

## Isolasi Bakteri Asam Laktat pada Kombucha Cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L. M. Perry)

Jeanette Helena Sanggor, Parluhutan Siahaan, Susan Mambu, Marina Singkoh, Dwi Rahayu Pujiastuti, Pingkan Krista Mantiri, Fitri Hasibuan, Agustina Monalisa Tangapo\*

Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Sam Ratulangi Manado, Indonesia

\*Email Penulis Korespondensi: [agustina.tangapo@unsrat.ac.id](mailto:agustina.tangapo@unsrat.ac.id)

**ABSTRAK.** Kombucha cengkeh adalah minuman fermentasi yang memanfaatkan teh cengkeh, gula, dan starter SCOBY sehingga memiliki kandungan mikroba yang baik untuk kesehatan. Kelompok bakteri asam laktat (BAL) memiliki peranan paling penting dalam memengaruhi kualitas produk fermentasi. Informasi karakteristik BAL pada produk pangan penting dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri terhadap kondisi pengolahan serta potensi kesehatan yang dihasilkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi BAL kombucha cengkeh. Penelitian dilakukan dengan mengisolasi kombucha cengkeh pada media selektif MRSA dan dilanjutkan pada tahap karakterisasi makroskopis. Hasil isolasi dari fermentasi kombucha cengkeh memperoleh lima isolat BAL dengan karakteristik makroskopis yang beragam (berwarna putih, berbentuk circular, tepi entire hingga curled, elevasi raised).

**KATA KUNCI:** Bakteri asam laktat; fermentasi; cengkeh, SCOBY

### PENDAHULUAN

Makanan dan minuman yang mengandung bakteri probiotik adalah bagian dari pangan fungsional yang telah dimodifikasi untuk memberikan manfaat kesehatan tambahan selain nutrisi yang dikandungnya. Bakteri probiotik umumnya berasal dari kelompok bakteri asam laktat (BAL) (Surono, 2004). Bakteri asam laktat sering diaplikasikan dalam beberapa produk pangan yang dapat memberi banyak manfaat bagi produk fermentasi itu sendiri. Beberapa penelitian sebelumnya menjelaskan bahwa penambahan BAL pada produk pangan akan menurunkan pH substrat sehingga bakteri perusak dan patogen akan terhambat pertumbuhannya sehingga berperan dalam kesehatan pencernaan manusia (Azizah *et al.*, 2019). BAL secara alami tumbuh pada bahan pangan fermentasi, seperti susu, daging, dan sayuran sehingga dikenal dengan sebutan *food grade microorganism*. Bakteri ini dikategorikan sebagai mikroorganisme *generally recognized as safe* (GRAS), yaitu mikroorganisme yang tidak memiliki risiko terhadap kesehatan (Yuyana, 2016). Salah satu minuman kesehatan yang mengandung BAL adalah kombucha.

Kombucha adalah minuman fermentasi yang melibatkan mikroorganisme yaitu bakteri dan khamir dengan menggunakan teh dan gula serta starter kultur SCOBY (*Symbiotic of Bacteria and Yeast*). Kombucha pada umumnya terbuat dari ekstrak daun teh yang memiliki kandungan tanin, steroid, saponin, triterpenoid, flavonoid, dan alkaloid (Noriko, 2013). Fermentasi kombucha memanfaatkan Bakteri Asam Laktat (BAL) yang memiliki peranan paling penting dalam memengaruhi kualitas produk. Fermentasi BAL dapat meningkatkan gizi dan mengurangi kandungan gula hingga perbaikan cita rasa (Karyantina dan Sumarmi, 2021).

Saat ini, telah banyak penelitian yang menganalisis potensi kombucha sebagai minuman kesehatan dengan fermentasi dari sumber alam seperti bunga telang, teh hitam, hingga daun kopi. Penelitian-penelitian ini juga menunjukkan bahwa kombucha dapat berperan sebagai antioksidan, antibakteri, memperbaiki mikroflora usus, dan dapat meningkatkan ketahanan, dan menurunkan tekanan darah tinggi (Khamidah dan Antarlina, 2020). Sampai saat ini belum ada penelitian mengenai pemanfaatan daun cengkeh sebagai bahan baku kombucha yang berpotensi sebagai inovasi pangan fungsional baru. Provinsi Sulawesi Utara merupakan penghasil cengkeh terbesar di Indonesia, dengan luas lahan perkebunan cengkeh sekitar 71.424 hektar (BPS SULUT, 2022). Eugenol cengkeh dapat digunakan sebagai obat untuk kesehatan manusia karena memiliki fungsi dan peran sebagai antikanker, antibakteri, anti-jamur, dan antioksidan (Tulungen, 2019). Eugenol pada bunga cengkeh sendiri juga dapat memperbaiki kadar neurotransmitter pada otak dengan menghambat MAO (Monoamin-Oksidase) (Mathiazhagan *et al.*, 2013). Berdasarkan hal tersebut, penambahan cengkeh pada kombucha dapat memperkaya rasa dan meningkatkan khasiat kombucha sebagai minuman kesehatan.

Penelitian menggunakan teh hitam, teh hijau, teh oolong, dan teh putih sebagai bahan baku kombucha menunjukkan bahwa kualitas kombucha yang dihasilkan berbeda-beda dalam hal rasa, aroma, kandungan

nutrisi dan senyawa yang dihasilkan sehingga dapat memberikan profil mikroflora yang berbeda pula (Kamelia *et al.*, 2023). Selain itu, penelitian terdahulu telah mengidentifikasi jenis BAL yang berbeda antara lain, teh kombucha lokal Bali (*Lactobacillus* sp.) (Viviandari *et al.*, 2015), kombucha rosella (*Lactobacillus delbrueckii* dan *Lactococcus lactis*) (Karyantina dan Sumarmi, 2021) dan teh kombucha (*Lactobacillus pentosus*, *Lb. plantarum*, *Lb. paracasei*) yang berpotensi dapat menurunkan kolesterol (Adhinugraha *et al.*, 2022). Berdasarkan hal tersebut, penting untuk menganalisis tentang jenis BAL yang berkembang pada kombucha dengan bahan daun cengkeh. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi BAL pada kombucha cengkeh.

## METODE

### Fermentasi Kombucha

Sampel daun cengkeh dikeringkan dengan cahaya matahari hingga kering. Pembuatan kombucha cengkeh diawali dengan membuat teh daun cengkeh 0,8% (b/v). Selanjutnya, teh ditambahkan gula dengan konsentrasi 20%. Setelah didinginkan hingga suhu  $\pm 40^{\circ}\text{C}$ , teh ditambahkan dengan SCOBY dan 10% larutan starter kombucha. Kombucha kemudian difermentasi selama 7 hari. Analisis karakteristik kombucha cengkeh dilakukan dengan menguji pH larutan dengan menggunakan pH meter.

### Pembuatan Media de Man Rogosa Sharpe Agar (MRSA) dan Media de Man Rogosa Sharpe Broth (MRSB)

Serbuk MRSA sebanyak 55,1 gram dilarutkan sampai volume 1000 ml dengan akuades dalam Erlenmeyer dan dipanaskan pada *hotplate* kemudian diaduk menggunakan batang pengaduk hingga mendidih. Erlenmeyer kemudian ditutup menggunakan aluminium foil yang selanjutnya disterilisasi di dalam autoklaf. Setelah media steril, media dituang pada cawan petri sebanyak  $\pm 20\text{ml}$ . Serbuk MRSB sebanyak 68,2 gram dilarutkan sampai volume 1000 ml dengan akuades dalam Erlenmeyer dan dipanaskan pada *hotplate* kemudian diaduk menggunakan batang pengaduk hingga mendidih. Perlakuan MRSB dengan kadar NaCl berbeda dilakukan dengan cara yang sama, namun ditambahkan 4% dan 6,5% bubuk NaCl ke dalam larutan MRSB. Media kemudian dituang pada tabung reaksi sebanyak  $\pm 5\text{ml}$ . Tabung reaksi kemudian ditutup menggunakan kapas steril dan aluminium foil yang selanjutnya disterilisasi di dalam autoklaf.

### Pembuatan Larutan NaCl 0,9%

Larutan NaCl 0,9% dengan volume 1000 ml disiapkan dengan cara berikut: 9 gram bubuk NaCl dimasukkan ke dalam erlenmeyer untuk volume 1000 ml. Kemudian dibagi kedalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 9 ml. Erlenmeyer dan tabung reaksi ditutup dengan aluminium foil dan kemudian disterilisasi di dalam autoklaf.

### Isolasi Bakteri Asam Laktat Asal Kombucha Cengkeh

Isolasi bakteri asam laktat dari kombucha cengkeh dilakukan dengan metode *spread plate* pada media selektif BAL yaitu media MRSA. Pengenceran 10-1 dilakukan dengan mengambil 1 ml sampel kombucha lalu dimasukkan ke 9 ml larutan NaCl 0,9% dalam tabung reaksi. Pengenceran dilakukan hingga Faktor Pengenceran 10-4. Perhitungan total bakteri dilakukan dengan metode *Total Plate Count (TPC)* pada pengenceran dengan jumlah koloni antara 30-300 menggunakan rumus perhitungan (Maulidah dan Wahidah, 2020).

### Purifikasi dan Karakterisasi Makroskopis

Bakteri yang dihasilkan dari hasil isolasi dilakukan purifikasi dengan metode kuadran dipindahkan ke media MRSA untuk ditumbuhkan agar didapatkan isolat murni. Isolat kemudian dikarakterisasi secara makroskopik berdasarkan warna, bentuk, elevasi, dan tepi.

### Karakterisasi Mikroskopis

Prosedur untuk uji morfologi bentuk sel dan pengecatan gram bakteri dimulai dengan membersihkan gelas objek menggunakan alkohol 70% dan dibilas dengan akuades, kemudian dipanaskan untuk sterilisasi. Selanjutnya, satu ose biakan bakteri diambil secara aseptik dan diletakkan pada kaca objek, diratakan, dan difiksasi di atas nyala api. Larutan kristal violet kemudian ditetesi dan dibiarkan selama 1 menit, diikuti dengan pencucian menggunakan air mengalir dan pengeringan. Setelah itu, ditetaskan larutan iodium dan

dibiarkan selama 1 menit sebelum dicuci kembali dan dikeringkan. Larutan pemucat kemudian digunakan selama 30 detik, diikuti dengan pencucian dan pengeringan. Setelah itu ditetesi dengan larutan safranin atau zat penutup dan didiamkan selama 2 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir dikeringkan dan diamati dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran kuat (1.000x) untuk melihat warna gram dan bentuk sel bakteri (Delvia *et al.*, 2015).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Fermentasi Kombucha Cengkeh

Hasil fermentasi kombucha cengkeh selama tujuh hari menunjukkan perbedaan pada karakteristik larutan. Kombucha cengkeh yang difermentasi pada hari ke-7 menunjukkan adanya lapisan tipis nata di permukaan larutan. Proses terbentuknya nata SCOBY dalam kombucha terjadi melalui proses fermentasi. Bakteri *Acetobacter xylinum* memiliki kemampuan untuk mengoksidasi glukosa menjadi berbagai jenis asam organik. Bakteri ini juga mensintesis glukosa menjadi selulosa yang membentuk serat-serat putih yang dikenal sebagai nata. Awalnya, selulosa dihasilkan dalam bentuk tidak berstruktur di dalam medium, kemudian membentuk lapisan nata SCOBY (Suhardini dan Zubaidah, 2016).

Proses fermentasi kombucha cengkeh melibatkan simbiosis bakteri dan yeast yang memproduksi asam yang menyebabkan perubahan nilai pH. Karakteristik pH kombucha pada hari ke-0 bernilai 3,5 kemudian diamati pada hari ke-7 bernilai 3,0. Turunnya nilai pH disebabkan oleh aktivitas mikrobia dalam kombucha yang menghasilkan penumpukan zat asam. Proses fermentasi kombucha cengkeh bertujuan untuk meningkatkan variasi rasa dan meningkatkan sifat antimikroba dan antioksidan dari teh cengkeh. Fermentasi dapat membantu memecah senyawa kompleks menjadi nutrisi yang lebih sederhana dan mudah diserap (Nasution dan Nasution, 2022).

### Isolasi Bakteri Asam Laktat Kombucha Cengkeh

Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) kombucha cengkeh yang telah difermentasi selama 7 hari pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode *spread plate* (cawan sebar) pada media MRSA dan dihitung dengan metode *Total Plate Count*. Hasil isolasi BAL kombucha cengkeh yang diinkubasi selama 48 jam memperoleh total mikroba  $4,5 \times 10^5$  cfu/ml. Selanjutnya, isolat-isolat yang berbeda secara makroskopis dilakukan karakterisasi berdasarkan warna, bentuk, elevasi, dan tepian sehingga diperoleh total lima isolat asam laktat kombucha cengkeh. Isolat BAL kombucha cengkeh diberi kode JS1, JS2, JS3, JS4, dan JS5 kemudian dihitung total koloni mikroba seperti pada Tabel 1.

Kode Isolat	Jumlah Bakteri(cfu/mL)
JS1	$2,6 \times 10^5$
JS2	$1,4 \times 10^5$
JS3	$1,0 \times 10^4$
JS4	$1,1 \times 10^4$
JS5	$1,3 \times 10^4$

Hasil total mikroba BAL dari kombucha cengkeh yang diperoleh pada penelitian ini mencapai  $10^5$  cfu/ml. Hasil penelitian Wistiana dan Zubaidah (2014), menunjukkan rerata total bakteri asam laktat kombucha dari daun salam, daun teh, daun jambu, daun sirih, daun sirsak dan daun kopi selama proses fermentasi berkisar antara  $5,90 \times 10^4$  cfu/ml hingga  $2,20 \times 10^5$  cfu/ml pada pengamatan hari ke-0, kemudian  $3,00 \times 10^5$  cfu/ml hingga  $9,90 \times 10^5$  cfu/ml pada pengamatan hari ke-8, dan  $4,50 \times 10^4$  cfu/ml hingga  $4,30 \times 10^5$  cfu/ml pada pengamatan hari ke-14. Penelitian lainnya menunjukkan total BAL kombucha daun teh dan daun kopi robusta yang difermentasi selama 10 hari berada pada rentang  $5,9 \times 10^3$  hingga  $3,1 \times 10^4$  cfu/ml dimana total BAL tertinggi ada pada kombucha daun kopi robusta dengan konsentrasi 0,6% (Zubaidah *et al.*, 2021). Isolat BAL yang mendominasi pada penelitian ini adalah isolat JS1 dengan jumlah bakteri  $2,6 \times 10^5$  cfu/ml diikuti oleh isolat BAL kombucha cengkeh dengan kode isolat JS2 dengan total koloni  $1,4 \times 10^5$  cfu/ml, isolat BAL kombucha cengkeh dengan kode isolat JS5 dengan total koloni  $1,3 \times 10^5$  cfu/ml. Isolat BAL kombucha cengkeh dengan kode isolat JS4 dengan total koloni  $1,1 \times 10^4$  cfu/ml dan isolat BAL kombucha cengkeh dengan kode isolat JS3  $1,0 \times 10^4$  cfu/ml. Pertumbuhan BAL menyebabkan penurunan pH kombucha cengkeh

selama proses fermentasi dari mulanya 3,5 pada hari ke-0 menjadi 3,0 pada hari ke-7. Hasil ini menunjukkan peran BAL selama proses fermentasi kombucha, pertumbuhan BAL berhubungan dengan penurunan pH larutan karena BAL menghasilkan asam laktat yang menyebabkan penurunan pH kombucha.

Variabel fermentasi proses, seperti waktu, suhu, dan konsentrasi sukrosa, akan mempengaruhi konsentrasi produk akhir zat organik seperti asam dan pH (Vina *et al.*, 2013). Turunnya pH akan menekan jumlah sel patogen, sehingga akan mempengaruhi komposisi mikroba yang berkembang dalam kombucha. Penurunan pH pada kombucha dengan substrat yang berbeda akan mempengaruhi jenis mikrobia yang dapat diisolasi.

### Karakterisasi Makroskopis

Karakterisasi secara makroskopik dilakukan untuk mengetahui bentuk koloni, warna koloni dan bentuk permukaan koloni yang dilakukan dengan cara memilih strain isolat yang berbeda setelah proses isolasi tahap pertama pada media selektif MRSA. Koloni bakteri asam laktat ditemukan berdasarkan perubahan warna media menjadi putih susu di sekitar lokasi tumbuh koloni bakteri. Isolat BAL yang memiliki koloni yang sama dianggap sebagai 1 jenis (strain) kemudian dilakukan pemurnian pada media MRSA dengan metode garis kuadran. Hasil karakterisasi isolat BAL kombucha cengkeh dapat dilihat pada Tabel 2.

Karakterisasi morfologi secara makroskopik dilakukan dengan pengamatan secara visual terhadap warna, bentuk tepi, elevasi, dan bentuk permukaan koloni. Berdasarkan pengamatan, koloni bakteri JS1 memiliki ciri morfologi warna putih, bentuk *circular*, tepi entire, elevasi raised dan berdiameter 0,3 cm. Isolat BAL JS2 memiliki ciri morfologi warna putih, bentuk *circular*, tepi *curled*, elevasi raised dan berdiameter 0,4 cm. Isolat JS3 memiliki ciri morfologi warna putih, bentuk *circular*, tepi entire, elevasi raised, dan berdiameter 0,1 cm. Isolat BAL JS4 memiliki ciri morfologi warna putih, bentuk *circular*, tepi *curled*, elevasi raised dan berdiameter 0,2 cm. Isolat BAL JS5 memiliki ciri morfologi warna putih, bentuk *circular*, tepi entire, elevasi raised, dan berdiameter 0,4 cm (Tabel 2).





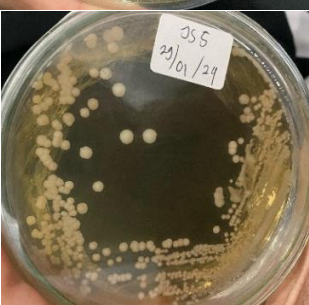
Seluruh isolat kombucha cengkeh yang diisolasi menunjukkan ciri-ciri morfologi bakteri asam laktat karena sesuai dengan ciri-ciri karakter isolat BAL yaitu tidak berpigmen, berbentuk bulat, permukaan yang halus dengan tepi rata dan ukuran koloni 0,5-2 mm (Putri dan Kusdiyantini, 2018). Hal ini sesuai dengan pernyataan Kurnia *et al.* (2020) koloni yang diduga bakteri asam laktat memiliki warna putih hingga putih kekuningan, bentuk bulat dan tepian berwarna bening. Karakter BAL yang diisolasi dari kombucha cengkeh ini sesuai dengan karakter BAL Genus *Lactobacillus* dalam penelitian Putri *et al.* (2018), yang memiliki morfologi koloni BAL berbentuk bulat, berwarna putih susu, permukaan cembung, pinggiran rata dan halus.

Menurut Sousa *et al.* (2013), pengamatan terkait karakteristik dilakukan untuk mengidentifikasi spesies bakteri karena memiliki pola pertumbuhan yang berbeda dan spesifik. Perbedaan morfologi koloni digunakan sebagai indikator proses identifikasi karena morfologi koloni dianggap sebagai bentuk ekspresi adaptasi bakteri terhadap lingkungannya. Perbedaan morfologi tiap koloni menjadikannya sebagai ciri khas untuk dapat membedakan mikroorganisme pada tingkat takson, diantaranya perbedaan strain dari suatu spesies.

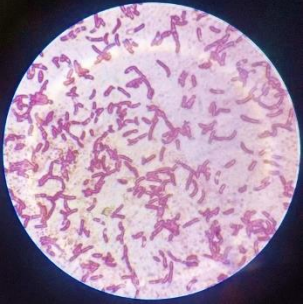
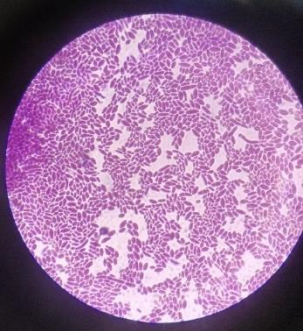
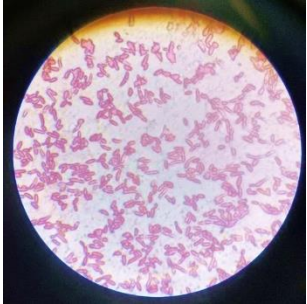
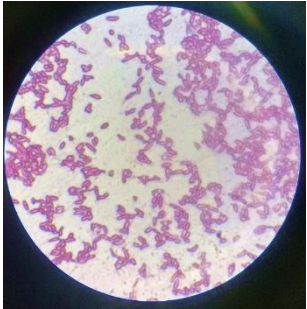
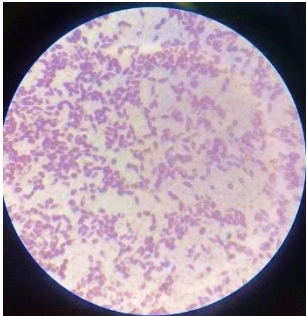
### Karakterisasi Mikroskopik

Karakterisasi morfologi secara mikroskopik dilakukan dengan pewarnaan gram. Pewarnaan gram dilakukan untuk mengetahui jenis gram dari isolat bakteri, yang merupakan penentuan karakter isolat berdasarkan perbedaan struktur bakteri. Hasil pengamatan dari kelima isolat BAL yaitu isolat JS1, JS2, JS3, JS4 dan JS5 terwarnai ungu saat diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 100x seperti yang ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 1. Karakteristik Makroskopis BAL Kombucha Cengkeh

Kode Isolat	Gambar	Warna	Bentuk	Tepi	Elevasi	Ukuran (cm)
JS 1		Putih	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Raised</i>	0,3
JS 2		Putih	<i>Circular</i>	<i>Curled</i>	<i>Raised</i>	0,4
JS 3		Putih	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Raised</i>	0,1
JS 4		Putih	<i>Circular</i>	<i>Curled</i>	<i>Raised</i>	0,2
JS 5		Putih	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Raised</i>	0,4

Tabel 3. Karakteristik Mikroskopis Isolat Bakteri dari Kombucha Cengkeh

Kode	Gambar (Perbesaran Mikroskop 100x)	Bentuk Sel	Gram
JS 1		Basil	Positif
JS 2		Basil Pendek	Positif
JS 3		Basil	Positif
JS 4		Basil	Positif
JS 5		Basil	Positif

Hasil pewarnaan gram pada kelima isolat bakteri asal fermentasi kombucha cengkeh adalah positif, yaitu sel bakteri berwarna ungu setelah dilakukan pengecatan gram. Hal tersebut dikarenakan bakteri ini memiliki kandungan lipid lebih rendah, sehingga dinding sel bakteri akan lebih mudah terdehidrasi akibat perlakuan dengan alkohol yang menyebabkan ukuran pori-pori sel menjadi lebih kecil dan daya permeabilitasnya berkurang sehingga zat warna kristal violet yang merupakan zat warna utama tidak dapat keluar dari sel (Pelczar *et al.*, 1986).

Salah satu karakteristik umum BAL pada hasil pewarnaan gram adalah gram positif (Holt, 1994). Bakteri gram positif memiliki dinding sel yang lebih tebal dan kaku dibandingkan dengan bakteri gram negatif. Hal ini membuat bakteri gram positif lebih tahan terhadap lingkungan asam, termasuk asam lambung dalam saluran pencernaan. Oleh karena itu, bakteri gram positif lebih baik dalam pencernaan karena dapat bertahan hidup dalam lingkungan asam lambung dan membantu dalam proses pencernaan makanan (Nugraha *et al.*, 2021). Bentuk sel bakteri dapat diamati pada gambar hasil pewarnaan gram (Tabel 3). Secara umum, kelima isolat (JS1, JS2, JS3, JS4, dan JS5) menunjukkan bentuk sel bakteri berbentuk batang. Namun, terdapat perbedaan pada isolat JS2 yang menunjukkan adanya bentuk sel bakteri batang pendek. Ciri ciri ini sesuai dengan buku Bergey's (1994) yang memiliki ciri-ciri kemiripan dengan *Lactobacillus* yaitu sel berbentuk batang, berukuran 0,5-1,2 x 1,0-10,0  $\mu\text{m}$  (Holt, 1994). Hasil uji mikroskopis isolat bakteri dari kombucha cengkeh ini sama seperti dalam penelitian Viviandari *et al.* (2015), pada isolat BAL dari teh kombucha lokal Bali yang memperoleh 5 isolat yang memiliki bentuk sel batang sehingga diduga berasal dari genus *Lactobacillus*. Hasil penelitian BAL kombucha rosella oleh Karyantina dan Sumarmi (2021) juga mengidentifikasi BAL *Lactobacillus delbrueckii* yang memiliki bentuk sel batang.

Menurut Teuber (2001), BAL memiliki dua bentuk morfologi yang berbeda yakni basil dan kokus, bakteri asam laktat yang berbentuk batang tergolong *Lactobacillus* dan yang berbentuk kokus tergolong *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, dan *Pediococcus*. Kelima isolat BAL yang didapatkan pada kombucha cengkeh digolongkan sebagai *Lactobacillus*. Genus ini umumnya memiliki sel berbentuk batang, katalase negatif, dan gram positif. Sel-sel *Lactobacillus* dapat muncul secara tunggal, berpasangan, atau dalam bentuk rantai pendek.

## KESIMPULAN

Hasil isolasi bakteri asam laktat (BAL) kombucha cengkeh diperoleh lima isolat BAL dengan karakteristik makroskopis yang beragam (berwarna putih, berbentuk *circular*, tepi *entire* hingga *curled*, elevasi *raised*) dan karakteristik mikroskopis berbentuk batang, gram positif.

## DAFTAR PUSTAKA

- Azizah, N., Suradi, K., & Gumilar, J. (2019). Pengaruh Konsentrasi Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus casei* Terhadap Mutu Mikrobiologi dan Kimia Mayonnaise Probiotik. *Jurnal Ilmu Ternak Universitas Padjadjaran*, 18(2). <https://doi.org/10.24198/jit.v18i2.19771>
- Badan Pusat Statistika Provinsi Sulawesi Utara. (2018). *Luas Tanaman Cengkeh Perkebunan Rakyat (Hektar), 2015-2016*. [https://sulut.bps.go.id/DynamicTable/2018/01/23/204/Luas-Tanaman%20cengkeh-Perkebunan-Rakyat-Menurut-Kabupaten-Kota-Di-Sulawesi-Utara-Ha-2015---2016.Html\(BPS\)](https://sulut.bps.go.id/DynamicTable/2018/01/23/204/Luas-Tanaman%20cengkeh-Perkebunan-Rakyat-Menurut-Kabupaten-Kota-Di-Sulawesi-Utara-Ha-2015---2016.Html(BPS)).
- Delvia, F., Fridayanti, A., & Ibrahim, A. (2015). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Dari Buah Mangga (*Mangifera indica* L.). *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 114–120. <https://doi.org/10.25026/mpc.v1i1.16>
- Holt, J. G. (Ed.). (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (9th ed.). Lippincott Williams & Wilkins.
- Karyantina, M., & Suhartatik, N. (2008). Kombucha Dengan Variasi Kadar Gula Kelapa Sebagai Sumber Karbon. *J. Teknol. Dan Industri Pangan*, 19(2), 165–169.
- Karyantina, M., & Sumarmi. (2021). Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Kombucha Rosella. *AGROINTEK*, 15(1), 244–252.
- Khamidah, A., & Antarlina, S. S. (2020). Peluang Minuman Kombucha Sebagai Pangan Fungsional. *Agrika*, 14(2), 184. <https://doi.org/10.31328/ja.v14i2.1753>
- Kurnia, M., Amir, H., & Handayani, D. (2020). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Makanan Tradisional Suku Rejang di Provinsi Bengkulu: "Lemea." *Alotrop*, 4(1).

<https://doi.org/10.33369/atp.v4i1.13705>

- Marsh, A. J., Hill, C., Ross, R. P., & Cotter, P. D. (2014). Fermented beverages with health-promoting potential: Past and future perspectives. *Trends in Food Science & Technology*, 38(2), 113–124. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.05.002>
- Mathiazhagan, S., Anand, S., Parthiban, R., Sankaranarayanan, B., & Suresh, S. (2013). Antidepressant-like effect of ethanolic extract from *Caryophyllus aromaticus* in albino rats. In *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences (IOSR-JDMS)* (Vol. 4, Issue 2). [www.iosrjournals.org](http://www.iosrjournals.org)
- Nasution, I. W., & Nasution, N. H. (2022). eluang Minuman Teh Kombucha Dan Potensinya Sebagai Minuman Kesehatan Pencegah Dan Penyembuh Aneka Penyakit. *Journal of Comprehensive Science (JCS)*, 1(1), 9–16.
- Noriko, N. (2013). Potensi Daun Teh (*Camellia sinensis*) dan Daun Anting-anting *Acalypha indica* L. dalam Menghambat Pertumbuhan *Salmonella typhi*. *JURNAL AL-AZHAR INDONESIA SERI SAINS DAN TEKNOLOGI*, 2(2), 104. <https://doi.org/10.36722/sst.v2i2.131>
- Nugraha, W. T., Pradipta, M. S. I., Pramono, P. B., Soekarno, A. S., & Kusuma, B. (2021). Identifikasi Morfologi Mikroflora pada Saluran Pencernaan Itik Magelang. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 16(2), 142–147. <https://doi.org/10.31186/jspi.id.16.2.142-147>
- Pelczar, M. J., Chan, E. C. S., Hadioetomo, & Siri, R. (1986). *Dasar-dasar mikrobiologi 1 / Michael J. Pelczar dan E.C.S. Chan*. Universitas Indonesia.
- Putri, A. A., Erina, & Fakhurrrazi. (2018). Isolasi Bakteri Asam Laktat Genus *Lactobacillus* dari Feses Rusa Sambar (*Cervus unicolor*). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner*, 2(2).
- Putri, A. L., & Kusdiyantini, E. (2018). Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari pangan fermentasi berbasis ikan (Inasua) yang diperjualbelikan di Maluku-Indonesia. *Jurnal Biologi Tropika*, 1(2), 6. <https://doi.org/10.14710/jbt.1.2.6-12>
- Sousa, A. M., Machado, I., Nicolau, A., & Pereira, M. O. (2013). Improvements on Colony Morphology Identification towards Bacterial Profiling. *Journal of Microbiological Methods*, 95(3), 327–335. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2013.09.020>
- Suhardini, P. N., & Zubaidah, E. (2016). Studi Aktivitas Antioksidan Kombucha Dari Berbagai Jenis Daun Selama Fermentasi. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 4(1), 221–229.
- Surono, I. S. (2004). *Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan*. YAPMMI.
- Teuber, M. (2001). Lactic Acid Bacteria. In *Biotechnology Set* (pp. 325–366). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9783527620999.ch10>
- Tulungen, F. R. (2019). Cengkeh dan Manfaatnya Bagi Kesehatan Manusia Melalui Pendekatan Competitive Intelligence. *Biofarmasetikal Tropis*, 2(2), 158–169. <https://doi.org/10.55724/jbiofartrop.v2i2.128>
- Viviandari, I. D. A. A., Leliqia, N. P. E., & Ramona, Y. (2015). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat pada Teh Kombucha Lokal Bali. *Jurnal Farmasi Udayana*.
- Wistiana, D., & Zubaidah, E. (2014). Karakteristik Kimiawi dan Mikrobiologis Kombucha dari Berbagai Daun Tinggi Fenol Selama Fermentasi. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 3(4), 1446–1457.
- Yuyana, E. (2016). *Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Rebung Bambu Ampel (*Bambusa vulgaris*) pada Suhu 15oc dan Kadar Garam 5%, Uji Kemampuan Probiotik dan Aktivitas Bakteriosasi*. Universitas Katolik Soegijpranata.