



Karakteristik Bakteri Asam Laktat (BAL) Pada Kombucha Liang Teh Sari Jeruk Siam

Characteristics of Lactic Acid Bacteria (LAB) in Siam Orange Kombucha

Ikhsan¹, Dwi Raharjo¹, Yohana Sutiknyawati Kusuma Dewi¹

¹Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Pertanian, Universitas Tanjungpura, Kota Pontianak

*Corresponding author: c1061221037@student.untan.ac.id

INFO ARTIKEL

Dikirim:
10 Maret 2026

Direvisi:
10 Juni 2026

Diterima:
29 Juni 2026

Terbit Online:
30 Juni 2026

ABSTRAK

Bakteri asam laktat merupakan mikroorganisme yang berperan penting dalam proses fermentasi pangan karena mampu menghasilkan asam organik serta memberikan manfaat fungsional bagi kesehatan. Kombucha merupakan minuman hasil fermentasi larutan teh dan gula dengan bantuan kultur mikroorganisme yang memungkinkan terbentuknya bakteri asam laktat selama proses fermentasi. Penambahan bahan alami seperti sari jeruk siam diduga dapat memengaruhi pertumbuhan dan karakteristik bakteri tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik bakteri asam laktat pada kombucha liang teh dengan berbagai konsentrasi sari jeruk siam. Penelitian menggunakan rancangan acak kelompok dengan satu faktor yaitu konsentrasi sari jeruk siam yang terdiri atas enam perlakuan. Kombucha difermentasi selama tujuh hari pada suhu ruang, kemudian dilakukan pengujian nilai keasaman, morfologi koloni, pewarnaan gram, dan uji katalase. Hasil penelitian menunjukkan bahwa variasi konsentrasi sari jeruk siam berpengaruh nyata terhadap nilai keasaman. Seluruh isolat menunjukkan koloni berbentuk bulat berwarna putih susu, berbentuk batang, bersifat gram positif, dan tidak menghasilkan enzim katalase. Dengan demikian, penambahan sari jeruk siam memengaruhi pertumbuhan bakteri asam laktat pada kombucha liang teh, namun tidak mengubah karakteristik morfologi bakteri yang dihasilkan.

Kata Kunci: bakteri asam laktat, jeruk siam, kombucha, liang teh,

ABSTRACT

Lactic acid bacteria are microorganisms that play an important role in food fermentation because they produce organic acids and provide functional health benefits. Kombucha is a fermented beverage made from tea and sugar solution with the help of microbial cultures that allow the growth of lactic acid bacteria during fermentation. The addition of natural ingredients such as Siam orange juice is suspected to influence the growth and characteristics of these bacteria. This study aimed to determine the characteristics of lactic acid bacteria in liang tea kombucha with different concentrations of Siam orange juice. The study used a randomized block design with one factor, namely the concentration of Siam orange juice consisting of six treatments. Kombucha was fermented for seven days at room temperature, followed by analysis of acidity value, colony morphology, Gram staining characteristics, and catalase test. The results showed that variations in Siam orange juice concentration significantly affected acidity value. All isolates showed round colonies with milky white color, rod-shaped cells, Gram-positive characteristics, and negative catalase reaction. Therefore, the addition of Siam orange juice influenced the growth of lactic acid bacteria in liang tea kombucha but did not change the morphological characteristics of the bacteria.

Keywords: kombucha, lactic acid bacteria, liang tea, Siam orange

PENDAHULUAN

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok mikroorganisme yang memiliki kontribusi besar dalam bidang pangan, khususnya pada produk fermentasi. BAL tidak hanya dimanfaatkan sebagai mikroorganisme yang berperan dalam proses fermentasi, tetapi juga digunakan sebagai komponen penting dalam pangan fungsional serta sebagai pengawet alami pada berbagai produk pangan (Ibrahim *et al.*, 2015). Secara umum, bakteri asam laktat termasuk kelompok bakteri probiotik yang bersifat nonpatogen, tidak membentuk spora, dan tergolong bakteri Gram positif dengan bentuk sel bulat atau batang. Mikroorganisme ini mampu menghasilkan asam laktat sebagai produk utama metabolisme karbohidrat melalui proses fermentasi (Khalid, 2011). Keberadaan BAL dalam produk pangan fermentasi diketahui mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen serta berkontribusi terhadap pembentukan cita rasa, aroma, dan warna yang khas pada produk fermentasi. Selain itu, BAL juga memiliki peranan penting dalam menjaga kesehatan saluran pencernaan karena kemampuannya dalam menyeimbangkan mikrobiota usus (Fachrial *et al.*, 2018).

Untuk memastikan peranan bakteri asam laktat dalam memberikan manfaat fungsional tersebut, diperlukan upaya ilmiah berupa isolasi dan identifikasi mikroorganisme yang terdapat dalam produk fermentasi. Isolasi dan identifikasi BAL menjadi penting untuk mengetahui jenis mikroorganisme yang berperan selama proses fermentasi serta memahami karakteristik mikroba yang berkembang pada produk tersebut. Aktivitas mikroorganisme dalam proses fermentasi sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor, salah satunya adalah lama fermentasi.

Durasi fermentasi dapat memengaruhi pertumbuhan mikroorganisme serta pembentukan senyawa bioaktif yang dihasilkan selama proses fermentasi berlangsung. Fermentasi selama tujuh hari sering dianggap sebagai waktu yang optimal karena mampu menghasilkan produk kombucha dengan kualitas sensorik dan aktivitas fungsional yang baik (Khasanah & Dewi, 2024).

Kombucha merupakan minuman hasil fermentasi yang dibuat dari larutan teh dan gula dengan menggunakan starter yang dikenal sebagai Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast (SCOBY). Kultur ini terdiri atas berbagai jenis bakteri dan khamir yang hidup secara simbiotik dan bekerja sama dalam proses fermentasi (Suhardini & Zubaidah, 2016). Dalam proses fermentasi tersebut, khamir berperan dalam memecah gula menjadi etanol dan berbagai senyawa metabolit lainnya. Senyawa hasil metabolisme tersebut kemudian dimanfaatkan oleh bakteri untuk menghasilkan berbagai asam organik yang memberikan rasa asam khas pada kombucha serta meningkatkan aktivitas fungsional produk (Yunita *et al.*, 2024). Selain faktor mikroorganisme, kualitas kombucha juga dapat dipengaruhi oleh bahan tambahan yang digunakan dalam proses fermentasi, terutama bahan yang memiliki kandungan senyawa bioaktif.

Salah satu bahan alami yang berpotensi digunakan dalam pembuatan kombucha adalah jeruk siam (*Citrus nobilis* var. *microcarpa*). Buah ini dikenal luas oleh masyarakat karena memiliki rasa manis, kandungan vitamin C yang tinggi, serta karakteristik kulit buah yang halus dan mengkilap (Hasimi *et al.*, 2016). Penambahan sari jeruk siam dalam proses fermentasi diketahui dapat meningkatkan jumlah

mikroorganisme seperti BAL dan khamir yang berperan dalam mendukung aktivitas antimikroba pada produk fermentasi (Luan *et al.*, 2021). Selain itu, pemanfaatan jeruk siam sebagai bahan tambahan juga memiliki potensi dalam meningkatkan nilai tambah produk pangan berbasis sumber daya lokal yang melimpah di Indonesia.

Di sisi lain, pengembangan produk kombucha juga dapat dilakukan dengan memanfaatkan bahan herbal tradisional seperti liang teh. Liang teh merupakan minuman herbal yang berasal dari tradisi pengobatan Tiongkok Selatan dan telah berkembang di berbagai negara termasuk Indonesia. Minuman ini umumnya dibuat dari campuran berbagai tanaman herbal yang direbus sehingga menghasilkan ekstrak yang kaya akan senyawa bioaktif (Adhimas & Aulia., 2023). Liang teh Pontianak merupakan salah satu produk herbal lokal yang dibuat dari berbagai bahan tanaman seperti kayu secang, daun muje, daun oregano, daun pandan, serta lidah buaya. Bahan-bahan tersebut diketahui memiliki kandungan senyawa fenolik dan polifenol yang berperan sebagai antioksidan alami (Ramadhanti *et al.*, 2023).

Kombinasi antara fermentasi kombucha dengan penggunaan liang teh sebagai substrat serta penambahan sari jeruk siam berpotensi menghasilkan produk minuman fermentasi dengan karakteristik yang unik dan memiliki nilai fungsional yang lebih tinggi. Kandungan senyawa bioaktif yang terdapat dalam sari jeruk siam, seperti fenolik dan flavonoid, diketahui memiliki aktivitas antimikroba yang dapat memengaruhi pertumbuhan mikroorganisme selama proses fermentasi (Wulansari *et al.*, 2025). Senyawa-senyawa tersebut dapat berperan dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme tertentu, namun pada kondisi tertentu bakteri asam laktat masih mampu bertahan dan beradaptasi dalam lingkungan yang mengandung senyawa antimikroba alami (Krayan *et al.*, 2019).

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Oktavianti (2025) mengenai pembuatan kombucha liang teh dengan penambahan sari jeruk siam telah mengkaji karakteristik fisikokimia dan sensori produk. Namun demikian, penelitian tersebut belum membahas secara khusus mengenai karakteristik mikroorganisme yang berkembang selama proses fermentasi, terutama terkait dengan bakteri asam laktat. Padahal, keberadaan dan karakteristik BAL dalam produk fermentasi memiliki peranan penting dalam menentukan kualitas dan potensi fungsional produk yang dihasilkan.

Berdasarkan karakteristik kimia sari jeruk siam, kandungan flavonoid yang bersifat antimikroba serta asam sitrat yang berkontribusi terhadap keasaman diduga memengaruhi karakteristik bakteri asam laktat selama proses fermentasi kombucha liang teh. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik bakteri asam laktat pada kombucha liang teh dengan berbagai konsentrasi sari jeruk siam. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pengaruh penambahan sari jeruk siam terhadap karakteristik bakteri asam laktat serta menjadi dasar dalam pengembangan produk minuman fermentasi berbasis bahan lokal yang memiliki nilai fungsional lebih tinggi.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kultur kombucha didapatkan dari e-commerce berupa cairan hasil fermentasi kombucha teh hitam (dilakukan peremajaan secara berkala), produk liang teh didapatkan dari laboratorium desain pangan, sari jeruk siam, gula pasir, air mineral, larutan *de Man, Rogosa, and Sharpe* (MRS) Agar merek Himedia, kristal violet, safranin, lugol iodine, etanol absolut (95%), kalsiumkarbonat (CaCO_3), larutan hidrogen peroksida (H_2O_2) 3%, larutan natrium klorida (NaCl) pro analisis, alkohol 70%, spirtus, dan aquadest.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikropipet, mikro tip, pH meter Smart Sensor model AS218, gelas beaker, gelas ukur, tabung reaksi, timbangan digital akurasi 0.01g – 500g, cawan petri, jarum ose, laminar, latex, autoklaf Hirayama HVE-50, bunsen, kaca preparate, mikroskop binokuler Olympus perbesaran 400 $\times$.

Metode

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak kelompok (RAK) dengan satu faktor yaitu konsentrasi sari jeruk siam (N) dengan 6 taraf perlakuan dan 4 ulangan sehingga diperoleh 24 unit percobaan. Pengelompokan didasarkan pada waktu pelaksanaan fermentasi yang dilakukan pada hari yang berbeda dengan menggunakan batch starter kombucha yang berbeda pada setiap ulangan. Parameter pengamatan yang dilakukan adalah pengujian pH, karakteristik morfologi koloni, uji katalase, dan identifikasi BAL menggunakan metode pewarnaan gram.

Parameter pengamatan dilakukan setelah kombucha difermentasi selama 7 hari.

1. Peremajaan Kultur Starter Kombucha

Peremajaan kultur starter kombucha dilakukan berdasarkan metode Sutthiphatkul *et al.* (2023) yang dimodifikasi. Starter berupa cairan fermentasi kombucha teh hitam dan SCOBY diperoleh dari e-commerce. Sebanyak 1000 mL air direbus hingga mendidih, kemudian ditambahkan 3 g teh hitam dan 100 g gula. Larutan disaring dan dimasukkan ke dalam wadah kaca steril. Setelah mencapai suhu ruang, ditambahkan 30 g pelikel kombucha dan 100 mL cairan starter. Wadah ditutup menggunakan kain bersih dan diikat dengan karet gelang, kemudian difermentasi selama 14 hari hingga kultur siap dipanen. Peremajaan kultur dilakukan secara berkala untuk menjaga stabilitas dan kualitas starter.

2. Pembuatan Sari Jeruk Siam

Pembuatan sari buah jeruk siam dilakukan dengan mengacu pada metode Anggraini & Sugiarti, (2022) yang telah dimodifikasi. Jeruk siam yang digunakan terlebih dahulu disortir berdasarkan kriteria tertentu yaitu memiliki tekstur kulit lembut, mengkilap dan warna kulit buah hijau 70% dan kuning 30%. Buah yang lolos seleksi kemudian dicuci dengan air mengalir, setelah itu dipotong menjadi dua bagian dan diperas dengan alat pemeras jeruk. Sari buah yang diperoleh selanjutnya disaring dan dipasteurisasi pada suhu 80 °C selama ± 10 menit, kemudian didinginkan setelah proses pemanasan selesai.

3. Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL)

Isolasi bakteri asam laktat (BAL) mengacu pada metode Giyatno & Retnaningrum, (2020) yang telah dimodifikasi. Kombucha yang telah difermentasi selama 7 hari lalu diambil sebanyak 1 mL sampel kombucha kemudian dilakukan pengenceran berseri menggunakan larutan NaCl fisiologis steril 0,85% hingga mencapai pengenceran 10^{-4} . Dari hasil pengenceran, suspensi pada tingkat pengenceran 10^{-3} dan 10^{-4} masing-masing diambil sebanyak 1 mL, kemudian diinokulasikan pada media de Man, Rogosa, and Sharpe (MRS) Agar yang telah disuplementasi dengan CaCO_3 1% menggunakan metode *pour plate* secara aseptik. Cawan petri selanjutnya diinkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam dalam kondisi anaerob. Setelah inkubasi, koloni yang tumbuh diamati berdasarkan karakteristik morfologi, meliputi bentuk, warna, tepian, dan elevasi. Koloni yang

memiliki karakteristik khas BAL selanjutnya digunakan untuk pengujian morfologi koloni, uji katalase, dan identifikasi BAL melalui metode pewarnaan Gram.

Analisa Data

Analisis data penelitian dari parameter uji pH yang diperoleh dianalisis menggunakan uji sidik ragam (ANOVA) dengan taraf kepercayaan 5%. Apabila hasil pengujian berpengaruh nyata dilakukan uji lanjut menggunakan uji BNJ dengan taraf kepercayaan 5%. Data penelitian dari paramateter pewarnaan gram, pengamatan morfologi koloni, dan uji katalase akan dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji pH

Hasil ANOVA menunjukkan bahwa kombucha liang teh sari jeruk siam berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap kadar pH kombucha dan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf 5%. Hasil pH pada setiap perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. pH Kombucha Liang Teh Sari Jeruk Siam

Formulasi Kombucha Liang Teh:Sari Jeruk Siam (%)	Derajat Keasaman (pH)
100 : 0	2,70 $\pm$ 0,24 ^a
90 : 10	2,87 $\pm$ 0,36 ^{ab}
80 : 20	2,87 $\pm$ 0,33 ^{ab}
70 : 30	2,88 $\pm$ 0,35 ^{ab}
60 : 40	2,90 $\pm$ 0,28 ^b
50 : 50	2,91 $\pm$ 0,25 ^b
BNJ 5%	0.19

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata berdasarkan uji BNJ 5%

Nilai pH kombucha cenderung meningkat seiring meningkatnya rasio sari jeruk siam (Tabel 1) yang diduga dipengaruhi oleh kapasitas penyangga jeruk siam melalui kandungan asam sitrat dan garam mineralnya (Wulansari *et al.*, 2025). Pada awal fermentasi, asam sitrat berkontribusi terhadap keasaman larutan, namun selama fermentasi sebagian asam organik dikonsumsi dan dioksidasi melalui jalur metabolisme menjadi senyawa antara seperti asam piruvat dan asetil KoA, yang selanjutnya menghasilkan CO_2 , energi, dan biomassa sel. Pemanfaatan asam organik oleh mikroba menyebabkan jumlah asam bebas berkurang sehingga penurunan pH menjadi lebih lambat dan sistem menjadi lebih stabil (Geraris *et al.*, 2023).

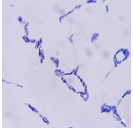
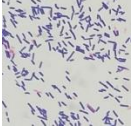
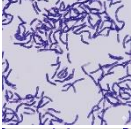
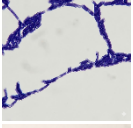
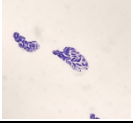
Menurut Oktavianti (2025), pH awal kombucha liang teh sari jeruk siam berada pada kisaran 5–6, yang masih mendukung pertumbuhan optimal bakteri asam laktat (BAL) pada pH 5,5–5,8 (Risna *et al.*, 2022). Selama fermentasi, pH menurun hingga 2,7–2,91 akibat produksi berbagai asam organik yang melepaskan proton (H⁺) melalui aktivitas metabolisme mikroorganisme (Nurhayati *et al.*, 2020). Meskipun demikian, beberapa BAL dari kombucha tetap mampu bertahan pada kondisi pH sangat rendah meskipun tidak lagi berada pada fase pertumbuhan optimal (Cvetković *et al.*, 2019).

Kondisi osmolalitas yang tinggi juga dapat menunda proses asidifikasi karena aktivitas metabolisme bakteri dalam menghasilkan asam laktat menjadi terhambat (Martens *et al.*, 2024). Hal ini menyebabkan pH pada konsentrasi sari jeruk 50% tetap relatif tinggi (2,91). Selain itu, senyawa flavonoid pada jeruk seperti hesperidin dan naringin diketahui dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme dengan merusak membran sel, mengganggu permeabilitas dinding sel, dan menghambat aktivitas enzim intraseluler (Pradita *et al.*, 2025). Paparan senyawa antimikroba yang tinggi dapat memperparah stres osmotik pada BAL sehingga menurunkan viabilitas sel dan efisiensi metabolisme bakteri (Dwijastuti *et al.*, 2025).

Pengamatan Morfologi Koloni

Pengamatan morfologi koloni merupakan metode untuk mengamati ciri-ciri fisik koloni mikroorganisme yang tumbuh pada permukaan media padat secara visual. Hasil pengamatan morfologi koloni dibagi menjadi dua yaitu pengamatan secara mikroskopis dan makroskopis. Pengamatan ini berfungsi sebagai langkah awal dalam mengidentifikasi atau mengelompokkan mikroorganisme sebelum dilakukan analisis lanjutan seperti pewarnaan gram (Sanggor *et al.*, 2024). Hasil pengamatan morfologi koloni secara mikroskopis dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengamatan Secara Mikroskopis Kombucha Liang Teh Sari Jeruk Siam

Formulasi Kombucha Liang Teh:Sari Jeruk Siam (%)	Bentuk	Pewarnaan Gram	Gambar
100 : 0	Basil Pendek	Positif	
90 : 10	Basil Panjang	Positif	
80 : 20	Basil Pendek	Positif	
70 : 30	Basil Panjang	Positif	
60 : 40	Basil Panjang	Positif	
50 : 50	Basil Pendek	Positif	

Hasil ini mengindikasikan bahwa bakteri yang dominan pada semua perlakuan merupakan BAL berbentuk basil (batang), yang umum ditemukan pada fermentasi kombucha. Kombucha liang teh sari jeruk siam diduga didominasi oleh bakteri Gram positif seperti *Lactobacillus* sp yang umum ditemukan pada kombucha (Ben Saad *et al.*, 2025). Hal ini diperkuat oleh penelitian Barrianti *et al.*, (2023) yang mengidentifikasi adanya *Lactobacillus* sp pada fermentasi *Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast* (SCOBY) menggunakan teh putih dan gula merah, di mana isolat BAL yang diperoleh menunjukkan karakteristik bakteri Gram positif berbentuk basil dan berperan sebagai mikroorganisme dominan selama proses fermentasi. Kesamaan karakteristik tersebut mengindikasikan bahwa meskipun substrat yang digunakan berbeda BAL pada fermentasi kombucha cenderung mempertahankan karakter morfologi yang serupa. Berdasarkan Tabel 2, seluruh perlakuan menunjukkan koloni bakteri dengan bentuk batang pendek maupun panjang. Bakteri berbentuk batang menunjukkan tingkat plastisitas morfologi yang tinggi sebagai bentuk adaptasi terhadap lingkungan fermentasi (Shi *et*

al., 2021). Spesies yang sama dapat menunjukkan variasi ukuran sel, mulai dari bentuk basil pendek, basil panjang, hingga pembentukan rantai (filamen) tergantung pada ketersediaan nutrisi dan fase pertumbuhannya (Rizqoh & Amelia, 2023).

Berdasarkan hasil pewarnaan gram, pewarnaan gram merupakan metode dasar mikrobiologi untuk mengklasifikasikan bakteri menjadi Gram positif dan Gram negatif berdasarkan struktur dinding sel, khususnya ketebalan lapisan peptidoglikan dan kemampuannya mempertahankan pewarna kristal violet setelah proses dekolorisasi alkohol (Rahmatullah *et al.*, 2021). Pada penelitian ini, koloni mikroba mampu mempertahankan warna ungu setelah perlakuan alkohol sehingga dapat diklasifikasikan sebagai bakteri gram positif. BAL termasuk kelompok Gram positif karena memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal dengan kandungan lipid yang rendah, sehingga kompleks kristal violet–iodin tetap terperangkap

di dalam sel dan tidak terelusi selama dekolorisasi (Sibarani *et al.*, 2023). Selain itu, dinding sel BAL yang tersusun atas peptidoglikan, polisakarida, dan asam teikoat berperan dalam kestabilan struktur sel serta berkaitan dengan sensitivitas terhadap antibiotik penisilin dan penghambatan pertumbuhan oleh zat pewarna tertentu, seperti ungu kristal (Shavira *et al.*, 2022). Perbedaan formulasi liang teh dan sari jeruk siam (100:0 hingga 50:50) tidak mengubah jenis bakteri dominan diamati berdasarkan karakteristik morfologi koloni dan hasil pewarnaan gram (Antolak *et al.*, 2021).

Pengamatan secara makroskopis dilakukan terhadap koloni isolat pada media agar untuk mengidentifikasi variasi bentuk, warna, tepian, dan elevasinya secara visual (Kurnia, Amir, & Handayani, 2020). Pengamatan makroskopik dilakukan melalui hasil isolat media MRS agar. Hasil identifikasi makroskopis dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Pengamatan Secara Makroskopis Kombucha Liang Teh Sari Jeruk Siam

Formulasi Liang Teh : Sari jeruk Siam (%)	Bentuk	Warna	Tepian	Elevasi	Gambar
100 : 0	Bulat	Putih Susu	Rata Bening	Cembung	
90 : 10	Bulat	Putih Susu	Rata Bening	Cembung	
80 : 20	Bulat	Putih Susu	Rata Bening	Cembung	
70 : 30	Bulat	Putih Susu	Rata Bening	Cembung	
60 : 40	Bulat	Putih Susu	Rata Bening	Cembung	
50 : 50	Bulat	Putih Susu	Rata Bening	Cembung	

Identifikasi makroskopis merupakan langkah awal karakterisasi isolat dengan mengamati penampakan visual koloni yang tumbuh pada permukaan media agar secara langsung (Amalia & Elviantari, 2023). Berdasarkan hasil pengamatan pada Tabel 3, seluruh isolat dari berbagai formulasi menunjukkan karakteristik morfologi yang seragam, yaitu memiliki bentuk bulat, warna putih susu, tepian rata bening, dan elevasi cembung. Keseragaman makroskopis ini menunjukkan bahwa meskipun terdapat variasi konsentrasi sari jeruk siam yang mempengaruhi kadar gula dan senyawa antimikroba, jenis mikroorganisme yang mampu beradaptasi dan tumbuh pada media tersebut tetap memiliki ciri fisik koloni yang sama. Karakteristik warna putih susu dan bentuk bulat ini merupakan ciri tipikal dari koloni BAL yang tumbuh pada media selektif seperti MRS agar (Yulvizar *et al.*, 2025).

Uji Katalase

Uji katalase digunakan untuk mengetahui apakah bakteri menghasilkan enzim katalase yang memecah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Bakteri katalase positif akan membentuk gelembung saat ditetesi H_2O_2 , sedangkan bakteri katalase negatif tidak menunjukkan gelembung atau sangat sedikit (Pulungan & Tumangger, 2018). Hasil uji katalase dapat dilihat dari Tabel 4.

Tabel 4. Uji Katalase

Formulasi Kombucha Liang Teh:Sari Jeruk Siam (%)	Katalase
100 : 0	-
90 : 10	-
80 : 20	-
70 : 30	-
60 : 40	-
50 : 50	-

Hasil katalase negatif pada setiap perlakuan menunjukkan bahwa bakteri dominan pada formulasi tersebut kemungkinan merupakan BAL, misalnya dari genus *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, atau *Pediococcus* yang sering ditemukan pada kombucha (Setiarto, 2020). Hasil uji pada

isolat bakteri menunjukkan katalase negatif, hal tersebut ditunjukkan dengan tidak adanya gelembung gas yang berisi oksigen ketika isolat ditetesi dengan larutan H_2O_2 (Nurhamidah *et al.*, 2019). Hasil negatif yang dominan ini mengonfirmasi bahwa isolat bakteri pada kombucha liang teh sari jeruk siam didominasi oleh kelompok Bakteri Asam Laktat (BAL) yang secara alami tidak memiliki enzim katalase heme (Setiarto, 2020). Ketiadaan aktivitas katalase pada BAL berkaitan erat dengan adaptasi fisiologisnya terhadap lingkungan mikroaerofilik atau anaerob. BAL umumnya tumbuh optimal pada kondisi dengan ketersediaan oksigen yang rendah, sehingga tidak memerlukan sistem pertahanan oksidatif berbasis katalase seperti pada bakteri aerob (Anindita, 2022).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa variasi konsentrasi sari jeruk siam pada pembuatan kombucha liang teh berpengaruh nyata terhadap nilai pH, namun tidak memengaruhi karakteristik morfologi koloni bakteri asam laktat (BAL), baik secara makroskopis maupun mikroskopis. Seluruh perlakuan menunjukkan koloni dengan bentuk, warna, dan sifat Gram yang seragam serta hasil uji katalase negatif yang mengindikasikan dominasi BAL. Peningkatan konsentrasi sari jeruk siam cenderung meningkatkan nilai pH kombucha yang diduga berkaitan dengan kapasitas penyangga dan pemanfaatan asam organik selama fermentasi. Meskipun penambahan sari jeruk siam dalam berbagai konsentrasi memengaruhi kondisi fermentasi, karakteristik dasar BAL yang diamati tetap menunjukkan sifat yang seragam pada seluruh perlakuan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adhimas, Y. B., & Aulia, A. S. (2023). Tradisi Minum Teh Sebagai Kebudayaan Etnis Tionghoa dan Eksistensinya di Masa Kini.
- Amalia, A. N., & Elviantari, A. (2023). Eksplorasi Dan Isolasi *Trichoderma* spp. Pada Rizosfer Kopi Robusta dibeberapa Kecamatan

- Sumbawa. *BIOMARAS: Journal of Life Science and Technology*, 1(1), 13-20.
- Anggraini, R., & Sugiarti, T. (2022). Analisis Bahan Penstabil Pada Jus Jeruk Pontianak (Citrus Nobilis Var Microcarpa). *Jurnal Pertanian Dan Pangan*, 4(2), 8–14. C2
- Anindita, N. S. (2022). Isolasi dan identifikasi fenotipik bakteri asam laktat (BAL) indigenous asal air susu ibu (ASI). *Jurnal Teknologi Pangan*, 5(1), 18-23.
- Antolak, H., Piechota, D., & Kucharska, A. (2021). *Kombucha tea—A double power of bioactive compounds from tea and symbiotic culture of bacteria and yeasts (SCOBY)*. *Antioxidants*, 10(10), 1541.
- Barrianti, B., Wahyu, C., & Fitriani, B. S. (2023). Identifikasi Bakteri Asam Laktat pada Fermentasi Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast (Scoby) dengan Teh Putih dan Gula Merah. *Syntax Literate; Jurnal Ilmiah Indonesia*, 8(11), 6519-6530.
- Ben Saad, E., Friedrich, A., Fischer, F., Courot, O., Schacherer, J., & Bleykasten, C. (2025). Comprehensive survey of kombucha microbial communities of diverse origins and fermentation practices. *FEMS Yeast Research*, 25, foaf005.
- Cvetković, D., Ranitović, A., Savić, D., Joković, N., Tomić, A., Pezo, L., & Markov, S. (2019). Survival of wild strains of lactobacilli during Kombucha fermentation and their contribution to functional characteristics of beverage. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 69(4), 407-415.
- Dwijastuti, N. M. S., Dewi, I. G. A. A. S., Septiasari, N. P. S., & Widiyanti, N. P. (2025). Karakterisasi Isolat Bakteri Asam Laktat asal Urutan sebagai Kandidat Probiotik dengan Ketahanan Asam dan Aktivitas Antibakteri. *Jurnal Media Analisis Kesehatan*, 16(2), 85-96.
- Fachrial, E., Adrian, & Harmileni. (2018). Isolasi dan uji aktivitas antimikroba bakteri asam laktat dari fermentasi nira kelapa sawit. *BioLink*, 5(1), 51–58.
- Geraris Kartelias, I., Karantonis, H. C., Giaouris, E., Panagiotakopoulos, I., & Nasopoulou, C. (2023). Kombucha fermentation of olympus mountain tea (sideritis scardica) sweetened with thyme honey: Physicochemical analysis and evaluation of functional properties. *Foods*, 12(18), 3496.
- Hasimi, N. R., Poerwanto, R., & Suketi, K. (2016). Degreening buah jeruk siam (Citrus nobilis) pada beberapa konsentrasi dan durasi pemaparan etilen. *Jurnal Hortikultura Indonesia*, 7(2), 111–120.
- Ibrahim, A., Fridayanti, A., & Delvia, F. (2015). Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat (BAL) dari buah mangga (Mangifera indica L.). *Jurnal ilmiah manuntung*, 1(2), 159-163.
- Khalid K. An Overview of Lactid Acid Bacteria. *International Journal of Biosciences (IJB)*. 2011; 1(3):1-13
- Khasanah, D. U., & Dewi, E. N. (2024). Karakteristik produk minuman kombucha berdasarkan komposisi bahan baku dan waktu fermentasi. *DISTILAT: Jurnal Teknologi Separasi*, 10(4), 754–763.
- Kurnia, M., Amir, H., & Handayani, D. (2020). Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari makanan tradisional suku rejang di provinsi Bengkulu: “lemea”. *Jurnal Pendidikan Dan Ilmu Kimia*, 4(1).
- Luan, C., Zhang, M., Devahastin, S., & Liu, Y. (2021). Effect of two-step fermentation with lactic acid bacteria and *Saccharomyces cerevisiae* on key chemical properties, molecular structure and flavor characteristics of horseradish sauce. *LWT - Food Science and Technology*, 147, 111637.
- Martens, S. D., Wagner, W., Schneider, M., Hünting, K., Ohl, S., & Löffler, C. (2024). Screening Lactic Acid Bacteria Strains for Their Tolerance to Increased Osmotic Pressure and Their Suitability to Ensilage High Dry Matter Forages. *Agriculture*, 14(6), 825.
- Narendranath, N. V., & Power, R. (2005). Relationship between pH and medium dissolved solids in terms of growth and

- metabolism of lactobacilli and *Saccharomyces cerevisiae* during ethanol production. *Applied and environmental microbiology*, 71(5), 2239-2243.
- Nurhamidah, A., Warsidah, W., & Idiawati, N. (2019). Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat (BAL) dari Ale-ale dan Cincalok. *Jurnal Laut Khatulistiwa*, 2(3), 85-90.
- Nurhayati, Yuwanti, S., & Urbahillah, A. (2020). Karakteristik Fisikokimia Dan Sensori Kombucha Cascara (Kulit Kopi Ranum). *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*, 31(1), 38–49.
- Oktavianti, N. E. (2025). Formulasi Kombucha Liang Teh pada Berbagai Rasio Sari Buah Jeruk Siam (*Citrus nobilis* var. *microcarpa*) (Skripsi, Universitas Tanjungpura). Universitas Tanjungpura.
- Pradita, D., Pertiwi, I., & Limbong, Y. S. (2025). Tinjauan Literatur: Mekanisme Antibakteri Ekstrak Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.). *Jurnal Indah Sains dan Klinis*, 6(1), 26-39.
- Pulungan, A. S. S., & Tumangger, D. E. (2018). Isolasi dan karakterisasi bakteri endofit penghasil enzim katalase dari daun buasbuas (*Premna pubescens* Blume). *BIOLINK (Jurnal Biologi Lingkungan Industri Kesehatan)*, 5(1), 71-80.
- Rahmatullah, W., Novianti, E., & Sari, A. D. L. (2021). Identifikasi bakteri udara menggunakan teknik pewarnaan Gram. *Jurnal Ilmu Kesehatan Bhakti Setya Medika*, 6(2), 83-91.
- Ramadhanti, D. D., Priyanto, B., & Rahmi, A. (2023). Pembuatan sirup bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dengan kayu manis (*Cinnamomum burmannii*). *Agritekno: Jurnal Teknologi Pertanian*, 12(1), 33–39. <https://doi.org/10.30598/jagritekno.2023.12.1.33>
- Risna, Y. K., Sri-Harimurti, S. H., Wihandoyo, W., & Widodo, W. (2022). Kurva pertumbuhan isolat bakteri asam laktat dari saluran pencernaan itik lokal asal aceh. *Jurnal Peternakan Indonesia (Indonesian Journal of Animal Science)*, 24(1), 1-7.
- Rizqoh, D., & Amelia, A. (2023). *Buku Referensi Bakteri Filosfer*. Deepublish.
- Sanggor, J. H., Siahaan, P., Mambu, S., Singkoh, M., Pujiastuti, D. R., Mantiri, P. K., Hasibuan, F., & Tangapo, A. M. (2024). *Isolasi bakteri asam laktat pada kombucha cengkeh (Syzygium aromaticum (L.) Merr. & L. M. Perry)*. Dalam Prosiding Seminar Nasional Sains dan Terapan (SEMNAS-SINTA) VIII, 37–44. Universitas Sam Ratulangi.
- Setiarto, R. H. B. (2020). *Teknologi Fermentasi Pangan Tradisional dan Produk Olahannya*. Guepedia.
- Shavira, A., Cahyadi, A. I., & Windria, S. (2022). Aktivitas Antibakteri dari Bakteriosin *Lactobacillus* Spp. terhadap Bakteri Resistan Antibacterial Activity of *Lactobacillus* Spp. Bacteriocin Against Resistant Bacteria. *Jurnal Sain Veteriner*, 40(1), 60-72.
- Shi, H., Hu, Y., Odermatt, P. D., Gonzalez, C. G., Zhang, L., Elias, J. E., ... & Huang, K. C. (2021). Precise regulation of the relative rates of surface area and volume synthesis in bacterial cells growing in dynamic environments. *Nature communications*, 12(1), 1975.
- Sibarani, A. E. E. B., Rahmawati, R., & Saputra, F. (2023). Identification of Lactic Acid Bacteria From Pandan Civet Feces (*P. hermaphroditus*) in West Kalimantan Based on Phenotypic Similarity. *Jurnal Biologi Tropis*, 23(4), 37-49.
- Suhardini, P. N., & Zubaidah, E. (2016). Studi aktivitas antioksidan kombucha dari berbagai jenis daun selama fermentasi [in press januari 2016]. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 4(1).
- Sutthiphakul, T., Mangmool, S., Rungjindamai, N., & Ochaikul, D. (2023). Characteristics and Antioxidant Activities of Kombucha from Black Tea and Roselle by a Mixed Starter Culture. *Current Applied Science and Technology*, 23(4).

- Krayan, J., Kelua, K. G., & Rahmadi, A. (2019). Bakteri Asam Laktat dan Mandai Cempedak.
- Wulansari, N. T., Padmiswari, A. I. M., & Sintyadewi, P. R. (2025). Potensi Kulit Jeruk Siam Kintamani (*Citrus Nobilis*) Sebagai Minuman Probiotik: Analisis Total Bakteri Asam Laktat, Total Yeast, Dan Aktivitas Antimikroorganisme Terhadap Bakteri Penyebab Foodborne Disease. *Berita Biologi*, 24(2), 357-369.
- Yulvizar, C., Yunita, D., Muchlizin, Z. A., & Suhartono, S. (2025). Preliminary study on screening and selection of Lactic Acid Bacteria (LAB) from gastrointestinal tract of nalah fish (*Barbonymus* sp.). In *BIO Web of Conferences* (Vol. 156, p. 03009). EDP Sciences.
- Yunita, M., Warella, J. C., Astuty, E., Asmin, E., & Ohiwal, M. (2024). Pemberdayaan masyarakat melalui edukasi manfaat probiotik dan pelatihan pembuatan minuman teh kombucha. *JMM (Jurnal Masyarakat Mandiri)*, 8(2), 1732-1741.