

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Kombucha Berbasis Teh, Mangga, dan Nanas

Raissa Putri Sugiyarto, Laela Nur Rokhmah, Farah Nabila Reza Putri, Nena Isnaini Chahya Negara

Program Studi Teknologi Rekayasa Pangan, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Duta Bangsa Surakarta, Jalan Ki Mangun Sarkoro No 20, Surakarta
0271-7470550

Corespondensi : laela_nurrokmah@udb.ac.id

Abstrak

Kombucha adalah minuman fermentasi yang dihasilkan dari aktivitas mikroorganisme simbiotik berupa bakteri asam laktat (BAL), bakteri asam asetat, dan khamir yang tergabung dalam SCOBY. Variasi substrat fermentasi, seperti teh dan sari buah, diduga memengaruhi karakteristik mikrobiologis kombucha yang dihasilkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri asam laktat (BAL) dari kombucha menggunakan media MRSA, melakukan karakterisasi morfologi koloni dan sel bakteri hasil isolasi, menentukan jenis pewarnaan gram dari isolat bakteri Asam Laktat (BAL) dari fermentasi kombucha berbasis teh, sari buah mangga, dan sari buah nanas pada waktu fermentasi yang berbeda. Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimental dengan variasi substrat dan lama fermentasi (hari ke-7 dan hari ke-14). Isolasi BAL dilakukan menggunakan media MRS agar melalui teknik pengenceran serial hingga 10^{-4} , diikuti dengan pengamatan karakter makroskopis koloni dan pewarnaan gram untuk identifikasi mikroskopis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa seluruh isolat BAL dari berbagai perlakuan memiliki karakteristik gram positif dengan bentuk sel batang. Secara makroskopis, koloni menunjukkan variasi bentuk, warna, elevasi, dan tepi koloni yang dipengaruhi oleh jenis substrat, tingkat pengenceran, dan lama fermentasi. Dapat disimpulkan bahwa perbedaan substrat dan waktu fermentasi tidak memengaruhi karakter dasar sel BAL secara mikroskopis, namun berpengaruh terhadap variasi morfologi koloni secara makroskopis.

Kata Kunci: bakteri asam laktat; gram positif; isolasi; karakterisasi; kombucha

Abstract

Kombucha is a fermented beverage produced by the activity of symbiotic microorganisms in the form of lactic acid bacteria (LAB), acetic acid bacteria, and yeast that are combined in SCOBY. Variations in fermentation substrates, such as tea and fruit juice, are thought to affect the microbiological characteristics of the kombucha produced. This study aims to isolate lactic acid bacteria (LAB) from kombucha using MRSA media, characterize the morphology of the isolated bacterial colonies and cells, and determine the gram staining type of lactic acid bacteria (LAB) isolates from kombucha fermentation based on tea, mango juice, and pineapple juice at different fermentation times. The research method used was an experimental method with variations in substrate and fermentation time (day 7 and 14). LAB isolation was performed using MRS Agar medium through serial dilution to 10^{-4} , followed by macroscopic observation of colonies and gram staining for microscopic identification. The results showed that all BAL isolates from various treatments had gram-positive characteristics with rod-shaped cells. Macroscopically, the colonies showed variations in shape, color, elevation, and colony edges, which were influenced by the type of substrate, dilution level, and fermentation time. It can be concluded that differences in substrate and fermentation time did not affect the basic

microscopic characteristics of BAL cells, but did influence the morphological variation of the colonies.

Keywords: characterization; gram positive; kombucha.; isolation; lactic acid bacteria

PENDAHULUAN

Saluran pencernaan manusia memiliki peran penting dalam menjaga kesehatan dan sistem imun tubuh. Ketidakseimbangan mikrobiota usus dapat menyebabkan berbagai gangguan kesehatan, salah satunya penyakit diare yang disebabkan oleh bakteri patogen. Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk menjaga keseimbangan mikrobiota usus adalah melalui konsumsi pangan probiotik. Pangan probiotik mengandung mikroorganisme hidup yang apabila dikonsumsi dalam jumlah cukup dapat memberikan manfaat kesehatan bagi inangnya, terutama bakteri asam laktat (BAL) (Fahmi *et al.*, 2022; Riadi *et al.*, 2022).

Kombucha merupakan salah satu minuman fermentasi yang berpotensi sebagai pangan fungsional. Kombucha dibuat dari fermentasi larutan teh dan gula dengan bantuan kultur simbiotik yang dikenal sebagai SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*). Selama proses fermentasi, SCOBY akan menghasilkan berbagai metabolit seperti asam organik, vitamin, dan senyawa bioaktif yang memberikan karakteristik khas serta potensi kesehatan pada kombucha (Firdaus *et al.*, 2020). Bakteri asam laktat merupakan salah satu kelompok mikroorganisme yang berperan penting dalam fermentasi kombucha dan berkontribusi terhadap pembentukan asam laktat serta kestabilan mikrobiologis produk. BAL umumnya bersifat Gram positif, tidak membentuk spora, dan memiliki bentuk sel batang atau kokus (Permana *et al.*, 2021; Fahmi *et al.*, 2022).

Pengembangan kombucha saat ini tidak hanya terbatas pada penggunaan teh sebagai substrat utama, tetapi juga dikombinasikan dengan bahan lain seperti sari buah untuk meningkatkan nilai gizi dan variasi produk. Buah nenas dan mangga merupakan buah tropis yang kaya akan gula sederhana, vitamin, dan senyawa bioaktif yang berpotensi mendukung pertumbuhan mikroorganisme selama fermentasi. Nenas diketahui mengandung vitamin C serta senyawa bioaktif seperti flavonoid dan tanin yang memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri (Rezaldi *et al.*, 2022). Sementara itu, buah mangga memiliki kandungan vitamin C, karotenoid, dan antioksidan yang tinggi sehingga berpotensi menghasilkan kombucha dengan karakteristik yang baik (Milatina *et al.*, 2025).

Karakterisasi mikrobiologis kombucha, khususnya terhadap bakteri asam laktat, perlu dilakukan untuk mengetahui sifat dan potensi mikroorganisme yang berkembang selama fermentasi. Karakterisasi tersebut dapat dilakukan melalui pengamatan makroskopis koloni pada media selektif serta pengamatan mikroskopis menggunakan pewarnaan Gram untuk menentukan bentuk sel dan tipe dinding sel bakteri. Informasi ini penting sebagai dasar dalam pengembangan kombucha berbasis buah sebagai minuman fermentasi fungsional yang aman dan berkualitas (Permana *et al.*, 2021; Ismail *et al.*, 2023).

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi bakteri asam laktat dari fermentasi kombucha berbasis teh, sari buah mangga, dan sari buah nenas pada hari ke-7 dan hari ke-14 fermentasi. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi awal mengenai karakteristik mikrobiologis bakteri asam laktat pada kombucha berbasis buah sebagai dasar pengembangan produk pangan fermentasi fungsional.

METODE PENELITIAN

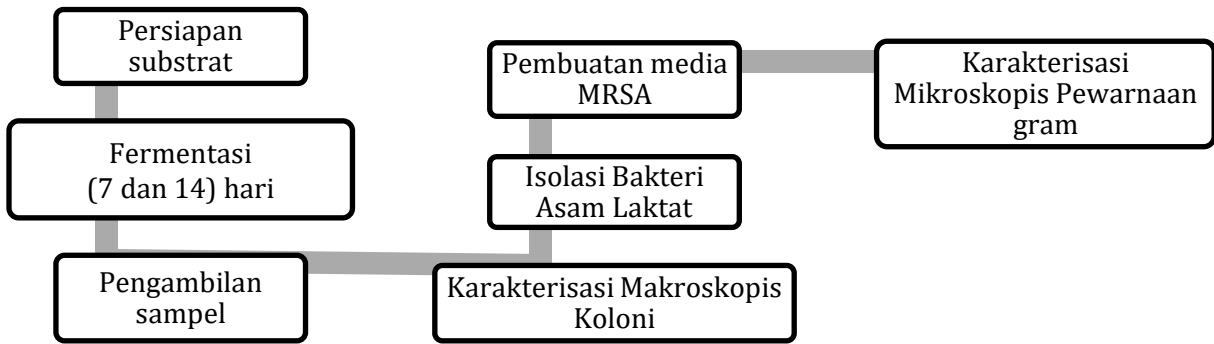
2.1. Bahan dan Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah erlenmeyer 100 mL, cawan petri steril, tabung reaksi, ose inokulasi, pipet micropipet + tips, timbangan digital, spreader, mikroskop, objek glass dan cover glass, pewarna gram (kristal violet, iodine, alkohol, safranin, bunsen atau spiritus. Media dan Reagen yang digunakan dalam penelitian ini adalah media MRS agar (de Man, Rogosa, Sharpe Agar), kristal violet, iodine, alkohol 96%, safranin. Bahan utama

dan substrat yang digunakan dalam penelitian ini adalah teh hitam, sari buah mangga kweni, sari buah nanas, gula pasir (10% b/v) sampel kombucha, starter scoby, larutan NaCL 0.9% steril, aquades, kapas dan kertas, aluminium foil. Berikut alat dan bahan yang kami gunakan.

2.2. Tahap Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Rekayasa Pangan dan Sensori Prodi Teknologi Rekayasa Pangan Universitas Duta Bangsa Surakarta. Penelitian terbagi atas beberapa tahapan yang tersaji dalam gambar 1.



Gambar 1. Tahapan Penelitian

1. Persiapan Substrat

Proses persiapan substrat dimulai dengan merebus air secukupnya hingga mendidih, menyeduh teh dan melarutkan gula (10% b/v) sebanyak 1L. sari buah mangga dan nanas, disaring dan dibuat dua perlakuan sebanyak 1L.

2. Fermentasi

- Semua larutan dimasukkan ke wadah fermentasi masing-masing sampel 500 mL (label bertuliskan 7 dan 14 hari diberikan pada wadah fermentasi). Sehingga totalnya terdapat 10 wadah fermentasi).
- Masing-masing wadah fermentasi dimasukkan 1 buah scoby secara aseptis
- Gunakan kain steril dan ikat menggunakan karet gelang untuk menutup mulut wadah fermentasi
- Seluruh wadah fermentasi diletakkan pada suhu ruang (25-30°C), jauhkan dari paparan sinar matahari secara langsung
- Melakukan fermentasi selama 7 dan 14 hari.

3. Pengambilan sampel

Mengambil sampel pada Hari ke-0, hari ke-7, hari ke-14 untuk pengujian (pengukuran pH, kadar gula (Brix°), kadar alkohol) dan pengamatan organoleptik.

4. Pembuatan Media MRSA

- Timbang 55,1 gram serbuk MRSA
- Larutkan dalam 1000 mL aquades di erlenmeyer
- Panaskan diatas hotplate sambil diaduk hingga mendidih
- Tutup erlenmeyer dengan aluminium foil
- Sterilisasi media dalam suhu 121°C selama 15 menit
- Setelah steril dan suhu turun ($\pm 50^{\circ}\text{C}$), tuangkan media ke cawan petri steril 20 mL per cawan

5. Isolasi Bakteri Asam Laktat

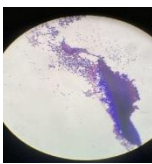
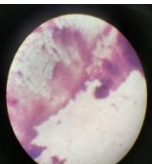
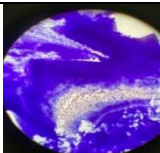
- a. Sampel kombucha diambil pada hari ke-0, 7, dan 14.
 - b. Pengenceran -dilakukan mulai dari 10^{-1} hingga 10^{-4} menggunakan NaCl 0,9%.
 - c. Sebanyak 0,1 mL dari tiap pengenceran ditanam pada media MRS agar menggunakan teknik *spread plate* dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam.
 - d. Cawan yang memiliki 30–300 koloni dipilih untuk analisis Total Plate Count (TPC) dan isolasi koloni tunggal.
6. Karakterisasi makroskopis koloni
Amati dan catat ciri-ciri koloni bakteri
Bentuk : bulat, iregular, filamentosa Elevasi : datar, timbul, cekung
Warna : putih, krem, bening Tepi : halus, bergelombang, tidak teratur
7. Karakterisasi mikroskopis dan Pewarnaan Gram
- a. Bersihkan objek glass dengan alkohol 70% dan bilas dengan aquadest
 - b. Ambil satu ose koloni bakteri dan buat sediaan apus dikaca objek
 - c. Keringkan dan fiksasi dengan pemanasan ringan
 - d. Lakukan pewarnaan gram:
 - Kristal violet 1 menit kemudian bilas air
 - Larutan iodine 1 menit kemudian bilas dengan air
 - Keringkan
 - e. Amati dibawah mikroskop
 - f. Ambil gambar
Warna ungu : gram positif Warna merah / pink : gram negatif
 - g. Bentuk sel :
kokus, batang, rantai, tunggal.

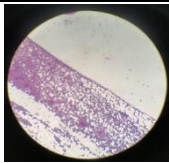
HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Karakteristik Mikroskopis Hari ke 7 Pengenceran 10^{-1}

Parameter mikroskopis hari ke 7 pengenceran 10^{-1} yang diuji meliputi gram, bentuk, dan gambar pengenceran 10^{-1} yang terbentuk selama proses fermentasi kombucha pada hari ke 7. Hasil uji karakteristik mikroskopis kombucha dengan perbedaan teh, mangga, nanas sebagai bahan baku ditampilkan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Mikroskopis dan Gram Staining hari ke-7 pengenceran 10^{-1}

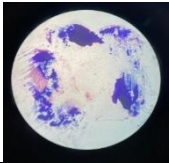
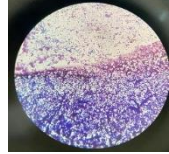
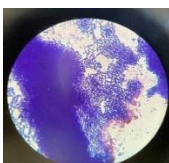
No.	Sampel	Gram	Gambar	Bentuk
1.	Teh + gula	Gram positif		Batang
2.	Sari buah mangga	Gram positif		Batang
3.	Sari buah mangga + gula	Gram positif		Batang

4.	Sari buah nanas	Gram positif		Batang
5.	Sari buah nanas+ gula	Gram positif		Batang

Pengenceran 10^{-1} dipilih karena populasi BAL hari ke-7 masih 10^5 - 10^6 CFU/mL setelah fermentasi awal, menghindari *over crowding* koloni pada media MRS agar (Sianipar *et al.*, 2020). Teh gula Gram positif ireguler, mangga bulat-ireguler timbul tidak teratur, mangga gula bulat datar halus, nanas bulat-filamentosa tidak teratur, nanas gula bulat timbul tidak teratur—semua ungu khas dinding tebal (Laureys *et al.*, 2020). Filamentosa nanas disebabkan fruktosa tinggi merangsang elongasi sel *Lactobacillus*, tepi tidak teratur dari bromelain interaksi dinding sel (Fahmi *et al.*, 2022; Fauzi *et al.*, 2023). Seluruh isolat yang diperoleh dari fermentasi kombucha berbasis teh, sari buah mangga, dan sari buah nanas pada hari ke-7 dengan pengenceran 10^{-1} menunjukkan hasil Gram positif dan bentuk sel batang. Pewarnaan Gram menghasilkan warna ungu yang menandakan bahwa bakteri memiliki dinding sel peptidoglikan yang tebal, yang merupakan salah satu ciri utama bakteri asam laktat (BAL). Selain itu, tidak ditemukan adanya struktur spora pada hasil pengamatan mikroskopis. Hal ini sesuai dengan karakteristik BAL yang dikenal sebagai bakteri non-spora. Dengan demikian, hasil karakterisasi mikroskopis pada Tabel 1 menunjukkan bahwa isolat yang diperoleh telah sesuai dengan ciri-ciri umum BAL, yaitu Gram positif, berbentuk batang atau kokus, serta tidak membentuk spora.

3.2. Karakteristik Mikroskopis Hari ke 7 sampai 14 Pengenceran 10^{-4}

Tabel 2. Karakteristik Mikroskopis dan Gram Staining hari ke-7 pengenceran 10^{-4}

No.	Sampel	Gram	Gambar	Bentuk
1.	Teh + gula	Gram positif		Batang
2.	Sari buah mangga	Gram positif		Batang
3.	Sari buah mangga + gula	Gram positif		Batang

Parameter mikroskopis hari ke 7 pengenceran 10^{-4} yang diuji meliputi gram, bentuk, dan gambar pengenceran 10^{-4} yang terbentuk selama proses fermentasi kombucha pada hari ke 7. Hasil uji karakteristik mikroskopis kombucha dengan perbedaan teh, mangga, nanas sebagai bahan baku ditampilkan dalam Tabel 1.

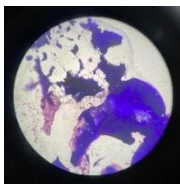
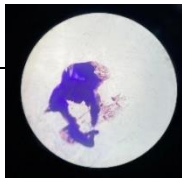
Adanya dinamika pertumbuhan bakteri asam laktat selama proses fermentasi kombucha ditunjukkan pada hasil pengamatan. Jumlah koloni pada hari ke-7 menuju hari ke-14 pada seluruh sampel terjadi peningkatan, kecuali mangga+ gula mengalami penurunan konsentrasi pada pengenceran tertinggi.

Jenis substrat sampel berbasis buah (mangga dan nanas) berpengaruh memiliki jumlah koloni lebih tinggi dibanding sampel teh - gula pada hari ke-14. Hal ini terjadi karena sari buah mengandung tambahan nutrisi seperti vitamin, mineral dan sumber karbon alami kompleks yang mendukung pertumbuhan BAL, menurut Nasution *et al.*(2022) fermentasi membantu dalam memecah senyawa kompleks sehingga nutrisi yang lebih sederhana dan mudah menyerap. Sampel buah nanas + gula hari ke-14 mengalami pertumbuhan tertinggi. Pengaruh penambahan gula, substrat buah yang ditambahkan dengan gula memberikan hasil yang beragam. Jumlah koloni meningkat secara signifikan pada sampel nanas + gula pada hari ke-14. Tetapi, angka koloni lebih rendah ditunjukkan pada sampel mangga + gula dibandingkan mangga tanpa gula pada hari ke-14.

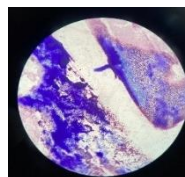
Dinamika Fermentasi hari ke-7 vs ke-14, pada hari ke-14 jumlah koloni meningkat (rata-rata pada orde 10^5 - 10^6) dibandingkan hari ke-7 (orde 10^3 - 10^4) BAL menunjukkan berada pada fase logaritmik atau menuju ke fase stasioner. Lingkungan asam pada kombucha merupakan kondisi selektif yang mendukung juga pertumbuhan mikroba patogen lain yang terhambat. Teh gula, mangga, mangga gula tetap Gram positif konsisten, stabil selama fermentasi lanjut meski pengenceran tinggi (Nasution *et al.*, 2022). Stabilitas ini uraikan adaptasi BAL heterofermentatif tahan asam rendah kombucha, potensial probiotik (Azizah *et al.*, 2020).

Dilakukan pewarnaan gram untuk mengetahui karakterisasi morfologi mikroskopis. Bertujuan menentukan jenis gram isolat bakteri, guna mengidentifikasi karakter isolat menurut perbedaan struktural antar sel bakteri. Menurut Sianipar *et al.*, 2020 Ketika dilakukan pewarnaan gram, pada bakteri Gram-negatif, warna ungu dari kristal violet setelah dibilas alkohol akan hilang, namun pada safranin akan diserap dan akhirnya menghasilkan warna merah atau pink. Tetapi pada bakteri Gram-positif, warna ungu dari kristal violet tetap bertahan dan berwarna ungu.

Tabel 3. Karakteristik Mikroskopis dan Gram Staining hari ke-14 pengenceran 10^{-4}

No.	Sampel	Gram	Gambar	Bentuk
1.	Teh + gula	Gram positif		Batang
2.	Sari buah mangga	Gram positif		Batang
3.	Sari buah mangga+ gula	Gram positif		Batang
4.	Sari buah nanas	Gram positif		Batang

5.	Sari buah nanas	Gram positif		Batang
----	-----------------	--------------	--	--------



Dapat dilihat pada tabel 2, setelah dilakukan pewarnaan gram pada kelima isolat bakteri dari seluruh sampel hasilnya positif, yaitu sel bakteri berwarna ungu. Hasil yang telah diperoleh ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh (Al-Mohammadi *et al.*, 2021) yaitu bakteri asam termasuk kelompok bakteri gram positif. Tebalnya lapisan peptidoglikan dinding sel bakteri pada gram positif membuat warna kristal violet ungu tetap bertahan ketika dibilas dengan aquadest. Hasil pengamatan mikroskopis pada Tabel 2 menunjukkan bahwa isolat BAL pada hari ke-7 dengan pengenceran 10^{-4} juga memperlihatkan karakteristik yang konsisten, yaitu Gram positif dengan bentuk sel batang pada seluruh sampel yang diamati. Warna ungu yang tetap tertahan setelah proses pewarnaan Gram mengindikasikan struktur dinding sel yang tebal, khas bakteri gram positif. Oleh karena itu bakteri gram positif menjadi tahan terhadap kondisi asam, seperti asam lambung yang terdapat pada pencernaan manusia. Menurut Nugraha *et al.*, (2021) bakteri gram positif dapat hidup pada asam lambung dan baik untuk mencerna makanan.

Tidak adanya pembentukan spora pada pengamatan ini semakin menguatkan bahwa bakteri yang terisolasi merupakan kelompok bakteri asam laktat. Konsistensi karakter ini meskipun pada tingkat pengenceran yang lebih tinggi menunjukkan bahwa perubahan kepadatan sel tidak memengaruhi karakter dasar mikroskopis BAL. Dengan demikian, isolat pada Tabel 2 masih memenuhi kriteria utama BAL, yaitu gram positif, berbentuk batang, dan tidak membentuk spora.

Unsur penting dari SCOBY yaitu BAL dan asam laktat yang dihasilkan berperan pada rasa asam dan membuat kombucha menjadi awet. Data ini sesuai dengan karakteristik umum Bakteri Asam Laktat (BAL). Menurut Wahyu Adhinugraha *et al.*, (2022) pada kombucha teh terdapat kelompok bakteri seperti *Acetobacter xylinum*, *Saccharomyces cerevisiae* dan *Lactobacillus* dari kelompok bakteri asam laktat.

Pengenceran sama 10^{-4} konfirmasi kelima sampel Gram positif ungu, batang/rantai variasi bentuk sel (Sianipar *et al.*, 2020). Nanas berubah bulat teratur dari filamentosa, nanas gula stabil timbul—pengaruh substrat buah stabilkan morfologi (Fauzi *et al.*, 2023). Uraikan pewarnaan berhasil karena peptidoglikan tebal pertahankan kristal violet, beda Gram negatif lepas alkohol (Laureys *et al.*, 2020).

Hasil karakterisasi mikroskopis isolat BAL pada hari ke-14 fermentasi menunjukkan bahwa seluruh sampel tetap memiliki sifat Gram positif dengan bentuk sel batang. Kondisi ini menunjukkan bahwa perpanjangan waktu fermentasi tidak menyebabkan perubahan pada karakter dasar sel bakteri. Pewarnaan Gram yang stabil dan tidak terjadinya perubahan warna mengindikasikan bahwa struktur dinding sel BAL tetap terjaga selama fermentasi berlangsung.

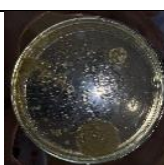
Selain itu, tidak ditemukan indikasi pembentukan spora pada seluruh isolat, yang menegaskan bahwa bakteri yang terisolasi termasuk dalam kelompok BAL non-spora. Hasil ini menunjukkan bahwa baik perbedaan substrat fermentasi maupun lama fermentasi tidak memengaruhi kesesuaian karakter isolat terhadap ciri-ciri bakteri asam laktat. Oleh karena itu, isolat pada Tabel 3 dapat dikonfirmasi sebagai BAL berdasarkan karakter Gram positif, berbentuk batang, dan tidak membentuk spora.

Berdasarkan hasil pengamatan karakteristik mikroskopis dan pewarnaan gram pada Tabel 1, Tabel 2, dan Tabel 3, seluruh isolat bakteri asam laktat (BAL) dari berbagai perlakuan menunjukkan hasil Gram positif dengan bentuk sel batang, baik pada hari ke-7 maupun hari ke-14 fermentasi. Konsistensi pewarnaan ungu pada seluruh tabel menunjukkan bahwa bakteri yang terisolasi memiliki dinding sel peptidoglikan yang tebal, yang merupakan ciri khas BAL pada fermentasi kombucha. Hasil ini sejalan dengan penelitian Fahmi *et al.* (2022) dan Permana *et al.* (2021) yang melaporkan bahwa BAL dominan pada kombucha umumnya bersifat Gram positif berbentuk batang.

Perbedaan antara ketiga tabel lebih terlihat pada waktu fermentasi dan tingkat kestabilan morfologi sel, bukan pada tipe Gram atau bentuk dasar sel. Pada hari ke-7 (Tabel 1 dan Tabel 2), meskipun dilakukan pada tingkat pengenceran yang berbeda (10^{-1} dan 10^{-4}), karakter sel masih menunjukkan keseragaman, namun pada beberapa sampel masih dijumpai variasi morfologi akibat fase adaptasi awal fermentasi. Sementara itu, pada hari ke-14 (Tabel 3) dengan pengenceran 10^{-4} , morfologi sel terlihat lebih stabil dan homogen pada seluruh sampel, yang menunjukkan bahwa BAL telah beradaptasi dengan lingkungan fermentasi yang lebih asam akibat akumulasi asam organik. Menurut Riadi *et al.* (2022) dan Ismail *et al.* (2023), fermentasi yang lebih lama mendukung dominasi dan kestabilan BAL, sehingga karakter mikroskopisnya cenderung seragam meskipun berasal dari substrat yang berbeda.

3.3. Karakteristik Makroskopis hari ke 7

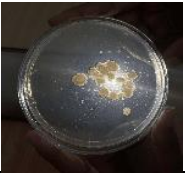
Tabel 4. Hasil Pertumbuhan Kombucha Pada Media MRSA (Makroskopis) Pada Hari ke-7 Pengenceran 10^{-1}

No.	Sampel	Bentuk	Warna	Elevasi	Tepi	Gambar
2.	Sari buah mangga	Bulat dan ireguler	Putih	Timbul	Halus dan tidak teratur	
3.	Sari buah mangga+gula	Bulat	Krem	Datar	Halus	
4.	Sari buah nanas	Bulat dan filamentosa	Krem	Datar	Tidak teratur	
5.	Sari buah nanas+gula	Bulat	Putih	Timbul	Tidak teratur	

Pengenceran 10^{-1} deteksi koloni awal, teh gula ireguler putih-krem halus, mangga bulat-ireguler putih timbul tidak teratur, nanas bulat-filamentosa krem tidak teratur (Fahmi *et al.*, 2022). Bulat mangga gula homogen dari glukosa stabil, elevasi timbul EPS produksi, tepi tidak teratur flavonoid mangga (Nasution *et al.*, 2022).

Pengenceran tinggi 10^{-4} untuk tiga sampel: teh gula bulat krem datar teratur, mangga bulat tidak teratur putih datar-timbul, mangga gula bulat krem datar teratur (Adhinugraha *et al.*, 2022). Tidak teratur mangga dari senyawa bioaktif, teratur teh gula substrat sederhana, uraikan adaptasi pengenceran kurang kompetisi nutrisi (Laureys *et al.*, 2020).

Tabel 5. Hasil Pertumbuhan Kombucha Pada Media MRSA (Makroskopis) Pada hari ke-7 Pengenceran 10^{-4}

No.	Sampel	Bentuk	Warna	Elevasi	Tepi	Gambar
1.	Teh + gula	Bulat	Krem	Datar	Teratur	
2.	Sari buah mangga	Bulat dan tidak teratur	Putih	Datar dan timbul	Tidak teratur	
3.	Sari buah mangga + gula	Bulat	Krem	Datar	Teratur	

Pengenceran 10^{-4} akhir fermentasi: teh gula bulat-ireguler putih tidak teratur, mangga bulat tidak teratur putih-krem timbul, nanas bulat putih teratur (Nasution *et al.*, 2022). Keragaman hari 14 optimal populasi BAL, tepi tidak teratur buah tropis interaksi polifenol, uraikan bulat stabilisasi morfologi pasca-peak fermentasi (Fauzi *et al.*, 2023).

Berdasarkan hasil pengamatan karakteristik makroskopis koloni pada Tabel 4, Tabel 5, dan Tabel 6, terlihat adanya perubahan morfologi koloni bakteri asam laktat (BAL) seiring dengan lama fermentasi dan tingkat pengenceran. Pada hari ke-7 pengenceran 10^{-1} (Tabel 4), koloni menunjukkan variasi morfologi yang cukup tinggi, meliputi bentuk bulat, ireguler hingga filamentosa, dengan warna dominan putih dan krem, elevasi datar hingga timbul, serta tepi koloni yang umumnya tidak teratur. Variasi ini menunjukkan bahwa BAL masih berada pada fase adaptasi dan pertumbuhan aktif, sehingga interaksi antar koloni dan kompetisi nutrisi masih tinggi, khususnya pada media dengan kepadatan koloni yang besar.

Tabel 6. Hasil Pertumbuhan Kombucha Pada Media MRSA (Makroskopis) Pada hari ke-14 Pengenceran 10^{-4}

No.	Sampel	Bentuk	Warna	Elevasi	Tepi	Gambar
1.	Teh + gula	Bulat dan ireguler	Putih	Datar	Tidak teratur	
2.	Sari buah mangga	Bulat dan tidak teratur	Putih dan krem	Timbul	Tidak teratur	
3.	Sari buah mangga + gula	Bulat dan ireguler	Putih	Datar dan timbul	Tidak teratur	

4.	Sari buah nanas	Bulat	Putih	Datar	Teratur	
5.	Sari buah nanas + gula	Bulat dan tidak teratur	Putih	Datar dan timbul	Tidak teratur	

Pada hari ke-7 pengenceran 10^{-4} (Tabel 5), morfologi koloni cenderung lebih sederhana dan teratur dibandingkan pengenceran 10^{-1} . Koloni didominasi oleh bentuk bulat dengan warna krem atau putih, elevasi datar, serta tepi yang lebih teratur. Hal ini disebabkan oleh kepadatan koloni yang lebih rendah sehingga kompetisi nutrisi berkurang dan pertumbuhan koloni menjadi lebih homogen. Sementara itu, pada hari ke-14 pengenceran 10^{-4} (Tabel 6), kembali terlihat peningkatan keragaman morfologi koloni, terutama pada sampel berbasis buah, dengan bentuk bulat hingga ireguler, elevasi datar hingga timbul, serta tepi tidak teratur. Kondisi ini diduga dipengaruhi oleh fermentasi lanjutan dan interaksi BAL dengan senyawa bioaktif buah seperti gula sederhana dan polifenol, yang dapat memengaruhi produksi metabolit dan eksopolisakarida sehingga berdampak pada tampilan koloni (Fahmi *et al.*, 2022; Riadi *et al.*, 2022; Ismail *et al.*, 2023).

Pada tabel 1,2 dan 3 menunjukkan hasil pengamatan karakteristik mikroskopis dan tabel 4,5 dan 6 menunjukkan makroskopis koloni bakteri, isolasi bakteri asam laktat pada fermentasi kombucha, karakteristik mikroskopis hasilnya konsisten sedangkan makroskopis koloni bakteri hasilnya bervariasi. Pengamatan mikroskopis pada hari ke-7 dan ke-14 menunjukkan hasil gram positif dan bentuk sel batang, pada pengenceran 10^{-1} ataupun 10^{-4} . Warna ungu yang tertahan menunjukkan dinding sel peptidoglikan yang tebal menunjukkan ciri khusus bakteri asam laktat. Menurut Fahmi *et al.*, 2022; Permana *et al.*, 2021 tipe gram dan bentuk sel yang konsisten menandakan bahwa lama waktu fermentasi dan tingkat pengenceran tidak berpengaruh terhadap pengamatan karakteristik secara makroskopis, namun berpengaruh pada dinamika pertumbuhan dan penyesuaian bakteri terhadap keadaan fermentasi.

Sebaliknya, pada pengamatan makroskopis koloni, terlihat perbedaan yang lebih jelas antar tabel. Pada hari ke-7 pengenceran 10^{-1} (Tabel 4), koloni menunjukkan keragaman bentuk yang tinggi, mulai dari bulat, ireguler hingga filamentosa, dengan warna putih hingga krem serta tepi koloni yang umumnya tidak teratur. Variasi ini mencerminkan kondisi pertumbuhan awal BAL dengan kepadatan koloni yang tinggi dan kompetisi nutrisi yang masih intens. Pada hari ke-7 pengenceran 10^{-4} (Tabel 5), koloni tampak lebih seragam dengan dominasi bentuk bulat, warna krem atau putih, elevasi datar, dan tepi yang lebih teratur, yang disebabkan oleh berkurangnya kepadatan koloni sehingga pertumbuhan menjadi lebih homogen. Selanjutnya, pada hari ke-14 pengenceran 10^{-4} (Tabel 6), koloni kembali menunjukkan peningkatan variasi morfologi, khususnya pada sampel berbasis buah, dengan bentuk bulat hingga ireguler serta tepi tidak teratur. Hal ini diduga dipengaruhi oleh fermentasi lanjutan dan interaksi BAL dengan senyawa bioaktif buah yang memengaruhi produksi metabolit dan eksopolisakarida. Dengan demikian, hasil ini menunjukkan bahwa stabilitas karakter mikroskopis BAL tidak selalu diikuti oleh keseragaman makroskopis koloni, karena morfologi koloni sangat dipengaruhi oleh lama fermentasi, tingkat pengenceran, dan jenis substrat fermentasi (Riadi *et al.*, 2022; Ismail *et al.*, 2023).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengujian, fermentasi kombucha berbasis teh, sari buah mangga, dan sari buah nanas menunjukkan bahwa bakteri asam laktat (BAL) yang terisolasi memiliki karakteristik mikroskopis yang relatif seragam, yaitu Gram positif dengan bentuk sel batang, Perbedaan lama fermentasi dan tingkat pengenceran tidak memberikan perubahan pada tipe Gram dan bentuk dasar sel bakteri, namun memengaruhi kestabilan morfologi dan kepadatan populasi bakteri. Secara makroskopis, koloni BAL menunjukkan variasi bentuk, warna, elevasi, dan tepi koloni yang dipengaruhi oleh waktu fermentasi, tingkat pengenceran, serta jenis substrat yang digunakan. Hal ini menunjukkan bahwa karakter mikroskopis BAL cenderung stabil, sedangkan karakter makroskopis koloni lebih dipengaruhi oleh kondisi pertumbuhan selama fermentasi.

Untuk saran, penelitian ini dilakukan secara kuantitatif pada pengujian seperti pH, total asam dan kadar gula yang berkaitan dengan perubahan mikrobiologis dan kualitas dari seluruh produk. Supaya dapat mengetahui manfaat fungsional yang didapatkan dari isolat sebaiknya dilanjutkan penelitian seperti pengujian potensi probiotik BAL, uji kekuatan pada pH asam dan aktivitas antibakteri. Sebaiknya lama fermentasi dan konsentrasi gula bervariasi supaya menghasilkan karakteristik kombucha yang lebih optimal dan sesuai dengan standar umum minuman fermentasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Adhinugraha, W., Rahmawati, N., & Putri, A. R. (2022). *Karakteristik mikrobiologi kombucha teh selama fermentasi*. Jurnal Ilmu Pangan dan Hasil Pertanian, 6(2), 101–109.
- Al-Mohammadi, A. R., Al-Khaldi, S. F., & Al-Sahlany, S. T. G. (2021). *Lactic acid bacteria: Characteristics, classification, and applications in fermented foods*. International Journal of Food Science, 2021, 1–10.
- Azizah, N., Al-Baarri, A. N., & Mulyani, S. (2020). *Karakteristik bakteri asam laktat sebagai kandidat probiotik dari produk fermentasi*. Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan, 9(3), 123–130.
- Fahmi, A., Syukur, S., Chaidir, Z., & Melia, S. (2022). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Teh Hijau Fermentasi. Lumbung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian, 3(2), 325–330. <https://doi.org/10.31764/LF.V3I2.9645>
- Fauzi, R., Hidayat, N., & Wijaya, C. H. (2023). *Pengaruh substrat buah terhadap pertumbuhan bakteri asam laktat pada fermentasi kombucha*. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan, 34(1), 45–54.
- Firdaus, S., Anissa, I., Livia, I., & Siti, A. (2020). “Review” Teh Kombucha Sebagai Minuman Fungsional dengan Berbagai Bahan Dasar Teh. Prosding Seminar Nasional Unimus, 3(2013), 715–730.
- Ismail Ismail, Mubarak Fhahri, Rasyak Restu Islamia, Rusli, Fitriana, Harlyanti, Mashar Muthma'innah. (2023). Isolasi dan Uji Aktivitas Bakteri Asam Laktat dari Produk Fermentasi Kombucha Teh Dalam Menghambat Bakteri Escherichia coli, Staphylococcus aureus, dan Salmonella thypi. Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia, 9(2), 335-334.
- Laureys, D., De Roos, J., & De Vuyst, L. (2020). *The microbiology of kombucha fermentation*. Food Microbiology, 82, 103–118. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.03.008>
- Milatina Nada Ila, Khasanah Aprilia Nur, Sari Evida Agustina, Rokhmah Laela Nur. (2025). Chemical And Biological Changes In Kombucha From Black Tea, Pinneapple And Mango. International Conference of Health, Science and Technology (ICOHETECH), 150-157.
- Nasution, R. S. (2022). *Peran fermentasi dalam peningkatan ketersediaan nutrisi dan pertumbuhan bakteri asam laktat*. Jurnal Pangan dan Gizi, 17(2), 89–97

- Nugraha, A. P., Pratiwi, R., & Sari, D. P. (2021). *Ketahanan bakteri asam laktat terhadap kondisi asam lambung dan potensinya sebagai probiotik*. Jurnal Mikrobiologi Indonesia, 16(1), 33–41
- Permana Anita Herawati, Yuliana Eva, Nurhalisa Indah Aulia. (2021). Isolasi dan Karakterisasi Morfologi Mikroorganisme pada Proses Fermentasi Kombucha Berbahan Baku Teh Hijau (*Camellia sinensis*). Warta Akab, 45(2), 60-65.
- Riadi, S., Setiyawati, D., & Situmeang, S. (2022). Isolasi Dan Uji Potensi Bakteri Asam Laktat Asal Kimchii Dan Teh Kombucha Dalam Menghambat Bakteri Patogen. Jurnal Kesmas Prima Indonesia, 2(1), 25–29. <https://doi.org/10.34012/jkpi.v2i1.891>
- Rezaldi, F., Pertiwi, F. D., & Hidayanto, F. (2022). Potensi Buah Nanas Madu Subang (*Ananas comasus*) sebagai Antibakteri Gram Positif Negatif Melalui Metode Bioteknologi Fermentasi Kombucha Berdasarkan Konsentrasi Gula Aren Berbeda. *Biofarmasetikal Tropis (The Tropical Journal of Biopharmaceutical)*, 5(2), 119-126.
- Sianipar, R. R., Suryanto, D., & Munir, E. (2020). *Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat dari minuman fermentasi kombucha*. Jurnal Biologi Tropis, 20(2), 245–252.