

**ANALISIS METAGENOMIK BAKTERI PADA
FERMENTASI KOMBUCHA ANGGUR LAUT (*Caulerpa
racemosa*) BERDASARKAN GEN 16S rRNA**

SKRIPSI

Untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai derajat Sarjana S-1 pada Program Studi Biologi



STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

disusun oleh
REZA SUKMA DEWI
18106040015

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UIN SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA
2025**

HALAMAN PENGESAHAN



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN KALIJAGA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
Jl. Marsda Adisucipto Telp. (0274) 540971 Fax. (0274) 519739 Yogyakarta 55281

PENGESAHAN TUGAS AKHIR

Nomor : B-203/Uh.02/DST/PP.00.9/01/2025

Tugas Akhir dengan judul : Analisis Metagenomik Bakteri pada Fermentasi Kombucha Anggur Laut (*Caulerpa racemosa*) Berdasarkan Gen 16S rRNA

yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Nama : REZA SUKMA DEWI
Nomor Induk Mahasiswa : 18106040015
Telah diujikan pada : Selasa, 21 Januari 2025
Nilai ujian Tugas Akhir : A

dinyatakan telah diterima oleh Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta

TIM UJIAN TUGAS AKHIR



Ketua Sidang

Lela Susilawati, S.Pd., M.Si., PhD.
SIGNED

Valid TD: 679a78ecb334



Penguji I

Dian Arumi Kumalawati, M.Sc.
SIGNED

Valid TD: 679aeecc7d448b



Penguji II

Jumailatus Solihah, S.Si., M.Si.
SIGNED

Valid TD: 679a1340cc6519



Yogyakarta, 21 Januari 2025

UIN Sunan Kalijaga
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

Prof. Dr. Dra. Hj. Khurul Wardani, M.Si.
SIGNED

Valid TD: 679b37016dfc



SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR

Hal : Persetujuan Skripsi/Tugas Akhir
Lamp : -

Kepada
Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta
di Yogyakarta

Assalamu'alaikum wr. wb.

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk dan mengoreksi serta mengadakan perbaikan seperlunya, maka kami selaku pembimbing berpendapat bahwa skripsi Saudara:

Nama : Reza Sukma Dewi
NIM : 18106040015
Judul Skripsi : Analisis Metagenomik Bakteri pada Fermentasi Kombucha Anggur Laut (*Caulerpa racemosa*) Berdasarkan Gen 16S rRNA

sudah dapat diajukan kembali kepada Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Strata Satu dalam Program Studi Biologi.

Dengan ini kami berharap agar skripsi/tugas akhir Saudara tersebut di atas dapat segera dimunaqsyahkan. Atas perhatiannya kami ucapkan terima kasih.

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Yogyakarta, 20 Januari 2025
Pembimbing

Lela Susilawati, S.Pd., M.Si., PhD.
NIP. 197901272009012004

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Reza Sukma Dewi
NIM : 18106040015
Program Studi : Biologi

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi ini adalah asli karya atau penelitian sendiri dan bukan plagiasi dari hasil karya orang lain kecuali pada bagian yang dirujuki sumbernya.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya agar dapat diketahui oleh anggota dewan penguji.

Yogyakarta, 17 Januari 2025

Saya menyatakan,



Reza Sukma Dewi
NIM. 18106040015

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

MOTTO

Just live your life! Allah will guide you through.

Trust Allah's plan! You just have to keep going.

إِنَّ مَعَ رَبِّي سَيِّدِينَ

“Indeed, my Lord is with me; He will guide me.”

(Q.S Asy-Syu'ara' 26: 62)

Don't regret what has already happened. Face your current reality and think about what you can do. Deal with one thing at a time. There will be a point where you've done.

(전정국)

다 괜찮아질거야!

The Best Moment is Yet to Come!

(방탄소년단)

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim.

Skripsi ini penulis persembahkan kepada:

Diri sendiri, orang tua, keluarga, sahabat penulis

Program Studi Biologi

PT Indofood Sukses Makmur Tbk

UIN Sunan Kalijaga



STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirabbil'alamin. Segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan rahmat, hidayah, serta inayah-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan penulis yang berjudul “**Analisis Metagenomik Bakteri pada Fermentasi Kombucha Anggur Laut (*Caulerpa racemosa*) Berdasarkan Gen 16S rRNA**” sebagai salah satu persyaratan untuk mencapai derajat Sarjana Sains di bidang Biologi.

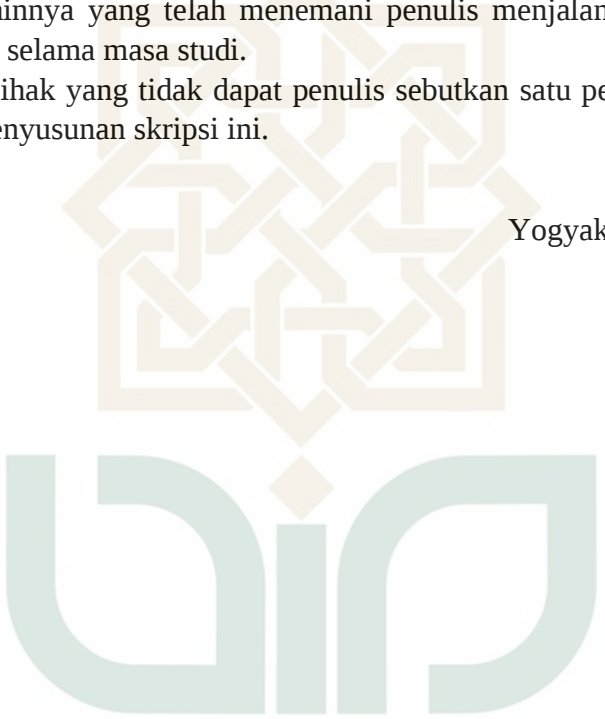
Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan berupa doa, motivasi, masukan, dan bimbingan sehingga penulis mampu melewati fase penelitian, pengolahan data, sampai penyusunan skripsi dapat diselesaikan dengan baik. Ucapan terima kasih secara khusus penulis sampaikan kepada:

1. Ibu Dr. Hj. Khurul Wardati, M.Si., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga.
2. Ibu Dr. Ika Nugraheni Ari Martiwi, S.Si., M.Si., selaku Ketua Program Studi Biologi UIN Sunan Kalijaga.
3. Ibu Najda Rifqiyati, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bantuan berupa pengarahan, bimbingan, dan motivasi semangat selama penulis menempuh masa studi di Biologi UIN Sunan Kalijaga.
4. Ibu Lela Susilawati, S.Pd., M.Si., PhD. selaku Dosen Pembimbing Skripsi yang telah meluangkan waktu dan tenaga dalam membimbing dan membantu penulis dari perencanaan sampai pelaksanaan penelitian dan dari pengolahan data sampai penyusunan skripsi.
5. PT Indofood Sukses Makmur Tbk yang telah memberikan bantuan berupa dana penelitian dan konsultasi bersama Tim Pakar.
6. Bapak Salbiah dan Ibu Martini selaku orang tua penulis sekaligus *support system* terbesar yang menyumbang banyak sekali peranan dalam penyelesaian skripsi ini.
7. Nurhasanah selaku kakak penulis yang telah memberikan banyak sekali dukungan, motivasi, dan semangat kepada penulis sampai penulis mampu melewati penelitian dan penyusunan serta penyelesaian skripsi ini.
8. Ibu Anif Yuni Muallifah, S.Pd.I., M.Biotech., Ibu Ethik Susiawati Purnomo, S.Si., Bapak Dony Eko Saputro, S.Pd.I., selaku Pranata Laboratorium Biologi UIN Sunan Kalijaga yang telah membantu penulis selama menjalankan penelitian.

9. Bapak dan Ibu Dosen Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat selama masa studi.
10. Teman-teman Keluarga besar Biologi serta teman-teman diluar program studi biologi.
11. Ibu Dian Aruni Kumalawati beserta teman-teman dari Tim Dibadog Singo Aceh, Tim Sedotan Sri Lanka, Tim Gummy, Tim Gembik, dan tim penelitian-lomba lainnya yang telah menemani penulis menjalani banyak pengalaman berharga selama masa studi.
12. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang membantu dalam penyusunan skripsi ini.

Yogyakarta, 17 Januari 2025

Penulis



STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

Analisis Metagenomik Bakteri pada Fermentasi Kombucha Anggur Laut (*Caulerpa racemosa*) Berdasarkan Gen 16S rRNA

Reza Sukma Dewi

18106040015

ABSTRAK

Kombucha Anggur Laut merupakan salah satu inovasi produk minuman berbahan dasar anggur laut yang berpotensi sebagai pangan fungsional. Pada penelitian ini akan dilakukan identifikasi keanekaragaman bakteri yang berperan aktif dalam proses fermentasi kombucha berbahan dasar anggur laut dengan menggunakan analisis metagenomik pada variasi fermentasi 7 hari (F7), 14 hari (F14), dan 21 hari (F21). Bakteri yang teridentifikasi dengan kelimpahan tertinggi pada berbagai tingkatan taksonomi dari Kombucha Anggur Laut variasi F7, F14, dan F21 yaitu **Filum:** Proteobacteria (85,11%; 99,64%; 82,56%) dan **Genus:** *Komagataeibacter* (81,01%; 95,25%; 56,27%). Berdasarkan nilai indeks Shannon $1,0 < \text{indeks} < 3,322$, sampel F7 dan F21 (1,35 dan 2,55) menunjukkan diversitas bakteri yang tergolong kriteria sedang dan sampel F14: 0,73 (kriteria rendah). *Komagataeibacter* menjadi genus yang dominan pada ketiga sampel fermentasi kombucha anggur laut. Hal ini dapat disebabkan oleh *Komagataeibacter* yang memegang peran penting dalam fermentasi dan termasuk ke dalam bakteri asam asetat.

Kata kunci: Kombucha Anggur Laut, Metagenomik, *Komagataeibacter*.

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

**Analisis Metagenomik Bakteri pada Fermentasi Kombucha Anggur Laut
(*Caulerpa racemosa*) Berdasarkan Gen 16S rRNA**

Reza Sukma Dewi

18106040015

ABSTRACT

Sea Grape Kombucha is an innovative functional beverage product made from sea grapes that has the potential as a functional food. This study will identify the diversity of bacteria that play an active role in the fermentation process of sea grape-based kombucha using metagenomic analysis at: 7 days (F7), 14 days (F14), and 21 days (F21) fermentation variations. The identified bacteria with the highest abundance at various taxonomic levels from Kombucha Sea Grapes variations F7, F14, and F21 were Phylum: Proteobacteria (85.11%; 99.64%; 82.56%) and Genus: Komagataeibacter (81.01%; 95.25%; 56.27%). Based on the Shannon index value of $1.0 < \text{index} < 3.322$, samples F7 and F21 (1.35 and 2.55) showed bacterial diversity classified as medium criteria and sample F14: 0.73 (low criteria). Komagataeibacter became the dominant genus in the three Sea Grapes Kombucha fermentation samples. This dominance is likely attributable to its pivotal role in the fermentation process, as Komagataeibacter is classified within the acetic acid bacteria group, essential for producing key metabolites during fermentation.

Keywords: Sea Grape Kombucha, Metagenomics, Komagataeibacter.

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI.....	iii
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	iv
MOTTO	v
PERSEMBAHAN.....	vi
KATA PENGANTAR	vii
ABSTRAK.....	ix
ABSTRACT.....	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Anggur Laut (<i>Caulerpa racemosa</i>) dan Pemanfaatannya dalam Inovasi Pangan Fungsional.....	5
B. Anggur Laut (<i>Caulerpa racemosa</i>) sebagai Substrat dalam Pembuatan Kombucha dan Potensinya dalam Pengembangan Gut Microbiome	7
C. Identifikasi Bakteri pada Kombucha Anggur Laut Menggunakan Analisis Metagenomik.....	10
BAB III METODE PENELITIAN	13
A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	13
B. Alat dan Bahan.....	13
C. Pembuatan Kombucha Anggur Laut.....	14
D. Pengujian Nilai pH Kombucha Anggur Laut.....	14

E. Pengujian Kadar Gula kombucha Anggur Laut.....	14
F. Ekstraksi DNA Metagenome	15
G. Analisis Kemurnian Ekstraksi DNA.....	16
H. Amplifikasi Gen 16S rRNA.....	16
I. Elektroforesis Hasil Amplifikasi Gen 16S rRNA	17
J. Sekuensing Gen 16S rRNA Isolat Bakteri dari Kombucha dan Analisis Bioinformatika	17
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	19
A. Hasil Fermentasi Kombucha.....	19
B. Ekstraksi DNA Genom Bakteri dari Kombucha Anggur Laut dan Hasil Amplifikasi Gen 16S rRNA	22
C. Kelimpahan Relatif Bakteri pada Beberapa Tingkatan.....	25
D. Diversitas Bakteri.....	31
BAB V PENUTUP	33
A. Kesimpulan	33
B. Saran	34
DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN.....	48

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Anggur Laut (<i>Caulerpa racemosa</i>) yang menunjukkan karakter khas yaitu berwarna hijau, memiliki bulatan dengan ujung rata dan bertangkai. (Gao <i>et al.</i> , 2019)	6
Gambar 2. Hasil Fermentasi Kombucha Anggur Laut: (a) Fermentasi 7 hari, (b) Fermentasi 14 hari, (c) Fermentasi 21 hari	19
Gambar 3. Nilai pH Kombucha Anggur Laut pada variasi fermentasi berbeda menunjukkan penurunan seiring dengan bertambahnya hari fermentasi.....	20
Gambar 4. Kadar Gula Kombucha Anggur Laut pada variasi fermentasi dengan metode refraktometer	21
Gambar 5. Visualisasi hasil amplifikasi 16S rRNA dari tiga sampel Kombucha Anggur Laut pada agarose 1% tampak bahwa gen 16S rRNA (region V3-V4) berhasil teramplifikasi dengan ukuran band 500 bp.....	24
Gambar 6. Diagram Batang Kelimpahan Bakteri pada Tingkat Filum pada berbagai variasi fermentasi yang didominasi oleh filum Proteobacteria.....	25
Gambar 7. <i>Heatmap</i> Diversitas Genus pada Berbagai Variasi Fermentasi Kombucha yang didominasi oleh Genus <i>Komagataeibacter</i>	27
Gambar 8. Diagram Venn Kelimpahan Relative pada Sampel F7, F14, dan F21...	29

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Protokol Proses Amplifikasi DNA dengan PCR.....	16
Tabel 2. Konsentrasi dan Kemurnian DNA Kombucha Anggur Laut	23
Table 3. Indeks Diversitas Bakteri	31



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Bakteri Kombucha Anggur Laut Variasi Fermentasi 7 Hari pada Berbagai Tingkatan.....	48
Lampiran 2. Data Bakteri Kombucha Anggur Laut Variasi Fermentasi 14 Hari pada Berbagai Tingkatan.....	50
Lampiran 3. Data Bakteri Kombucha Anggur Laut Variasi Fermentasi 21 Hari pada Berbagai Tingkatan.....	52
Lampiran 4. Persentase Kelimpahan Relative Bakteri Tingkat Filum.....	58
Lampiran 5. Persentase Kelimpahan Relative Bakteri Tingkat Genus	59
Lampiran 6. Kode Pembuatan <i>Heatmap</i> menggunakan Phyton	62
Lampiran 7. Kode Pembuatan Diagram Venn menggunakan RStudio (R versi 4.2.3)	64
Lampiran 8. Dokumentasi Penelitian.....	68
Lampiran 9. Curriculum Vitae	70

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia sebagai negara maritim memiliki potensi yang tinggi untuk memberdayakan dan mengembangkan sumber hayati kelautan. Salah satu sumber daya hayati kelautan adalah makroalga dengan jenis-jenis yang umumnya ditemukan di daerah pantai berbatu karang yaitu dari Kelas *Chlorophyceae*, *Phaeophyceae*, dan *Rhodophyceae* (Saptasari, 2012). *Caulerpa* merupakan salah satu genus alga hijau dari Kelas *Chlorophyceae* dan termasuk dalam Famili *Caulerpaceae* (Atmadja *et al.*, 1996).

Caulerpa merupakan salah satu alga hijau yang ketersediaannya melimpah secara alami di perairan Indonesia dan telah berhasil dibudidayakan. Di Indonesia, *Caulerpa* dikenal dengan berbagai sebutan diantaranya adalah Latoh (Jawa) (Fatmawati *et al.*, 2020; Nuraini, 2006), Bulung Boni (Bali) (Jayantini *et al.*, 2021), Lawi-lawi (Sulawesi) (Pakki *et al.*, 2020), sedangkan di Jepang disebut umi-budō (Dawes, 1998). *Caulerpa* memiliki bentuk dan rasa yang menyerupai telur ikan Caviar, sehingga dikenal juga sebagai “*Green Caviar*” (Zubia *et al.*, 2020). Selain itu, dikarenakan memiliki bentuk yang menyerupai anggur menyebabkan sebagian orang menyebutnya sebagai “*Sea Grape*” atau anggur laut (Yudasmara, 2014).

Anggur Laut (*Caulerpa racemosa*) merupakan sumber penting makronutrien dan mikronutrien terutama di Asia Timur dan Tenggara yang ditanam secara komersial di kolam dan dikonsumsi di beberapa bagian Filipina, Indonesia, dan Vietnam sebagai sumber pangan alternatif (Chen *et al.*, 2019). *C. racemosa* memiliki beberapa kandungan nutrisi dan senyawa yang bermanfaat antara lain komponen bioaktif seperti protein, polisakarida, polifenol, flavonoid, dan antioksidan (Yang *et al.*, 2015; Yang *et al.*, 2020), beberapa metabolit sekunder seperti terpenoid, oxylipin, florotannin, dan hidrokarbon volatil (Miras

et al., 2020), memiliki kadar lemak yang rendah yaitu 0,08-1,9% dan kadar protein yang cukup sekitar 17-27% sehingga dapat dimanfaatkan sebagai sumber protein nabati (Verlaque *et al.*, 2003). Ekstrak *C. racemosa* terbukti sebagai anti-obesitas yang mampu menurunkan kadar glukosa darah, mengurangi kolesterol total, dan meningkatkan PGC-1 α yaitu koaktivator transkripsi yang mengatur gen yang berkaitan dengan metabolisme energi dalam tubuh (Kuswari *et al.*, 2021; Permatasari *et al.*, 2022).

Penelitian terkait pemanfaatan dan pengolahan *C. racemosa* telah menjadi tren saat ini khususnya di bidang kesehatan dan inovasi pangan mengingat tingginya kandungan bioaktif yang dimilikinya. Salah satu diantaranya yaitu Kombucha Anggur Laut yang berpotensi sebagai pangan fungsional dengan aktivitas anti-obesitas dan anti-penuaan karena mampu meningkatkan profil lipid dengan cara menurunkan kolesterol total, trigliserida, *Low Density Lipoprotein* (LDL), dan meningkatkan kadar *High Density Lipoprotein* (HDL) (Permatasari *et al.*, 2021, 2022).

Fermentasi kombucha pada umumnya menggunakan teh hitam sebagai bahan dasar karena memiliki kandungan kimiawi berupa polifenol dan essensial oil yang tinggi. Kandungan polifenol yang tinggi merupakan agen antioksidan yang menambah nilai nutrisi pada fermentasi kombucha. Menurut Saputra *et al.* (2017) terdapat beragam jenis daun-daunan di Indonesia yang mengandung fenol dan flavonoid yang tinggi sehingga dapat dimanfaatkan sebagai minuman dan secara fungsional bisa sebagai pengganti teh hitam, begitu juga dengan penggunaan anggur laut. Jenis substrat yang digunakan dalam kombucha mempengaruhi hasil fermentasi karena bakteri dan ragi yang terdapat dalam starter kombucha memanfaatkan substrat dan glukosa sebagai nutrisi untuk menghasilkan berbagai senyawa metabolit yang bermanfaat bagi tubuh selama proses fermentasi berlangsung (Jayabalan *et al.*, 2010; Selvaraj & Gurumurthy, 2024).

Sejumlah studi penelitian telah dilakukan terhadap karakteristik biokimia, mikrobiologi, dan dinamika fermentasi dari kombucha (Goh *et al.*, 2012; Yao *et al.*, 2023). Aktivitas mikroorganisme selama fermentasi akan menghasilkan berbagai senyawa yang bermanfaat bagi kesehatan seperti senyawa fenolik (Khamidah & Antarlina, 2020). Komunitas mikroba yang mendominasi kombucha pada beberapa penelitian yang telah dilakukan adalah dari genus *Komagataeibacter* (Arikan *et al.*, 2020; Kaashyap *et al.*, 2021; Pradhan *et al.*, 2023; Yao *et al.*, 2023).

Dalam beberapa tahun terakhir, konsumsi minuman kombucha semakin meningkat karena berbagai manfaat dan potensinya bagi kesehatan manusia. Fakta ini telah memotivasi peningkatan yang signifikan dalam jumlah studi penelitian yang berfokus pada aktivitas biologis minuman ini (Diez-Ozaeta & Astiazaran, 2022). Komposisi mikrobiologis yang berperan penting dalam fermentasi dan bermanfaat dalam minuman ini sangat kompleks dan masih diperlukan penelitian lebih lanjut untuk memahami perilakunya (Villarreal-Soto *et al.*, 2018).

Metode pendekatan yang paling efektif terhadap identifikasi keragaman dan diversitas komunitas mikroba yang berperan dalam fermentasi kombucha adalah metagenomik. Dalam pendekatan dan metodenya, metagenomik mengatasi permasalahan terkait pengkulturan bakteri yang merupakan hambatan terbesar bagi kemajuan dalam mikrobiologi klinis dan mampu mengidentifikasi keragaman genomik pada sebagian besar mikroba (Handelsman *et al.*, 2007). Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keanekaragaman dan diversitas mikroba yang berperan aktif dalam proses fermentasi kombucha berbahan dasar anggur laut. Data yang diperoleh menyajikan temuan yang membantu dalam memahami komunitas mikroba yang berperan dalam fermentasi dan pemanfaatannya terhadap kesehatan dari kombucha berbahan dasar anggur laut dan diharapkan dapat digunakan sebagai sumber dalam menentukan potensi serta

kandungan yang terdapat dalam kombucha anggur laut sehingga dapat dikembangkan untuk kedepannya.

B. Rumusan Masalah

Caulerpa racemosa memiliki potensi dalam inovasi produk pangan yang bermanfaat bagi kesehatan. Hal ini dapat didukung oleh adanya asosiasi komunitas bakteri pada proses pembuatan kombucha yang mampu memperkaya kandungan yang terdapat dalam minuman fermentasi tersebut, sehingga perlu dilakukan analisis metagenomik bakteri pada Kombucha Anggur Laut yang dapat memberikan informasi mengenai keragaman bakteri yang berperan dalam proses fermentasi berdasarkan profil sekuen gen 16S rRNA.

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui komposisi komunitas bakteri dari Kombucha Anggur Laut menggunakan analisis metagenomik berdasarkan gen 16S rRNA.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk mengetahui keragaman bakteri yang terdapat pada kombucha anggur laut. Data-data yang diperoleh dapat menjadi data untuk pengembangan potensi dan penelitian berkelanjutan terkait inovasi produk pangan yang bermanfaat bagi kesehatan. Penelitian ini juga dapat digunakan sebagai bahan pengetahuan, referensi serta kepustakaan tentang analisis metagenomik bakteri pada minuman fermentasi khususnya Kombucha Anggur Laut.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh beberapa kesimpulan sebagai berikut:

1. Nilai pH Kombucha Anggur Laut pada variasi F7, F14, dan F21 yaitu 2,66 ; 2,62 ; 2,43. Semakin lama fermentasi dilakukan maka semakin menurun pH pada produk fermentasi.
2. Kadar gula pada Kombucha Anggur Laut pada variasi F7, F14, dan F21 yaitu 7,6 ; 7,7 ; 7,1. Semakin lama fermentasi dilakukan maka kadar gula akan mengalami penurunan disebabkan oleh komunitas mikroba yang terdapat di dalam kombucha memanfaatkan gula sebagai substrat untuk dirombak menjadi asam-asam organik.
3. Filum yang mendominasi Kombucha Anggur Laut pada ketiga variasi fermentasi (F7, F14, F21) adalah Proteobacteria (85,11% ; 99,64% ; 82,56%) sedangkan pada tingkatan genus yang mendominasi adalah: *Komagateibacter* (81,01% ; 95,25% ; 56,27%).
4. Berdasarkan nilai indeks Shannon $1,0 < \text{indeks} < 3,322$, sampel F7 dan F21 (1,35 dan 2,55) menunjukkan diversitas bakteri yang tergolong kriteria sedang dan sampel F14: 0,73 (kriteria rendah).

B. Saran

Penelitian mengenai analisis metagenomik ini diharapkan dapat dilanjutkan dengan menggunakan metode kit sebagai pembandingan dengan metode isolasi DNA secara konvensional, dilakukan analisis diversitas beta dan alfa richness, pengolahan data hasil sekuensing yang berupa *phylogenetic tree*, analisis *Enzyme Commission (EC) metagenome*, *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) Orthology metagenome*, dan data *Pathways* sehingga dapat diperoleh kandungan senyawa yang dihasilkan oleh berbagai bakteri yang terdapat di dalam Kombucha Anggur Laut dan interaksinya. Diperlukan juga adanya pengkajian yang lebih mendalam lagi mengenai beberapa genus yang tidak dapat teridentifikasi pada sekuensing pada penelitian ini dan pengidentifikasian sampai tingkatan spesies sehingga penerapan Kombucha Anggur Laut ini dapat lebih dispesifikasikan lagi dengan adanya data sampai tingkatan spesies yang lebih detail.

DAFTAR PUSTAKA

- Abellan-Schneyder, I., Matchado, M. S., Reitmeier, S., Sommer, A., Sewald, Z., Baumbach, J., List, M., & Neuhaus, K. (2021). Primer, Pipelines, Parameters: Issues in 16S rRNA Gene Sequencing. *mSphere*, 6(1), e01202-20. <https://doi.org/10.1128/mSphere.01202-20>
- Ahansaz, N., Tarrah, A., Pakroo, S., Corich, V., & Giacomini, A. (2023). Lactic Acid Bacteria in Dairy Foods: Prime Sources of Antimicrobial Compounds. *Fermentation*, 9(11), Article 11. <https://doi.org/10.3390/fermentation9110964>
- Amann, R. I., Ludwig, W., & Schleifer, K. H. (1995). Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiological Reviews*, 59(1), 143–169. <https://doi.org/10.1128/mr.59.1.143-169.1995>
- Amin, M. N. G., Rustyana, C., Rohim, F., Distiawan, R., Mawardani, H., Alamsjah, M., Tjahjaningsih, W., & Subekti, S. (2021). Optimization of sauce formulation from sea grape (*Caulerpa racemosa*) protein hydrolysate using response surface methodology. *Journal of Applied Phycology*, 33, 1–11. <https://doi.org/10.1007/s10811-020-02366-z>
- Ansari, F., Pourjafar, H., Kangari, A., & Homayouni, A. (2019). Evaluation of the Glucuronic Acid Production and Antibacterial Properties of Kombucha Black Tea. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 20(11), 985–990. <https://doi.org/10.2174/1389201020666190717100958>
- Antolak, H., Piechota, D., & Kucharska, A. (2021). Kombucha Tea—A Double Power of Bioactive Compounds from Tea and Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts (SCOBY). *Antioxidants*, 10(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/antiox10101541>
- Arıkan, M., Mitchell, A. L., Finn, R. D., & Gürel, F. (2020). Microbial composition of Kombucha determined using amplicon sequencing and shotgun metagenomics. *Journal of Food Science*, 85(2), 455–464. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14992>
- Armbrecht, M. (2013). *Detection of contamination in DNA and protein samples by photometric measurements*. <https://www.semanticscholar.org/paper/Detection-of-contamination-in-DNA-and-protein-by-Armbrecht/9930fb2e5317a1f26ae046bd6ce63e3aa4826c47>

- Atmadja, W. S., Kadi, A., Sulistijo, & Satari, R. (1996). *Pengenalan Jenis-Jenis Rumpun Laut Indonesia*. Puslitbang Oseanologi LIPI.
- Azizah, N., Al-Barrii, A. N., & Mulyani, S. (2012). Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Alkohol, pH, dan Produksi Gas pada Proses Fermentasi Bioetanol dari Whey dengan Substitusi Kulit Nanas. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 1(3), Article 3. <https://jatp.ift.or.id/index.php/jatp/article/view/73>
- Bernadip, B. R., Hadiwiyono, H., & Sudadi, S. (2014). *Keanekaragaman Jamur dan Bakteri Rizosfer Bawang Merah terhadap Patogen Moler* (Nomor 1) [Journal:eArticle, Universitas Sebelas Maret]. <https://www.neliti.com/id/publications/360807/>
- Bishop, P., Pitts, E. R., Budner, D., & Thompson-Witrick, K. A. (2022). Kombucha: Biochemical and microbiological impacts on the chemical and flavor profile. *Food Chemistry Advances*, 1, 100025. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100025>
- Budiandari, R. U., Prihatiningrum, A. E., Azara, R., & Aini, F. N. (2023). Influence of Sucrose and Scoby Concentration on Physical Characteristics of Pineapple Skin Kombucha: *Academia Open*, 8(2), Article 2. <https://doi.org/10.21070/acopen.8.2023.6935>
- Caulerpa racemosa* (Forsskål) J.Agardh: *AlgaeBase*. (t.t.). Diambil 23 Januari 2025, dari https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=1221
- Chakravorty, S., Bhattacharya, S., Chatzinotas, A., Chakraborty, W., Bhattacharya, D., & Gachhui, R. (2016). Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. *International Journal of Food Microbiology*, 220, 63–72. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.12.015>
- Chakravorty, S., Helb, D., Burday, M., Connell, N., & Alland, D. (2007). A detailed analysis of 16S ribosomal RNA gene segments for the diagnosis of pathogenic bacteria. *Journal of Microbiological Methods*, 69(2), 330–339. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2007.02.005>
- Chen, X., Sun, Y., Liu, H., Liu, S., Qin, Y., & Li, P. (2019). Advances in cultivation, wastewater treatment application, bioactive components of *Caulerpa lentillifera* and their biotechnological applications. *PeerJ*, 7, e6118. <https://doi.org/10.7717/peerj.6118>
- Cheng, C., Fei, Z., & Xiao, P. (2023). Methods to improve the accuracy of next-generation sequencing. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.982111>

- Christensen, C. M., Kok, C. R., Auchtung, J. M., & Hutkins, R. (2022). Prebiotics enhance persistence of fermented-food associated bacteria in in vitro cultivated fecal microbial communities. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.908506>
- Chu, S.-C., & Chen, C. (2006). Effects of origins and fermentation time on the antioxidant activities of kombucha. *Food Chemistry*, 98(3), 502–507. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.05.080>
- Coton, M., Pawtowski, A., Taminiau, B., Burgaud, G., Deniel, F., Coulloumme-Labarthe, L., Fall, A., Daube, G., & Coton, E. (2017). Unraveling microbial ecology of industrial-scale Kombucha fermentations by metabarcoding and culture-based methods. *FEMS Microbiology Ecology*, 93(5). <https://doi.org/10.1093/femsec/fix048>
- Damayati, D. S., Damayanthi, E., Riyadi, H., Wibawan, I. W. T., & Handharyani, E. (2023). The Analysis of Antioxidant Capacities and Sensory in Sea Grapes (*Caulerpa racemosa*) Powdered Drink as a Therapeutic Obesity: Analisis Kapasitas Antioksidan dan Sensori Minuman Serbuk Anggur Laut sebagai Terapeutik Obesitas. *Amerta Nutrition*, 7(2), Article 2. <https://doi.org/10.20473/amnt.v7i2.2023.175-184>
- Dawes, C. J. (1998). *Marine botany Second edition*. John Wiley and Sons, Inc.
- De Filippis, F., Troise, A. D., Vitaglione, P., & Ercolini, D. (2018). Different temperatures select distinctive acetic acid bacteria species and promotes organic acids production during Kombucha tea fermentation. *Food Microbiology*, 73, 11–16. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.01.008>
- De Roos, J., & De Vuyst, L. (2018). Acetic acid bacteria in fermented foods and beverages. *Current Opinion in Biotechnology*, 49, 115–119. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.08.007>
- Diez-Ozaeta, I., & Astiazaran, O. J. (2022). Recent advances in Kombucha tea: Microbial consortium, chemical parameters, health implications and biocellulose production. *International Journal of Food Microbiology*, 377, 109783. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109783>
- Doytchinov, V. V., & Dimov, S. G. (2022). Microbial Community Composition of the Antarctic Ecosystems: Review of the Bacteria, Fungi, and Archaea Identified through an NGS-Based Metagenomics Approach. *Life*, 12(6), Article 6. <https://doi.org/10.3390/life12060916>

- Effendi, Y., Pambudi, A., & Pancoro, A. (2019). Metagenomic analysis of *Fusarium oxysporum* f.sp. Cubense-infected soil in banana plantation, Sukabumi, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 20(7), Article 7. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d200721>
- Fatmawati, R. E., Aditya, A. C., & Susanti, M. (2020). Teknik Budidaya Rumpun Laut (*Caulerpa racemosa*) dengan Metode Sebar di Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau Jepara, Jawa Tengah. *Prosiding Seminar Nasional MIPA Kolaborasi*, 2(1), Article 1.
- G, M., & K, S. (1998). Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology. *Antonie van Leeuwenhoek*, 73(1). <https://doi.org/10.1023/a:1000669317571>
- Gao, X., Choi, H. G., Park, S. K., Sun, Z. M., & Nam, K. W. (2019). Assessment of optimal growth conditions for cultivation of the edible *Caulerpa okamurai* (Caulerpaceae, Chlorophyta) from Korea. *Journal of Applied Phycology*, 31(3), 1855–1862. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1691-z>
- Goh, W. N., Rosma, A., Kaur, B., Fazilah, A., Karim, A., & Bhat, R. (2012). Fermentation of black tea broth (Kombucha): I. Effects of sucrose concentration and fermentation time on the yield of microbial cellulose. *International Food Research Journal*, 19, 109–117.
- Greenwalt, C. J., Ledford, R. A., & Steinkraus, K. (1998). Determination and Characterization of the Antimicrobial Activity of the Fermented Tea *Kombucha*. *LWT - Food Science and Technology*, 31(3), 291–296. <https://doi.org/10.1006/food.1997.0354>
- Greenwalt, C. J., Steinkraus, K. H., & Ledford, R. A. (2000). Kombucha, the fermented tea: Microbiology, composition, and claimed health effects. *Journal of Food Protection*, 63(7), 976–981. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-63.7.976>
- Guerra, V., Beule, L., Lehtsaar, E., Liao, H.-L., & Karlovsky, P. (2020). Improved Protocol for DNA Extraction from Subsoils Using Phosphate Lysis Buffer. *Microorganisms*, 8(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8040532>
- Gupt, A., Naudiyal, S., Rani, A., & Kumar, S. (2024). Mental Health and the Microbiome: A Review of Psychological Impacts of Gut Microflora. *Current Pharmacology Reports*, 10(4), 223–236. <https://doi.org/10.1007/s40495-024-00357-z>

- Handelsman, J., Tiedje, J., Alvarez-Cohen, L., Ashburner, M., Cann, I. K. O., Delong, E. F., Doolittle, W. F., Fraser-Liggett, C. M., Godzik, A., Gordon, J. I., Riley, M., & Schmid, M. B. (2007). The New Science of Metagenomics. Dalam *The New Science of Metagenomics: Revealing the Secrets of Our Microbial Planet*. National Academies Press (US). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK54011/>
- Horstmann, U. (1983). Cultivation of the green alga, *Caulerpa racemosa*, in tropical waters and some aspects of its physiological ecology. *Aquaculture*, 32(3), 361–371. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(83\)90233-8](https://doi.org/10.1016/0044-8486(83)90233-8)
- Hur, S. J., Lee, S. Y., Kim, Y.-C., Choi, I., & Kim, G.-B. (2014). Effect of fermentation on the antioxidant activity in plant-based foods. *Food Chemistry*, 160, 346–356. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.112>
- Huse, S. M., Dethlefsen, L., Huber, J. A., Welch, D. M., Relman, D. A., & Sogin, M. L. (2008). Exploring Microbial Diversity and Taxonomy Using SSU rRNA Hypervariable Tag Sequencing. *PLOS Genetics*, 4(11), e1000255. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000255>
- Isenbarger, T. A., Carr, C. E., Johnson, S. S., Finney, M., Church, G. M., Gilbert, W., Zuber, M. T., & Ruvkun, G. (2008). The Most Conserved Genome Segments for Life Detection on Earth and Other Planets. *Origins of Life and Evolution of Biospheres*, 38(6), 517–533. <https://doi.org/10.1007/s11084-008-9148-z>
- Jayabalan, R., Malini, K., Sathishkumar, M., Swaminathan, K., & Yun, S.-E. (2010). Biochemical characteristics of tea fungus produced during kombucha fermentation. *Food Science and Biotechnology*, 19(3), 843–847. <https://doi.org/10.1007/s10068-010-0119-6>
- Jayantini, N. L. P. E. P., Ayundita, N. P. T., Mahaputra, I. P. A., Fatturochman, F. D., & Putra, A. A. G. R. Y. (2021). Uji Aktivitas Analgesik Gel Bulung Boni (*Caulerpa* sp.) Terhadap Mencit Putih (*Mus musculus*). *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 7(1), 27–31. <https://doi.org/10.36733/medicamento.v7i1.1502>
- K. B. I. (last). (t.t.). *Kombucha Code of Practice* [Post]. Kombucha Brewers International. Diambil 3 Mei 2024, dari <https://kombuchabrewers.org/kombucha-code-of-practice/>
- Kaashyap, M., Cohen, M., & Mantri, N. (2021). Microbial Diversity and Characteristics of Kombucha as Revealed by Metagenomic and Physicochemical Analysis. *Nutrients*, 13(12), 4446. <https://doi.org/10.3390/nu13124446>

- Karnia, I., Hamidah, S., & Thamrin, G. A. R. (2020). Pengaruh Masa Simpan Madu Kelulut (*Trigona* Sp) Terhadap Kadar Gula Pereduksi dan Keasaman. *Jurnal Sylva Scientiae*, 2(6), Article 6. <https://doi.org/10.20527/jss.v2i6.1908>
- Khaerah, A., Halijah, H., & Nawir, N. (2020). Perbandingan Total Mikroba Kombucha dengan Variasi Jenis Teh dan Lama Fermentasi. *bionature*, 21(2), Article 2. <https://doi.org/10.35580/bionature.v21i2.16537>
- Khamidah, A., & Antarlina, S. S. (2020). Peluang Minuman Kombucha Sebagai Pangan Fungsional. *Agrika: Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*, 14(2), 184–200.
- Khosravinia, H., Murthy, H. N. N., Parasad, D. T., & Pirany, N. (2007). Optimizing factors influencing DNA extraction from fresh whole avian blood. *African Journal of Biotechnology*, 6(4), Article 4. <https://doi.org/10.4314/ajb.v6i4.56247>
- Kim, B.-R., Shin, J., Guevarra, R., Lee, J. H., Kim, D. W., Seol, K.-H., Lee, J.-H., Kim, H. B., & Isaacson, R. (2017). Deciphering Diversity Indices for a Better Understanding of Microbial Communities. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(12), 2089–2093. <https://doi.org/10.4014/jmb.1709.09027>
- Kim, H. S., Hyun Byun, S., & Mu Lee, B. (2005). Effects of Chemical Carcinogens and Physicochemical Factors on the UV Spectrophotometric Determination of DNA. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 68(23–24), 2081–2095. <https://doi.org/10.1080/15287390500182503>
- Kluz, M. I., Pietrzyk, K., Pastuszcak, M., Kacaniova, M., Kita, A., Kapusta, I., Zagula, G., Zagrobelna, E., Strus, K., Marciniak-Lukasiak, K., Stanek-Tarkowska, J., Timar, A. V., & Puchalski, C. (2022). Microbiological and Physicochemical Composition of Various Types of Homemade Kombucha Beverages Using Alternative Kinds of Sugars. *Foods (Basel, Switzerland)*, 11(10), 1523. <https://doi.org/10.3390/foods11101523>
- Kostka, J. E., Prakash, O., Overholt, W. A., Green, S. J., Freyer, G., Canion, A., Delgardio, J., Norton, N., Hazen, T. C., & Huettel, M. (2011). Hydrocarbon-degrading bacteria and the bacterial community response in gulf of Mexico beach sands impacted by the deepwater horizon oil spill. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(22), 7962–7974. <https://doi.org/10.1128/AEM.05402-11>
- Kumar, A., Krishnamoorthy, E., Devi, H., Uchoi, D., CS, T., Ninan, G., & Zynudheen, A. (2018). Influence of sea grapes (*Caulerpa racemosa*) supplementation on physical, functional, and anti-oxidant properties of semi-sweet biscuits. *Journal of Applied Phycology*, 30. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1310-4>

- Kuswari, M., Nurkolis, F., Mayulu, N., Ibrahim, F. M., Taslim, N. A., Wewengkang, D. S., Sabrina, N., Arifin, G. R., Mantik, K. E. K., Bahar, M. R., Rifqiyati, N., Rompies, R., Augusta, P. S., & Permatasari, H. K. (2021). Sea grapes extract improves blood glucose, total cholesterol, and PGC-1 α in rats fed on cholesterol- and fat-enriched diet. *F1000Research*, 10, 718. <https://doi.org/10.12688/f1000research.54952.2>
- Kuzu, K. T., Aykut, G., Tek, S., Yatmaz, E., Germec, M., Yavuz, I., & Turhan, I. (2023). Production and Characterization of Kombucha Tea from Different Sources of Tea and Its Kinetic Modeling. *Processes*, 11(7), Article 7. <https://doi.org/10.3390/pr11072100>
- Laureys, D., Britton, S. J., & De Clippeleer, J. (2020). Kombucha Tea Fermentation: A Review. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 78(3), 165–174. <https://doi.org/10.1080/03610470.2020.1734150>
- Leonarski, E., Guimarães, A. C., Cesca, K., & Poletto, P. (2022). Production process and characteristics of kombucha fermented from alternative raw materials. *Food Bioscience*, 49, 101841. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101841>
- Lorenz, T. C. (2012). Polymerase Chain Reaction: Basic Protocol Plus Troubleshooting and Optimization Strategies. *Journal of Visualized Experiments : JoVE*, 63, 3998. <https://doi.org/10.3791/3998>
- Luhung, I., Wu, Y., Ng, C. K., Miller, D., Cao, B., & Chang, V. W.-C. (2015). Protocol Improvements for Low Concentration DNA-Based Bioaerosol Sampling and Analysis. *PLOS ONE*, 10(11), e0141158. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0141158>
- Martínez-Leal, J., Ponce-García, N., & Escalante-Aburto, A. (2020). Recent Evidence of the Beneficial Effects Associated with Glucuronic Acid Contained in Kombucha Beverages. *Current Nutrition Reports*, 9(3), 163–170. <https://doi.org/10.1007/s13668-020-00312-6>
- Mazlan, A. H., Aqhmali, M. H., Muhamad Najib, Mizaton Hazizul Hassan, Fazleen Haslinda Mohd Hatta, & Rosmadi Mohd Yusof. (2024). Effect of DNA Template Concentration on Standard Polymerase Chain Reaction. *International Journal of Pharmaceuticals, Nutraceuticals and Cosmetic Science*, 7(1), 1–11. <https://doi.org/10.24191/IJPNaCS.v7i1.01>
- Miras, R., Lorenzo, J. M., Ros, G., Amarowicz, R., Pateiro, M., & Nieto, G. (2020). Seaweeds as a Functional Ingredient for a Healthy Diet. *Marine Drugs*, 18, 301. <https://doi.org/10.3390/md18060301>

- Ngadiarti, I., Nurkolis, F., Handoko, M. N., Perdana, F., Permatasari, H. K., Taslim, N. A., Mayulu, N., Wewengkang, D. S., Noor, S. L., Batubara, S. C., Tanner, M. J., & Sabrina, N. (2022). Anti-aging potential of cookies from sea grapes in mice fed on cholesterol- and fat-enriched diet: In vitro with in vivo study. *Heliyon*, 8(5), e09348. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09348>
- Ningsih, D. R., Bintoro, V. P., & Nurwantoro, N. (2018). Analisis Total Padatan Terlarut, Kadar Alkohol, Nilai pH dan Total Asam pada Kefir Optima dengan Penambahan High Fructose Syrup (HFS). *Jurnal Teknologi Pangan*, 2(2), Article 2. <https://doi.org/10.14710/jtp.2018.20602>
- Nummer, B. A. (2013). Kombucha brewing under the Food and Drug Administration model Food Code: Risk analysis and processing guidance. *Journal of Environmental Health*, 76(4), 8–11.
- Nur, M., Hasriadi, H., Juwita, A. I., & Mursida, M. (2021). Korelasi waktu fermentasi terhadap arus listrik Albedo dan Flavedo Jeruk Pameló (*Citrus maxima*). *Agrokompleks*, 21(1), Article 1. <https://doi.org/10.51978/japp.v21i1.302>
- Nuraini, R. A. T. (2006). Percobaan Berbagai Macam Metode Budidaya Latoh (*Caulerpa racemosa*) Sebagai Upaya Menunjang Kontinuitas Produksi. *ILMU KELAUTAN: Indonesian Journal of Marine Sciences*, 11(2), 101–105. <https://doi.org/10.14710/ik.ijms.11.2.101-105>
- Ohwofasa, A., Dhami, M., Winefield, C., & On, S. L. W. (2024). Elevated abundance of *Komagataeibacter* results in a lower pH in kombucha production; insights from microbiomic and chemical analyses. *Current Research in Food Science*, 8, 100694. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2024.100694>
- Ojo, A. O., & de Smidt, O. (2023). Microbial Composition, Bioactive Compounds, Potential Benefits and Risks Associated with Kombucha: A Concise Review. *Fermentation*, 9(5), Article 5. <https://doi.org/10.3390/fermentation9050472>
- Ortiz-Burgos, S. (2016). Shannon-Weaver Diversity Index. Dalam M. J. Kennish (Ed.), *Encyclopedia of Estuaries* (hlm. 572–573). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-017-8801-4_233
- Pakki, E., Tayeb, R., Usmar, U., Ridwan, I. A., & Muslimin, L. (2020). Zubia. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 15(4), 401.
- Permatasari, H. K., Firani, N. K., Prijadi, B., Irnandi, D. F., Riawan, W., Yusuf, M., Amar, N., Chandra, L. A., Yusuf, V. M., Subali, A. D., & Nurkolis, F. (2022). Kombucha drink enriched with sea grapes (*Caulerpa racemosa*) as potential functional beverage to contrast obesity: An in vivo and in vitro approach.

- Clinical Nutrition ESPEN*, 49, 232–240.
<https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2022.04.015>
- Permatasari, H. K., Nurkolis, F., Augusta, P. S., Mayulu, N., Kuswari, M., Taslim, N. A., Wewengkang, D. S., Batubara, S. C., & Ben Gunawan, W. (2021). Kombucha tea from seagrapes (*Caulerpa racemosa*) potential as a functional anti-ageing food: In vitro and in vivo study. *Heliyon*, 7(9), e07944. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07944>
- Permatasari, H. K., Nurkolis, F., Hardinsyah, H., Taslim, N. A., Sabrina, N., Ibrahim, F. M., Visnu, J., Kumalawati, D. A., Febriana, S. A., Sudargo, T., Tanner, M. J., Kurniatanty, I., Yusuf, V. M., Rompies, R., Bahar, M. R., Holipah, H., & Mayulu, N. (2022). Metabolomic Assay, Computational Screening, and Pharmacological Evaluation of *Caulerpa racemosa* as an Anti-obesity With Anti-aging by Altering Lipid Profile and Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ Coactivator 1- α Levels. *Frontiers in Nutrition*, 9, 939073. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.939073>
- Pradhan, S., Prabhakar, M. R., Karthika Parvathy, K. R., Dey, B., Jayaraman, S., Behera, B., & Paramasivan, B. (2023). Metagenomic and physicochemical analysis of Kombucha beverage produced from tea waste. *Journal of Food Science and Technology*, 60(3), 1088–1096. <https://doi.org/10.1007/s13197-022-05476-3>
- Pulukadang, I., Keppel, R. Ch., & Gerung, G. S. (2013). A study on bioecology of macroalgae, genus *Caulerpa* in northern Minahasa Waters, North Sulawesi Province. *Aquatic Science & Management*, 1(1), 26–31.
- Puspaningrum, D. H. D., Sumadewi, N. L. U., & Sari, N. K. Y. (2021). Kandungan Total Asam, Total Gula dan Nilai pH Kombucha Cascara Kopi Arabika Desa Catur Bangli Selama Fermentasi. *Seminar Ilmiah Nasional Teknologi, Sains, Dan Sosial Humaniora (SINTESA)*, 4. <https://jurnal.undhirabali.ac.id/index.php/sintesa/article/view/1687>
- Reale, A., Konietzny, U., Coppola, R., Sorrentino, E., & Greiner, R. (2007). The Importance of Lactic Acid Bacteria for Phytate Degradation during Cereal Dough Fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(8), 2993–2997. <https://doi.org/10.1021/jf063507n>
- REISS, J. (1994). Influence of different sugars on the metabolism of the tea fungus. *Influence of different sugars on the metabolism of the tea fungus*, 198(3), 258–261.

- Rhee, S. J., Lee, J.-E., & Lee, C.-H. (2011). Importance of lactic acid bacteria in Asian fermented foods. *Microbial Cell Factories*, 10(1), S5. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-10-S1-S5>
- Rizki, J., Asmawati, A., & Irfan, I. (2023). Karakteristik Mutu Madu Trigona yang Disimpan pada Suhu Ruang dan Suhu Chilling. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian*, 8(4), Article 4. <https://doi.org/10.17969/jimfp.v8i4.27850>
- Roychoudhuri, K., Santra, S., Goswami, R., & Pal, B. (2025). The Gut Microbiome: Unravelling Its Role in Digestive Health and Overall Wellness. Dalam *Impact of Yoga and Proper Diet on Cardiopulmonary Function* (hlm. 231–272). IGI Global Scientific Publishing. <https://doi.org/10.4018/979-8-3693-8267-7.ch008>
- Saptasari, M. (2012). Variasi Ciri Morfologi Dan Potensi Makroalga Jenis Caulerpa Di Pantai Kondang Merak Kabupaten Malang. *Jurnal el-Hayah*, 1. <https://doi.org/10.18860/elha.v1i2.1695>
- Saputra, H. W., Muin, R., & Permata, E. (2017). Karakteristik fisik produk fermentasi kombucha dari berbagai daun berflavanoid tinggi. *Jurnal Teknik Kimia*, 23(4), Article 4. <https://doi.org/10.36706/jtk.v23i4.1080>
- Savary, O., Mounier, J., Thierry, A., Poirier, E., Jourden, J., Maillard, M.-B., Penland, M., Decamps, C., Coton, E., & Coton, M. (2021). Tailor-made microbial consortium for Kombucha fermentation: Microbiota-induced biochemical changes and biofilm formation. *Food Research International*, 147, 110549. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110549>
- Selvaraj, S., & Gurumurthy, K. (2023). An overview of probiotic health booster-kombucha tea. *Chinese Herbal Medicines*, 15(1), 27–32. <https://doi.org/10.1016/j.chmed.2022.06.010>
- Selvaraj, S., & Gurumurthy, K. (2024). Metagenomic, organoleptic profiling, and nutritional properties of fermented kombucha tea substituted with recycled substrates. *Frontiers in Microbiology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1367697>
- Setiaputri, A. A., Barokah, G. R., Sahaba, M. A. B., Arbajayanti, R. D., Fabella, N., Pertiwi, R. M., Nurilmala, M., Nugraha, R., & Abdullah, A. (2020). Perbandingan Metode Isolasi DNA pada Produk Perikanan Segar dan Olahan: *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 23(3), Article 3. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v23i3.32314>

- Sionek, B., Szydłowska, A., Küçüköz, K., & Kołożyn-Krajewska, D. (2023). Traditional and New Microorganisms in Lactic Acid Fermentation of Food. *Fermentation*, 9(12), Article 12. <https://doi.org/10.3390/fermentation9121019>
- Soemarie, Y. B., Milanda, T., & Barliana, M. I. (2021). Fermented Foods as Probiotics: A Review. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 12(4), 335–339. https://doi.org/10.4103/japtr.japtr_116_21
- Thomas, T., Gilbert, J., & Meyer, F. (2012). Metagenomics—A guide from sampling to data analysis. *Microbial Informatics and Experimentation*, 2, 3. <https://doi.org/10.1186/2042-5783-2-3>
- Titlyanov, A., Titlyanova, V., Li, X., & Huang, H. (2016). *Coral Reef Marine Plants of Hainan Island—1st Edition* (1st Edition). Academic Press, Cambridge. <https://www.elsevier.com/books/coral-reef-marine-plants-of-hainan-island/titlyanov/978-0-12-811963-1>
- Ulfa, F., Sarong, M. A., & Abdullah, A. (2018). Dampak Pengalihan Lahan Mangrove Terhadap Keanekaragaman Benthos di Kecamatan Jaya Baru Kota Banda Aceh. *Prosiding Seminar Nasional Biologi, Teknologi dan Kependidikan*, 4(1), Article 1. <https://doi.org/10.22373/pbio.v4i1.2530>
- Verlaque, M., Durand, C., Huisman, J. M., Boudouresque, C.-F., & Le Parco, Y. (2003). On the identity and origin of the Mediterranean invasive *Caulerpa racemosa* (Caulerpales, Chlorophyta). *European Journal of Phycology*, 38(4), 325–339. <https://doi.org/10.1080/09670260310001612592>
- Verma, A., Inslicht, S. S., & Bhargava, A. (2024). Gut-Brain Axis: Role of Microbiome, Metabolomics, Hormones, and Stress in Mental Health Disorders. *Cells*, 13(17), Article 17. <https://doi.org/10.3390/cells13171436>
- Villarreal-Soto, S. A., Beaufort, S., Bouajila, J., Souchard, J.-P., & Taillandier, P. (2018). Understanding Kombucha Tea Fermentation: A Review. *Journal of Food Science*, 83(3), 580–588. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14068>
- Vollmers, J., Wiegand, S., & Kaster, A.-K. (2017). Comparing and Evaluating Metagenome Assembly Tools from a Microbiologist's Perspective—Not Only Size Matters! *PLOS ONE*, 12(1), e0169662. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169662>
- Wang, B., Rutherford-Markwick, K., Zhang, X.-X., & Mutukumira, A. N. (2022). Kombucha: Production and Microbiological Research. *Foods (Basel, Switzerland)*, 11(21), 3456. <https://doi.org/10.3390/foods11213456>

- Wistiana, D., & Zubaidah, E. (2015). Karakteristik Kimiawi dan Mikrobiologis Kombucha dari Berbagai Daun Tinggi Fenol Selama Fermentasi [In Press September 2015]. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 3(4), Article 4. <https://jpa.ub.ac.id/index.php/jpa/article/view/268>
- Wolfe, B. E., & Dutton, R. J. (2015). Fermented Foods as Experimentally Tractable Microbial Ecosystems. *Cell*, 161(1), 49–55. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.02.034>
- Xia, A.-N., Liu, J., Kang, D.-C., Zhang, H.-G., Zhang, R.-H., & Liu, Y.-G. (2020). Assessment of endophytic bacterial diversity in rose by high-throughput sequencing analysis. *PLOS ONE*, 15(4), e0230924. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230924>
- Yang, J., Lagishetty, V., Kurnia, P., Henning, S. M., Ahdoot, A. I., & Jacobs, J. P. (2022). Microbial and Chemical Profiles of Commercial Kombucha Products. *Nutrients*, 14(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/nu14030670>
- Yang, P., Liu, D.-Q., Liang, T.-J., Li, J., Zhang, H.-Y., Liu, A.-H., Guo, Y.-W., & Mao, S.-C. (2015). Bioactive constituents from the green alga *Caulerpa racemosa*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 23(1), 38–45. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2014.11.031>
- Yang, S., Loro, E., Wada, S., Kim, B., Tseng, W.-J., Li, K., Khurana, T. S., & Arany, Z. (2020). Functional effects of muscle PGC-1alpha in aged animals. *Skeletal Muscle*, 10(1), 14. <https://doi.org/10.1186/s13395-020-00231-8>
- Yao, L., Zhang, J., Lu, J., Chen, D., Song, S., Wang, H., Sun, M., & Feng, T. (2023). Revealing the influence of microbiota on the flavor of kombucha during natural fermentation process by metagenomic and GC-MS analysis. *Food Research International*, 169, 112909. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112909>
- Yudasmara, G. A. (2014). Budidaya Anggur Laut (*Caulerpa Racemosa*) melalui Media Tanam Rigid Quadrant Nets Berbahan Bambu. *JST (Jurnal Sains Dan Teknologi)*, 3(2), Article 2. <https://doi.org/10.23887/jstundiksha.v3i2.4481>
- Zeng, L., Ma, M., Li, C., & Luo, L. (2017). Stability of tea polyphenols solution with different pH at different temperatures. *International Journal of Food Properties*, 20(1), 1–18. <https://doi.org/10.1080/10942912.2014.983605>
- Zhang, H., Wang, X., Chen, A., Li, S., Tao, R., Chen, K., Huang, P., Li, L., Huang, J., Li, C., & Zhang, S. (2024). Comparison of the full-length sequence and sub-regions of 16S rRNA gene for skin microbiome profiling. *mSystems*, 9(7), e00399-24. <https://doi.org/10.1128/msystems.00399-24>

- Zhang, L., Chen, F., Zeng, Z., Xu, M., Sun, F., Yang, L., Bi, X., Lin, Y., Gao, Y., Hao, H., Yi, W., Li, M., & Xie, Y. (2021). Advances in Metagenomics and Its Application in Environmental Microorganisms. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.766364>
- Zhou, D., Zhao, Y., Li, J., Ravichandran, V., Wang, L., Huang, Q., Chen, C., Ni, H., & Yin, J. (2021). Effects of Phytic Acid-Degrading Bacteria on Mineral Element Content in Mice. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.753195>
- Zhou, Z., Wu, H., Li, D., Zeng, W., Huang, J., & Wu, Z. (2022). Comparison of gut microbiome in the Chinese mud snail (*Cipangopaludina chinensis*) and the invasive golden apple snail (*Pomacea canaliculata*). *PeerJ*, 10, e13245. <https://doi.org/10.7717/peerj.13245>
- Zinger, L., Amaral-Zettler, L. A., Fuhrman, J. A., Horner-Devine, M. C., Huse, S. M., Welch, D. B. M., Martiny, J. B. H., Sogin, M., Boetius, A., & Ramette, A. (2011). Global Patterns of Bacterial Beta-Diversity in Seafloor and Seawater Ecosystems. *PLoS ONE*, 6(9), e24570. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024570>
- Zubia, M., Draisma, S. G. A., Morrissey, K. L., Varela-Álvarez, E., & De Clerck, O. (2020). Concise review of the genus *Caulerpa* J.V. Lamouroux. *Journal of Applied Phycology*, 32(1), 23–39. <https://doi.org/10.1007/s10811-019-01868-9>