

**STUDI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN MINUMAN FERMENTASI KOMBUCHA:
KAJIAN PUSTAKA*****STUDY OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF KOMBUCHA BEVERAGE: LITERATURE
REVIEW*****Yunita Khilyatun Nisak**

Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknik, Institut Teknologi dan Sains
Nahdlatul Ulama Pasuruan
Wr. Dowo Utara, Pasuruan, Jawa Timur
email: yunita@itsnupasuruan.ac.id

ARTICLE HISTORY : Received [24 November 2022] Revised [01 February 2023] Accepted [12 May 2023]

ABSTRAK

Kombucha merupakan minuman yang diperoleh dengan cara fermentasi teh manis menggunakan simbiotik dari bakteri dan khamir. Jika dibandingkan dengan teh non-fermentasi, kombucha mempunyai kandungan antioksidan yang lebih tinggi karena selama proses fermentasi terjadi pembentukan asam-asam organik yang mengakibatkan terjadinya peningkatan senyawa fenol dan peningkatan aktivitas antioksidan yang ditandai dengan tingginya rasio pengikatan radikal DPPH dan ABTS. Selain itu, kombucha juga dapat menghambat peroksidasi asam linoleat dan mengkelat senyawa logam yang bersifat prooksidan.

Kata Kunci : kombucha; fermentasi; antioksidan

ABSTRACT

Kombucha is a beverage obtained by fermenting sweet tea using symbiotic bacteria and yeast. Compared to non-fermented tea, kombucha has a higher antioxidant content because organic acids are formed during the fermentation process, which results in an increase in phenolic compounds and an increase in antioxidant activity as indicated by the high ratio of binding to DPPH and ABTS radicals. In addition, kombucha can also inhibit the peroxidation of linoleic acid and chelate pro-oxidant metal compounds.

Keywords : kombucha; fermentation; antioxidant

PENDAHULUAN

Kombucha merupakan minuman yang dibuat dengan cara fermentasi teh manis selama 8-10 hari (Filippis *et al.*, 2018). Umumnya, kombucha dibuat dengan menggunakan teh hitam atau teh hijau oleh simbiotik kultur bakteri, yang terdiri atas golongan bakteri asam asetat,

sedikit bakteri asam laktat dan juga terdapat khamir (Villarreal-Soto *et al.*, 2019) sehingga dihasilkan asam setat, alkohol sebagai senyawa metabolit dan juga senyawa CO₂ (Filippis *et al.*, 2018). Meskipun begitu, kombucha memiliki perpaduan rasa manis, asam dan sedikit rasa karbinasi, membuatnya banyak

diminati konsumen (Vitas *et al.*, 2018).

Dilihat dari kenampakannya, kombucha tersusun atas dua komponen, yakni lapisan bagian atas yang merupakan selulosa serta cairan kombucha di bagian bawah. Minuman ini memiliki banyak senyawa-senyawa yang bermanfaat bagi kesehatan, diantaranya adalah asam-asam organik, vitamin, mineral, polifenol dan senyawa-senyawa bioaktif (Leal *et al.*, 2018).

Kombucha diketahui dapat mencegah penyakit kronis dan mempunyai efek antihiperqlikemik, antioksidan, antikarsinogenik (Neffe-Skocinska *et al.*, 2017) serta antimikroba terhadap bakteri patogen (Kozyrovska *et al.*, 2012). Selain itu, beberapa penelitian juga menunjukkan bahwa kombucha yang dibuat dari berbagai jenis teh seperti teh hijau, teh hitam dan juga limbah teh hijau terbukti mempunyai antioksidan yang cukup besar (Jayabalan *et al.*, 2008).

Aktivitas antioksidan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, yakni lama fermentasi, varietas substrat teh yang dipakai dan mikroorganisme yang digunakan sebagai kultur pada kombucha (Jayabalan *et al.*, 2014).

PROSES PEMBUATAN KOMBUCHA

Kombucha dapat diproduksi menggunakan berbagai bahan baku,

namun umumnya minuman ini dibuat menggunakan teh. Untuk membuat kombucha dari seduhan teh hitam, sebanyak 1,2% teh hitam diseduh dengan 10% gula pasir. Setelah itu, larutan teh ini akan dipanaskan untuk mengurangi mikroorganisme yang tidak diinginkan, dan dimasukkan ke dalam toples kaca. Starter kombucha sebanyak 10% dimasukkan saat larutan teh sudah dingin. Larutan ini selanjutnya ditutup dengan kain agar terbentuk suasana yang aerob (Jayabalan *et al.*, 2014).

Fermentasi kombucha berlangsung selama 14 dan dilakukan pada suhu ruang agar didapatkan hasil yang maksimal (Zubaidah *et al.*, 2018). Setelah fermentasi, akan dihasilkan senyawa-senyawa metabolit yang mempunyai manfaat bagi kesehatan tubuh, namun komposisi dan konsentrasi senyawa-senyawa metabolit ini dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya adalah sumber kultur mikroorganisme (Nguyen *et al.*, 2015), konsentrasi teh dan gula yang dipakai (C. Fu *et al.*, 2014) serta waktu yang digunakan untuk proses fermentasi (Jayabalan *et al.*, 2008).

MIKROORGANISME

Kombucha dibuat dengan cara fermentasi teh menggunakan simbiotik kultur bakteri dan khamir. Beberapa jenis khamir yang ada pada kombucha yakni

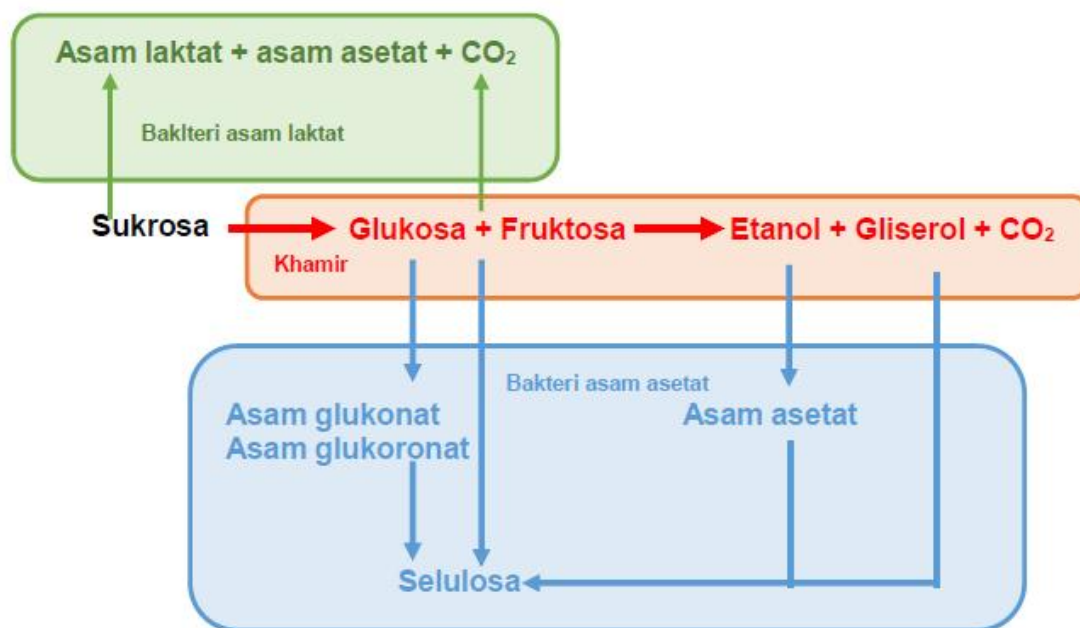
(*Pichia*, *Candida*, *Zygosacharomyces*, *Brettanomyces* dan *Sacharomyces*) (Jayabalan *et al.*, 2014) dengan jumlah yang beragam. Namun jenis khamir yang paling dominan adalah *Zygosacharomyces* (84,1%), kemudian diikuti dengan spesies *Dekkera* dan *Pichia* (6% dan 5%) (Watawana *et al.*, 2017).

PROSES METABOLISME PADA KOMBUCHA

Reaksi kimiawi yang terjadi pada kombucha selama fermentasi cukup beragam. Gula pasir atau sukrosa akan dipecah oleh khamir gula sederhana, yakni menjadi glukosa dan fruktosa. Reaksi ini dibantu dengan enzim invertase. Hal ini dilakukan karena fruktosa dan glukosa yang sudah menjadi gula sederhana akan

lebih mudah digunakan oleh mikroorganisme selama fermentasi. Selama proses fermentasi, khamir akan mengubah kedua jenis gula sederhana ini menjadi berbagai senyawa, yakni etanol, karbon dioksida dan juga gliserol (Gaggia *et al.*, 2019)

Pada beberapa kasus, kandungan etanol yang terlalu tinggi pada kombucha tidak diinginkan karena bisa mengancam kelangsungan hidup mikroba yang ada didalamnya. Sehingga etanol akan dioksidasi lagi dan diubah oleh bakteri asam asetat menjadi asam asetat (Saichana *et al.*, 2015). Dengan adanya oksigen dan nutrisi dari kombucha, pada kondisi statis bakteri asam asetat akan membentuk biofilm selulosa pada permukaan kombucha (May *et al.*, 2019)



Gambar 1. Proses Metabolisme Kombucha (Laureys *et al.*, 2020).

Selain itu, glukosa juga akan diubah oleh bakteri asam asetat membentuk asam-asam organik seperti asam glukonat dan asam glukoronat (Jayabalan *et al.*, 2017). Sedangkan khamir akan merangsang pembentukan asam glukoronat (Nguyen *et al.*, 2015). Saat proses fermentasi berlangsung, mikroorganisme pada kombucha akan mengalami hubungan simbiosis, menjadikan minuman fermentasi ini membentuk lingkungan yang selektif. Etanol yang dihasilkan oleh khamir (Pfeiffer & Morley, 2014) dan produksi asam-asam organik oleh khamir dan bakteri akan menurunkan pH kombucha menjadi 2,0-4,0 (Chakravorty *et al.*, 2016) sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen atau jenis mikroorganisme lain yang tidak diinginkan. Selain itu, lingkungan yang selektif pada kombucha ini juga menginisiasi pembentukan beberapa senyawa metabolit,

seperti asam D-sakarida 1,4-lactone, asam laktat, asam kuinat, asam oksalat, asam malat dan asam sitrat (Laureys *et al.*, 2020).

PERUBAHAN KIMIA PADA KOMBUCHA

a. pH

Nilai pH kombucha tergolong asam (5,6 – 5,0) jika dibandingkan dengan teh non-fermentasi (3,6 – 2,5) (Amarasinghe *et al.*, 2018; Greenwalt *et al.*, 2000). Penurunan pH yang cepat terjadi pada 2 minggu awal fermentasi, kemudian pH akan terus menurun sampai batas tertentu hingga minggu ke-8 (Amarasinghe *et al.*, 2018). Nilai ini lebih rendah dari pH optimal pertumbuhan khamir (pH 5,4-6,3) (Chen & Liu, 2000). Hal ini dapat disebabkan karena terbentuknya asam-asam organik yang diproduksi baik oleh bakteri maupun oleh khamir saat proses fermentasi kombucha.

Tabel 1. Analisa pH pada Kombucha Teh Hitam (Kaewkod *et al.*, 2019).

| Jenis Teh | pH | | Perubahan |
|------------|-----------|------------|-----------|
| | Hari ke-0 | Hari ke-14 | |
| Teh Hitam | 3,73 | 2,70 | 1,03 |
| Teh Hijau | 3,82 | 2,94 | 0.88 |
| Teh Oolong | 3,92 | 2,89 | 1.03 |

b. Antioksidan (DPPH dan ABTS)

DPPH

Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH diketahui lebih efektif daripada metode FRAP dan FIC (Maesaroh *et al.*, 2018). Selain itu, metode ini tergolong sederhana dan murah untuk dilakukan. Larutan DPPH akan bereaksi dengan senyawa antioksidan, jika terjadi perubahan warna dari ungu menjadi kuning atau warna yang pucat, artinya sampel mempunyai kemampuan untuk meredam aktivitas radikal bebas DPPH (Kedare & Singh, 2011).

Jika dibandingkan, kombucha mempunyai kandungan antioksidan yang jauh lebih besar daripada teh non-fermentasi (L. Fu *et al.*, 2017), karena selama fermentasi, kandungan vitamin dan asam-asam organik jumlahnya akan

meningkat (Essawet *et al.*, 2015). Penelitian Fu *et al.*, (2014) dengan menggunakan teh hijau, teh hitam dan teh komersial menunjukkan bahwa teh hitam mempunyai rasio pengikatan DPPH yang paling tinggi (95,30%), sedangkan teh hitam 38,7%. Namun rasio pengikatan DPPH pada teh hitam dapat naik menjadi 70% selama 15 hari fermentasi (Chu & Chen, 2006). Penelitian Jayabalan *et al.*, (2008) juga menunjukkan bahwa diantara beberapa sampel kombucha, yakni kombucha dengan substrat teh hijau, teh hitam dan teh komersial, teh hijau mempunyai kemampuan mengikat DPPH yang paling tinggi (88%) pada fermentasi hari ke-18.

Tabel 2. Analisa DPPH pada Kombucha Teh Hitam (Chu & Chen, 2006).

| Lama fermentasi (hari) | Aktivitas pengikatan DPPH radikal (%) |
|------------------------|---------------------------------------|
| 0 | 34,3 |
| 3 | 42,4 |
| 6 | 50,6 |
| 9 | 55,7 |
| 12 | 60,0 |
| 15 | 69,2 |

Kemampuan kombucha teh hitam dalam melawan senyawa radikal bebas, dibuktikan dengan nilai pengikatan senyawa radikal yang naik 1,7 kali setelah proses fermentasi (Chu & Chen, 2006), hal ini terjadi karena menurut penelitian (Dipti

et al., 2003), kombucha mempunyai kemampuan untuk membalikkan kromat (VI), yang merupakan senyawa penyebab kerusakan oksidatif. Namun kemampuan menangkap senyawa radikal bebas pada kombucha dapat dipengaruhi oleh

beberapa faktor, salah satunya adalah mikroorganisme dan proses metabolismenya (Chu & Chen, 2006).

ABTS

Metode peredaman radikal bebas 2,2-azinobis-3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic Acid (ABTS) merupakan metode pengujian untuk mengukur jumlah radikal bebas yang memiliki sensitivitas yang cukup tinggi, kelebihan ABTS dibandingkan dengan metode lain yaitu pengujiannya yang sederhana, efektif, cepat, dan mudah diulang (Serlahwaty & Sevian, 2016). Selain itu, metode uji ini dapat digunakan pada rentang pH yang lebar (Prior *et al.*, 2005)

Penelitian Chu & Chen (2006) menunjukkan bahwa kombucha teh hitam yang telah difermentasi selama 15 hari mempunyai kandungan antioksidan 1,4 kali lebih tinggi daripada teh biasa, dimana lama waktu fermentasi berkorelasi positif dengan hasil antioksidan. Efek *scavenging* atau pengikatan radikal bebas oleh katekin pada teh sangatlah bervariasi, tergantung dari jenis senyawa radikal, serta sifat antioksidan seperti polaritas, tingkat ionisasi, dan penghambatan sterik.

Perbedaan komposisi kombucha dapat disebabkan oleh penggunaan starter yang berbeda sehingga terjadi variabilitas mikroflora pada tiap sampel, membuat kombucha dengan substrat yang berbeda

memiliki perbedaan aktivitas antioksidan (Malbasa *et al.*, 2011)

c. Uji Penghambatan peroksidasi asam linoleat

Penelitian Chu & Chen (2006) yang melakukan fermentasi kombucha teh hitam selama 15 hari menunjukkan bahwa kombucha teh hitam mempunyai sifat antioksidan karena dapat menghambat peroksidasi asam linoleat dan mengikat DPPH radikal. Rasio penghambatan senyawa peroksidasi asam linoleat pada teh hitam mencapai 65%, setelah difermentasi selama 3 hari nilainya naik menjadi 90% dan terus meningkat secara lambat selama proses fermentasi. Hal ini sesuai dengan penelitian lain yang menunjukkan bahwa pemberian kombucha secara oral dapat menurunkan kandungan malonaldehid pada hewan coba yang dipapar senyawa pro-oksidasi seperti timbal (Dipti *et al.*, 2003).

d. Uji pengkelatan logam Fe

Logam transisi seperti Fe dan Cu bersifat sebagai prooksidan dan memicu proses pembentukan radikal bebas. Teh hitam mempunyai efisiensi pengkelat ion logam sebesar 16%, tetapi nilai ini menurun dengan cepat menjadi 3% setelah tiga hari. Sedangkan pada kombucha teh hitam, nilai tersebut dapat dipertahankan selama fermentasi. Hal ini terjadi karena

selama proses fermentasi, mikroorganismenya akan memodifikasi senyawa polifenol pada teh, membuat kombucha mempunyai kemampuan untuk menurunkan ion Fe^{2+} (Chu & Chen, 2006). Selain itu, teh yang merupakan substrat utama kombucha juga mengandung gugus dihidroksi 3'-4' pada cincin B dan ester galoil pada cincin C flavonol yang merupakan senyawa pengkelat ion logam.

e. Total fenol

Nilai total fenol pada kombucha teh hitam meningkat secara linear selama proses fermentasi. Menurut penelitian

(Ivanišová, Meňhartová, Terentjeva, Godočiková, et al., 2019), total polifenol pada kombucha teh hitam adalah 412 mg GAE/L, nilai ini lebih tinggi daripada teh manis (180,17 mg GAE/L). Penelitian oleh Aidoo, (2015) juga menunjukkan bahwa kombucha memiliki kandungan polifenol yang lebih tinggi daripada teh non-fermentasi, karena proses fermentasi akan membuat senyawa thearubigin pada teh mengalami depolimerisasi. Selain itu, mikroorganismenya juga akan membuat struktur planar thearubigin mengalami perubahan struktur planar, menyebabkan perubahan warna pada kombucha menjadi lebih cerah dan menyebabkan peningkatan jumlah total fenol (Chu & Chen, 2006).

Tabel 3. Kandungan Fenol pada Kombucha (Ivanišová et al., 2019)

| Teh manis | Kombucha Teh Hitam |
|-----------------|--------------------|
| 180,17 mg GAE/L | 412,25 mg GAE/L |

f. Analisa asam organik

Kombucha teh hitam mempunyai kandungan total asam organik sebesar 2,5 g/L, didominasi oleh asam asetat (1,55 g/L) tartarat (0,23 g/L) dan asam sitrat (0,05 g/L) (Ivanišová et al., 2019). Asam asetat adalah senyawa kimia yang berperan pada bau dan rasa asam pada kombucha. Senyawa ini dihasilkan oleh bakteri asam asetat melalui konversi sukrosa menjadi

etanol, glukosa dan fruktosa (Spedding, 2015). Jumlah asam asetat sangat dipengaruhi oleh lamanya fermentasi. Hasil penelitian Jayabalan et al., (2007) menunjukkan bahwa nilai asam asetat pada kombucha teh hitam berkisar antara 0,22 (fermentasi hari ke-3) sampai 9,51 g/L (fermentasi hari ke-15). Asam oksalat, malat, laktat, tartarat dan glukoronat juga ditemukan pada kombucha. Asam

glukuronat dianggap sebagai salah satu komponen kunci yang ada pada kombucha teh karena mempunyai kemampuan untuk detoksifikasi dengan cara konjugasi (Jayabalan *et al.*, 2007).

Asam organik mempunyai kemampuan dalam menangkap *reactive oxygen species* (ROS) dan meningkatkan ketersediaan biologis senyawa fenolik. Selain itu, asam organik juga dapat

digunakan sebagai antimikroba. Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa asam organik dapat menangkap senyawa radikal bebas dan mempunyai efek antioksidan karena mempunyai kemampuan dalam pengkelatan sehingga dapat menonaktifkan kation yang tereduksi (Chang & Chen, 2004)

Tabel 4. Hasil Asam Organik pada Kombucha Teh Hitam (Ivanišová *et al.*, 2019)

| Parameter | Jumlah |
|---------------------|-------------|
| Asam asetat (g/L) | 1,55 ± 0,12 |
| Asam tartarat (g/L) | 0,23 ± 0,05 |
| Asam sitrat (g/L) | 0,05 ± 0,01 |

MANFAAT KESEHATAN

Kombucha dikenal memiliki banyak manfaat kesehatan, yakni dapat melancarkan pencernaan, melawan artritis, bertindak sebagai pencahar, mencegah infeksi mikroba, memerangi stres dan kanker, mengatasi kolesterol dan memfasilitasi ekskresi racun (Jayabalan *et al.*, 2014). Kombucha juga dikenal mengandung bakteri probiotik yang dapat menyeimbangkan mikroflora dalam saluran pencernaan (Kabiri *et al.*, 2013)

Selama proses fermentasi, dihasilkan banyak senyawa yang mempunyai kemampuan menangkap radikal bebas seperti polifenol (Malbasa *et*

al., 2011). Polifenol memiliki kemampuan untuk menangkap senyawa radikal bebas (Srihari & Satyanarayana, 2012).

Sifat antioksidan dari kombucha dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah lama fermentasi. Namun fermentasi yang terlalu lama juga tidak disarankan karena dapat terjadi akumulasi asam organik, yang dapat berbahaya jika dikonsumsi langsung (Chu & Chen, 2006).

KESIMPULAN

Antioksidan pada kombucha lebih tinggi daripada teh non fermentasi karena kandungan asam organik dan polifenol mengalami peningkatan sehingga kemampuannya dalam menangkap (ROS) juga lebih tinggi. Hal ini ditandai dengan peningkatan rasio pengikatan radikal DPPH dan ABTS, penghambatan peroksidasi asam linoleat dan penurunan senyawa logam yang bersifat prooksidan. Aktivitas antioksidan pada kombucha dapat didorong oleh berbagai hal, diantaranya adalah waktu fermentasi, varietas teh yang dipakai serta kultur yang terdapat pada kombucha.

DAFTAR PUSTAKA

- Aidoo, E. (2015). *Studies on the cytotoxicity and antioxidant activity of tea kombucha*. University of Ghana.
- Amarasinghe, H., Weerakkody, N. S., & Waisundara, V. Y. (2018). Evaluation of physicochemical properties and antioxidant activities of kombucha "Tea Fungus" during extended periods of fermentation. *Food Science & Nutrition*, 6(3), 659–665. <https://doi.org/10.1002/fsn3.605>
- Chakravorty, S., Bhattacharya, S., Chatzinotas, A., Chakraborty, W., Bhattacharya, D., & Gachhui, R. (2016). Kombucha Tea Fermentation: Microbial and Biochemical Dynamics. *International Journal of Food Microbiology*, 220, 63–72.
- Chang, C., & Chen, J. (2004). Study on the protective mechanism of organic acids in human umbilical vein endothelial cells. *Acta Nutrimenta Sinica*, 260, 280–283.
- Chen, C., & Liu, B. Y. (2000). Changes in major components of tea fungus metabolites during prolonged fermentation. *Journal of Applied Microbiology*, 89(5), 834–839. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.01188.x>
- Chu, S., & Chen, C. (2006). Effects of origins and Effects of origins and fermentation time on the antioxidant activities of kombucha. *Food Chemistry*, 98(3), 502–507.
- Dipti, P., Yogesh, B., Kain, A. K., Pauline, T., Anju, B., Sairam, M., & Selvamurthy, W. (2003). Lead induced oxidative stress: beneficial effects of Kombucha tea. *Biomedical and Environmental Sciences*, 16(3), 276–282.
- Essawet, N., Cvetkovic, D., Velicanski, A., Canadanovic-Brunet, J., Vulic, J., Maksimovic, V., & Markov, S. (2015). Polyphenols and antioxidant activities of kombucha beverage enriched with coffeeberry extract. C21:399–409. *Chem Ind Chem Eng*, 21(3), 399–409.
- Filippis, F., Troise, A., Vitaglione, P., & Ercolini, D. (2018). Different temperatures select distinctive acetic acid bacteria species and promotes organic acids production during kombucha tea fermentation. *Food Microbiol*, 73, 11–16.
- Fu, C., Yan, F., Cao, Z., Xie, F., & Lin, J. (2014). Antioxidant activities of kombucha prepared from three different substrates and changes in content of probiotics during storage. *Food Science and Technology*, 34(1), 123–126.
- Fu, L., Peng, J., Zhao, S., Zhang, Y., Su, X., & Wang, Y. (2017). Lactic acid bacteria-specific induction of CD4+Foxp3+T cells ameliorates shrimp tropomyosin-induced allergic response in mice via suppression of mTOR signaling. *Scientific Reports*, 7.
- Gaggia, F., Baffoni, L., Galiano, M., Nielsen, D. S., Jakobsen, R. R., & Castro-Mejia, J. L. (2019). Kombucha Beverage from Green,

- Black and Rooibos Teas: A Comparative Study Looking at Microbiology, Chemistry and Antioxidant Activity. *Nutrients*, 11(1).
- Greenwalt, C., Steinkraus, K., & Ledford, R. (2000). Kombucha, The Fermented Tea: Microbiology, Composition, And Claimed Health Effects. *J. Food Prot*, 63, 976–981.
- Ivanišová, E., Meňhartová, K., Terentjeva, M., Godočiková, L., Árvay, J., & Kačániová, M. (2019). Kombucha tea beverage: Microbiological characteristic, antioxidant activity, and phytochemical composition. *Acta Alimentaria*, 48(3), 324–331. <https://doi.org/10.1556/066.2019.48.3.7>
- Ivanišová, E., Meňhartová, K., Terentjeva, M., Harangozo, L., Kántor, A., & Kačániová, M. (2019). The evaluation of chemical, antioxidant, antimicrobial and sensory properties of kombucha tea beverage. *Journal of Food Science and Technology*, 1–7.
- Jayabalan, R., Malbaša, R. V., Lončar, E. S., Vitas, J. S., & Sathishkumar, M. (2014). A review on kombucha tea-microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4), 538–550. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12073>
- Jayabalan, R., Malbasa, R. V., & Sathishkumar, M. (2017). Kombucha Tea: Metabolites. *Fungal Metabolites*.
- Jayabalan, R., Marimuthu, S., & Swaminathan, K. (2007). Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation. *Food Chemistry*, 102(1), 392–398.
- Jayabalan, R., Subathradevi, P., Marimuthu, S., & Sathishkumar, M., Swaminathan, K. (2008). Changes in free-radical scavenging ability of kombucha tea during fermentation. *Food Chemistry*, 109(1), 227–234.
- Kabiri, N., Setorkil, M., & Ahangar Darabi, M. (2013). Protective effects of kombucha tea and silimarin against thioacetamide induced hepatic injuries in wistar rats. *World Applied Sciences Journal*, 27(4), 524–532.
- Kaewkod, T., Bovonsombut, S., & Tragoolpua, Y. (2019). Efficacy of Kombucha Obtained from Green, Oolong, and Black Teas on Inhibition of Pathogenic Bacteria, Antioxidation, and Toxicity on Colorectal Cancer Cell Line. *Microorganisms*, 7(12), 700. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7120700>
- Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*, 48(4), 412–422. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0251-1>
- Kozyrovska, N. O., Reva, O. M., Goginyan, V. B., & Vera, J. P. (2012). Kombucha Microbiome as A Probiotic: A View From The Perspektive of Post-Genomics and Synthetic Ecology. *Biopolymers and Cell*, 28(2), 103–113.
- Laureys, D., Britton, S. J., & De Clippeleer, J. (2020). Kombucha Tea Fermentation: A Review. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 78(3), 165–174. <https://doi.org/10.1080/03610470.2020.1734150>
- Leal, J. M., Suárez, L. V., Jayabalan, R., Oros, J. H., & Escalante-Aburto, A. (2018). A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. *CYTA - Journal of Food*, 16(1), 390–399. <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1410499>
- Maesaroh, K., Kurnia, D., & Al Anshori, J. (2018). Perbandingan Metode Uji Aktivitas Antioksidan DPPH, FRAP dan FIC Terhadap Asam Askorbat, Asam Galat dan Kuersetin. *Chimica*

- et Natura Acta*, 6(2), 93.
<https://doi.org/10.24198/cna.v6.n2.19049>
- Malbasa, R. V., Loncar, E. S., Vitas, J. S., & Canadanovic -Brunet, J. M. (2011). Influence of Starter Cultures on the Antioxidant Activity of Kombucha Beverage. *Food Chemistry*, 127, 1727–1731.
- May, A., Narayanan, S., Alcock, J., Varsani, A., Maley, C., & Aktipis, A. (2019). Kombucha: A novel model system for cooperation and conflict in a complex multi-species microbial ecosystem. *PeerJ*, 2019(9), 1–22.
<https://doi.org/10.7717/peerj.7565>
- Neffe-Skocinska, K., Sionek, B., Scibisz, I., & Kolozyn-Krajewska, D. (2017). Acid Contents and the Effect of Fermentation Condition of Kombucha Tea Beverages on Physicochemical, Microbiological and Sensory Properties. *Cyta-J Food*, 15, 601–607.
- Nguyen, N. K., Nguyen, P. B., Nguyen, H. T., & Le, P. H. (2015). Screening the optimal ratio of symbiosis between isolated yeast and acetic acid bacteria strain from traditional kombucha for high-level production of glucuronic acid. *LWT-Food Science and Technology*, 64(2), 1149–1155.
- Pfeiffer, T., & Morley, A. (2014). An Evolutionary Perspective on the Crabtree Effect. *Front. Mol. Biosci*, 1.
- Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290–4302.
<https://doi.org/10.1021/jf0502698>
- Saichana, N., Matsushita, K., Adachi, O., Frébort, I., & Frebortova, J. (2015). Acetic acid bacteria: A group of bacteria with versatile biotechnological applications. *Biotechnology Advances*, 33(6), 1260–1271.
- Serlahwaty, D., & Sevian, A. N. (2016). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Kombinasi Buah Strawberry dan Tomat dengan Metode ABTS. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 3, 322–330.
<https://doi.org/10.25026/mpc.v3i2.128>
- Spedding, G. (2015). So What is Kombucha? An Alcoholic or a Non-Alcoholic Beverage? A Brief Selected Literature Review and Personal Reflection . Abstract-Overview. *Bdas, Llc Wpsp#2*.
- Srihari, T., & Satyanarayana, U. (2012). Changes in free radical scavenging activity of kombucha during fermentation. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 4(11).
- Villarreal-Soto, S. A., Beaufort, S., Bouajila, J., Souchart, J. P., Renard, T., Rollan, S., & Taillandier, P. (2019). Impact of fermentation conditions on the production of bioactive compounds with anticancer, anti-inflammatory and antioxidant properties in kombucha tea extracts. *Process. Biochemistry*, 43, 44–54.
- Vitas, J. S., Cvetanović, A. D., Mašković, P. Z., Švarc-Gajić, J. V., & Malbaša, R. V. (2018). Chemical composition and biological activity of novel types of kombucha beverages with yarrow. *Journal of Functional Foods*, 44, 95–102.
- Watawana, M. I., Jayawardena, N., Ranasinghe, S. J., & Waisundara, V. Y. (2017). Evaluation of the effect of different sweetening agents on the polyphenol contents and antioxidant and starch hydrolase inhibitory properties of Kombucha. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(1).
- Zubaidah, E., Yurista, S., & Rahmadani, N. R. (2018). Characteristic of physical, chemical, and microbiological kombucha from various varieties of apples. *IOP Conference Series: Earth*

and Environmental Science, 131(1).