

ARTIKEL

## 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*

[*Potential of Kintamani Siam Orange Peel (Citrus nobilis) as A Probiotic Drink: Analysis of Total Lactic Acid Bacteria, Total Yeast, and Antimicroorganism Activity Against Foodborne Disease Causing Bacteria*]

Nadya Treesna Wulansari<sup>1\*</sup>, A.A Istri Mas Padmiswari<sup>2</sup>, Putu Rima Sintyadewi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Sarjana Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi, Institut Teknologi dan Kesehatan Bali, Jalan Tukad Balian No.180 Renon, Denpasar, Bali, Indonesia

<sup>2</sup>Program Studi Sarjana Terapan Akupuntur dan Pengobatan Herbal, Fakultas Kesehatan, Institut Teknologi dan Kesehatan Bali, Jalan Tukad Balian No.180 Renon, Denpasar, Bali, Indonesia

### ABSTRAK

Pemanfaatan BAL banyak dikembangkan dalam produksi pangan fungsional seperti minuman probiotik. Jeruk siam (*Citrus nobilis*) adalah salah satu varietas jeruk yang umum dibudidayakan, memiliki rasa dan manfaat yang baik untuk tubuh. Kulit jeruk siam merupakan limbah yang memiliki peluang untuk diolah sebagai bahan baku industri pertanian, karena mengandung senyawa metabolit sekunder yang menjadikan kulit jeruk siam sebagai salah satu bahan potensial untuk minuman probiotik. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis total BAL, yeast, dan aktivitas antimikroorganisme terhadap bakteri penyebab *foodborne disease* seperti *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella* sp. Desain eksperimen penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan variasi waktu fermentasi 0, 3, 6, 9, 12, 15, dan 18 hari, serta 4 kali ulangan. Analisis penelitian menggunakan analisis sidik ragam (ANOVA). Hasil menunjukkan bahwa total BAL dan yeast tertinggi masing-masing sebesar  $1,13 \times 10^6$  CFU/ml dan  $1,09 \times 10^6$  CFU/ml. Daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella* sp. tertinggi masing-masing sebesar  $12,49 \pm 0,79$  mm dan  $11,99 \pm 0,79$  mm.

**Kata Kunci :** Antibakteri, Bakteri Asam Laktat, Kulit Jeruk Siam Kintamani, *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, Yeast

## ABSTRACT

The utilization of LAB is widely developed in the production of functional foods such as probiotic drinks. Siam orange (*Citrus nobilis*) is one of the commonly cultivated citrus varieties, has a good taste and benefits for the body. Siam orange peel is a waste that has the opportunity to be processed as raw material for the agricultural industry, because it contains secondary metabolite compounds that make siamese orange peel as one of the potential ingredients for probiotic drinks. This research aims to analyze the total LAB, yeast, and antimicroorganism activity against bacteria that cause foodborne diseases such as *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* sp. The experimental design of this research is a Completely Randomized Design (CRD) with variations in fermentation time of 0, 3, 6, 9, 12, 15, and 18 days, and 4 replicates. Research analysis using analysis of variance (ANOVA). The results showed that the highest total LAB and yeast were  $1.13 \times 10^6$  CFU/ml and  $1.09 \times 10^6$  CFU/ml, respectively. Inhibition against *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* sp. bacteria was highest at  $12.49 \pm 0.79$  mm and  $11.99 \pm 0.79$  mm, respectively.

**Keywords:** Antimicroorganism, Kintamani Siam Orange Peel, Lactic Acid Bacteria, *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, Yeast

## PENDAHULUAN

Penyakit bawaan makanan (*foodborne disease*) terjadi akibat konsumsi makanan atau minuman yang terkontaminasi oleh polutan, baik berupa mikroorganisme maupun zat kimia. Kontaminasi ini dapat bersumber dari dalam makanan itu sendiri (endogen) atau terjadi selama proses pengolahan dan distribusi, dalam jumlah yang cukup untuk berdampak pada kesehatan. Infeksi makanan merupakan salah satu jenis *foodborne disease* yang disebabkan oleh masuknya mikroorganisme berbahaya hidup melalui makanan, sehingga dapat menimbulkan gangguan kesehatan. Salah satu cara untuk menghambat pertumbuhan mikroba patogen penyebab *foodborne disease* adalah dengan menggunakan bakteri asam laktat (BAL). Saat ini, minat terhadap BAL tidak hanya karena perannya dalam fermentasi dan pengawetan makanan, tetapi juga karena manfaatnya bagi kesehatan manusia.

Pemanfaatan BAL banyak dikembangkan dalam produksi pangan fungsional seperti minuman probiotik. Probiotik biasanya dikonsumsi melalui produk susu yang telah melalui proses fermentasi seperti yogurt, kumis, kefir, dan susu asam. Namun tingkat konsumsi susu yang tinggi diduga dapat meningkatkan jumlah lipoprotein densitas rendah yang memadai. Lipoprotein densitas rendah merupakan kolesterol jahat yang ada dalam darah yang dapat menjadi faktor resiko yang signifikan untuk jantung atau kardiovaskular dan obesitas (Syiemlieh & Morya, 2022). Susu dan produk susu lainnya memberikan manfaat kesehatan dari probiotik, namun kadar kolesterol, intoleransi laktosa, dan alergi protein susu merupakan faktor pembatas dalam produk probiotik susu (Rasika *et al.*, 2021).

Berbeda dengan produk susu, buah-buahan dan sayuran tidak mengandung alergen, laktosa, atau kolesterol yang dapat berdampak buruk bagi kelompok tertentu (Aspri *et al.*, 2020). Selain itu, buah dan sayur dikenal sehat, menyegarkan, memiliki rasa yang enak dan berpotensi cocok untuk probiotik. Mengingat buah-buahan mudah rusak, pengolahan segera diperlukan untuk mengurangi kerugian pasca panen, dan pengembangan produk probiotik berbasis buah dapat menjadi solusi untuk meningkatkan ketersediaan serta nilai pasarnya. Buah-buahan dan sayuran secara umum dikenal kaya akan nutrisi, antioksidan, vitamin, serat, mineral, serta molekul bioaktif. Kandungan ini menjadikannya elemen penting dalam pola makan seimbang, dengan berbagai manfaat kesehatan yang telah terbukti.

Jus nabati yang difermentasi dengan probiotik kini menjadi alternatif sehat bagi produk probiotik berbasis susu untuk makanan fungsional dan *nutraceutical* (Mojikon *et al.*, 2022). Selain memberikan efek menyegarkan, buah-buahan mengandung beragam nutrisi yang bermanfaat bagi kesehatan, sehingga banyak dimanfaatkan sebagai bahan utama dalam pembuatan minuman probiotik non-susu. Minuman berbahan buah dan sayuran adalah sumber vitamin, antioksidan, mineral, dan senyawa bioaktif yang sangat baik, sekaligus menjadi alternatif menarik untuk menggantikan produk berbasis susu. Minuman berbahan dasar buah merupakan sarana yang sangat baik untuk memberikan probiotik ke dalam tubuh karena sering diminum dalam jumlah besar dan

mengandung sejumlah nutrisi yang mendorong pertumbuhan mikroba yang bermanfaat ini (Manoj *et al.*, 2023).

Proses fermentasi dalam pembuatan minuman probiotik dapat memengaruhi kandungan nutrisi dalam minuman tersebut. Selain memberikan manfaat kesehatan, fermentasi juga berperan dalam memperpanjang umur simpan produk. Produk probiotik dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan daya tahan tubuh. Salah satu jenis probiotik yang telah banyak dikembangkan adalah kombucha, yang memiliki sifat sebagai imunomodulator, antioksidan, dan antibakteri. Kombucha dibuat dari teh melalui proses fermentasi selama 7–14 hari dengan bantuan SCOPY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*), yaitu simbiosis antara bakteri dan yeast. Gula yang dihasilkan dari simbiosis ini menjadi sumber nutrisi bagi ragi selama fermentasi berlangsung.

Buah yang berpotensi dimanfaatkan sebagai minuman probiotik adalah jeruk. Salah satu varietas jeruk siam adalah jeruk siam Kintamani yang berasal dari Kintamani, Bangli, Bali. Ciri khasnya adalah kulit buah yang tipis dengan warna kuning kehijauan saat matang, daging buah berwarna oranye, dan rasa yang manis serta segar. Selain dikonsumsi sebagai buah segar, Jeruk Siam Kintamani sering digunakan sebagai bahan baku industri pertanian, seperti permen jelly, teh, dan lainnya. Namun, bagian lain dari buah jeruk siam, seperti kulit, biji, dan ampas, masih tergolong limbah yang belum dimanfaatkan secara optimal. Penelitian oleh Kristiandi and Febrina (2020) menunjukkan bahwa kulit jeruk siam dapat digunakan sebagai pestisida alami. Kulit jeruk ini mengandung senyawa fitokimia, seperti flavonoid, fenol, steroid, dan triterpenoid (Ensamory, 2017). Kandungan ini menjadikan kulit jeruk siam berpotensi untuk diolah menjadi minuman probiotik.

Penelitian sebelumnya (Wulansari *et al.*, 2023) menunjukkan bahwa lama fermentasi memengaruhi karakteristik minuman probiotik dari kulit jeruk Siam Kintamani, termasuk total asam, pH, kadar vitamin C, dan total flavonoid. Semakin lama fermentasi berlangsung, total asam meningkat, sementara pH menurun. Guna melengkapi karakteristik kimiawi dari penelitian sebelumnya, lebih lanjut akan dilakukan pengujian secara mikrobiologisnya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis total BAL, total yeast dan aktivitas antibakteri terhadap bakteri penyebab *foodborne disease* seperti *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella* sp. dari kulit jeruk siam Kintamani yang memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai minuman probiotik.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan Penelitian

Bahan dalam penelitian ini antara lain kulit jeruk siam Kintamani, strain bakteri *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp., aquades, *Nutrient Agar*, media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA), media de Man Rogosa, Sharpe Agar (MRSA), gula pasir, SCOPY (*Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast*), *Nutrient Broth*, McFarland, *Cloramphenicol*, alkohol,  $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , HCl, serbuk magnesium (Mg), NaOH, asam asetat anhidrat, pereaksi Mayer. Penelitian ini adalah penelitian eksperimen yang mengaplikasikan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan yang diberikan dalam penelitian ini meliputi variasi waktu fermentasi, yaitu 0 hari, 3 hari, 6 hari, 9 hari, 12 hari, 15 hari, dan 18 hari.

### Proses Pembuatan Minuman Probiotik dari Kulit Jeruk Siam Kintamani

Pembuatan minuman probiotik kulit buah jeruk siam dilakukan dengan menambahkan 10% (b/v) gula pasir dan 2,5% (b/v) sari kulit buah jeruk siam pada 1000 ml air dan dipasteurisasi pada suhu 80°C selama 15 menit. Setelah itu, campuran didinginkan hingga suhu 37°C, dan starter SCOPY dimasukkan ke dalam minuman kulit jeruk siam. Campuran kemudian ditutup rapat dengan kain serbet steril, diikat, dan dibiarkan pada suhu ruangan. Selama fermentasi, lapisan selulosa akan terbentuk pada minuman sari kulit jeruk siam, yang kemudian dipisahkan dari sari buahnya. Fermentasi dilakukan selama 18 hari, dengan panen setiap 3 hari untuk mengambil SCOPY dan melakukan penyaringan. Setelah itu, dilakukan skrining senyawa metabolit sekunder, uji total BAL, total Yeast, antibakteri pada minuman probiotik tersebut dan MIC minuman probiotik.

## **Skrining Fitokimia**

Pengujian fitokimia meliputi identifikasi senyawa alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, tanin dan steroid adalah sebagai berikut:

### *Uji Fenolik*

Sebanyak 1 mL sampel minuman probiotik dipipet ke dalam tabung reaksi, diikuti dengan penambahan 2 tetes larutan  $\text{FeCl}_3$  5%. Terbentuknya warna hijau atau biru mengindikasikan adanya senyawa fenolik dalam sampel (Harborne, 1987; Manongko *et al.*, 2020).

### *Uji Tanin*

Sebanyak 1 mL sampel minuman probiotik dipindahkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan larutan  $\text{FeCl}_3$  1% sebanyak 2-3 tetes. Kehadiran tanin ditunjukkan oleh perubahan warna larutan menjadi hijau kehitaman (Meigaria *et al.*, 2016).

### *Uji Flavonoid*

Sampel minuman probiotik sebanyak 7 ml dibagi secara merata ke dalam tiga tabung reaksi. Masing-masing tabung diberi perlakuan yaitu tabung pertama ditambahkan 5 mL larutan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat, tabung kedua ditambahkan 5 mL larutan  $\text{HCl}$  pekat serta serbuk magnesium (Mg), dan tabung ketiga ditambahkan 5 mL larutan  $\text{NaOH}$ . Indikasi keberadaan senyawa flavonoid ditunjukkan dengan munculnya perubahan warna menjadi merah, kuning, atau jingga (Pamungkas *et al.*, 2016).

### *Uji Saponin*

Sampel minuman probiotik dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan air panas, didinginkan, dan dikocok selama 10 detik. Setelah proses pengamatan awal, larutan ditetes 1 tetes  $\text{HCl}$  2N dan diamati kembali. Pembentukan busa yang stabil selama 10 menit mengindikasikan hasil positif (Meigaria *et al.*, 2016).

### *Uji Steroid*

Sebanyak 1 mL sampel minuman probiotik dipindahkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan asam asetat anhidrat sebanyak 2-3 tetes, lalu diaduk perlahan hingga mengering. Setelah itu, 1–2 tetes asam sulfat pekat ditambahkan lalu dilakukan pengamatan perubahan warna. Indikasi keberadaan senyawa steroid ditunjukkan oleh perubahan warna dari hijau menjadi biru (Meigaria *et al.*, 2016).

### *Uji Alkaloid*

Sampel minuman probiotik dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan larutan  $\text{HCl}$  2N dan air suling. Campuran tersebut dipanaskan menggunakan penangas air selama 2 menit, didinginkan, dan disaring. Sebanyak tiga tetes filtrat dicampurkan dengan dua tetes pereaksi Mayer. Pembentukan endapan berwarna kuning menunjukkan adanya senyawa alkaloid (Meigaria *et al.*, 2016).

## **Uji Total BAL dan Yeast**

*Total Plate Count* (TPC) adalah metode yang digunakan untuk uji total BAL (Yuliana *et al.*, 2023). Sampel minuman probiotik diencerkan sampai dengan  $10^{-10}$  dalam larutan fisiologis, kemudian 1 mL sampel di tanam pada media SDA dengan penambahan *Cloramphenicol* (untuk total yeast) dan pada media MRSA (untuk total BAL). Penanaman sampel dilakukan dengan menggunakan metode penyebaran pada media agar agar dapat tumbuh secara merata. Selanjutnya, sampel dibiakkan pada kondisi inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, dengan kondisi aerob untuk total bakteri dan anaerob untuk total BAL. Kelompok mikroorganisme yang berkembang dihitung menggunakan alat untuk menghitung koloni mikroorganisme. Jumlah kelompok

mikroorganisme yang dihitung antara yaitu 30 hingga 300 koloni per cawan petri dimana yang memenuhi ketentuan standar *International Commission on Microbiology of Food* (ICMF).

### **Uji Antibakteri**

Penghambatan pertumbuhan bakteri (antibakteri) dilakukan dengan metode difusi agar (Kirby Bauer) menggunakan bakteri *S. aureus* dan *Salmonella* sp. Metode ini diawali dengan meremajakan isolat bakteri uji pada 10 ml garam fisiologis dan membandingkan dengan larutan McFarland (Aviany & Pujiyanto, 2020). Selanjutnya, media NA dituangkan pada cawan petri hingga memadat dan swab bakteri uji menggunakan cotton swab steril. Kertas cakram berdiameter 6 mm yang telah direndam dengan minuman probiotik diletakkan di atas media agar. Setelah itu, diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C. Setelah 24 jam, diamati zona hambat yang berupa zona bening yang terbentuk disekeliling kertas cakram.

### **Penetapan Minimum Inhibitory Concentration (MIC)**

Pengujian *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dalam penelitian ini dilakukan menggunakan minuman probiotik berbahan kulit jeruk siam yang berasal dari fermentasi dengan zona hambat tertinggi, menggunakan metode dilusi cair. Selanjutnya, 2 ml minuman probiotik kulit jeruk siam ditambahkan ke dalam tiap tabung reaksi dengan konsentrasi bertingkat, yaitu 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, dan 50%. Setelah itu, sebanyak 1 ml suspensi bakteri uji yang telah ditumbuhkan pada *Nutrient broth*, dimasukkan ke dalam masing-masing tabung yang berisi larutan probiotik dengan konsentrasi berbeda tersebut. Kontrol negatif menggunakan aquadest dan kontrol positif adalah *Cloramphenicol*. Tabung-tabung tersebut kemudian diinkubasi selama 24 jam. Nilai MIC ditentukan dengan cara mengamati kejernihan larutan, di mana konsentrasi terendah yang menghasilkan larutan paling jernih menunjukkan konsentrasi minimum yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri (El Rahma *et al.*, 2023).

### **Analisis Data**

Analisis varians (ANOVA) adalah analisis yang digunakan pada riset ini (Pallant, 2010). Analisis dilanjutkan dengan uji jarak berganda *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) apabila ditemukan perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ).

## **HASIL**

### **Skrining Fitokimia Minuman Probiotik Kulit Jeruk Siam Kintamani**

Skrining fitokimia minuman probiotik kulit jeruk siam Kintamani ditunjukkan pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Kandungan Metabolit Sekunder Minuman Probiotik Kulit Jeruk Siam Kintamani (*Secondary Metabolite Content of Probiotic Drink from Kintamani Siam Orange Peel*).

<b>Metabolit Sekunder</b> <i>Secondary Metabolites</i>	<b>Hasil</b> <i>Result</i>
Fenolik	+
Tanin	+
Flavonoid	+
Saponin	+
Steroid	+
Alkaloid	+

Keterangan : (+) : Minuman probiotik mengandung metabolit sekunder

Note : (+) : *Probiotic drink contains secondary metabolites*

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa minuman probiotik kulit jeruk siam mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder. Berdasarkan pengujian kualitatif, terdeteksi adanya senyawa fenolik, tanin, flavonoid, saponin, steroid, dan alkaloid. Indikasi keberadaan golongan metabolit sekunder tersebut ditunjukkan oleh hasil positif (+) pada setiap pengujian.

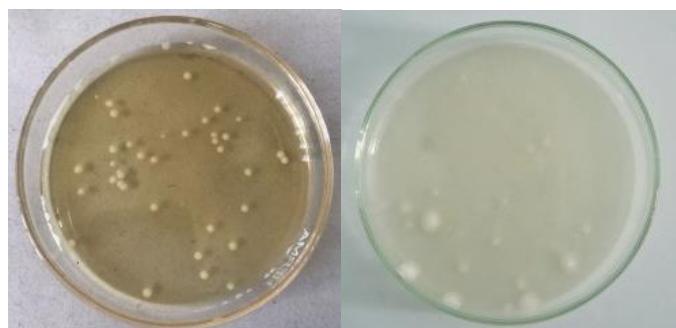
## Uji Total Bakteri Asam Laktat (BAL) dan Yeast Kulit Jeruk Siam Kintamani

Salah satu indikator mikrobiologis produk minuman fermentasi adalah total BAL dan total Yeast. Hasil Total Bakteri Asam Laktat dan Total Yeast Kulit Buah Jeruk Siam Kintamani (*Citrus nobilis*) sebagai minuman probiotik ditunjukkan pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil Total Bakteri Asam Laktat dan Total Yeast (*Results of Total Lactic Acid Bacteria and Total Yeast*).

Hari Fermentasi Ke- (Day of Fermentation)	Total Bakteri Asam Laktat (BAL) (Total Lactic Acid Bacteria) (CFU/ml)	Total Yeast (Total Yeast) (CFU/ml)
0	$3,4 \times 10^3$	$3,25 \times 10^2$
3	$6,41 \times 10^4$	$4,65 \times 10^3$
6	$3,97 \times 10^5$	$2,92 \times 10^5$
9	$1,13 \times 10^6$	$1,09 \times 10^6$
12	$9,5 \times 10^3$	$4,74 \times 10^4$
15	$3,2 \times 10^2$	$1,85 \times 10^2$
18	-	-

Total BAL tertinggi pada penelitian ini dihasilkan pada fermentasi hari ke-9 yaitu sebesar  $1,13 \times 10^6$  CFU/ml. Sedangkan total BAL terendah sebesar  $3,2 \times 10^2$  CFU/ml pada fermentasi hari ke-15 dan hari ke-18 memperlihatkan tidak ada pertumbuhan bakteri. Bakteri mengalami kenaikan dari fermentasi hari ke-0 hingga fermentasi hari ke-9. Hasil penelitian pada Tabel 1 menunjukkan sekitar  $1,85 \times 10^2$  -  $1,09 \times 10^6$  CFU/ml total yeast pada minuman probiotik kulit jeruk siam Kintamani. Total yeast tertinggi sebesar  $1,09 \times 10^6$  CFU/ml dengan lama fermentasi 9 hari. Sedangkan total yeast terendah diperoleh pada fermentasi hari ke-15 sebesar  $1,85 \times 10^2$  CFU/ml dan fermentasi hari ke-18 tidak mengalami pertumbuhan.



**Gambar 1.** Kultur BAL dan Yeast (*Lactic Acid Bacteria and Yeast Cultures*).

## Rerata Daya Hambat Minuman Probiotik Kulit Jeruk Siam Kintamani

**Tabel 3.** Rerata Daya Hambat Minuman Probiotik Kulit Jeruk Siam Kintamani (*Average Inhibition of Kintamani Siam Orange Peel Probiotic Drink*).

Fermentasi Hari Ke- (Day of Fermentation)	Rerata Daya Hambat <i>S. aureus</i> (Mean Inhibition of <i>S. aureus</i> ) (mm)	p-value (p-value)	Rerata Daya Hambat <i>Salmonella</i> sp. (Mean Inhibition of <i>Salmonella</i> sp.) (mm)	p-value (p-value)
0	7,27 ± 0,51d		6,77 ± 0,51d	
3	8,09 ± 0,58e		7,61 ± 0,43e	
6	9,27 ± 0,39f	<0,001	8,77 ± 0,39f	<0,001
9	12,49 ± 0,79g		11,99 ± 0,79g	
12	3,40 ± 0,14c		2,90 ± 0,14c	
15	1,76 ± 0,61b		1,65 ± 0,13b	
18	0,00 ± 0,00a		0,00 ± 0,00a	

Keterangan: Huruf yang berbeda pada perlakuan menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan (p<0,05)

Notes: Different letters in the treatments indicate significant differences (p<0.05)

Tabel 3 menunjukkan hasil bahwa minuman probiotik memiliki kemampuan untuk menghambat perkembangan bakteri *S. aureus* dan *Salmonella* sp. Rerata kemampuan paling kuat tercatat pada fermentasi hari ke-9, dengan nilai  $12,49 \pm 0,79$  mm terhadap *S. aureus* dan  $11,99 \pm 0,79$  mm terhadap *Salmonella* sp. Selama fermentasi dari hari ke-0 hingga ke-9, daya hambat terhadap kedua jenis bakteri menunjukkan peningkatan. Namun, rata-rata daya hambat mulai menurun pada fermentasi hari ke-12.

### Penetapan Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

Penentuan hasil MIC dilakukan dengan melihat apakah larutan dalam tabung jernih atau tidak terdapat kekeruhan. Data hasil MIC terhadap bakteri *S. aureus* dapat dilihat pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Hasil Pengujian MIC Minuman Probiotik Kulit Jeruk Siam Terhadap *S. aureus* (*MIC Testing Results of Siam Orange Peel Probiotic Drink Against S. aureus*).

Konsentrasi (Concentration)	Pertumbuhan Bakteri / Kekeruhan (Bacterial Growth / Turbidity)		
	Ulangan I (Test I)	Ulangan II (Test II)	Ulangan III (Test III)
Kontrol Positif	-	-	-
50%	-	-	-
45%	-	-	-
40%	-	-	-
35%	-	-	-
30%	-	-	-
25%	+	+	+
20%	+	+	+
15%	+	+	+
10%	+	+	+
Kontrol negatif	+	+	+

Keterangan:

Description:

(+) : Terdapat pertumbuhan bakteri / keruh

(+) : There is bacterial growth / turbid

(-) : Tidak terdapat pertumbuhan bakteri / tidak mengalami kekeruhan

(-) : No bacterial growth / no turbidity

Uji aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* menggunakan metode dilusi menunjukkan bahwa sampel memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi tertentu. Berdasarkan hasil yang disajikan pada Tabel 4, tidak terdeteksi pertumbuhan bakteri (-) pada konsentrasi 30% hingga 50%, yang ditunjukkan oleh tidak adanya kekeruhan pada media. Sebaliknya, pada konsentrasi di bawah 30%, yaitu 25%, 20%, 15%, dan 10%, masih terdeteksi pertumbuhan bakteri (+), sebagaimana terlihat dari adanya kekeruhan pada media di seluruh ulangan. Hal ini menunjukkan bahwa efektivitas antibakteri menurun seiring penurunan konsentrasi, dan nilai MIC berada pada konsentrasi 30%. Hasil uji aktivitas antibakteri *Salmonella* sp. ditunjukkan pada Tabel 5.

**Tabel 5.** Hasil Pengujian MIC Minuman Probiotik Kulit Jeruk Siam Terhadap *Salmonella* sp. (*MIC Testing Results of Siam Orange Peel Probiotic Drink Against Salmonella* sp.).

Konsentrasi (Concentration)	Pertumbuhan Bakteri / Kekeruhan (Bacterial Growth / Turbidity)		
	Ulangan I (Test I)	Ulangan II (Test II)	Ulangan III (Test III)
	-	-	-
Kontrol Positif	-	-	-
50%	-	-	-
45%	-	-	-
40%	-	-	-
35%	-	-	-
30%	+	+	+
25%	+	+	+
20%	+	+	+
15%	+	+	+
10%	+	+	+
Kontrol negatif	+	+	+

Keterangan:

*Description:*

(+) : Terdapat pertumbuhan bakteri / keruh

(+) : *There is bacterial growth / turbid*

(-) : Tidak terdapat pertumbuhan bakteri / tidak mengalami kekeruhan

(-) : *No bacterial growth / no turbidity*

Berdasarkan hasil yang ditampilkan pada Tabel 5, tidak terdeteksi pertumbuhan bakteri (-) pada konsentrasi 35% hingga 50% pada ketiga kali ulangan, yang ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada media. Hal ini menunjukkan bahwa sampel memiliki aktivitas antibakteri efektif pada rentang konsentrasi tersebut. Sebaliknya, pada konsentrasi 30% dan di bawahnya (25%, 20%, 15%, dan 10%), media menunjukkan kekeruhan (+), mengindikasikan bahwa bakteri masih mampu tumbuh pada konsentrasi tersebut. Nilai MIC terhadap *Salmonella* sp. sebesar 35%, dimana pada konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi terendah yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri.

### Uji Total Bakteri Asam Laktat dan Yeast Kulit Buah Jeruk Siam Kintamani

Berdasarkan hasil penelitian pada Tabel 1 menunjukkan bahwa total yeast minuman probiotik kulit jeruk siam Kintamani berkisar antara  $1,85 \times 10^2$  -  $1,09 \times 10^6$  CFU/ml. Total yeast tertinggi sebesar  $1,09 \times 10^6$  CFU/ml dengan lama fermentasi 9 hari. Sedangkan total yeast terendah diperoleh pada fermentasi hari ke-15 sebesar  $1,85 \times 10^2$  CFU/ml dan fermentasi hari ke-18 tidak mengalami pertumbuhan. Hasil penelitian ini didukung oleh (Rohman *et al.*, 2019) yang mengemukakan bahwa mikroorganisme yang terdapat pada kefir air kelapa hijau selama fermentasi 12 – 36 jam memiliki rata-rata populasi yang semakin meningkat.

Selain itu, hal ini diduga dikarenakan, pada awal fermentasi, bakteri akan masuk dalam fase adaptasi untuk mengenal lingkungannya. Selanjutnya akan masuk ke fase logaritmik, dimana

bakteri akan mengalami peningkatan pertumbuhan karena adanya nutrisi makanan yang cukup dan lingkungan yang mendukung pertumbuhannya. Penurunan total bakteri asam laktat (BAL) dan ragi teramat setelah hari ke-9 fermentasi. Fenomena ini diduga berkaitan dengan perubahan pH serta menurunnya ketersediaan nutrisi dalam medium fermentasi. Penurunan pH menyebabkan kondisi lingkungan menjadi lebih asam, yang pada akhirnya menghambat pertumbuhan mikroorganisme, termasuk BAL dan ragi. Gula merupakan substrat utama dalam proses metabolisme yang dilakukan oleh BAL dan ragi. BAL memanfaatkan gula untuk mendukung pertumbuhan dan memproduksi asam organik serta metabolit lainnya (Bintsis, 2018). Selama fermentasi berlangsung, gula akan terus dikonsumsi untuk mendukung pertumbuhan mikroorganisme serta produksi metabolit, seperti asam organik. Seiring berjalannya waktu fermentasi, cadangan gula dalam minuman semakin menipis, sehingga tidak lagi mencukupi untuk mempertahankan pertumbuhan mikroorganisme. Hal ini menyebabkan penurunan populasi BAL dan ragi. Oleh karena itu, keterbatasan substrat dan perubahan lingkungan selama fermentasi memberikan pengaruh signifikan terhadap dinamika mikroorganisme dalam sistem fermentasi tersebut.

Lama waktu fermentasi yang berlebihan dapat menyebabkan penurunan jumlah total BAL. Penurunan ini sejalan dengan temuan (Suseno *et al.*, 2016) yang menjelaskan bahwa peningkatan keasaman pada substrat fermentasi dari hari ke hari dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Selain itu, persaingan antar mikroorganisme dalam memperebutkan sumber nutrisi juga turut memengaruhi penurunan populasi tersebut. Pada hari ke-18, keberadaan BAL maupun ragi tidak terdeteksi, yang kemungkinan besar disebabkan oleh kondisi lingkungan yang sudah tidak mendukung kelangsungan hidup mikroorganisme.

### Rerata Daya Hambat Kulit Jeruk Siam Kintamani (*Citrus nobilis*) sebagai Minuman Probiotik Terhadap Bakteri Penyebab Foodborne Disease

*S. aureus* merupakan spesies bakteri gram positif tersebar luas di lingkungan dan tergolong patogen yang paling umum penyebab *foodborne pathogen* (Dewey-Mattia, 2018). *S. aureus* dapat menyebabkan infeksi *foodborne disease* melalui mekanisme toksigenik akibat produksi enterotoksin stafilocokus (SE) yang tahan terhadap panas. Enterotoksin ini umumnya terbentuk dalam bahan pangan, terutama pada produk susu (seperti susu, keju, dan krim), serta daging dan ikan (Le *et al.*, 2021). *Salmonella* sp. merupakan bakteri golongan *Enterobacteriaceae* yang memiliki karakteristik patogen dan merupakan salah satu penyebab umum infeksi enterik (keracunan makanan) di seluruh dunia (Bintsis, 2017). Produk susu, serta daging dan telur, merupakan penyebab utama infeksi *Salmonella* yang ditularkan melalui makanan (Arqués *et al.*, 2015). Bakteri hidup, seperti BAL, termasuk dalam kategori probiotik yang bermanfaat bagi sistem pencernaan. Adanya BAL yang terdapat pada minuman probiotik dapat membantu menyeimbangkan mikroflora di saluran usus dan juga mencegah berkembangnya bakteri berbahaya yang dapat tumbuh pada tubuh. Bakteri asam laktat (BAL) dianggap sebagai kandidat probiotik potensial, yang dapat mencegah bakteri patogen berkembang biak (Abdul Manan *et al.*, 2023).

Penghambatan bakteri dipengaruhi juga oleh senyawa metabolit yang terdapat pada minuman probiotik kulit jeruk siam. Pada skrining fitokimia teridentifikasi bahwa minuman probiotik jeruk siam mengandung senyawa fenolik, tanin, flavonoid, saponin, steroid, dan alkaloid. Hasil ini sejalan dengan penelitian Prasetyo *et al.* (2024) menyatakan bahwa kulit jeruk siam mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, steroid, terpenoid, tanin, dan minyak atsiri. Alkaloid, likopen, flavonoid, dan vitamin C ditemukan terkandung pada kulit jeruk siam Kintamani serta memiliki kandungan terbesar berupa pektin dan tannin (Nirmalasari *et al.*, 2024).

Fenolik dan flavonoid merupakan bagian dari kelompok polifenol yang diketahui memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri, baik dari jenis gram negatif maupun gram positif. Mekanisme kerja polifenol melibatkan interaksi langsung dengan lipid pada membran sel bakteri, yang memicu perubahan struktural dan peningkatan permeabilitas membran. Perubahan ini menyebabkan kebocoran ion serta molekul esensial dari dalam sel, yang pada akhirnya memicu kematian sel bakteri. Beberapa jenis polifenol juga diketahui mampu berinteraksi dengan ribosom atau faktor-faktor translasi lainnya, sehingga menghambat sintesis protein yang vital bagi

kelangsungan hidup dan proliferasi bakteri (Davidova *et al.*, 2024). Selain itu, senyawa flavonoid dan fenolik dapat menginduksi pembentukan ROS (*Reactive Oxygen Species*) di dalam sel bakteri, yang mengarah pada kerusakan oksidatif terhadap berbagai komponen seluler (Xie *et al.*, 2015).

Tanin dilaporkan memiliki potensi bersifat toksik terhadap mikroorganisme seperti bakteri dan jamur, serta menunjukkan aktivitas sebagai agen antivirus (Patil *et al.*, 2015). Aktivitas antibakteri tanin diduga berkaitan dengan berbagai mekanisme biokimiawi, antara lain melalui kerusakan struktur dan peningkatan permeabilitas membran sel bakteri, inhibisi terhadap aktivitas enzim esensial, induksi stres oksidatif, serta penghambatan proses biosintesis protein (Xie *et al.*, 2023). Lebih lanjut, berdasarkan telaah literatur yang dikemukakan oleh Ogawa and Yazaki (2018) tanin berpotensi menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen melalui interaksi dengan protein struktural dan enzim di permukaan sel bakteri yang menyebabkan presipitasi protein dan disfungsi seluler. Senyawa ini juga dilaporkan mampu menginaktivasi enzim-enzim penting yang terlibat dalam replikasi dan transkripsi, seperti DNA topoisomerase dan reverse transcriptase, yang secara langsung berdampak pada terganggunya replikasi DNA dan sintesis RNA bakteri. Selain itu, tanin juga dapat mengelasi ion logam esensial seperti  $\text{Fe}^{2+}$  dan  $\text{Mg}^{2+}$  yang berperan sebagai kofaktor dalam berbagai jalur metabolisme enzimatik.

Saponin adalah senyawa fitokimia lain yang ditemukan dalam minuman probiotik seperti teh kombucha (Mahadi *et al.*, 2022). Saponin dapat merusak integritas dinding dan membran sel bakteri. Hal ini menyebabkan peningkatan permeabilitas membran, yang memungkinkan kebocoran komponen intraseluler seperti protein dan asam nukleat (Liu *et al.*, 2021). Sementara itu, senyawa steroid berinteraksi dengan fosfolipid dalam membran sel, yang meningkatkan permeabilitas terhadap molekul lipofilik. Interaksi ini menyebabkan terganggunya struktur membran, perubahan morfologis, serta menurunkan stabilitas membran, sehingga membuat sel menjadi lebih rentan dan pada akhirnya mengalami lisis (Sapara, 2016). Di sisi lain, alkaloid yang termasuk dalam kelompok metabolit sekunder, menunjukkan aktivitas antibakteri melalui mekanisme penghambatan sintesis enzim dan protein esensial, yang pada akhirnya mengganggu proses metabolisme dan kelangsungan hidup bakteri patogen (Abdilah *et al.*, 2022).

Pada penelitian ini, bakteri *Salmonella* sp. menunjukkan rerata daya hambat yang lebih rendah dibandingkan dengan *S. aureus* dengan masing-masing sebesar  $11,99 \pm 0,79$  mm dan  $12,49 \pm 0,79$  mm. Hasil ini sejalan dengan temuan Al-Mohammadi *et al.* (2021), yang melaporkan bahwa minuman fermentasi kombucha mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* sebesar  $19,0 \pm 0,1$  mm dan *Salmonella typhimurium* sebesar  $14,0 \pm 0,2$  mm. Perbedaan ini berkaitan dengan karakteristik struktur dinding sel, dimana *Salmonella* sp. termasuk dalam kelompok bakteri Gram negatif, sedangkan *S. aureus* merupakan bakteri Gram positif. Efektivitas metabolit sekunder hasil fermentasi minuman probiotik sebagai agen antibakteri diduga lebih optimal dalam merusak struktur peptidoglikan yang dominan pada dinding sel bakteri Gram positif. Sebaliknya, dinding sel bakteri Gram negatif tersusun lebih kompleks, terdiri atas lapisan lipoprotein, membran luar, dan lipopolisakarida yang terletak di luar peptidoglikan. Selain itu, lapisan peptidoglikan yang lebih tipis serta keberadaan membran luar yang bersifat selektif dan berfungsi sebagai penghalang biologis menyebabkan bakteri Gram negatif memiliki tingkat resistensi yang lebih tinggi terhadap senyawa antimikroba (Levinson & Jawetz, 1996).

Minuman probiotik berbahan dasar kulit jeruk siam menunjukkan kemampuan untuk menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *Salmonella* sp., dengan nilai MIC masing-masing tercatat pada 30% dan 35%. Penelitian yang dilakukan oleh Anindita *et al.* (2022) juga melaporkan bahwa ekstrak etanol dari kulit jeruk lemon memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dalam rentang konsentrasi 20% hingga 100%. Selain itu, minuman fermentasi berbasis whey menunjukkan spektrum aktivitas antibakteri yang luas terhadap sejumlah bakteri patogen seperti *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, dan *Streptococcus mutans*, dengan nilai MIC yang berkisar antara 30% hingga 40% (Jitpakdee *et al.*, 2022). Hasil ini sejalan dengan temuan Fitriasari and Zahrotunisya (2024), yang melaporkan bahwa kombucha yang diformulasikan menggunakan kulit apel varietas Anna pada konsentrasi substrat 12,5% menghasilkan zona hambat terhadap MRSA sebesar  $6,58 \pm 0,52$  mm. Adapun nilai MIC tertinggi dalam penelitian tersebut tercatat pada

konsentrasi 85%. Variasi dalam nilai MIC yang diamati kemungkinan besar disebabkan oleh perbedaan komposisi senyawa bioaktif, termasuk flavonoid, tanin, dan asam organik, yang terbentuk selama proses fermentasi serta jenis bakteri yang dihambat.

Dalam konteks tersebut, penelitian lain juga menunjukkan bahwa kombucha berbahan dasar buah lokal seperti nanas madu Subang memiliki potensi antibakteri terhadap sejumlah bakteri patogen, termasuk *S. aureus*. Kombucha ini diketahui mengandung senyawa aktif seperti alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin yang mendukung aktivitas antimikrobanya (Rezaldi *et al.*, 2022). Selaras dengan temuan tersebut, limbah kulit buah, termasuk jeruk, yang diolah menjadi minuman probiotik juga menunjukkan potensi sebagai agen antibakteri. Hal ini diperkuat oleh laporan Sari (2016) yang menyatakan bahwa kombucha dari kulit apel memiliki aktivitas antibakteri signifikan, terutama terhadap *S. aureus* sebesar 14,30 mm. Hal ini menunjukkan bahwa kulit buah sebagai sumber senyawa bioaktif merupakan alternatif potensial dalam pengembangan produk fungsional probiotik berbasis tanaman lokal.

Karakteristik mikrobiologis seperti total BAL, total yeast, dan aktivitas antibakteri berpotensi meningkatkan kegunaan kulit jeruk Siam Kintamani sebagai minuman probiotik. Minuman probiotik berbasis buah ini memberikan manfaat signifikan, terutama bagi individu yang tidak menyukai produk susu, intoleran terhadap laktosa, atau memiliki alergi terhadap komponen susu. Selain meningkatkan kesehatan pencernaan, minuman ini juga dapat berfungsi dalam menanggulangi mikroorganisme patogen. Dengan demikian, kulit jeruk Siam Kintamani memiliki potensi untuk menjadi alternatif minuman probiotik yang sehat dan efektif dalam mendukung keseimbangan mikroflora usus serta menjaga kesehatan tubuh secara menyeluruh.

## KESIMPULAN

Total BAL dan yeast minuman probiotik kulit jeruk Siam Kintamani tertinggi masing-masing sebesar  $1,13 \times 10^6$  CFU/ml dan  $1,09 \times 10^6$  CFU/ml. Minuman probiotik dari kulit jeruk Siam Kintamani menunjukkan potensi dalam menghambat viabilitas pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *Salmonella* sp. Daya hambat tertinggi yang dihasilkan adalah  $12,49 \pm 0,79$  mm dan  $11,99 \pm 0,79$  mm dalam menghambat *S. aureus* dan *Salmonella* sp., secara berturut-turut.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti menyampaikan apresiasi kepada seluruh pihak yang telah memberikan dukungan dan kontribusi terhadap kelancaran penelitian ini.

## KONTRIBUSI PENULIS

NTW: membuat desain penelitian, mengumpulkan data penelitian, menganalisis data, menyusun draf artikel, merevisi naskah akhir; AAIMP : mengolah data penelitian; PRS: menyusun draf artikel.

## REFERENSI

- Abdilah, N.A., Rezaldi, F., Pertiwi, F.D., Fadillah, M.F. 2022. fitokimia dan skrining awal metode bioteknologi fermentasi kombucha bunga telang (*Clitoria Ternatea* L) sebagai bahan aktif sabun cuci tangan probiotik. *Medfarm: Jurnal Farmasi Dan Kesehatan*, 11(1), pp.44-61.
- Abdul Manan, M., Saad, A., Rashid, N., Lazim, M. 2023. Prebiotic properties of fermented ceri Terengganu (*Lepisanthes fruticosa*) beverage by survival of lactic acid bacteria and its antibacterial activity. *Food Research*, 6(2), pp.171-181.
- Al-Mohammadi, A.R., Ismaiel, A.A., Ibrahim, R.A., Moustafa, A.H., Abou Zeid, A., Enan, G. 2021. Chemical constitution and antimicrobial activity of kombucha fermented beverage. *Molecules*, 26(16), p.5026.
- Anindita, R.A., Yolanda, H., Inggriani, M. 2022. Skrining Fitokimia dan Uji Antibakteri Senyawa Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Lemon (*Citrus limon* (L.) Osbeck) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Bioshell*, 11(2), pp.100-112.

- Arqués, J. L., Rodríguez, E., Langa, S., Landete, J.M., Medina, M. 2015. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria in dairy products and gut: effect on pathogens. *BioMed research international*, 2015(1), p.584183.
- Aspri, M., Papademas, P., Tsaltas, D. 2020. Review on non-dairy probiotics and their use in non-dairy based products. *Fermentation*, 6(1), p.30.
- Aviany, H.B., Pujiyanto, S. 2020. Analisis Efektivitas Probiotik di Dalam Produk Kecantikan sebagai Antibakteri terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Berkala Bioteknologi*, 3(2). pp.24-30.
- Bintsis, T. 2017. Foodborne pathogens. *AIMS microbiology*, 3(3), p.529.
- Bintsis, T. 2018. Lactic acid bacteria: their applications in foods. *J. Bacteriol. Mycol*, 6(2), pp.89-94.
- Davidova, S., Galabov, A. S., Satchanska, G. 2024. Antibacterial, antifungal, antiviral activity, and mechanisms of action of plant polyphenols. *Microorganisms*, 12(12), p.2502.
- Dewey-Mattia, D. 2018. Surveillance for foodborne disease outbreaks—United States, 2009–2015. *MMWR Surveillance Summaries*, 67(10), pp.1-11.
- El Rahma, I.S., Nastiti, K., Malahayati, S. 2023. Uji Efektivitas Antimikroba Kulit Batang Jambu Mete (*Anacardium occidentale*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Sains Medisina*, 1(4), pp.177-184.
- Ensamory, M.L. 2017. Antijamur Infusa Kulit Buah Jeruk Siam (*Citrus nobilis*) terhadap *Aspergillus niger* Emp1 U2. *Jurnal Labora Medika*, 1(2), pp.6-13.
- Fitriasari, P., Zahrotunisa, D. 2024. Anti-methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) activity of fermented apple peels kombucha and their chemical content. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1312, p.012056
- Harborne, J.B. 1987. *Metode fitokimia: penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Diterjemahkan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: Penerbit ITB.
- Jitpakdee, J., Kantachote, D., Kanzaki, H., Nitoda, T. 2022. Potential of lactic acid bacteria to produce functional fermented whey beverage with putative health promoting attributes. *LWT*, 160, p.113269.
- Kristiandi, K., Febrina, A. 2020. Pemanfaatan kulit jeruk siam sebagai pestisida alami utilization of siam orange skin as a natural pesticide. *Jurnal Agrotek Lestari*, 6(2), pp.46-52.
- Le, H.H.T., Dalsgaard, A., Andersen, P.S., Nguyen, H.M., Ta, Y.T., Nguyen, T.T. 2021. Large-scale *Staphylococcus aureus* foodborne disease poisoning outbreak among primary school children. *Microbiology Research*, 12(1), pp.43-52.
- Levinson, W., Jawetz, E. 1996. *Medical microbiology & immunology*. Prentice-Hall International.
- Liu, J., Xie, P.F., Cai, Y.Q. 2021. Study on the antibacterial activity and mechanism of tea saponin against common clinical pathogens. *Guangdong Yaoxueyuan Xuebao*, 37(5), pp.35-41.
- Mahadi, M., Zawawi, M.S.M., Yusuf, Z. 2022. Phytochemical screening and antioxidant properties of black and green kombucha tea. *European Chemical Bulletin*, 11(9), pp.69-74.
- Manoj, P.M., Mohan, J.R., Khasherao, B.Y., Shams, R., Dash, K.K. 2023. Fruit based probiotic functional beverages: A review. *Journal of Agriculture and Food Research*, 14, p.100729.
- Manongko, P.S., Sangi, M.S., Momuat, L.I. 2020. Uji senyawa fitokimia dan aktivitas antioksidan tanaman patah tulang (*Euphorbia tirucalli L.*). *Jurnal Mipa*, 9(2), pp.64-69.
- Meigaria, K.M., Mudianta, I.W., Martiningsih, N.W. 2016. Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak aseton daun kelor (*Moringa oleifera*). *Wahana Matematika dan Sains: Jurnal Matematika, Sains, dan Pembelajarannya*, 10(2), pp.1-11.
- Mojikon, F.D., Kasimin, M.E., Molujin, A.M., Gansau, J. A., Jawan, R. 2022. Probiotication of nutritious fruit and vegetable juices: an alternative to dairy-based probiotic functional products. *Nutrients*, 14(17), p.3457.
- Nirmalasari, N.K.D.A., Permatananda, P.A.N.K., Udiyani, D.P.C., Aryastuti, A.A.S.A., Dewi, E.S. 2024. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Limbah Kulit Jeruk Siam Kintamani (*Citrus Nobilis*) Dengan Pelarut Polar, Semipolar, Dan Nonpolar. *Jurnal Ners*, 8(1), pp.210-215.

- Ogawa, S., Yazaki, Y. 2018. Tannins from *Acacia mearnsii* De Wild. Bark: Tannin determination and biological activities. *Molecules*, 23(4), p.837.
- Pamungkas, J.D., Anam, K., Kusrini, D. 2016. Penentuan total kadar fenol dari daun kersen segar, kering dan rontok (*Muntingia calabura* L.) serta uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 19(1), pp.15-20.
- Patil, R.S., Harale, P.M., Shivangekar, K.V., Kumbhar, P., Desai, R. 2015. Phytochemical potential and in vitro antimicrobial activity of *Piper betle* Linn. leaf extracts. *Journal of chemical and pharmaceutical Research*, 7(5), pp.1095-1101.
- Prasetyo, B., Widowati, H., Sutanto, A. 2024. Produksi dan Skrining Senyawa Metabolit sekunder Ecoenzyme Kulit Buah Jeruk BW dan Jeruk Siam yang Berpotensi sebagai Bioinsektisida. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 24(3), pp.395-403.
- Rasika, D.M., Vidanarachchi, J.K., Rocha, R.S., Balthazar, C.F., Cruz, A.G., Sant'Ana, A.S., Ranadheera, C.S. 2021. Plant-based milk substitutes as emerging probiotic carriers. *Current Opinion in Food Science*, 38, pp.8-20.
- Rezaldi, F., Fadillah, M.F., Agustiansyah, L.D., Tanjung, S.A., Halimatusyadiah, L., Safitri, E. 2022. Aplikasi metode bioteknologi fermentasi kombucha buah nanas madu (*Ananas comosus*) subang sebagai antibakteri gram positif dan negatif berdasarkan konsentrasi gula yang berbeda. *Jurnal Agroteknologi Merdeka Pasuruan*, 6(1), pp.9-21.
- Rohman, A.R., Dwiloka, B., Rizqiati, H. 2019. Pengaruh lama fermentasi terhadap total asam, total bakteri asam laktat, total khamir dan mutu hedonik kefir air kelapa hijau (*Cocos nucifera*). *Jurnal Teknologi Pangan*, 3(1), pp.127-133.
- Sapara, T.U. 2016. Efektivitas antibakteri ekstrak daun pacar air (*Impatiens balsamina* l.) terhadap pertumbuhan porphyromonas gingivalis. *Pharmacon*, 5(4), pp.10-17.
- Sari, D.K. 2016. *Uji Aktivitas Antibakteri Kombucha dari Kulit Apel terhadap Staphylococcus aureus dan Eschericia coli (Kajian Penambahan Gula dan Lama Fermentasi)*. Skripsi. Universitas Brawijaya.
- Suseno, D., Meryandini, A., Sunarti, T.C. 2016. Kinerja fermentasi sagu asam menggunakan starter cair dan padat dari isolat bakteri asam laktat indigenous. *Jurnal teknologi industri pertanian*, 26(1), pp.111-114.
- Syiemlieh, I., Morya, S. 2022. Dairy and non-dairy based probiotics: a review. *Pharma Innov J*, 11, pp.2956-2964.
- Wulansari, N.T., Padmiswari, A.I.M., Sintyadewi, P.R. 2023. Chemical characteristics during the fermentation process of siam kintamani orange peel (*Citrus nobilis*) probiotic drink. *Jurnal Pijar Mipa*, 18(5), pp.804-808.
- Xie, L., Ma, Z., Yang, G., Huang, Y., Wen, T., Deng, Y., Sun, J., Zheng, S., Wu, F., Huang, K. 2023. Study on the inhibition mechanism of eucalyptus tannins against *Microcystis aeruginosa*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 249, p.114452.
- Xie, Y., Yang, W., Tang, F., Chen, X., Ren, L. 2015. Antibacterial activities of flavonoids: structure-activity relationship and mechanism. *Current medicinal chemistry*, 22(1), pp.132-149.
- Yuliana, A., Fauziah, Z.Z., Suhendy, H. 2023. Comparison of Fig Juice Fruitghurt with Variations in Sucrose and Length of Fermentation. *Jurnal Sains Natural*, 13(4), pp.199-211.