KOMBUCHA DENGAN VARIASI KADAR GULA KELAPA SEBAGAI SUMBER KARBON

[Kombucha from Different Coconut Sugar Concentration as a Carbon Source]

Merkuria Karyantina dan Nanik Suhartatik

1)Fak. Teknologi Pertanian Universitas Slamet Riyadi Surakarta Jl. Sumpah Pemuda No. 18 Joglo Kadipiro Surakarta 57136 Telp. 0271-851204 Email: kar yanti@yahoo.co.id

Diterima 19 September 2008 / Disetujui 15 Desember 2008

ABSTRACT

Kombucha has been known as traditional medicine that can cure various diseases, such as hypercholesterol. Kombucha made of fermented sweetened tea using symbiotic growth of khamir and bacteria. Functional properties of kombucha related to metabolite that has been produced during fermentation process, glucuronic acid. The aim of this research was to get a fit carbon source that can produce kombucha which have highest glucuronic acid. The result showed that microbe that dominated at the beginning through the end of fermentation process was a group of khamir, i.e 1.81x10⁷; 1.43x10⁶; 2.40x10⁷; 7.00x10⁴ CFU/mL for 1, 4, 7, and 10% of additive coconut sugar. Kombucha at 4% of coconut sugar yielded 8.86 ppm of glucuronic acid. Meanwhile, kombucha with 10% of coconut sugar yielded 6.22 ppm of glucuronic acid. Total acid has no corelation with glucuronid acid formation during the fermentation process.

Key words: kombucha, glucoronic acid, coconut sugar, anticholesterol

PENDAHULUAN

Kecenderungan meningkatnya penyakit-penyakit degeneratif seperti diabetes melitus, kardiovaskuler, kanker, stroke, darah tinggi serta penyakit lainnya, memerlukan suatu upaya pengembangan makanan/minuman yang menyehatkan. Dengan pangan yang menyehatkan, maka upaya pencegahan penyakit-penyakit tersebut dan peningkatan fungsi kekebalan tubuh dapat dilakukan. Seiring dengan hal tersebut, konsumen dewasa ini mulai memperhatikan pengaturan pola makan yang baik serta mengkonsumsi makanan fungsional.

Telah lama dikenal suatu produk fermentasi teh yang disebut dengan kombucha atau Teh Kombu atau Teh Jamsi (Jamur Siberia) atau Teh Jamur Dipo. Menurut Naland (2004) "khamir" kombu adalah organisme berbentuk lembaran seperti gelatin berwarna putih dengan ketebalan antara 0.3-1.2 cm dan terbungkus selaput liat.

Kombucha merupakan salah satu jenis minuman segar tradisional yang dihasilkan dari proses fermentasi air teh manis selama 7–10 hari dengan bantuan khamir kombu, mengandung alkohol \pm 0.5 – 1 % dan pH \pm 3 – 5.5 (Sucipto, 2000).

Menurut Sklenar (1964), kombucha telah digunakan sebagai agen terapi untuk penyakit saluran pencernaan, rematik, arterosklerosis, arthritis, dibakteria, konstipasi, impotensi, kegemukan, batu ginjal, hiperkolesterol, dan kanker. Senyawa yang mempunyai efek sebagai detoksifier dalam kombucha adalah asam glukuronat. Asam glukuronat merupakan senyawa yang berperan dalam membuang substansi yang tidak dibutuhkan

oleh tubuh (waste matter) seperti kolesterol dan deposit racun dalam liver (Anonim, 2006).

Selain asam glukoronat, juga dihasilkan asam organik lain seperti asam asetat. Asam asetat juga mempunyai kemampuan untuk konjugasi toksin, dan merubahnya menjadi senyawa yang lebih mudah larut untuk dikeluarkan dari jaringan tubuh (Dutton, 1980). Kombucha merupakan penyeimbang metabolik yang efektif, yaitu sebagai probiotik, sebagai adaptogen, dan merupakan agensia detoksifier. Efek probiotik diperoleh dari bakteri yang memproduksi asam laktat seperti *Lactobacillus acidophilus* pada yogurt.

Di dalam kombucha juga terkandung sejumlah vitamin, enzim, dan mineral yang akan memberikan nilai tambah tersendiri. Vitamin B (B1, B2, B3, B6, B12, B15) dalam kombucha akan membantu penyediaan energi, membantu terjadinya reaksi metabolisme lemak dan protein, dan vital bagi fungsi sistem syaraf. Vitamin C yang terkandung dalam kombucha merupakan detoksifier yang potensial, penunjang sistem kekebalan tubuh, dan meningkatkan vitalitas (Anonim, 2006).

Satu hal yang perlu diperhatikan dalam proses fermentasi adalah formulasi media (Sa'id, 1987). Jenis gula (sumber karbon) yang sering digunakan dalam kombucha adalah gula tebu (*Saccharum officinarum*). Mikroba dalam kombucha akan lebih bagus pertumbuhannya dalam media yang menggunakan sumber karbon gula kelapa (Sugianto, 1972). Ini disebabkan gula kelapa selain mengandung gula sukrosa juga terdapat mineral dalam jumlah yang lebih besar daripada dalam gula tebu, yang kadang-kadang tidak ada kandungan mineralnya sama sekali (98 % sukrosa dan 2 % air). Karyantina (2008) dalam penelitiannya tentang aktivitas

antioksidan kombucha pada beberapa jenis gula (gula tebu, gula kelapa, dan gula aren) menyebutkan bahwa aktivitas antioksidan kombucha tidak banyak terpengaruh dengan jumlah gula yang berbeda. Namun aktivitas antioksidan kombucha akan memberikan hasil yang berbeda bila dibuat dari teh celup dan teh racik (Suhartatik & Kurniawati, 2008).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari dominasi mikroba selama fermentasi kombucha pada variasi kadar gula kelapa, mempelajari pola pertumbuhan mikroba selama fermentasi kombucha dan mendapatkan kadar gula kelapa yang sesuai untuk menghasilkan kombucha dengan kadar asam glukoronat tinggi.

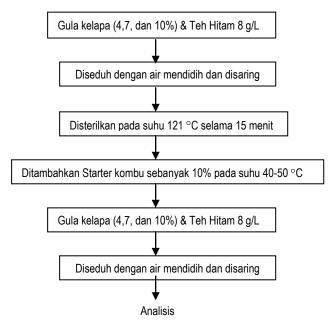
METODOLOGI

Bahan dan alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah teh hitam celup dengan merek Tong TJi (diproduksi oleh Teh Dua Burung, Tegal), gula kelapa merek Gitra, aquadest. Bahan kimia untuk analisis adalah *Plate Count Agar* (PCA), *deMann Rogosa Sharp* (MRS) agar, *Malt Extract Agar* (MEA), Kloramfenikol, Pb asetat, NH₂SO₄, HCl, asam glukoronat, NaOH, alkohol, Na bisulfit, spiritus, CaCO₃, dan kelengkapan penunjang lain.

Alat yang digunakan adalah laminer air flow, oven memmert, autoklaf, timbangan analit, Dowex 50 kolom kromatografi (1x1x25 cm) kondisi sangat asam (H+), HPLC, dan alat gelas lain.

Pembuatan kombucha:



Gambar 1 Diagram alir pembuatan kombucha

Penyiapan starter kombu

Starter kombu diperoleh dari dr. Naland Sp.Onk. dan diperbanyak dengan cara menumbuhkannya dalam

media air teh manis yang baru (8 g/L teh hitam dan 10 % gula tebu). Guna menjaga kestabilan mikroba dalam starter ini, juga dilakukan penyimpanan dalam 10 % skim dan 10 % gliserol pada suhu -40 °C. Untuk pemakaian lebih lanjut, kultur dari freezer di-*thawing* kemudian 2-3 ose diinokulasikan pada media air teh yang baru.

Analisis

Selama proses fermentasi, kombucha dianalisis adalah

- TPC (Total Plate Count) dengan media PCA (Plate Count Agar),
- Total khamir dengan media MEA (*Malt Extract Agar*) + 100 ppm kloramfenikol,
- Total bakteri pembentuk asam dengan media MRS (deMann Rogosa Sharp) agar + 1 % CaCO₃
- Analisis kandungan asam glukoronat dengan metode dari van Eys et al. (1955) termodifikasi. Analisis dilakukan pada kombucha yang telah difermentasi selama 0, 1, 3, 5, 7, dan 10 hari.
- Analisis glukoronat dengan menggunakan HPLC

Preparasi sampel analisis glukoronat

Preparasi sampel meliputi proses penjernihan menggunakan Pb Asetat jenuh, proses pengendapan dan pengikatan asam glukuronat menggunakan NH₂SO₄ 1N dan Pb Asetat jenuh, proses pemisahan fraksi padatan dengan metode sentrifugasi, proses fraksinasi menggunakan kromatografi kolom Dowex 50, dan penentuan kadar dengan HPLC.

Proses penjernihan

Melalui proses penjernihan dengan penambahan 10% Pb Asetat jenuh akan dihasilkan cairan yang bening tidak berwarna dengan aroma harum kombucha. Kotoran-kotoran dalam kombucha akan diendapkan oleh Pb Asetat jenuh dan dipisahkan menggunakan sentrifugasi pada 2000 rpm selama 15 menit. Proses pemisahan kotoran dan tahapan lainnya harus dijalankan pada suhu 4 °C. Asam glukuronat kemudian diikat dan diendapkan dengan cara menambahkan NH₂SO₄ 1 N. Dalam tahapan ini, turbiditas cairan akan meningkat pada pH 6.4-6.6 dan pada pH 6.6-6.8 asam glukuronat berada pada kondisi yang stabil. Penambahan NH₂SO₄ 1 N tidak boleh melebihi pH 6.8 karena di atas pH ini asam glukuronat telah mengalami kerusakan.

Pemisahan

Penentuan asam glukuronat secara kuantitatif dilakukan dengan cara mengaplikasikan filtrat hasil penjernihan dalam kolom 20 x 1 cm berisi Dowex 50 (200-400 mesh) kondisi sangat asam (ion H*). Kolom terlebih dahulu dicuci dengan 100 mL aquades, kemudian sampel dielusi dengan 375 mL HCl 0.1 N dan diikuti dengan 40 mL HCl 1 N. Eluen yang mengandung asam glukuronat keluar mulai mililiter ke 15 s/d 40. Eluen ini ditampung kemudian dianalisis menggunakan HPLC.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis mikrobia

Nilai TPC kombucha dengan variasi kadar gula kelapa 1, 4, 7, dan 10 % menunjukkan hasil yang bervariasi setelah difermentasi selama 3 sampai 7 hari. Kombucha dengan kadar gula kelapa 1, 4, dan 7 % (berturut-turut 3.85x10⁷; 6.52x10⁷; dan 5.00x10⁷ CFU/mL), jumlah mikroba mencapai log 7 sedangkan kombucha dengan kadar gula kelapa 10 % hanya mencapai log 6 (5.30x10⁶ CFU/mL). Pada kadar gula kelapa 4 dan 7 % menunjukkan pola pertumbuhan total mikroba yang sama.

Fermentasi (hari ke 0) kombucha, jumlah mikroba sudah menunjukkan total jumlah mikroba yang berbeda. Hal ini disebabkan kondisi awal saat penambahan starter kombucha serta kandungan sumber karbon yang berbeda menyebabkan perbedaan jumlah awal mikroba. Secara umum pola pertumbuhan total mikroba selama fermentasi hampir sama, jumlah mikroba yang terbanyak pada hari ke-5 fermentasi dan setelah hari ke-5 total mikroba mengalami penurunan. Hal ini disebabkan sumber karbon

yang tersedia sudah mulai habis kerena dikonsumsi mikroba untuk pertumbuhannya

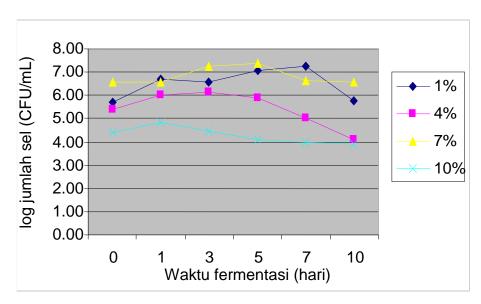
Pada akhir fermentasi (hari ke 10) menunjukkan bahwa pada konsentrasi gula kelapa 10 % jumlah total mikroba tampak paling sedikit dibandingkan dengan perlakuan yang lain, sedang konsentrasi gula kelapa 1 % menunjukkan jumlah total mikroba yang paling banyak di antara perlakuan yang lain, data dapat dilihat pada Tabel 1. Hal ini disebabkan laju kecepatan konsumsi gula pada konsentrasi gula kelapa 10 % lebih cepat dibandingkan dengan perlakuan yang lain, kandungan mineral pada gula kelapa juga dapat merubah arah metabolisme mikroba.

Pertumbuhan khamir selama fermentasi kombucha pada kadar gula kelapa 10 % tidak menunjukkan adanya perubahan yang signifikan. Kenaikan jumlah sel khamir pada kombucha dengan kadar gula kelapa 10 % terjadi setelah 1 hari fermentasi dan setelah itu terjadi penurunan (gambar 2). Jumlah sel khamir yang maksimal dicapai pada kombucha dengan kadar gula kelapa 7 %. Dalam penghitungan jumlah sel khamir/mold tidak dijumpai adanya mold atau jamur sehingga untuk selanjutnya hanya disebut sebagai sel khamir.

Tabel 1 Kadar gula reduksi pada fermentasi kombucha (mg/L)

Kadar Gula Kelapa	Lama Fermentasi (hari)				
	1	3	5	7	
1	904 e	799 d	689 °	532 a	
4	3.128 k	1.683 ^g	1.278 f	610 b	
7	6.029 n	4.518 m	1.891 ⁱ	1.738 h	
10	8.968 p	7.129°	4.147	2.378 j	

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata dengan uji DMRT pada taraf signifikan 5 %.



Gambar 2 Perubahan jumlah khamir selama fermentasi kombucha pada variasi kadar gula kelapa (1 %, 4 %, 7 %, dan 10 %).

Tabel 2 Jumlah	Cal Khar	nir nada	Kambuaha	coloma E	- ormontaci	(CELI/mL)
l abel z Julillali	Sei Kilai	IIII Daua	Nonibucha	Seiailia r	-ennemasi i	

Fermentasi	Total Khamir				
Hari ke-	1%	4%	7%	10%	
0	4.78x10 ⁵	2.40x10 ⁵	3.53x10 ⁶	2.70x10 ⁴	
1	4.83x10 ⁶	1.11x10 ⁶	3.84x10 ⁶	7.00x10 ⁴	
3	3.98x10 ⁶	1.43x10 ⁶	1.76x10 ⁷	2.5x10 ⁴	
5	1.18x10 ⁷	7.80x10 ⁵	2.40x10 ⁷	1.25x10 ⁴	
7	1.81x10 ⁷	1.10x10 ⁵	4.30x10 ⁶	8.78x10 ³	
10	5.80x10 ⁵	1.30x10 ⁴	3.55x10 ⁶	8.50x10 ³	

Perlu diketahui bahwa mikroba yang berperan dalam fermentasi kombucha adalah Acetobacter xylinum, A. xylinoides, A. gluconicum, A. ketogenum, Pichia fermentans, dan Torula sp., serta khamir dari spesies Saccharomyces ludwigii, S. apiculatus, dan Schizosaccharomyces pombe, Zhigosaccharomyces, S. Cerevisiae, Candida sp., dan Klockera sp. (Stainkrauss, 1983; Indrati, 1990; Sugianto, 1972; Kasper, 2007).

Khamir dalam kombucha hidup secara simbiosis dengan bakteri. Khamir didominasi oleh S. Ludwigii, Schizosaccharomyces pombe. S.apiculatus. dan Zhigosaccharomyces,dan S. Cerevisiae (Indrati, 1990 dan Kasper, 2007). Simbiosis antara bakteri dan khamir ini bekerja dalam kondisi aerob. Secara sederhana, khamir akan memecah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa. Khamir akan memproduksi alkohol dari glukosa sementara bakteri akan merubahnya menjadi asam asetat. Baik bakteri maupun khamir akan berkompetisi untuk memanfaatkan glukosa dan merubahnya menjadi asam glukonat. Kombucha vang difermentasi pada suhu 26 °C selama 9 hari, hanya sedikit alkohol yang tertinggal, yaitu sebesar ½ dari 1 %. Gula (fruktosa) yang tertinggal setelah fermentasi selama 9 hari sekitar 5 % (4.8 g/L) dengan pH akhir 2.5 dan kadar gula awal 100 g/L (Kasper, 2007).

Khamir merupakan jenis mikroba yang paling efektif sebagai mikroba penghasil etanol. Walaupun ternyata diketemukan pula beberapa bakteri dan jamur yang juga mempunyai kemampuan menghasilkan etanol, namun demikian pada saat ini 95 % dari fermentasi etanol melibatkan spesies Saccharomyces sp. (Rahayu dan Kuswanto, 1987). Namun menurut Kasper (2007), kandungan alkohol dalam kombucha maksimal yang dapat dicapai adalah 1 %, sehingga dapat disimpulkan bahwa khamir yang mendominasi fermentasi kombucha adalah khamir yang memproduksi asam asetat sebagai end product.

Penghitungan total bakteri pembentuk asam dilakukan dengan cara pour plate dengan tujuan agar adanya bakteri asam laktat yang bersifat mikroaerofil dapat terdeteksi. Metode penghitungan spread plate akan menguntungkan bagi pertumbuhan bakteri asam asetat yang bersifat aerob akan tetapi tidak bagi pertumbuhan bakteri asam laktat. Dengan pour plate, diharapkan baik bakteri asam laktat maupun bakteri asam asetat dapat tumbuh. Selain bakteri asam asetat dan bakteri asam laktat, asam organik juga dihasilkan oleh khamir. Bakteri asam laktat yang dapat ditemukan dalam fermentasi kombucha adalah genera Lactobacillus sp. dan Pediococcus sp. Bakteri ini dapat

menghasilkan asam laktat dalam jumlah yang sangat sedikit (< 1 %) (Kasper, 2007).

Pertumbuhan simbiosis antara khamir dan bakteri selama fermentasi kombucha dapat menghasilkan metabolit yang dapat menguntungkan bagi kesehatan. Terdapat tiga jenis asam organik yang dianulir sebagai senyawa penyembuh dalam kombucha, yaitu asam asetat, asam glukonat, dan asam glukuronat (2-keto-asam glukonat). Khamir dan bakteri akan memecah gula menjadi glukosa dan fruktosa. Khamir akan memproduksi alkohol (<1 %) dari glukosa sedangkan bakteri akan memecah glukosa menjadi asam asetat. Baik khamir maupun bakteri akan berkompetisi untuk memecah glukosa menjadi asam glukonat dan metabolit lain (Kasper, 2007).

Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Suhartatik *et al.* (2007) menunjukkan bahwa kombucha dengan sumber karbon gula kelapa memberikan jumlah total bakteri pembentuk asam yang lebih besar daripada gula aren dan cenderung sama dengan sumber karbon gula tebu. Sumber karbon gula kelapa memiliki pH awal fermentasi kombucha cenderung lebih tinggi daripada pH awal fermentasi kombucha dengan sumber karbon gula tebu. Hal ini disebabkan karena protein mempunyai kapasitas sebagai *buffering agent*, sehingga terjadinya penurunan asam oleh penambahan starter tidak serendah penurunan pada kombucha dengan sumber karbon gula tebu.

Pertumbuhan bakteri pembentuk asam selama fermentasi kombucha (Gambar 3) pada variasi kadar gula kelapa tidak menunjukkan trend yang sama dengan pola pertumbuhan khamir. Jumlah bakteri pembentuk asam menunjukkan pola pertumbuhan yang maksimum pada kadar gula kelapa 1 %, kemudian diikuti oleh kombucha dengan kadar gula kelapa 7 %.

Kombucha dengan kandungan asam glukuronat tinggi

Untuk menghasilkan kombucha yang mempunyai efek sebagai minuman anti hiperkolesterolemia perlu dilakukan optimalisasi proses. Senyawa yang dinilai berperan penting sebagai senyawa penurun kolesterol adalah asam glukuronat. Salah satu senyawa detoksifier yang dihasilkan oleh hati (*liver*) dan berguna untuk menetralkan racun-racun dalam tubuh (salah satunya adalah kolesterol) dan mengubahnya menjadi senyawa yang mudah larut dalam air. Sehingga dalam optimalisasi proses ini ditujukan untuk mendapatkan kombucha dengan kandungan asam glukuronat yang tinggi.

Tabel 3 Hasil Analisis Asam Glukuronat dengan Metode van Eys et al. 1955

No	Konsentrasi (%)	suhu	Kandungan asam glukuronat	рН
1	1		1.83 ppm ^a	3.2c
2	4	30 °C	8.86 ppm ^c	3.1 ^b
3	7		8.72 ppm ^c	3.1 ^b
4	10		622 ppm ^b	3.0a

Ket.: Angka yang diikuti huruf yang sama dalam satu kolom, menunjukkan tidak berbeda nyata untuk setiap perlakuan.

Secara fisiologis, dalam hati (liver), asam glukuronat akan mengikat toksin dengan dikatalisis oleh enzim glukuronat transferase dan membuang melalui sistem ekskresi, sehingga kandungan asam ini dapat digunakan sebagai spekulasi efek kuratif dalam kombucha (Blanc, 1995). Menurut Whitaker & Stanbury (1984), laju pertumbuhan mikroba tidak selalu sejalan dengan laju pembentukan produk. Meskipun dari pemantauan jumlah sel mikroba tidak menunjukkan trend yang sama pada perlakuan kadar gula kelapa (1, 4, 7, dan 10 %) namun hasil analisis kandungan asam glukuronat menunjukkan hasil berbeda. Kombucha dengan kadar gula kelapa 4 dan 7 % menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata sedangkan kadar gula 10% akan memberikan rendeman asam glukuronat yang lebih kecil daripada kombucha dengan kadar gula kelapa 4 dan 7 % (tabel 3).

KESIMPULAN DAN SARAN

Mikroba yang mendominasi dalam fermentasi kombucha adalah golongan khamir sejumlah 1.81x10⁷ CFU/ml; 1.43x10⁶ CFU/mL; 2.40x10⁷ CFU/mL; 7.00x10⁴ CFU/mL masing-masing pada kadar gula kelapa 1, 4. 7 dan 10%. Jumlah bakteri pembentuk asam menunjukkan pola pertumbuhan yang maksimum pada kadar gula kelapa 1 %.

Kombucha dengan kadar gula kelapa 4 dan 7% akan memberikan asam glukuronat yang tidak berbeda nyata dan lebih besar daripada kadar gula 1 dan 10 %, yaitu sebesar 8.86 ppm (4 % gula kelapa) dan 8.72 ppm (7 % gula kelapa). Indeks keasaman produk fermentasi tidak selalu sejalan dengan jumlah rendemen asam glukuronat yang dihasilkan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Tidak lupa pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada DP2M Dikti dengan dana Hibahnya serta kepada Prof. Endang S Rahayu dan Prof. Y. Marsono yang telah bersedia membimbing penulis dalam melaksanakan kegiatan penelitian hingga selesai.

DAFTAR PUSTAKA

[Anonim]. 2006. Researchs on Kombucha's Benefits. www.anahatabalance.com

- Blanc P. 1995. Characterization of Tea Fungus Metabolits. Biotechnology Letter 18:3
- Cahyadi W. 2004. Bagaimana Cara Membuat Kombucha. Republika Online-http://www-republik.co.id.
- Dutton G. 1980. Glucuronidation of Drug & Other Compounds. CRC Press.
- Indrati R. 1990. Studies on Microorganisms and Their Enzyme of Indonesian Tea Cider [thesis.Japan:]. Faculty of Applied Biological Science, University of Hiroshima.
- Karyantina M. 2008. Aktivitas antioksidan kombucha dengan variasi jenis gula. Eksplorasi, *Jurnal Hasil Penelitian*, ISSN: 0853-7054. Vol XX; No.1; Surakarta.
- Kasper E. 2007. Kombucha Mushroon Tea, Secondary Fermentation & Bottling Tips. www.happyherbalist.com
- Rahayu ES. dan Kuswanto KR. 1987. *Teknologi Pengolahan Minuman Beralkohol*. Yogjakarta: PAU Pangan dan Gizi, UGM.
- Sa'id EG. 1987. Bioindustri. Bogor: IPB.
- Sklenar R. 1964. Erfahrungssheilkundee. Zeitscriff fur die tagliche Praxis, XIII:3.
- Strainkrauss KH. 1983. Hand Book of Indigenous Fermenteds Foods. Microbiology Series, Volume 1, Page:421-425, New York: Marcell Dekker Inc.
- Sucipto. 2000. 25 Juni 2000. Jamur Teh Atasi Kencing Manis. Suara Merdeka: Hal. VIII.
- Sugianto S. 1972. *Tea Cider dan Cara Pembuatannya*. Bogor: Menara Perkebunan 40: BPB.
- Suhartatik N, dan Karyantina M. 2007. Kombucha sebagai minuman anti hiperkolesterolemia [Hasil Penelitian Program Hibah Pekerti]. Fakultas Teknologi Pertanian Unisri Tahun I.
- Suhartatik N, dan Kurniawati L. 2008. Aktivitas antioksidan kombucha dari teh celup dan teh racik selama fermentasi. Eksplorasi, *Jurnal Hasil Penelitian*, ISSN: 0853-7054. Vol XX; No.1. Surakarta.
- Suprapti L. 2003. *Teh Jamsi dan Manisan Nata Berkhasiat Obat*. Jogjakarta: Kanisius. 72 hal.
- van EYSJ, Touster O, dan Darby WJ. 1955. The Purification of A Glucoronide of Nicotinic Acid From Rat Urine.

 Tennessee: Department of Biochemistry Vander biltUniversity School of Medicine, Nashville.
- Whitaker A, dan Stanbury PF. 1984. *Principles of Fermentation Technology*. Inggris: Pergamon Press.