

## PENGARUH WAKTU FERMENTASI TERHADAP KADAR ALKOHOL KOMBUCHA TEH HIJAU BUAH NANAS DAN IMPLIKASINYA DALAM STANDAR KEHALALAN

### *THE EFFECT OF FERMENTATION DURATION ON THE ALCOHOL CONTENT OF GREEN TEA PINEAPPLE KOMBUCHA AND ITS IMPLICATIONS FOR HALALNESS STANDARTS*

Rosita Elsa Monica<sup>1</sup>, Eka Andriani<sup>1</sup>, Milliyantri Elvandari<sup>1</sup>  
(Email/Hp: 2210631220019@student.unsika.ac.id / 089668673335)

<sup>1</sup>Prodi Gizi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Singaperbangsa Karawang

#### ABSTRAK

**Pendahuluan:** Kombucha adalah minuman teh fermentasi yang ditambahkan gula dan kultur kombucha *Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast* (SCOBY). Selama proses fermentasi, kombucha menghasilkan alkohol sebagai produk sampingan. **Tujuan:** Menganalisis pengaruh lama fermentasi terhadap kandungan alkohol dan dampaknya terhadap status halal pada kombucha teh hijau nanas. **Bahan dan Metode:** Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan menggunakan perbedaan durasi fermentasi kedua selama 1, 3, 5, dan 7 hari pada tiga formulasi F1, F2, dan F3. Setiap perlakuan diulang dua kali. Kandungan alkohol dianalisis menggunakan metode oksidasi asam kromat dan data diolah menggunakan SPSS untuk uji normalitas, homogenitas, analisis *One Way ANOVA*, dan uji *post hoc Tukey*. **Hasil:** Berdasarkan batas maksimum alkohol <0,5% yang ditetapkan oleh Majelis Ulama Indonesia, hanya kombucha pada hari ke-1 dan hari ke-3 Formulasi F3 yang memenuhi standar halal, dengan perbandingan teh hijau dan nanas 40:60 gram, dan kandungan alkohol masing-masing 0,346% dan 0,372%. **Kesimpulan:** Lama fermentasi memiliki pengaruh yang signifikan terhadap kandungan alkohol kombucha teh hijau dengan nanas ( $p < 0,05$ ). Edukasi mengenai pemilihan bahan baku, jenis buah, dan kontrol proses fermentasi menjadi langkah penting dalam menjaga keamanan dan kehalalan produk kombucha yang dikonsumsi.

**Kata kunci:** Kombucha, kadar alkohol, teh hijau, buah nanas, kehalalan produk

#### ABSTRACT

**Introduction:** Kombucha is a fermented tea beverage to which sugar and a kombucha culture, commonly referred to as *Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast* (SCOBY), are added. During the fermentation process, kombucha produces ethanol as a byproduct. **Objective:** To analyze the effect of fermentation duration on the alcohol content of pineapple green tea kombucha and its implications for halal status. **Methods:** This study was an experimental research with a Completely Randomized Design (CRD) using variations in secondary fermentation time on days 1, 3, 5, and 7. Each treatment was repeated twice. Alcohol content was analyzed using the dichromate oxidation method, and the data were processed using SPSS through normality tests, homogeneity tests, *One Way ANOVA*, and further *Tukey* tests. **Result:** Based on the alcohol limit provisions of <0.5% according to the Majelis Ulama Indonesia (MUI), only kombucha fermented on the 1st day still meets the halal criteria, especially in formulation F3 (green tea: pineapple ratio 40:60 grams) with an alcohol content of 0.346% and 0.372%.

*Edukasi mengenai pemilihan bahan baku, jenis buah, dan kontrol proses fermentasi menjadi langkah penting dalam menjaga keamanan dan kehalalan produk kombucha yang dikonsumsi.*

**Conclusion:** *The fermentation duration has a significant effect on the alcohol content of green tea pineapple kombucha ( $p < 0.05$ ).*

**Keywords:** *Kombucha, alcohol content, green tea, pineapple fruit, product halalness*

## PENDAHULUAN

Kombucha adalah minuman teh fermentasi yang dibuat dengan menambahkan gula dan kultur kombucha yang biasa dikenal sebagai kultur simbiotik bakteri dan ragi.<sup>1</sup> Selama proses fermentasi, kombucha menghasilkan senyawa seperti polifenol teh, gula, vitamin yang larut dalam air, asam organik, dan nutrisi dalam jumlah kecil. Komponen-komponen ini membuat kombucha menjadi minuman fungsional yang dikenal karena potensi manfaat kesehatannya. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa kombucha dapat bertindak sebagai probiotik, meningkatkan asupan vitamin atau mineral tertentu, meningkatkan sistem kekebalan tubuh, dan dapat membantu dalam pencegahan penyakit tidak menular seperti penyakit kardiovaskular, diabetes, dan kanker.<sup>2</sup>

Menurut *Grand View Research* pasar kombucha global diperkirakan mencapai USD 4,26 miliar pada tahun 2024 dan akan terus meningkat menjadi USD 9,09 miliar pada tahun 2030 dengan *Compound Annual Growth Rate* (CAGR) sebesar 13,5% pada periode 2025–2030.<sup>3</sup> Pertumbuhan ini disebabkan oleh meningkatnya kecenderungan konsumen untuk lebih memilih minuman fungsional dan meningkatnya kesadaran akan manfaat kesehatan kombucha. Selain itu, kombucha dipromosikan sebagai minuman yang membantu daya tahan tubuh, meningkatkan penyerapan nutrisi, dan menjaga keseimbangan mikrobiota usus.<sup>4</sup> Oleh karena itu, kombucha telah mendapatkan popularitas di seluruh dunia.<sup>5</sup>

Di Indonesia kombucha dikenal dengan jamur teh atau jamur dipo dan mulai populer dikonsumsi. Menurut laporan *Research and Market* pasar kombucha di Indonesia menunjukkan pertumbuhan yang stabil dengan nilai sekitar USD 21,3 juta pada tahun 2024 dan diprediksi akan meningkat mencapai USD 77,5 juta pada tahun 2033 dengan CAGR sebesar 15,5%.<sup>6</sup> Tren ini dipengaruhi oleh perubahan pola konsumen terhadap produk sehat dan produk yang difermentasi secara alami. Selain itu, setelah pandemi, konsumen semakin cenderung memilih minuman yang dianggap lebih alami dan sehat sehingga popularitas kombucha semakin meningkat.<sup>7</sup>

Meskipun perkembangan kombucha meningkat, minuman ini menghadapi tantangan karena etanol diproduksi sebagai produk sampingan selama proses fermentasinya. Kandungan alkohol ini menimbulkan kekhawatiran mengenai keamanan konsumsi dan pertimbangan halal, yang menyebabkan penurunan popularitas kombucha pada. Hal ini terkait dengan mekanisme fermentasi kombucha, yang melibatkan aktivitas mikroorganisme dalam kultur SCOBY yang bertanggung jawab atas produksi berbagai metabolit, termasuk etanol.<sup>8</sup>

Proses fermentasi kombucha melibatkan bakteri asam asetat dan ragi yang dimasukkan ke dalam SCOBY. Pada tahap pertama, ragi menghasilkan enzim sukrase, yang memecah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa. Monosakarida ini kemudian difermentasi menjadi etanol dan karbon dioksida. Kemudian, bakteri asam asetat mengoksidasi etanol menjadi asam organik seperti asam asetat dan asam glukonat.<sup>9</sup> Setelah itu, bakteri asam asetat mengoksidasi etanol

menjadi asam organik seperti asam asetat dan asam glukonat. Asam utama, yaitu asam asetat, memainkan peran penting dalam menciptakan rasa asam khas kombucha dan juga memengaruhi daya tarik keseluruhan minuman tersebut.<sup>10</sup>

Fermentasi kombucha dapat dilakukan dalam dua tahap, dengan tahap fermentasi sekunder melanjutkan hasil dari fermentasi primer, dan dipisahkan dari SCOBY. Dalam fermentasi sekunder, dilakukan dalam wadah tertutup, mendorong pertumbuhan mikroorganisme anaerob fakultatif dan mengubah nutrisi serta substrat yang ditambahkan, yang dapat menghasilkan kombucha dengan berbagai rasa dan aroma.<sup>11</sup> Penelitian Dewi mengenai formulasi kombucha teh hijau dengan penambahan buah tambahan menunjukkan bahwa penambahan substrat selama fermentasi dapat memengaruhi karakteristik kimia dan aktivitas biologis kombucha.<sup>12</sup> Namun, penelitian terkait fermentasi sekunder dengan penambahan buah terhadap pembentukan alkohol masih terbatas, khususnya teh hijau dan buah nanas.

Teh (*Camellia sinensis L.*) adalah salah satu tanaman yang digunakan sebagai bahan baku dasar dalam produksi minuman kombucha.<sup>13</sup> Produksi teh di Indonesia menjadi salah satu hasil komoditas yang berkontribusi pada perekonomian di Indonesia. Berdasarkan Badan Pusat Statistik (BPS) produksi teh di Indonesia mencapai 116,51 ribu ton dengan urutan tertinggi penghasil teh terbesar di Indonesia yaitu Provinsi Jawa Barat sebesar 64,98%. Data produksi ini disajikan secara total tanpa dibedakan menurut jenis teh.<sup>14</sup> Berdasarkan nilai ekspor, teh hijau Indonesia diperdagangkan di pasar internasional, mewakili sekitar 10-20% dari total jumlah teh, yang menunjukkan adanya produksi teh hijau domestik. Teh yang biasa digunakan sebagai bahan kombucha yaitu jenis teh oolong, teh hitam, dan teh hijau masing-masing mengandung senyawa bioaktif yang berbeda satu sama lain.<sup>15</sup>

Senyawa yang terdapat dalam teh hijau mempengaruhi pembentukan alkohol selama fermentasi kombucha. Teh hijau mengandung komponen biologi aktif seperti polifenol, katekin, tanin, dan senyawa fenolik yang lebih tinggi dibandingkan jenis teh lain,<sup>15</sup> serta memengaruhi aktivitas mikroba selama fermentasi dan mempengaruhi peningkatan kadar alkohol dalam proses fermentasi.<sup>16</sup> Menurut penelitian Hassmy,<sup>17</sup> fermentasi kombucha teh hijau memiliki aktivitas antioksidan yang dipengaruhi lama fermentasi dan menunjukkan hubungan antara proses dan perubahan biologis kombucha. Namun, penelitian tersebut hanya berfokus pada aktivitas antioksidan dan belum membahas perubahan kadar alkohol maupun aspek keamanan dan kehalalan produk fermentasi kombucha teh hijau.

Selain itu, hasil penelitian Jakubeck menunjukkan bahwa kadar alkohol dalam kombucha bervariasi tergantung pada jenis teh dan lama fermentasi.<sup>18</sup> Dalam studi tersebut, teh hitam, teh putih, teh merah, dan teh hijau digunakan selama periode fermentasi 0 hari, 1 hari, 7 hari, dan 14 hari, dengan kadar alkohol mencapai puncaknya pada hari ketujuh. Nilai alkohol tertinggi dilaporkan berkisar antara 3,0-3,5% tergantung pada jenis teh, dan kemudian menurun pada hari keempat belas karena peningkatan konsentrasi asam asetat.

Buah nanas (*Ananas comosus*) adalah salah satu buah yang sering ditambahkan selama fermentasi sekunder untuk meningkatkan karakteristik sensorik, memperkaya aroma, dan memperbaiki rasa kombucha. Indonesia adalah produsen terbesar keempat di dunia, dengan produksi tahunan sebesar 1,8 juta ton. Berdasarkan Badan Pusat Statistik (2024) Provinsi Jawa Barat adalah salah satu daerah penghasil nanas utama di Indonesia, dengan volume produksi

mencapai 171.084,328 ton. Sementara itu, produksi di Kabupaten Karawang mencapai 16,78 ton. Buah nanas menjadi salah satu buah yang tersedia sepanjang tahun.<sup>20</sup>

Buah nanas mengandung monosakarida dalam bentuk sukrosa, glukosa, dan fruktosa, yang berperan sebagai sumber karbon bagi mikroorganisme selama proses fermentasi. Kandungan gula dalam nanas memungkinkan ragi menggunakan gula ini sebagai metabolit selama fermentasi.<sup>21</sup> Kandungan karbohidrat dan gula pereduksi dalam nanas sekitar 13,3 gram karbohidrat dan 9,26 gram gula per 100 gram. Penelitian terdahulu mengenai kombucha umumnya berfokus pada penggunaan sukrosa sebagai sumber karbon utama selama fermentasi. Hasil penelitian Cohen,<sup>22</sup> melaporkan bahwa konsentrasi sukrosa dan suhu fermentasi memengaruhi karakteristik sensorik serta pembentukan senyawa organik pada kombucha, namun penelitian tersebut belum membahas pengaruh gula alami buah seperti fruktosa dan glukosa terhadap pembentukan alkohol selama fermentasi.

Penambahan buah pada fermentasi sekunder diketahui dapat meningkatkan karakteristik sensorik kombucha. Penelitian Suciati,<sup>23</sup> menunjukkan bahwa penambahan sari nanas Subang pada produk fermentasi kombucha mampu meningkatkan penerimaan sensorik terutama pada aspek aroma dan rasa, sehingga nanas berpotensi digunakan sebagai bahan tambahan untuk menghasilkan karakteristik kombucha yang lebih disukai konsumen. Hal ini didukung oleh penelitian mengenai fermentasi sekunder kombucha yang menunjukkan bahwa penambahan substrat berbasis tanaman dapat meningkatkan pembentukan senyawa volatil dan memperkaya aroma produk fermentasi.<sup>24</sup>

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian mengenai kombucha teh hijau dengan penambahan buah nanas pada fermentasi sekunder penting dilakukan karena tidak hanya berpotensi meningkatkan karakteristik sensorik produk, tetapi juga dapat memberikan pengaruh terhadap pembentukan alkohol akibat adanya gula alami buah berupa fruktosa dan glukosa. Selain itu, penelitian ini diharapkan dapat memperkuat kajian ilmiah mengenai hubungan antara penggunaan gula alami buah, kadar alkohol, dan implikasi kehalalan pada produk kombucha fermentasi sekunder yang hingga saat ini masih terbatas.

## **BAHAN DAN METODE**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL) pada kombucha teh hijau buah nanas dalam perbedaan waktu fermentasi. Fermentasi sekunder dilakukan dengan perbedaan hari dari 1, 3, 5, dan 7. Setiap perlakuan diulang sebanyak dua kali. Kemudian diuji kadar alkohol dengan metode oksidasi dikromat. Penelitian ini terdiri dari beberapa tahap yang dijelaskan secara terpisah di bawah ini:

### **Formulasi Kombucha Teh Hijau Buah Nanas**

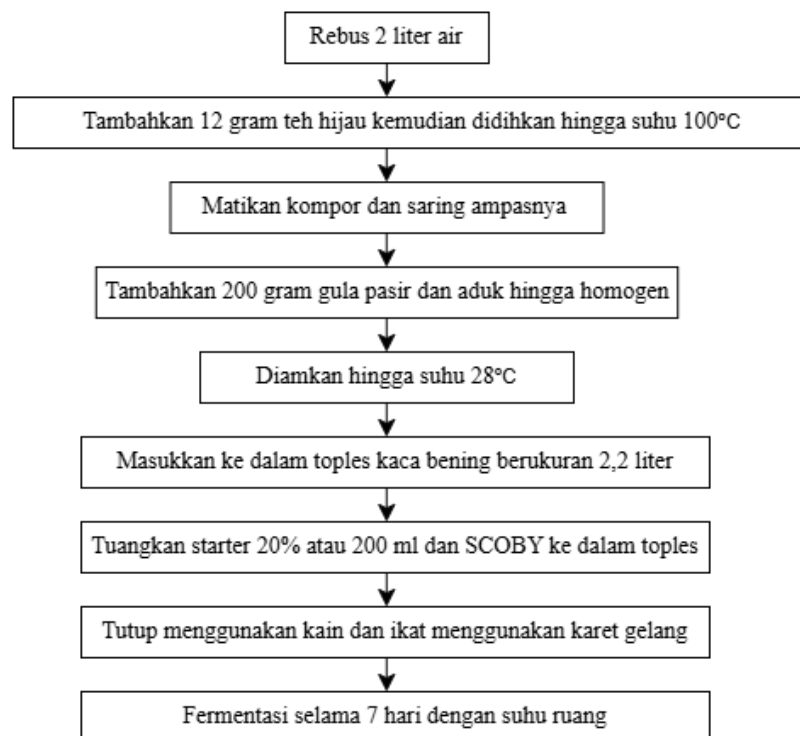
Pembuatan kombucha teh hijau dengan penambahan buah nanas mengacu pada penelitian Rahmah dan Suciati pada bahan dasar pembuatan kombucha dengan modifikasi jumlah, jenis teh, dan buah yang digunakan dalam setiap formulasi, yang sebelumnya sudah dilakukan *trial and error* sebelum terbentuknya formulasi yang akan diteliti.<sup>21,25</sup> Terdapat tiga formulasi yang diteliti pada Tabel 1.

#### **Tabel 1. Formulasi kombucha teh hijau buah nanas**

Bahan	Resep acuan	Jumlah bahan pada setiap formula		
		F1	F2	F3
Air (mL)	1000	1200	1200	1200
Teh hijau (g)	-	20	30	40
Buah nanas madu (g)	-	80	70	60
Gula (g)	100	100	100	100
Starter kombucha (mL)	100	100	100	100

### Pembuatan Kombucha *Liquid Broth* (KLB)

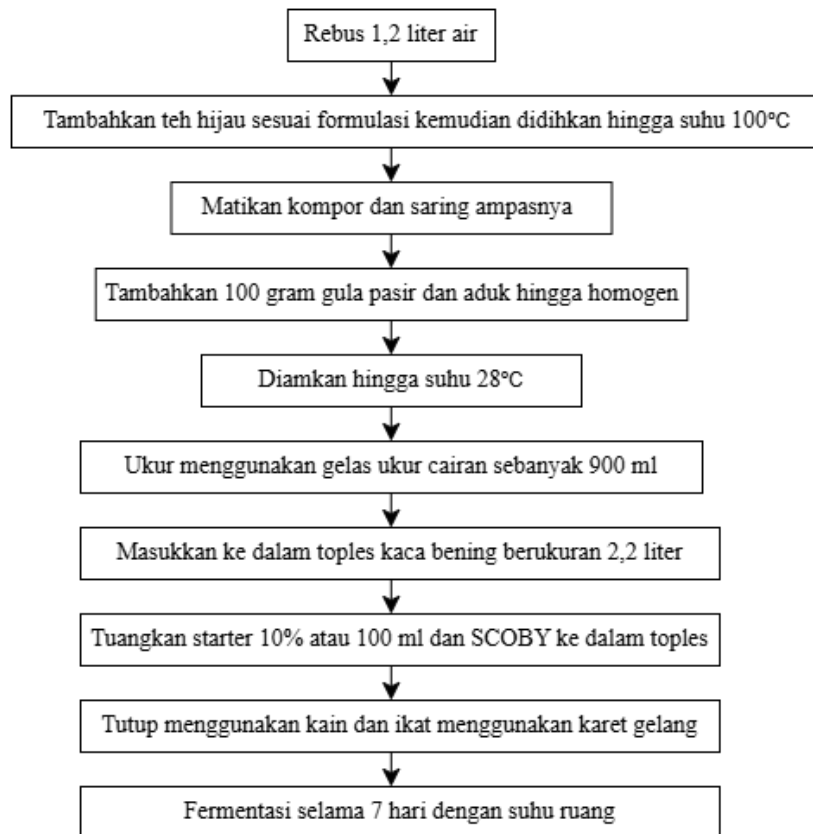
Pembuatan kombucha *liquid broth* atau *starter liquid* kombucha menggunakan kultur simbiotik bakteri dan ragi SCOBY yang berasal dari fermentasi kombucha sebelumnya. Prosedur pembuatan KLB mengacu pada penelitian Rahmah.<sup>21</sup> Proses pembuatan KLB dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1. Proses Pembuatan KLB**

### Pembuatan Kombucha Teh Hijau

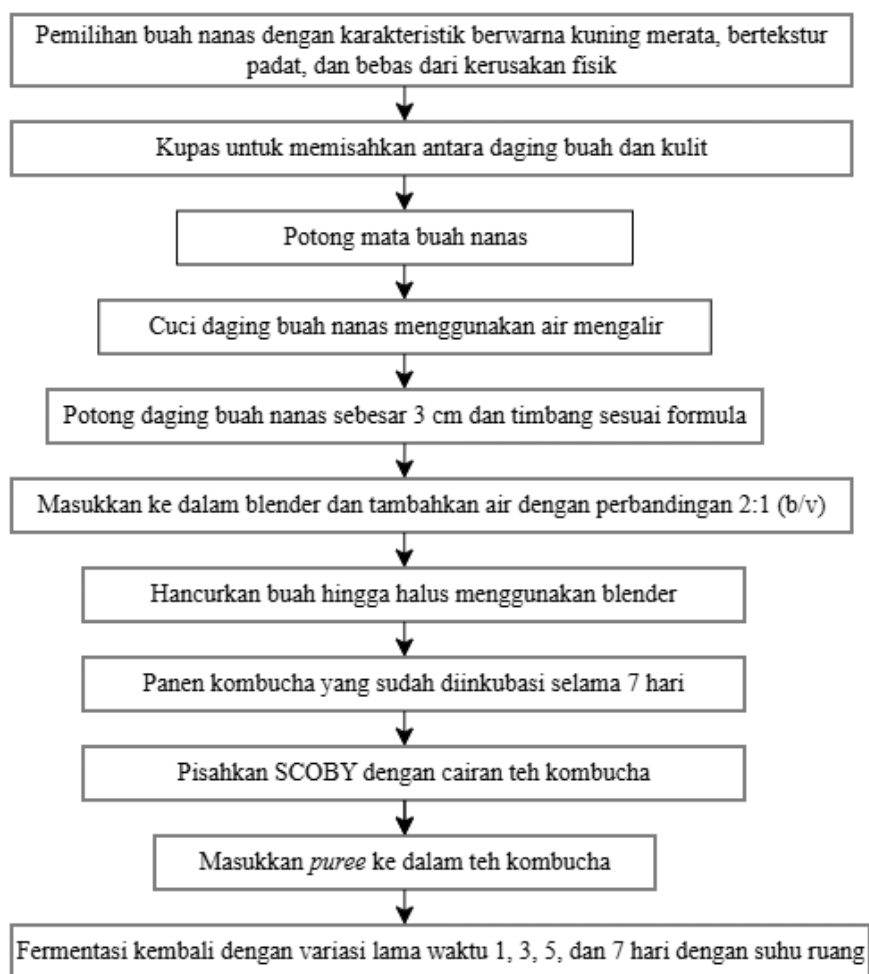
Prosedur dalam pembuatan kombucha teh hijau mengacu pada penelitian Rahmah dan Suciati dengan modifikasi pada jumlah air dan pengukuran sebelum dimasukkan ke dalam setoples kaca.<sup>21,25</sup> Proses pembuatan kombucha teh hijau dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 2. Proses pembuatan kombucha teh hijau**

### **Pembuatan *Puree* Nanas**

Prosedur dalam pembuatan *puree* buah nanas mengacu pada penelitian Mangifera dengan modifikasi pada buah yang digunakan, proses pemilihan buah, dan pengupasan buah.<sup>26</sup> Dalam proses pembuatan tersebut diawali dengan pemilihan buah nanas yang memiliki karakteristik mutu yang baik, yaitu berwarna kuning merata, bertekstur padat atau tidak lembek, dan bebas dari kerusakan fisik dan tanda pembusukan. Proses pembuatan *puree* buah nanas dapat dilihat pada Gambar 3.



**Gambar 3. Proses Pembuatan *Puree* Buah Nanas**

### **Prosedur Analisis Kadar Alkohol**

Analisis kadar alkohol menggunakan oksidasi dikromat dimulai dengan persiapan sampel, larutan etanol standar, dan reagen kalium dikromat ( $K_2Cr_2O_7$ ) dalam lingkungan asam menggunakan asam sulfat. Dalam reaksi ini, etanol dioksidasi menjadi asam asetat dan ion dikromat ( $Cr_2O_7^{2-}$ ) direduksi menjadi ion kromium (III) ( $Cr^{3+}$ ), yang ditunjukkan oleh perubahan warna larutan dari orange menjadi biru kehijauan.<sup>27</sup> Intensitas warna yang dihasilkan diukur pada panjang gelombang 600 nm menggunakan spektrofotometer dengan larutan blanko dan serangkaian larutan etanol standar. Dengan membandingkan nilai absorbansi yang diperoleh dengan kurva standar, konsentrasi etanol dapat ditentukan dan kadar alkohol dalam sampel dapat dihitung.<sup>28</sup> Berikut merupakan langkah prosedur analisis kadar alkohol.

### **Pembuatan Larutan Kalium Dikromat ( $K_2Cr_2O_7$ )**

Kalium dikromat ( $K_2Cr_2O_7$ ) ditimbang sebanyak 8,442 gram, kemudian dilarutkan menggunakan aquabides ( $H_2O$ ) di dalam gelas kimia. Setelah larut, ke dalam larutan tersebut ditambahkan asam sulfat ( $H_2SO_4$ ) sebanyak 81,25 mL. Campuran kemudian dipindahkan ke dalam labu takar berukuran 250 mL. Selanjutnya, volume larutan ditepatkan hingga mencapai tanda batas. Terakhir, larutan dihomogenkan agar seluruh komponen tercampur secara merata.

### **Preparasi Sampel**

Sampel dipipet sebanyak 0,5 mL ke dalam Erlenmeyer kemudian ditambahkan aquades ( $H_2O$ ) sebanyak 15 mL dan larutan kalium dikromat ( $K_2Cr_2O_7$ ) sebanyak 12,5 mL. Setelah

itu dihomogenkan, selanjutnya dipipet sebanyak 10 mL larutan tersebut ke dalam tabung reaksi. Kemudian dipanaskan pada suhu 62,5°C. Setelah itu didinginkan larutan, kemudian dipipet sebanyak 10 mL ke dalam Erlenmeyer dan ditambahkan dengan aquades 15 mL. Lalu dihomogenkan dengan menggunakan vortex. Selanjutnya, dianalisis dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 600 nm.

#### **Pembuatan Larutan Standar (3%, 6%, 9%, 12%, dan 15%)**

Etanol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH) dipipet masing-masing sebanyak 0,3 mL, 0,6 mL, 0,9 mL, 1,2 mL, dan 1,5 mL ke dalam Erlenmeyer. Selanjutnya, ke masing-masing larutan ditambahkan aquades (H<sub>2</sub>O) berturut-turut sebanyak 9,7 mL, 9,4 mL, 9,1 mL, 8,8 mL, dan 8,5 mL serta larutan kalium dikromat (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) sebanyak 12,5 mL, kemudian dihomogenkan. Tahap akhir, larutan dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 600 nm.

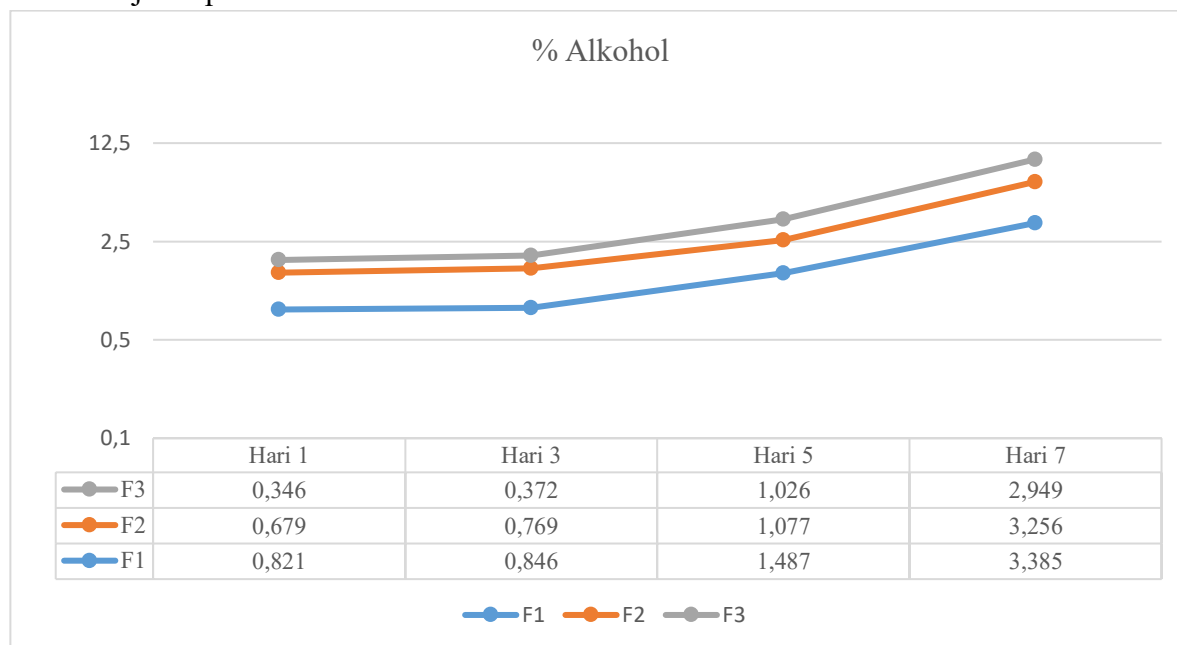
#### **Pengujian Kadar Alkohol dengan Spektrofotometer UV-Vis**

Pengujian dilakukan dengan menyalakan rangkaian spektrofotometer UV-Vis. Setelah itu, mengaspirasikan larutan blanko ke dalam spektrofotometer UV-Vis. Kemudian, mengatur serapan hingga nol. Kemudian mengaspirasikan larutan standar satu persatu ke dalam spektrofotometer UV-Vis dengan cara menuangkan larutan ke dalam kuvet. Dilanjutkan dengan mengaspirasikan larutan sampel ke dalam spektrofotometer UV-Vis dan menganalisis absorbansinya.

## **HASIL**

### **Hasil Grafik Nilai Kadar Alkohol Kombucha Teh Hijau Buah Nanas**

Pengamatan kadar alkohol dilakukan untuk mengetahui perubahan kandungan alkohol kombucha teh hijau buah nanas selama proses fermentasi. Pengukuran dilakukan pada waktu fermentasi sekunder hari 1, 3, 5, dan 7 untuk melihat pola peningkatan kadar alkohol pada setiap formulasi perlakuan. Hasil pengamatan kadar alkohol pada kombucha teh hijau buah nanas disajikan pada Gambar 1.



**Gambar 1 Grafik distribusi kadar alkohol**

Grafik di atas menunjukkan distribusi kandungan alkohol (%) untuk kombucha teh hijau rasa nanas pada hari ke-1, 3, 5, dan 7 fermentasi untuk tiga formulasi berbeda (F1, F2, dan F3). Kandungan alkohol meningkat pada semua formulasi seiring dengan peningkatan waktu fermentasi. Kandungan alkohol secara bertahap meningkat dari hari ke-1 hingga hari ke-5, dan meningkat secara signifikan pada hari ke-7. Pada akhir fermentasi, kandungan alkohol tertinggi terdapat pada F3, diikuti oleh F2 dan kemudian F1. Peningkatan ini menunjukkan bahwa semakin lama periode fermentasi, semakin besar kandungan alkohol yang dihasilkan oleh aktivitas konversi gula menjadi etanol oleh ragi.<sup>29</sup>

### Hasil Uji Normalitas

Uji normalitas pada penelitian ini dilakukan menggunakan metode *Shapiro Wilk* untuk mengetahui apakah data kadar alkohol pada setiap perlakuan berdistribusi normal atau tidak. Pemilihan uji *Shapiro Wilk* didasarkan pada pertimbangan bahwa jumlah sampel dalam penelitian ini relatif kecil, sehingga uji ini lebih sensitif dibandingkan uji normalitas lainnya seperti *Kolmogorov Smirnov*. Rincian nilai dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2. Hasil Uji Normalitas**

Lama waktu	<i>p-value</i>
Hari 1	0,564
Hari 3	0,290
Hari 5	0,193
Hari 7	0,558

Sumber : Data Primer, 2025

Berdasarkan Tabel 2, hasil uji normalitas menggunakan metode *Shapiro Wilk* terhadap data kadar alkohol kombucha teh hijau dengan penambahan buah nanas pada variasi lama fermentasi hari ke-1, 3, 5, dan 7 menunjukkan nilai signifikansi masing-masing  $p > 0,05$ . Hal ini mengindikasikan bahwa seluruh data pada masing-masing kelompok perlakuan berdistribusi normal, sehingga memenuhi salah satu asumsi penting dalam analisis parametrik.

### Uji Homogenitas

Uji homogenitas pada penelitian ini dilakukan menggunakan *Levene Test* untuk mengetahui apakah varians data kadar alkohol pada setiap kelompok perlakuan bersifat sama atau tidak. Hasil uji homogenitas menggunakan *Levene test* menghasilkan nilai signifikansi yang dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3. Hasil Uji Homogenitas**

Variabel	<i>Sig.</i>
Kadar alkohol	0,979

Sumber : Data Primer, 2025

Berdasarkan Tabel 3, hasil uji homogenitas varians menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,979 ( $p > 0,05$ ). Hal ini mengindikasikan bahwa varians data kadar alkohol kombucha teh hijau dengan penambahan buah nanas pada setiap kelompok lama fermentasi hari ke-1, 3, 5, dan 7 bersifat homogen. Dengan demikian, data memenuhi salah satu asumsi penting dalam penggunaan uji parametrik, khususnya *One Way ANOVA*, sehingga analisis dapat dilanjutkan ke tahap berikutnya tanpa perlu dilakukan transformasi data. Kondisi varians yang homogen menunjukkan bahwa penyebaran data antar kelompok relatif sama dan tidak terdapat perbedaan variabilitas yang signifikan.

### Hasil Uji *One Way ANOVA*

Berdasarkan hasil uji normalitas dan homogenitas yang menunjukkan bahwa data memenuhi asumsi analisis parametrik, selanjutnya dilakukan uji *One Way ANOVA* untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan kadar alkohol kombucha teh hijau dengan penambahan buah nanas pada berbagai lama fermentasi. Hasil uji ANOVA disajikan pada Tabel 4.

**Tabel 4. Hasil uji ANOVA**

Sumber Variasi	F Hitung	Sig.
Antar kelompok	74,362	0,0000

Sumber : Data Primer, 2025

Berdasarkan Tabel 4, hasil uji *One Way ANOVA* terhadap kadar alkohol kombucha teh hijau dengan penambahan buah nanas pada berbagai lama fermentasi hari ke-1, 3, 5, dan 7 menunjukkan nilai F hitung sebesar 74,362 dengan signifikansi 0,000 ( $p < 0,05$ ). Nilai F hitung yang tinggi ini menunjukkan bahwa variasi antar kelompok perlakuan jauh lebih besar dibandingkan variasi dalam kelompok, sehingga perlakuan lama fermentasi memiliki pengaruh yang kuat terhadap perbedaan kadar alkohol. Nilai signifikansi  $< 0,05$  menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang sangat signifikan antar kelompok perlakuan. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa lama fermentasi memberikan pengaruh nyata terhadap kadar alkohol yang dihasilkan pada kombucha teh hijau buah nanas.

### Hasil Uji Lanjut *Tukey*

Hasil uji *One Way ANOVA* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar perlakuan lama fermentasi terhadap kadar alkohol kombucha teh hijau dengan penambahan buah nanas. Oleh karena itu, dilakukan uji lanjut menggunakan metode *Tukey HSD (Honestly Significant Difference)* untuk mengetahui kelompok perlakuan mana yang berbeda nyata. Hasil uji lanjut *Tukey* disajikan pada Tabel 5.

**Tabel 5. Hasil Uji Lanjut *Tukey***

Lama waktu	Rata-rata kadar alkohol (%) $\pm$ SD
Hari 1	0,615 $\pm$ 0,244 <sup>a</sup>
Hari 3	0,662 $\pm$ 0,254 <sup>a</sup>
Hari 5	1,197 $\pm$ 0,253 <sup>b</sup>
Hari 7	3,197 $\pm$ 0,224 <sup>c</sup>

Sumber : Data Primer, 2025

\*a,b,c notasi huruf notasi huruf serupa berarti tidak ada perbedaan nyata, perbedaan nyata pada taraf uji *tukey*

Berdasarkan Tabel 5, rata-rata kadar alkohol kombucha teh hijau buah nanas menunjukkan kecenderungan meningkat seiring bertambahnya lama fermentasi. Pada hari ke-1 kadar alkohol sebesar 0,615 $\pm$ 0,244, kemudian meningkat menjadi 0,662 $\pm$ 0,254 pada hari ke-3, selanjutnya meningkat cukup signifikan menjadi 1,197 $\pm$ 0,253 pada hari ke-5, dan mencapai nilai tertinggi sebesar 3,197 $\pm$ 0,224 pada hari ke-7. Hasil uji lanjut *Tukey* menunjukkan bahwa fermentasi hari ke-1 dan ke-3 tidak berbeda nyata, namun keduanya berbeda nyata dengan hari ke-5 dan ke-7. Selain itu, terdapat perbedaan nyata antara seluruh kelompok pada hari ke-5 dan hari ke-7, yang menunjukkan adanya peningkatan kadar alkohol yang signifikan setelah fermentasi berlangsung lebih dari 3 hari.

## PEMBAHASAN

### Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Kadar Alkohol

Fermentasi kombucha adalah proses biokimia kompleks di mana ragi dan bakteri asam asetat hidup berdampingan dalam kultur kombucha (SCOBY). Ragi, khususnya *Saccharomyces cerevisiae*, menggunakan enzim invertase untuk memecah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa, yang kemudian diubah menjadi etanol dan karbon dioksida melalui glikolisis dan fermentasi alkohol. Selanjutnya, *Acetobacter xylinum*, bakteri asam asetat, mengoksidasi etanol menjadi asam asetat dalam kondisi aerobik, menjaga keseimbangan antara produksi etanol dan dekomposisi selama fermentasi. Dalam proses ini, waktu fermentasi merupakan faktor penting dalam memaksimalkan akumulasi etanol sebelum mencapai keadaan stabil.<sup>30</sup>

Secara kimia, akumulasi alkohol dalam kombucha disebabkan oleh ketidakseimbangan antara laju fermentasi alkohol oleh ragi dan laju oksidasi etanol oleh bakteri asam asetat. Pada tahap awal hingga hari ke-7, aktivitas ragi dominan dalam lingkungan anaerob di bagian bawah cairan, dan sejumlah besar etanol dihasilkan oleh reaksi berikut:



Bakteri asam asetat mulai mengoksidasi etanol menjadi asam asetat, tetapi laju konversi ini lebih lambat daripada laju produksi etanol, terutama ketika pasokan oksigen dalam wadah terbatas. Menurut Villarreal-Soto akumulasi etanol terus meningkat hingga pasokan gula habis atau keasaman atau pH menjadi terlalu beracun bagi ragi.<sup>31</sup>

Kandungan etanol yang tinggi pada kombucha dipengaruhi tidak hanya oleh waktu fermentasi, tetapi juga oleh komponen nutrisi daun teh dan bahan tambahan lainnya. Teh hijau mengandung senyawa nitrogen, mineral, vitamin, dan polifenol, yang berfungsi sebagai nutrisi bagi ragi dan bakteri selama fermentasi. Kehadiran nutrisi ini mendorong pertumbuhan ragi *Saccharomyces cerevisiae* dan meningkatkan efisiensi konversi gula menjadi etanol.<sup>32</sup> Penelitian Jayabalan,<sup>33</sup> juga menunjukkan bahwa teh hijau memiliki kandungan katekin dan aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan jenis teh lain, sehingga mampu mempertahankan aktivitas metabolisme mikroorganisme selama fermentasi berlangsung. Kondisi tersebut menyebabkan proses fermentasi pada formulasi dengan konsentrasi teh hijau lebih tinggi berlangsung lebih aktif dan menghasilkan akumulasi etanol yang lebih besar.

Polifenol dan katekin dalam teh hijau juga berperan secara tidak langsung dalam mengatur kandungan alkohol selama fermentasi. Fitokimia dalam teh hijau, seperti epigallocatechin gallate (EGCG), bertindak sebagai akselerator metabolisme untuk strain ragi tertentu, mendorong pemanfaatan nutrisi dari buah yang ditambahkan. Efek sinergis nitrogen organik dari teh hijau dan nanas berkontribusi pada terciptanya lingkungan mikroba yang sangat efisien untuk produksi etanol.<sup>32</sup>

Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa karakteristik media fermentasi, terutama jenis dan komposisi daun teh, memengaruhi produksi etanol selama fermentasi kombucha. Penelitian oleh Dartota menunjukkan peningkatan signifikan pada kandungan alkohol kombucha teh hijau selama fermentasi.<sup>34</sup> Pada hari ke-7, kandungan alkohol mencapai sekitar 2,381 g/L, menunjukkan bahwa ragi telah memecah sukrosa dan mengakumulasi etanol. Setelah tahap ini, pada hari ke-15, laju pertumbuhan alkohol mulai melambat atau stabil karena bakteri mengubah etanol menjadi asam organik ( $p < 0,05$ ).

Selain itu, peningkatan signifikan kandungan alkohol pada hari ke-7, terutama pada formulasi F1, disebabkan oleh banyaknya gula yang dapat difermentasi yang berasal dari buah nanas. Buah nanas (*Ananas comosus*) tidak hanya menyediakan glukosa dan fruktosa, tetapi juga mikronutrien. Mikronutrien ini berfungsi sebagai kofaktor untuk enzim dalam metabolisme ragi. Konsentrasi gula yang lebih tinggi pada formulasi F3 yang merupakan faktor kunci dalam mempercepat proses fermentasi alkohol dibandingkan dengan formulasi lainnya. Hal ini sejalan dengan temuan Bishop yang melaporkan bahwa penambahan substrat buah meningkatkan produksi etanol karena komposisi nutrisi substrat buah lebih kompleks dibandingkan dengan media teh standar.<sup>35</sup>

Penelitian Sieveres,<sup>36</sup> juga menjelaskan bahwa sukrosa pada fermentasi kombucha terlebih dahulu dihidrolisis menjadi glukosa dan fruktosa oleh enzim invertase yang dihasilkan ragi. Monosakarida seperti glukosa dan fruktosa diketahui lebih cepat dimanfaatkan dalam proses glikolisis dibandingkan sukrosa karena tidak memerlukan tahap hidrolisis awal. Oleh karena itu, keberadaan gula alami nanas berupa glukosa dan fruktosa diduga dapat mempercepat pembentukan etanol selama fermentasi sekunder dibandingkan fermentasi yang hanya menggunakan sukrosa sebagai sumber karbon utama.

Oleh karena itu, adanya buah nanas dalam sistem fermentasi tidak hanya menyediakan sumber karbon tambahan, tetapi juga bertindak sebagai katalis, meningkatkan efisiensi metabolisme mikroorganisme. Meskipun demikian, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tingginya kadar alkohol tidak hanya dipengaruhi oleh jumlah nanas yang ditambahkan, tetapi juga oleh konsentrasi teh hijau yang digunakan sebagai sumber senyawa bioaktif. Semakin tinggi persentase buah nanas yang ditambahkan, semakin banyak gula fruktosa dan glukosa yang tersedia untuk ragi, mempercepat konversi gula menjadi etanol dan meningkatkan efisiensi. Oleh karena itu formulasi dengan kandungan nanas tinggi cenderung memiliki kandungan alkohol yang lebih tinggi daripada formulasi dengan kandungan nanas rendah.<sup>37</sup>

### **Implikasi terhadap Kehalalan Produk**

Kandungan alkohol dalam minuman fermentasi sangat penting untuk sertifikasi halal, terutama bagi masyarakat Muslim. Dari perspektif Islam, minuman yang mengandung alkohol atau zat yang berpotensi memabukkan diklasifikasikan sebagai haram, sehingga pemantauan kadar etanol menjadi sangat penting. Menurut Fatwa No. 10 Tahun 2018 yang dikeluarkan oleh Majelis Ulama Indonesia, berjudul "Produk Makanan dan Minuman yang Mengandung Alkohol/Etanol," batas yang diperbolehkan untuk kandungan alkohol, asalkan tidak menyebabkan mabuk, adalah <0,5%. Batas ini juga mempertimbangkan prinsip yang melarang segala sesuatu yang dapat mengarah pada sesuatu yang haram. Oleh karena itu, produk dengan konsentrasi alkohol melebihi 0,5% berisiko diklasifikasikan sebagai tidak halal.<sup>38</sup>

Secara global, pembatasan halal ini selaras dengan peraturan di berbagai negara, seperti Departemen Pengembangan Islam Malaysia (JAKIM), yang membatasi kandungan alkohol dalam produk halal hingga maksimal 0,5%, *Association Researches for the Inspection and Certification of Food and Supplies* (GIMDES), yang menetapkannya pada 0,3%, dan Brunei dan Singapura, yang mengakui sertifikasi halal tanpa menentukan batasan tertentu.<sup>39</sup> Variasi pembatasan ini dipengaruhi oleh pendekatan regulasi masing-masing negara terhadap keamanan pangan dan klasifikasi risiko yang terkait dengan konsumsi alkohol. Selain itu,

standar ini juga berfungsi sebagai dasar untuk pelabelan produk dan perlindungan konsumen untuk mencegah minuman fermentasi salah diklasifikasikan sebagai minuman beralkohol.<sup>38</sup>

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada fermentasi hari ke-1 dan ke-3 pada formulasi F3 dengan perbandingan teh hijau dan buah nanas sebesar 40:60 gram menghasilkan kadar alkohol masing-masing sebesar 0,346% dan 0,372%, yang masih berada di bawah batas ketentuan sehingga relatif aman untuk dikonsumsi. Sebaliknya, formulasi F1 dengan perbandingan teh hijau dan buah nanas sebesar 20:80 gram menunjukkan bahwa kadar alkohol masing-masing hari ke-1 0,821%, hari ke-3 0,846%, hari ke-5 1,487, dan hari ke-7 3,385, serta formulasi F2 dengan perbandingan teh hijau dan buah nanas 30:70 masing-masing hari ke-1 0,679%, hari ke-3 0,769%, hari ke-5 1,077%, hari ke-7 3,256%. Formulasi F3 dengan perbandingan terkecil teh hijau dan buah nanas 40:60 pada hari ke-5 sebesar 1,026% dan hari ke-7 2,949% telah melebihi batas 0,5% dan tidak dapat diklaim halal. Dengan demikian, lama fermentasi yang masih memenuhi kriteria kehalalan pada penelitian ini adalah fermentasi hari ke-1 hingga hari ke-3 pada formulasi F3 penambahan buah nanas terkecil.

Secara fisiologis, konsumsi alkohol dalam jumlah kecil dapat memengaruhi tubuh, terutama jika dikonsumsi secara berulang atau dalam jumlah yang meningkat akibat fermentasi lanjutan. Dalam mekanismenya etanol cepat diserap oleh saluran pencernaan dan dimetabolisme di hati untuk menghasilkan asetaldehida. Asetaldehida adalah zat beracun yang dapat menyebabkan stres oksidatif dan disfungsi hati. Pada produk seperti kombucha, fermentasi yang tidak terkontrol menyebabkan peningkatan kadar alkohol, apabila dikonsumsi dalam jumlah besar dapat menyebabkan berbagai efek, seperti pusing ringan hingga gangguan metabolisme. Meskipun dalam dosis rendah juga dilaporkan dapat memengaruhi sistem saraf pusat serta meningkatkan risiko penyakit hati, sehingga pembatasan kadar alkohol menjadi relevan baik secara religius maupun kesehatan masyarakat.<sup>40,41</sup>

Berdasarkan penelitian Tsermpini,<sup>42</sup> menjelaskan bahwa metabolisme etanol melalui jalur alkohol dehidrogenase menghasilkan asetaldehida dan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang berperan dalam terjadinya stres oksidatif, inflamasi, serta gangguan fungsi seluler. Pada penelitian ini, kadar alkohol kombucha tertinggi mencapai 3,197%, sehingga apabila dikonsumsi sebanyak 250 mL maka asupan etanol yang masuk ke tubuh diperkirakan sekitar 6,3 gram alkohol. Jumlah tersebut memang masih berada di bawah kategori konsumsi berat, namun etanol tetap akan dimetabolisme menjadi asetaldehida yang oleh *International Agency for Research on Cancer* (IARC) telah diklasifikasikan sebagai senyawa karsinogenik golongan 1 pada manusia.<sup>43,44</sup> Selain itu, penelitian terbaru juga menjelaskan bahwa paparan alkohol secara berulang dapat mengganggu keseimbangan antioksidan tubuh, meningkatkan lipid peroksidasi, dan memicu kerusakan jaringan secara bertahap melalui mekanisme stres oksidatif.<sup>40</sup>

Berdasarkan temuan ini menunjukkan bahwa terdapat dua hal yang penting untuk menjaga tingkat alkohol kombucha di bawah batas yang diizinkan yaitu pengendalian lama fermentasi dan proporsi bahan baku.<sup>45</sup> Buah nanas yang ditambahkan sebagai sumber gula lebih banyak memungkinkan produksi etanol meningkat selama fermentasi, terutama selama waktu fermentasi yang lebih lama. Formulasi dengan penambahan buah yang lebih rendah dan waktu fermentasi yang lebih singkat menjadi pendekatan yang lebih baik untuk menghasilkan produk yang tidak hanya aman untuk dikonsumsi tetapi juga memenuhi standar kehalalan. Hasil ini menunjukkan bahwa standarisasi prosedur produksi kombucha sangat penting,

terutama dalam skala rumah tangga dan industri kecil, untuk menjaga kadar alkohol yang konsisten. Dengan demikian, produk kombucha yang dihasilkan memiliki kualitas yang terjamin baik dari aspek keamanan pangan maupun kesesuaian dengan prinsip syariat Islam.<sup>38</sup>

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil akhir menunjukkan bahwa lama fermentasi berpengaruh signifikan terhadap kadar alkohol kombucha teh hijau buah nanas berdasarkan uji *One Way ANOVA* ( $p < 0,05$ ). Berdasarkan ketentuan batas alkohol  $< 0,5\%$  dari Majelis Ulama Indonesia, formulasi yang masih berada dalam batas aman hanya pada fermentasi hari ke-1, yaitu F3 dengan perbandingan teh hijau dan buah nanas 40:60 gram dengan kadar alkohol hari ke-1 sebesar 0,346% dan hari ke-3 sebesar 0,372%.

Bagi peneliti selanjutnya disarankan untuk mengkaji variasi konsentrasi gula dan penggunaan jenis buah lain seperti apel atau strawberry sebagai sumber gula alami guna mengetahui pengaruhnya terhadap pembentukan alkohol pada kombucha teh hijau, sementara bagi masyarakat yang membuat kombucha secara mandiri perlu memperhatikan lama fermentasi agar tidak menghasilkan kadar alkohol berlebih yang melebihi batas  $< 0,5\%$ , sehingga edukasi mengenai pemilihan bahan baku, jenis buah, dan kontrol proses fermentasi menjadi langkah penting dalam menjaga keamanan dan kehalalan produk kombucha yang dikonsumsi.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Kamelia, M., Winandari, O. P., Supriyadi, S. & Meirina, M. Analisis Kualitas Teh Kombucha Berdasarkan Jenis Teh Yang Digunakan. *Org. J. Biosci.* 3, 17–26 (2023).
2. Widyaningsih, T. D., Wijayanti, N. & Nugrahini, N. I. P. *Pangan Fungsional: Aspek Kesehatan, Evaluasi, Dan Regulasi.* (Universitas Brawijaya Press, 2017).
3. Grand View Research. Kombucha Market Size And Share Industry Report (2025-2030). *Grand View Research* (2024).
4. Faizah, Khairunnisa, A., Latifasari, N. & Kurniawati, A. D. Kombucha dan Sifat Fungsionalnya: Studi Pustaka. *J. Sains dan Teknol. Pangan* 9, 7729–7741 (2024).
5. Afiani, E. R. N., Kusumaningrum, I. & Rifqi, M. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Karakteristik Kimia dan Sensori Kombucha Wedang Uwuh. *Karimah Tauhid* 3, 10971–10985 (2024).
6. Research and Market. Indonesia Kombucha Market. (2024).
7. Setyawan, R. H. *et al.* Substitution of Refined Sugar in Lingzhi (*Ganoderma lucidum*) Kombucha with Honey from Riau, Indonesia: the Effects on Characteristics, Sensory Acceptance, and Antioxidant Activity. *Philipp. J. Sci.* 154, 179–190 (2025).
8. Huang, R. Exploring Kombucha: Production, Microbiota Biotransformation, Flavor, Health Benefits and Potential Risks. *ACS Food Sci. Technol.* 4, 1610–1625 (2024).
9. Riswanto, D., Rezaldi, F. & Program, P. S. Kombucha Tea : A Study On The Halal Ff Fermented Drinks. *IJMA Int. J. Mathla'ul Anwar Halal* 1, 71–77 (2021).
10. Mulyani, S., Sunarko, K. M. F. & Setiani, B. E. Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Total Asam, Total Bakteri Asam Laktat dan Warna Kefir Belimbing Manis (*Averrhoa carambola*). *J. Ilm. Sains* 21, 113 (2021).
11. Majidah, L., Gadizza, C. & Gunawan, S. Analisis Pengembangan Produk Halal Minuman Kombucha. *Halal Res. J.* 2, 36–51 (2022).
12. Dewi, A. J., Saati, E. A. & Husna, A. Formulasi Teh Hijau Kombucha dengan Penambahan Limbah Kulit Carica (*Carica pubescens*) Berdasarkan Lama Fermentasi

- Terhadap Aktivitas Antioksidan. *Food Technol. Halal Sci. J.* 7, 15–27 (2024).
13. Khamidah, A.- & Antarlina, S. S. Peluang Minuman Kombucha Sebagai Pangan Fungsional. *Agrika* 14, 184 (2020).
  14. Badan Pusat Statistik. *Statistik Teh Indonesia*. vol. 17 (2024).
  15. Fadhilah, Z. H., Perdana, F. & Syamsudin, R. A. M. R. Review: Telaah Kandungan Senyawa Katekin dan Epigallocatekin Galat (EGCG) sebagai Antioksidan pada Berbagai Jenis Teh. *J. Pharmascience* 8, 31 (2021).
  16. Nasution, S. B. & Pasaribu, N. S. Analisis Kadar Etanol pada Kombucha Tea Biakan Sendiri Berdasarkan Lamanya Waktu Fermentasi. *J. Ilmu Farm. dan Kesehat.* 1, 134–144 (2023).
  17. Hassmy, N. P., Abidjulu, J. & Yudistira, A. Analisis Aktivitas Antioksidan Pada Teh Hijau Kombucha Berdasarkan Waktu Fermentasi Yang Optimal. *PHARMACON J. Ilm. Farm. UNSRAT* 6, 67–74 (2017).
  18. Jakubczyk, K., Kałdú Nska, J., Kochman, J. & Janda, K. Chemical Profile and Antioxidant Activity of the Kombucha Beverage Derived from White, Green, Black and Red Tea. at (2020).
  19. Badan Pusat Statistik. Produksi Tanaman Buah-buahan dan Sayuran Tahunan. <https://www.bps.go.id/id/statistics-table/2/NjIjMg==/production-of-fruits.html> (2024).
  20. Winastia, B. Analisa Asam Amino Pada Enzim Bromelin Dalam Buah Nanas (Ananas comusus) Menggunakan Spektrofotometer. *Skripsi. Semarang Fak. Tek. Univ. Diponegoro Semarang* (2022).
  21. Rahmah, A. K., Susilawati, Rizal, S. & Kustyawati, M. E. Pengaruh Formulasi Gula Sukrosa Dan Buah Nanas Madu Terhadap Karakteristik Sensori Minuman Kombucha Teh Hitam. *J. Agroindustri Berkelanjutan* 4, 236–247 (2025).
  22. Cohen, G., Sela, D. A. & Nolden, A. A. Sucrose Concentration and Fermentation Temperature Impact the Sensory Characteristics and Liking of Kombucha. *Foods (Basel, Switzerland)* 12, (2023).
  23. Suciati, F., Nurliyani, N. & Indratiningsih, I. Physicochemical, Microbiological and Sensory Properties of Fermented Whey using Kombucha Inoculum. *Bul. Peternak.* 43, 52–57 (2019).
  24. Chiarini, E. *et al.* Kombucha meets circular economy: A microbiome and metabolite perspective on second fermentation with plant by-products. *Food Res. Int.* 230, 118597 (2026).
  25. Suciati, F., Triastuti, D. & Permadi, E. Kualitas Sensori dan Kimia Produk Whey Fermentasi Kombucha Dengan Penambahan Sari Buah Nanas Subang. *J. Ilm. Peternak. Terpadu* 10, 133–150 (2025).
  26. Tanamas, L., Pratiwi, I. D. P. K. & Arihantana, N. M. I. H. Pengaruh Lama Fermentasi Lanjutan Terhadap Karakteristik Kimia dan Sensoris Kombucha Setelah Penambahan Sari Mangga Arumanis ( *Mangifera indica* L. ). *Itepa J. Ilmu dan Teknol. Pangan* 14, (2025).
  27. Sari, M., Zainul, R., Education, C. & Padang, U. N. *Kalium Dikromat Spektroskopi Dan Transpor K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>*. (2018).
  28. Ida. Penentuan Kadar Alkohol Dengan Spektrofotometer Secara Oksidasi Dikromat. (2019).
  29. Maicas, S. *Advances in Wine Fermentation. Fermentation* 7, 187 (2021).
  30. Li, X. *et al.* A Comprehensive Evaluation of Microbial Synergistic Metabolic Mechanisms and Health Benefits in Kombucha Fermentation: A Review. *Biology (Basel)*. 14, (2025).
  31. Villarreal-Soto, S. A., Beaufort, S., Bouajila, J., Souchard, J.-P. & Taillandier, P. Understanding Kombucha Tea Fermentation: A Review. *J. Food Sci.* 83, 580–588

- (2018).
32. Chaluvadi, S. *et al.* Key Kombucha Process Parameters for Optimal Bioactive Compounds and Flavor Quality. *Fermentation* 10, (2024).
  33. Jayabalan, R., Marimuthu, S. & Swaminathan, K. Food Chemistry Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation. 102, 392–398 (2020).
  34. Dartora, B. *et al.* Understanding the effect of fermentation time on physicochemical characteristics, sensory attributes, and volatile compounds in green tea kombucha. *Food Res. Int.* 174, 113569 (2023).
  35. Bishop, P., Pitts, E., Budner, D. & Witrick, K. Kombucha: Biochemical and microbiological impacts on the chemical and flavor profile. *Food Chem. Adv.* 1, 100025 (2022).
  36. Sievers, M., Lanini, C., Weber, A., Schuler-Schmid, U. & Teuber, M. Microbiology and Fermentation Balance in a Kombucha Beverage Obtained from a Tea Fungus Fermentation. *Syst. Appl. Microbiol.* 18, 590–594 (1995).
  37. Geovana, A., Rabelo, S., Kedma, S., Santos, D. M. & Queiroz, G. A. De. Characterization and optimization of production process of alcoholic fermentation of pineapple Caracterização e otimização do processo de produção do fermentado alcoolico de abacaxi. *REGET* 23, 1–8 (2019).
  38. Pintaito, Z. A. & Hanafiah, I. Critical points halal of fermented beverage products. *J. Halal Sci. Res.* 6, 121–133 (2025).
  39. A. Hanni, S. & Aghwan, Z. Issues of Halal Products Containing Alcohol with Reference to Regulations in Brunei Darussalam. *J. Halal Sci. Technol.* 1, 74–85 (2022).
  40. Acierno, C. *et al.* Alcohol Consumption and Liver Metabolism in the Era of MASLD: Integrating Nutritional and Pathophysiological Insights. *Nutrients* 17, (2025).
  41. Hyun, J., Han, J., Lee, C., Yoon, M. & Jung, Y. Pathophysiological Aspects of Alcohol Metabolism in the Liver. *Int. J. Mol. Sci.* 22, (2021).
  42. Tsermpini, E. E., Ilješ, A. P. & Dolžan, V. Alcohol-Induced Oxidative Stress and the Role of Antioxidants in Alcohol Use Disorder : A Systematic Review. 1–33 (2022).
  43. International for Research for Cancer. *Handbooks of Cancer Prevention Volume 20A Reduction or Cessation of Alcohol Consumption.* (2024).
  44. Rivera Gutiérrez, X. J., de Jesús Cobos Quevedo, O. & Remes Troche, J. M. Los efectos carcinogénicos del acetaldehído. Una visión actual. *Gac. Mex. Oncol.* 15, 231–239 (2016).
  45. Agustin, R. D., Giriwono, P. E. & Prangdimurti, E. Variasi Lama Waktu Fermentasi terhadap Karakteristik Teh Kombucha : Meta-Analisis. 18, 538–551 (2019).