikol dan kontrol negatif berupa DMSO

(Dimetil sulfoksida), dengan masing-masing dilakukan pengulangan 3 kali (Fajriyah dkk., 2017).

Pembuatan Sari Buah Markisa

Disiapkan buah markisa 6 kg, buah dipilih berdasarkan kematangannya. Buah yang terlalu matang atau membusuk dipisahkan untuk mencegah penurunan kualitas produk secara keseluruhan. Buah dicuci dengan air bersih untuk menghilangkan kotoran. Dipotong buah markisa, lalu diambil daging buahnya. Setelah buah dihaluskan dengan benar, kemudian jus buah disaring. Hasil saringan (filtrat) didiamkan selama 1 jam, lalu diambil bagian yang jernih.

Pembuatan Kombucha Sari Buah Markisa

Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Rosita dkk., (2020), proses pembuatan sari buah meliputi: dibuat sekitar 500 ml sari buah markisa, lalu isi toples dengan konsentrasi berbeda yakni 20%, 30%, 40% dan 50%. Gula pasir ditambahkan sebesar 10% sambil diaduk hingga merata. Dipanaskan pada suhu 80°C selama 5 menit hingga mendidih kemudian didinginkan hingga mencapai 28°C. Lalu dimasukkan SCOBY dan starter cair 10 ml kedalam toples dan ditutup rapat dengan kain bersih. Produk disimpan di tempat yang steril selama 7 hari pada suhu kamar 37°C.

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri meliputi tahapan sebagai berikut: disiapkan 12 cawan petri diisi dengan MHA sebanyak 15 mL, ditunggu sampai media padat. Lalu dimasukkan suspensi bakteri uji, *Echerichia coli* dan *Bacillus subtilis*. Selanjutnya tempelkan disk yang telah direndam ke dalam larutan fermentasi kombucha sari buah markisa dengan konsentrasi sari buah markisa yang divariasikan, dalam cawan I (20%), cawan II (30%), cawan III (40%) dan cawan IV (50%). Untuk kontrol positif berupa kloramfenikol dan kontrol negatif berupa DMSO (Dimetil sulfoksida). Dan dilakukan inkubasi selama 24 jam (Abdillah dkk., 2023).

Pengukuran pH

Uji pH dilakukan dengan menggunakan pH meter. pH meter yang telah dikalibrasi dicelupkan dalam kombucha. Pembacaan pH meter didapatkan beberapa saat setelah pH meter dicelupkan dan nilai stabil. Uji pH meter

dilakukan pada hari ketujuh fermentasi (Hafsari dkk., 2021).

Uji Organoleptik Kombucha

Pengujian organoleptik pada kombucha dilakukan pada hari ketujuh fermentasi dan diujikan pada 15 Panelis untuk diamati dan dicicipi kemudian penilaian (Anggraini & Retnaningrum, 2023).

Uji Skrining Fitokimia

1. Uji Flavonoid

Keberadaan senyawa flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna jingga hingga merah ungu.

2. Uji Saponin

Pembentukan busa yang stabil menunjukkan adanya bahan kimia saponin.

3. Uji Tanin

Keberadaan senyawa tanin ditunjukkan dengan munculnya warna hitam kehijauan.

Uji Viskositas Kombucha

Viskometer digunakan untuk mengukur nilai viskositas (Dwiloka, 2022).

Uji Kadar Alkohol Kombucha

Proses pengukuran konsentrasi alkohol dengan alkohol meter disebut metode Satria dan Wildan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Adapun hasil uji aktivitas antibakteri kombucha sari buah markisa (*Passiflora edulis* Sims) terhadap bakteri *Echerichia coli* dan *Bacillus subtilis* dapat dilihat dibawah ini:

Tabel 1. Pengamatan Uji Antibakteri Kombucha Sari Buah Markisa (*Passiflora edulis* Sims) Terhadap Bakteri *Echerichia coli*

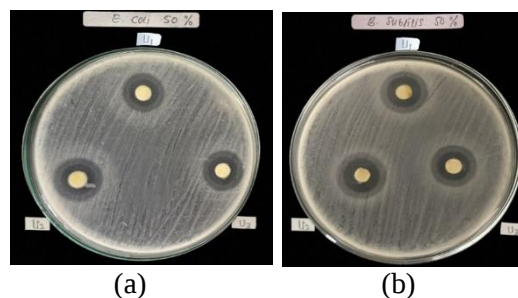
Perla- kuan	Pengulangan			Rata - Rata	Kategori
	U ₁	U ₂	U ₃		
K(+)	37,6	35,1	36,2	36,3	Sangat kuat
K(-)	0	0	0	0	Tidak ada aktivitas
K20%	9,1	10,5	11,8	10,4	Sedang
K30%	11,0	12,7	13,2	12,3	Kuat
K40%	13,5	14,9	14,4	14,2	Kuat
K50%	16,0	16,8	16,2	16,3	Kuat

Pada Tabel 1 menunjukkan bahwa hasil konsentrasi yang memiliki daya hambat paling besar yaitu konsentrasi 50% dengan diameter 16,3 mm yang merupakan konsentrasi sari buah markisa (*Passiflora edulis* Sims) yang memiliki aktivitas antibakteri paling besar. Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif, dapat dilihat bahwa pada setiap perlakuan masih resisten terhadap bakteri dikarenakan zona hambat yang didapatkan tidak lebih besar dari zona hambat kloramfenikol. Dari hasil DMSO yang digunakan sebagai kontrol negatif tidak menghasilkan zona hambat, hal itu menunjukkan bahwa DMSO tidak memiliki kemampuan sebagai antibakteri, sehingga dapat dipastikan bahwa aktivitas antibakteri yang dihasilkan tidak terpengaruh oleh DMSO.

Tabel 2. Pengamatan Uji Antibakteri Kombucha Sari Buah Markisa (*Passiflora edulis* Sims) Terhadap Bakteri *Bacillus subtilis*

Perla kuan	Pengulangan			Rata- Rata (mm)	Kategori
	U ₁	U ₂	U ₃		
K(+)	30,7	34,2	35,8	33,5	Sangat kuat
K(-)	0	0	0	0	Tidak ada aktivitas
K20%	14,5	14,6	14,4	14,5	Kuat
K30%	16,1	16,3	17,4	16,6	Kuat
K40%	17,5	18,1	17,8	17,8	Kuat
K50%	17,9	18,8	19,0	18,5	Kuat

Hasil yang didapatkan antara penggunaan bakteri *Echerichia coli* dan *Bacillus subtilis*, menghasilkan zona hambat menaik secara signifikan. Semakin besar konsentrasi yang diberikan semakin besar pula zona hambat yang dihasilkan. Sari buah yang memiliki konsentrasi tinggi mengandung senyawa bioaktif yang lebih banyak. Senyawa-senyawa ini memiliki aktivitas antibakteri yang lebih kuat, sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri lebih efektif dan menghasilkan zona hambat yang lebih besar. Dapat dilihat perbandingan rata-rata zona hambat bakteri *Echerichia coli* dan *Bacillus subtilis* pada Tabel 1 dan Tabel 2 bahwa zona hambat bakteri *Bacillus subtilis* menghasilkan zona hambat yang lebih besar dari bakteri *Echerichia coli*.



Gambar 1. a) Hasil uji aktivitas *Escherichia coli*, b) Hasil uji aktivitas *Bacillus subtilis*

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam kombucha sari buah markisa (*Passiflora edulis* Sims) yang telah dilakukan skrining fitokimia yang mengandung flavonoid dan saponin yang umumnya digunakan sebagai antibakteri. Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Saponin merupakan agen antibakteri yang efektif karena membunuh sel dengan membuat dinding sel kurang permeabil (Syahputri, 2024).



Gambar 2. Hasil uji skrining fitokimia

Tabel 3. Hasil Uji pH Kombucha Sari Buah

Konsentrasi	Nilai pH
	Setelah Fermentasi 7 Hari
20%	3,84
30%	3,79
40%	3,35
50%	3,31

Pengujian karakteristik kombucha sari buah markisa (*Passiflora edulis* Sims) dilakukan setelah proses fermentasi kombucha selama 7 hari. Karakteristik pengamatan meliputi pH, aroma, warna, rasa, kekentalan dan kadar alkohol. Kombucha harus memiliki pH 3–5,5

agar aman dikonsumsi. Tidak aman mengonsumsi kombucha dengan pH kurang dari 3. Sebelum diminum, minuman kombucha perlu diencerkan jika pH-nya kurang dari 3. Jelas bahwa kadar pH kombucha yang dihasilkan tetap aman untuk dikonsumsi dan sesuai dengan toleransi tubuh (Sulistiawaty & Solihat, 2022).

Menurut Tabel 3 pH kombucha sari buah markisa setelah tujuh hari fermentasi menunjukkan bahwa semakin banyak sari buah yang ditambahkan, semakin rendah pH-nya karena lebih banyak ion hidrogen (H^+), tanda keasaman, akan diproduksi (Sari dkk., 2021).

Tabel 4. Uji Organoleptik Kombucha

Perlakuan	Aroma	Warna	Rasa
Konsentrasi 20%	Beraroma khas fermentasi	Kuning keemasan	Agak asam
Konsentrasi 30%	Beraroma khas fermentasi	Kuning keemasan	Agak asam
Konsentrasi 40%	Beraroma khas fermentasi	Kuning keemasan pekat	Asam
Konsentrasi 50%	Beraroma khas fermentasi	Kuning keemasan pekat	Asam

Berdasarkan tabel 4 diketahui bahwa aroma khas fermentasi kombucha disebabkan karena adanya asam-asam organik. Aroma asam pada kombucha disebabkan oleh adanya aktivitas bakteri dan khamir dalam metabolisme gula, hasil metabolisme berupa asam-asam organik seperti asam asetat, asam glukoronat dan asam glukonat serta alkohol yang memberikan aroma yang khas.

Warna yang dihasilkan kombucha sari buah markisa semakin pekat seiring dengan penggunaan sari buah semakin banyak. Akan tetapi warna kombucha sari buah markisa semakin pudar seiring dengan semakin lama fermentasi. Hal ini dikarenakan selama fermentasi mikroba melakukan pendegradasian warna pada kombucha yang menyebabkan warna pada kombucha semakin memudar.

Semakin lama fermentasi pada kombucha rasa yang dihasilkan akan semakin asam, hal ini dikarenakan khamir dan bakteri melakukan

metabolisme terhadap sukrosa dan menghasilkan sejumlah asam-asam organik seperti asam asetat, asam glukoronat dan asam glukonat.

Hasil pengujian viskositas menunjukkan bahwa kombucha sari buah markisa dengan konsentrasi 50% memiliki nilai viskositas yaitu 1,1153 Cp. Viskositas kombucha dapat berkisar antara 1-5 cP, tergantung pada jenis bahan dasar dan lama proses fermentasi. Nilai viskositas suatu produk menunjukkan seberapa kental produk tersebut; semakin tinggi nilainya, semakin kental produk tersebut (Maulana dkk., 2023).

Kombucha markisa (*Passiflora edulis* Sims.) memiliki kadar alkohol 0,02%. Berdasarkan kesepakatan MUI dan hasil penelitian, minuman beralkohol dengan kadar alkohol maksimum yang diizinkan sebesar 0,5% tetap dianggap halal untuk dikonsumsi (Priyono & Riswanto, 2021).

KESIMPULAN

Penelitian ini menyimpulkan bahwa bakteri dikatakan efektif menurut Farmakope edisi IV (1995) jika terbentuk diameter zona hambat 14 mm – 16,5 mm. Berdasarkan kriteria tersebut, maka kombucha dengan sari buah markisa terhadap bakteri *Echerichia coli* menunjukkan daya efektif pada konsentrasi 50% sedangkan bakteri *Bacillus subtilis* menunjukkan daya hambat yang efektif pada konsentrasi 30% dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Karakteristik kombucha sari buah markisa memiliki nilai pH yang semakin asam apabila konsentrasi yang diberikan semakin tinggi. Konsentrasi 20%, 30%, 40% dan 50 % memiliki beraroma khas kombucha dan berwarna kuning keemasan. Konsentrasi 40% dan 50% memiliki rasa yang asam.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdilah, N. A., Rezaldi, F., Kusumiyati, K., Sasmita, H., & Somantri, U. W. (2022). Aktivitas Antibakteri Kombucha Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) yang Difermentasi Dengan Gula Aren Pada Konsentrasi Berbeda. *Tirtayasa Medical Journal*, 1(2), 29.
- Anabel, A., Wijaya, C. D., & Lokanata, S. (2020). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak

- Kulit Buah Markisa Ungu (*Passiflora edulis sims*) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Healthy Tadulako Journal (Jurnal Kesehatan Tadulako)*, 6(3), 79-85.
- Anggraini, A. C., & Retnaningrum, E. (2023). Efektivitas dan Kualitas Produk Fermentasi Kombucha dengan Kombinasi Substrat Teh Daun Sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg) dan Lemon (*Citrus limon* (L.) Burm. f.). *Jurnal Pengolahan Pangan*, 8(2), 97-106.
- Fajriyah, Y. D. N., Wahyuni, D., & Murdiah, S. (2017). Pengaruh kombucha sari buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. *Bioedukasi*, 13(2), 32–36
- Hafsari, A. R., & Farida, W. N. (2021). Karakteristik pH Kultur Kombucha Teh Hitam dengan Jenis Gula Berbeda pada Fermentasi Batch-Culture. In *Gunung Djati Conference Series* . 6, 228-232.
- Maulana, A. R., Triatmoko, B., & Hidayat, M. A. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Waru Gunung (*Hibiscus macrophyllus*) dan Fraksinya terhadap *Staphylococcus aureus*. *Pustaka Kesehatan*, 9(1), 48.
- Priyono, P., & Riswanto, D. (2021). Studi Kritis Minuman Teh Kombucha: Manfaat Bagi Kesehatan, Kadar Alkohol dan Sertifikasi Halal. *International Journal Mathla'ul Anwar of Halal Issues*, 1(1), 9-18.
- Rosita, Handito, D., & Amaro, M. (2021). Pengaruh Konsentrasi Starter SCOBY (*Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast*) Terhadap Mutu Kimia, Mikrobiologi dan Organoleptik Kombucha Sari Apel. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan*, 7(2), 12–22.
- Sari, R., Bintari, Y. R., & Damayanti, D. S. (2021). Pengaruh variasi konsentrasi sukrosa terhadap derajat keasaman dan total bakteri asam laktat kombucha daun sirsak (*Annona muricata* L.). *Jurnal Kedokteran Komunitas (Journal of Community Medicine)*, 10(1).
- Sintyadewi, P. R., Fitriani, P. p. E., Widntani, I. A. P. A., & Indryoni, P. (2023). Potensi Aktivitas Antibakteri Minuman Fungsional Kombucha Berbahan Dasar Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior*) Berdasarkan Lamanya Waktu Fermentasi. *Jurnal Biologi Tropis*, 23(1), 403-410.
- Sulistiaawaty, L., & Solihat, I. (2022). Kombucha: fisikokimia dan studi kritis tingkat kehalalan. *Warta Akab*, 46(1).
- Syahputri, H., Pertiwi, N. N., Sari, S. R., Simanjuntak, M. N., Sari, M., Andry, M. & Rezaldi, F. (2024). Antibacterial Activity and Thin-Layer Chromatography (KLT) Ethanol Extract of Dragon Scale Leaves (*Drymoglossum piloselloides* (L.) C. Presl) Against Bacteria *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Biologi Tropis*, 24(3), 431-440.