

KARAKTERISTIK CUKA DARI CAIRAN PULPA HASIL SAMPING FERMENTASI BIJI KAKAO (*Theobroma cacao* L.) PADA PERLAKUAN PENAMBAHAN INOKULUM *Acetobacter aceti* DAN LAMA FERMENTASI

Yudisthira Dharma Bhusana Dasa¹, G.P. Ganda Putra², I.B. Wayan Gunam²

¹Mahasiswa Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Unud

²Dosen Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Unud

Email: yudisthiradharma@gmail.com¹

Email koresponden: gandaputra@unud.ac.id²

ABSTRACT

This aims to this study were to (1) determine the effect of addition inoculum *Acetobacter aceti* and fermentation period on the characteristics of vinegar fermentation from liquid waste of cocoa beans fermentation, and (2) to determine the accurate of addition innoculum *Acetobacter aceti* and fermentation period which one produces the best characteristic fermentation from liquid waste of cocoa beans fermentation. The experiments was designed by a Split Plot design with the addition of inoculum *Acetobacter aceti* into the main plot consisting of 3 plots 10%. 15%. and 20% (v/v). Fermentation period is a subplots consisting of 6 levels were 0. 5. 10. 15. 20. 25 days. The fermentation period was affected significantly ($P < 0,01$) on levels of acetic acid, alcohol content and total dissolved solids from a liquid pulp vinegar fermentation from liquid waste of cocoa beans fermentation, while the addition of inoculum *Acetobacter aceti* and interaction did not affect ($P > 0,05$). The best characteristics of fermentation vinegar was found on the addition of an inoculum of 20% and fermentation period for 25 days with the acetic acid content, alcohol content and total of soluble solid were 3.21 (% v/v), 0.00%, and 4.79 °Brix. respectively.

Keyword : *vinegar fermentation, cocoa, watery sweating, fermentation period, additional of inoculum.*

PENDAHULUAN

Kakao (*Theobroma cacao* L.) adalah pohon budidaya di perkebunan yang berasal dari Amerika Selatan, namun sekarang ditanam di berbagai kawasan tropika. Dari biji tumbuhan ini dihasilkan produk olahan yang dikenal sebagai coklat. Pengolahan kakao merupakan usaha untuk memproses biji kakao basah menjadi biji kakao kering yang memenuhi standar mutu serta dapat memunculkan cita rasa yang khas. Tahapan pengolahan yang dianggap paling dominan mempengaruhi mutu hasil biji kakao kering adalah fermentasi (Alamsyah, 1991). Fermentasi biji kakao bertujuan untuk menghancurkan pulpa dan mengusahakan kondisi untuk terjadinya reaksi biokimia dalam keping biji, yang berperan bagi pembentukan prekursor cita rasa dan warna coklat. Pulpa yang telah hancur akan mudah lepas dari biji, membentuk cairan pulpa (*watery sweatings*) yang menetes keluar tumpukan biji dan biji kakao menjadi bersih dan cepat kering (Haryadi dan Supriyanto, 1991).

Cairan pulpa yang diperoleh melalui proses fermentasi tersebut mengandung asam asetat atau asam cuka, asam laktat, dan alkohol. Asam-asam organik yang terbentuk tersebut diperoleh dari hasil

fermentasi gula yang terkandung dalam pulpa biji kakao. Pulpa biji kakao merupakan selaput berlendir berwarna putih yang membungkus biji kakao, terdapat sekitar 25-30% dari berat biji, diantaranya mengandung gula dengan kadar yang relatif tinggi sekitar 10-13% (Lopez, 1986). Cairan pulpa yang dihasilkan selama proses fermentasi adalah 15-20% dari berat biji kakao yang difermentasi (Ganda-Putra dkk., 2008).

Prinsip pembuatan cuka buah yaitu fermentasi asam asetat. Proses ini melibatkan aktivitas bakteri *Acetobacter aceti* yang mengubah alkohol dengan kadar tertentu menjadi sejumlah asam asetat dalam kondisi aerob (Anonim, 2009^a). Menurut Dauly dan Rahman (1992), kriteria mutu cuka yang utama adalah kandungan asam asetatnya.

Hasil penelitian Rahmawati (2015) pada pembuatan cuka kulit singkong menunjukkan bahwa, kadar asam asetat tertinggi terdapat pada perlakuan penambahan konsentrasi *Acetobacter aceti* 10% yaitu menghasilkan kadar asam asetat sebanyak 2,58% pada cuka kulit singkong. Hal ini juga didukung oleh Ni'maturrohman (2014) yang menyatakan bahwa kadar asam aetat tertinggi pada cuka kulit pisang kepok terdapat pada perlakuan dengan penambahan *Acetobacter aceti* 10% yaitu menghasilkan kadar asam asetat sebanyak 13,06%.

Atas dasar hal-hal tersebut dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh penambahan inokulum dan lama fermentasi yang tepat untuk menghasilkan karakteristik cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao, serta untuk menentukan perlakuan terbaik untuk menghasilkan cuka kakao.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Rekayasa Proses dan Pengendalian Mutu, Laboratorium Analisis Pangan, Laboratorium Mikrobiologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana pada Juni sampai dengan Agustus 2015.

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini diantaranya : wadah fermentasi, timbangan analitik (SHIMADZU), spektrofotometer (*thermoscientific*), vortex (thermolyne), kertas saring Whatman No. 1, biuret, *water bath*, piknometer (IWAKI), oven, aluminium foil, tisu, botol sampel, lemari pendingin, hand refraktometer (ATAGO), autoclave, batang pengaduk, jarum oose, magnetic stirrer, dan alat-alat gelas. Alat-alat yang digunakan untuk bakteri *Acetobacter aceti* adalah tabung reaksi, cawan petri, erlenmeyer, pipet mikro, laminar air flow, Inkubator, kapas.

Bahan utama pada penelitian ini adalah cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao selama 1-3 hari. Cairan pula didapat dari sentra-sentra produksi kakao Desa Angkah, Kecamatan Selemadeg Barat,

Kabupaten Tabanan, sedangkan bahan-bahan kimia mempunyai grade pro analysis (pa) Merck diantaranya : NaOH, HCl, *penolp ptialin* (pp), arsenomolibdat, Nelson, aquades, asam oksalat, biakan murni *Acetobacter aceti* RNCC-0016 dari Universitas Gadjah Mada, medium *Malt Extract Agar*, *Nutrien Broth*, *Glucose Yeast Pepton*, NaCl.

Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Petak Terbagi (Split Plot). Perlakuan penambahan inokulum *Acetobacter aceti* (A) menjadi petak utama yang terdiri atas 3 petak yaitu 10%, 15%, dan 20% (v/v). Perlakuan lama fermentasi (H) merupakan anak perlakuan yang terdiri dari 6 taraf yaitu 0, 5, 10, 15, 20, 25 hari. Percobaan ini diulang sebanyak dua kali sehingga mendapatkan 36 unit percobaan. Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis variansi dan dilanjutkan dengan uji Duncan 5%. Karakteristik cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao terbaik didapatkan dengan menggunakan uji efektivitas (De Garmo dkk., 1984).

Pelaksanaan Penelitian

Pembuatan Inokulum *Acetobacter aceti* RNCC-0016 (Cappuccino and Sherman, 1992 dengan modifikasi)

Inokulum *Acetobacter aceti* RNCC-0016 disegarkan dengan cara diambil sebanyak 1 jarum ose kemudian diinokulasikan dalam 5 ml media cair *Nutrien Broth* dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Pertumbuhan inokulum ditandai dengan warna media yang berubah keruh, dan adanya endapan didasar tabung.

Isolat yang telah tumbuh dalam 5 ml media cair *Nutrien Broth* diinokulasikan kedalam 10 ml media cair *Nutrien Broth*. Diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Isolat yang telah tumbuh dalam media cair inilah yang digunakan sebagai kultur stok.

Inokulum *Acetobacter aceti* RNCC-0016 dalam media NB disentrifuse pada kecepatan 5000 rpm selama 5 menit. Sebanyak 10 ml kultur dalam media cair aktivasi tersebut dimasukkan ke dalam erlenmeyer berisi 100 ml media cair aktivasi secara aseptis, diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Kultur tersebut kemudian diinokulasikan ke dalam 1000 ml cairan pulpa, diinkubasi selama 36 jam pada 37°C dan digunakan sebagai inokulum. Penambahan inokulum 10%,15%,20% di tentukan dari volume substrat, misal volume substrat atau cuka kakao pada wadah fermentor masing masing ialah 3000 ml maka ditambahkan 300 ml, 450 ml, 600 ml inokulum *Acetobacter aceti*.

Fermentasi Asam Asetat (SNI 01-3711-1995)

Cairan pulpa kakao dipasteurisasi pada suhu 65°C selama 30 menit. Cairan tersebut kemudian didinginkan dan ditambahkan alkohol 96% sebanyak 12% (v/v) sambil diaduk, penambahan sebanyak 12% karena dari penelitian-penelitian terdahulu. Kemudian dimasukkan ke dalam botol fermentor dan didinginkan sampai suhu 35°C untuk mengkondisikan medium bagi khamir. Selanjutnya ditambahkan inokulum *Acetobacter aceti* untuk masing-masing konsentrasi yaitu 10%, 15%, 20% dan dilakukan

fermentasi pada suhu kamar 18°C selama 25 hari (0, 5, 10, 15, 20, 25 hari) dalam kondisi aerob dengan menggunakan aerator, sampling 100 ml setiap 5 hari sekali selama 25 hari.

Cairan pulpa kakao yang sudah difermentasi disaring dengan menggunakan kain kasa. Cuka kakao tersebut kemudian dianalisis kadar asam asetat, total padatan terlarut, dan kadar alkohol.

Variabel yang Diamati

Variabel yang diamati yaitu kadar asam asetat (SNI 01-3711-1995), kadar alkohol (SNI 01-4371-1996), dan total padatan terlarut (Wartini dkk., 2014).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar Asam Asetat

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan lama fermentasi berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$), tetapi perlakuan penambahan inokulum dan interaksi antar perlakuan berpengaruh tidak nyata ($P > 0,05$) terhadap kadar asam asetat cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao. Nilai rata-rata kadar asam asetat cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Nilai rata-rata kadar asam asetat cuka fermentasi (% b/b)

Penambahan Inokulum (%)	Lama Fermentasi (Hari)						Rata-rata
	0	5	10	15	20	25	
10	1,95	1,95	2,62	2,74	2,97	2,97	2,53a
15	2,00	2,09	2,84	3,15	2,96	2,87	2,65a
20	1,97	2,10	2,78	2,99	3,15	3,21	2,70a
Rata-rata	1,97e	2,04d	2,75c	2,96b	3,02a	3,02a	

Keterangan : huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan yang nyata pada uji Duncan 5%.

Berdasarkan Tabel 1 di atas, nilai rata-rata asam asetat cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao pada perlakuan lama fermentasi terjadi peningkatan kadar asam asetat sampai hari ke- 25. semakin lama fermentasi maka semakin tinggi kadar asam asetat pada cairan pulpa biji kakao. Sreeramulu dkk. (2000) dalam Afifah (2010) menyatakan bahwa selama proses fermentasi, khamir dan bakteri melakukan metabolisme sukrosa, menghasilkan asam-asam organik seperti asetat dan asam glukonat, sehingga konsentrasi asam asetat akan semakin meningkat jika waktu fermentasi semakin lama.

Kadar Alkohol

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan lama fermentasi berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$), tetapi perlakuan penambahan inokulum dan interaksi antar perlakuan berpengaruh tidak nyata ($P > 0,05$) terhadap kadar alkohol cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao.

Nilai rata-rata kadar alkohol cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao dapat dilihat pada Tabel 2

Tabel 2 Nilai rata-rata kadar alkohol cuka fermentasi (%)

Penambahan Inokulum (%)	Lama Fermentasi (Hari)						Rata-rata
	0	5	10	15	20	25	
10	5,07	3,71	1,49	0,00	0,00	0,00	1,72a
15	5,09	3,52	1,77	0,00	0,00	0,00	1,73a
20	5,06	3,64	0,73	0,82	0,78	0,00	1,83a
Rata-rata	5,07a	3,62b	1,33c	0,27d	0,26d	0,00e	

Keterangan : huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan yang nyata pada uji Duncan 5%.

Berdasarkan Tabel 2 di atas, nilai rata-rata kadar alkohol cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao mengalami penurunan dari hari ke hari. Ini dikarenakan pada fermentasi aerob alkohol diubah oleh *Acetobacter aceti* menjadi asam asetat. Fermentasi alkohol secara aerob menstimulasi pertumbuhan *Acetobacter aceti* untuk memproduksi asam asetat, hal ini diperkuat oleh Muchtadi (1989) *Acetobacter aceti* dalam proses fermentasi mampu mengoksidasi alkohol menjadi asam asetat secara aerob.

Total Padatan Terlarut

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan lama fermentasi berpengaruh nyata ($P < 0,05$), tetapi perlakuan penambahan inokulum dan interaksi antar perlakuan berpengaruh tidak nyata terhadap total padatan terlarut cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao. Nilai rata-rata total padatan terlarut cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao dapat dilihat pada Tabel 3

Tabel 3 Nilai rata-rata total padatan terlarut cuka fermentasi (°Brix)

Penambahan Inokulum (%)	Lama Fermentasi (Hari)						Rata-rata
	0	5	10	15	20	25	
10	5,48	5,10	4,90	4,70	4,59	4,59	4,89a
15	5,55	5,15	4,90	4,98	4,98	4,98	5,09a
20	5,55	5,20	4,90	4,98	4,79	4,79	5,04a
Rata-rata	5,52a	5,15b	4,90c	4,88c	4,78d	4,78d	

Keterangan : huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan yang nyata pada uji Duncan 5%.

Berdasarkan Tabel 3 diatas, nilai total padatan terlarut pada perlakuan lama fermentasi mengalami penurunan secara signifikan. Menurut penelitian Reed and Nagodawi-thana (1991), selama proses

fermentasi khamir dan bakteri berlangsung, terjadi penurunan total padatan terlarut. Pengurangan total padatan terlarut disebabkan oleh makin berkurangnya sumber nutrisi dan substrat pada larutan (Nurismanto *et al.*, 2014). Semakin menurunnya total padatan terlarut seiring dengan lamanya proses fermentasi berlangsung, diduga disebabkan gula yang merupakan komponen padatan yang dominan dalam medium dimanfaatkan oleh bakteri asam asetat sebagai sumber karbon sehingga total padatan terlarut menjadi rendah (Sintasari *et al.*, 2014). Sintasari *et al.*, (2014) asam organik, sukrosa maupun laktosa yang terlarut inilah yang akan dihitung sebagai total padatan terlarut.

Hasil Uji Efektivitas

Uji efektivitas bertujuan untuk menentukan perlakuan terbaik dalam menghasilkan rendemen dan karakteristik cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao. Bobot variabel masing-masing variabel pengamatan perlu ditetapkan terlebih dahulu sebelum melakukan uji efektivitas. Bobot variabel hasil kuisioner untuk variabel kadar asam asetat, kadar alkohol, total padatan terlarut, berturut-turut : 1,00; 0,60; dan 0,40. Penetapan bobot variabel tersebut didasarkan atas kontribusi masing-masing variabel terhadap karakteristik cuka fermentasi. Asam asetat mendapat bobot variabel maksimal didasarkan atas tujuan produk yang dihasilkan adalah cuka fermentasi, kadar alkohol dan total padatan terlarut nilainya kecil karena tidak dikehendaki terdapat pada cuka fermentasi. Hasil pengujian uji efektivitas dapat dilihat pada Tabel 4

Hasil uji efektivitas terhadap alternatif-alternatif perlakuan diperoleh bahwa indeks efektivitas tertinggi adalah sebesar 0,96. Berdasarkan indeks efektivitas tersebut maka alternatif perlakuan yang ditetapkan sebagai perlakuan terbaik untuk menghasilkan cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao adalah perlakuan A20H25 yaitu perlakuan penambahan inokulum sebesar 10% dan lama fermentasi selama 25 hari.

Tabel 4.6 Hasil Pengujian Efektivitas untuk menentukan perlakuan terbaik cuka fermentasi

Variabel		Kadar As. Asetat	Kadar Alkohol	TSS	Jumlah
	(BV)	1,00	0,60	0,40	2,00
	(BN)	0,50	0,30	0,20	1,00
A10H0	Ne	0,00	0,00	0,08	
	Nh	0,00	0,00	0,02	0,02
A10H5	Ne	0,00	0,27	0,46	
	Nh	0,00	0,08	0,09	0,17
A10H10	Ne	0,53	0,71	0,67	
	Nh	0,27	0,21	0,13	0,61
A10H15	Ne	0,63	0,63	0,89	
	Nh	0,32	0,30	0,18	0,79
A10H20	Ne	0,80	1,00	1,00	
	Nh	0,40	0,30	0,20	0,90
A10H25	Ne	0,80	1,00	1,00	
	Nh	0,40	0,30	0,20	0,90
A15H0	Ne	0,04	0,00	0,00	
	Nh	0,02	0,00	0,00	0,02
A15H5	Ne	0,11	0,31	0,41	
	Nh	0,06	0,09	0,08	0,23
A15H10	Ne	0,71	0,65	0,68	
	Nh	0,35	0,20	0,14	0,68
A15H15	Ne	0,95	1,00	0,60	
	Nh	0,06	0,30	0,12	0,48
A15H20	Ne	0,81	1,00	0,60	
	Nh	0,40	0,30	0,12	0,82
A15H25	Ne	0,73	1,00	0,60	
	Nh	0,37	0,30	0,12	0,78
A20H0	Ne	0,02	0,01	0,00	
	Nh	0,01	0,00	0,00	0,01
A20H5	Ne	0,12	0,28	0,36	
	Nh	0,06	0,09	0,07	0,22
A20H10	Ne	0,67	0,86	0,68	
	Nh	0,33	0,26	0,14	0,73
A20H15	Ne	0,83	0,84	0,60	
	Nh	0,42	0,25	0,12	0,79
A20H20	Ne	0,95	0,85	0,78	
	Nh	0,48	0,25	0,16	0,89
A20H25	Ne	1,00	1,00	0,78	
	Nh	0,50	0,30	0,16	0,96

BV = bobot variabel

BN = bobot normal

Ne = nilai efektifitas

Nh = nilai hasil (Ne x BN)

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan data hasil penelitian dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut: Perlakuan lama fermentasi sangat berpengaruh nyata terhadap kadar asam asetat, kadar alkohol dan total padatan terlarut. Sedangkan perlakuan penambahan inokulum *Acetobacter aceti* dan interaksi antar perlakuan tidak berpengaruh terhadap kadar asam asetat, kadar alkohol dan total padatan terlarut cuka fermentasi dari cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao. Perlakuan penambahan inokulum 20% dengan lama fermentasi 25 hari dapat menghasilkan karakteristik cuka fermentasi terbaik dengan kadar asam asetat, kadar alkohol dan total padatan terlarut berturut-turut adalah 3,21 (% b/b), 0,00%, dan 4,79 °Brix.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai perlakuan fermentasi terhadap cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao dengan menambahkan waktu fermentasi yang lebih lama dan penggunaan mikroba jenis lain untuk mendapatkan kadar asam asetat yang lebih tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifah N. 2010. Analisis kondisi dan potensi lama fermentasi medium kombucha (teh, kopi, rosela) dalam menghambat pertumbuhan bakteri pathogen (*Vibrio cholerae* dan *Bacillus cereus*). Skripsi. Universitas Islam Negeri, Malang.
- Alamsyah, T.S. 1991. Peranan fermentasi dalam pengolahan biji kakao kering. Suatu Tinjauan. Berita Perkebunan, 1 (2) : 97-103.
- Anonimous. 2009. What is Vinegar. <http://www.versatilevinegar.org/>. Diakses 10 September 2015
- Cappuccino, J.G. and N. Sherman. 1992. Microbiology A Laboratory Manual. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., California.
- Daulay, D dan A. Rahman 1992. Teknologi Fermentasi Sayuran dan Buah-Buahan. PAU Pangan dan Gizi IPB, Bogor.
- De Garmo, E.P., W.G. Sullivan and J.R. Canada. 1984. Engineering Economy (7th ed.). Macmillan Publishing Company, New York.
- Ganda-Putra, G.P., Harijono, S. Kumalaningsih dan Aulani'am. 2008. Optimasi Kondisi Depolimerisasi Pulp Biji Kakao Oleh Enzim Poligalakturonase Endojinus. Jurnal Teknik Industri 9 (1): 24-34.
- Hanafiah, K.A. 1991. Teori dan Aplikasi Rancangan Percobaan Edisi ketiga, Rajawali Pers. Palembang
- Haryadi dan M. Supriyanto. 1991. Pengolahan Kakao Menjadi Bahan Pangan. Pusat Antar Universitas. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Lopez, A.S. 1986. Chemical change occurring during the processing of cacao. Proceeding of The Cacao Biotechnology Symposium. Dept. Of Food Science College of Agriculture, The Pennsylvania State University, Pennsylvania, USA.
- Ni'maturrohman, W. 2014. Pemanfaatan Limbah Kulit Buah Pisang Kepok (*Musa paradisiaca*) sebagai Bahan Dasar Pembuatan Cuka Organik Dengan Penambahan *Acetobacter aceti* Dengan Konsentrasi yang Berbeda. Skripsi S1. Universitas Muhammadiyah, Surakarta.

- Rahmawati, R. 2015. Pemanfaatan Kulit Singkong (*Manihot utilissima*) Sebagai Bahan Alternatif Pembuatan Cuka Dengan Penambahan Konsentrasi *Acetobacter Acet* Yang Berbeda. Skripsi S1. Universitas Muhammadiyah, Surakarta.
- Reed G, Nagodawithana TW 1991. Baker's yeast production. In: Reed G, Nagodawithana TW (eds). Yeast Technol. Van Nostrand Reinhold, New York.
- Sintasari, R.A., J. Kusnadi dan D.W. Ningtyas. 2014. Pengaruh Penambahan Konsentrasi Susu Skim Dan Sukrosa Terhadap Karakteristik Minuman Probiotik Sari Beras Merah. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2(3): 65-75.
- SNI 01-4371-1966. Standar Nasional Indonesia (SNI) Cuka Fermentasi. Badan Standardisasi Nasional (BSN), Jakarta.
- Sreeramulu, 2000. Kombucha Fermentation and It's Antimicrobial Activity. *Journal Agriculture Food Chemistry*
- Wartini, N. M., L. P. Wrasati dan A. A. M. D. Anggreni. 2014. Petunjuk Praktikum Pengetahuan Bahan Pangan. Jurusan Teknologi Industri Pertanian. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Udayana. Bukit Jimbaran.