



Variasi lama waktu fermentasi terhadap karakteristik kimia teh kombucha: meta-analisis

Rina Dias Agustin¹, Puspo Edi Giriwono^{1,2*}, Endang Prangdimurti¹

¹Ilmu dan Teknologi Pangan, IPB University, Bogor, Indonesia

²SEAFAST Center, IPB University, Bogor, Indonesia

Article history

Diterima:

27 Februari 2023

Diperbaiki:

1 Juni 2023

Disetujui:

15 Juni 2023

Keyword

antioxidant activity;

chemical characteristics;

fermentation time;

kombucha tea;

meta-analysis

ABSTRACT

One type of beverage that has functional effects and has been known for a long time is kombucha tea, a fermented drink made with tea leaves, sugar, and Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast (SCOBY). Kombucha tea tastes sourly like apple vinegar, sparkling contains polyphenol compounds, organic acids, other biomolecules, and probiotics. The fermentation time is a factor that needs to be considered in making kombucha tea. Much research has been done on kombucha tea, but the variation in duration of the fermentation process is very diverse, so a meta-analysis is needed to obtain valid and informative conclusions from a comprehensive study about the effect of fermentation time on the kombucha tea chemical characteristics. The PRISMA flowchart and the effect size of Standardized Mean Difference (SMD) in the form of Hedges'd were chosen as a quantitative synthesis method of meta-analysis. The results showed that the fermentation process conducted for 8-14 days had a strong effect on all parameters (flavonoid, ethanol, acetic acid levels, total phenolic, total acidity, and antioxidant activity) with SMD values >0.8, p values <0.001 to 0.732, and heterogeneity values of 57,62% to 89,40%. Kombucha tea, with a fermentation time of 7 days had significantly higher antioxidant activity. The length of the fermentation process has the strongest effect on the acetic acid levels of kombucha tea.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

* Penulis korespondensi

Email : pegiriwono@apps.ipb.ac.id

DOI 10.21107/agrointek.v18i3.19200

PENDAHULUAN

Kesadaran mengenai pentingnya kesehatan dibuktikan dengan mulai banyaknya masyarakat yang melakukan pola hidup sehat dan selektif dalam memilih jenis pangan yang akan dikonsumsi. Salah satu jenis minuman yang telah lama dikenal dan dapat memberikan efek positif bagi kesehatan adalah seduhan daun teh. Kandungan katekin dalam daun teh diketahui dapat memberikan efek fungsional bagi tubuh. Katekin merupakan senyawa polifenol yang berfungsi sebagai antioksidan. Selain katekin, daun teh juga mengandung theaflavin, thearubigin, teobromin, teofilin, katekin galat, asam galat, tannin, dan kafein (Jayabalan et al. 2008). Tidak hanya dikonsumsi dalam bentuk seduhan, daun teh juga telah dimanfaatkan menjadi minuman terfermentasi yang disebut dengan teh kombucha. Data yang diperoleh dari Mordor Intelligence (2019) melaporkan bahwa pasar kombucha di Amerika Serikat diperkirakan akan meningkat sebanyak 17,5% pada tahun 2019 hingga 2024. Hal serupa tidak menutup kemungkinan akan terjadi di Indonesia melihat mulai banyaknya tempat usaha kuliner yang menawarkan teh kombucha dalam pilihan menu yang disediakan.

Teh kombucha merupakan minuman terfermentasi dari seduhan daun teh dan gula yang ditambahkan dengan starter *Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast* (SCOBY), selanjutnya dilakukan proses fermentasi selama 12 hari (Chen and Liu 2000; Sun et al. 2015). Cita rasa asam seperti cuka apel hingga bersoda, kandungan asam organik, senyawa polifenol, biomolekul lain, dan probiotik pada teh kombucha disebabkan oleh proses fermentasi yang berlangsung selama beberapa hari (Goh et al. 2012; Coelho et al. 2020). Pada saat proses fermentasi berlangsung, mikroorganisme melakukan metabolisme untuk menghasilkan senyawa metabolit. Senyawa yang dihasilkan telah diketahui memberikan efek fungsional bagi tubuh. Keberadaan asam glukoronat pada produk akhir teh kombucha dilaporkan mampu melakukan detoksifikasi racun dalam tubuh (Vina et al. 2013). Asam asetat, senyawa polifenol, dan bakteriosin yang terkandung dalam teh kombucha dapat menghambat pertumbuhan mikroba patogen (Sreeramulu et al. 2001; Battikh et al. 2013).

Lama waktu fermentasi merupakan faktor utama yang berpengaruh terhadap komponen

kimia teh kombucha dan beberapa metabolit lain yang dihasilkan oleh mikroorganisme (Loncar et al. 2006; Soto et al. 2018). Lama waktu proses fermentasi selama 21 hari menurunkan nilai pH, meningkatkan kadar asam asetat, meningkatkan kadar asam glukonat, menurunkan kadar etanol, dan meningkatkan aktivitas antioksidan teh kombucha (teh hitam) paling optimal (Chakravorty et al. 2016). Peningkatan maksimum asam asetat dan asam glukoronat teh kombucha (teh hitam) secara berturut-turut terjadi pada fermentasi hari ke 15 dan ke 12 (Jayabalan et al. 2007). Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa teh hitam yang difermentasi selama 14 hari memiliki kadar polifenol, flavonoid, dan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan teh hitam tanpa fermentasi (Bhattacharya et al. 2013).

Cukup banyak penelitian yang melaporkan karakteristik minuman teh kombucha dengan kondisi proses fermentasi yang cukup beragam, salah satunya adalah lama waktu fermentasi yang digunakan. Hal tersebut menjadi tantangan tersendiri apabila ingin membandingkan hasil analisis karakteristik teh kombucha dari masing-masing artikel, sedangkan hasil penelitian ilmiah diperlukan oleh produsen pemula sebagai pedoman dalam mengambil kebijakan atau keputusan. Tinjauan secara sistematis dari studi yang komprehensif dengan metode meta-analisis diperlukan sebagai bentuk ringkasan kuantitatif untuk memperoleh kesimpulan umum dan informatif mengenai pengaruh lama waktu proses fermentasi terhadap karakteristik kimia produk akhir teh kombucha.

Meta-analisis merupakan metode statistik yang digunakan untuk meringkas data numerik dari studi individu ke dalam satu perkiraan keseluruhan (Verhagen and Ferreira 2014). Meta-analisis mengacu pada penggunaan teknik statistik dalam *systematic review* untuk mengintegrasikan data yang dikumpulkan dari beberapa studi sejenis sehingga diperoleh hasil yang dapat diandalkan dan sangat memungkinkan penarikan kesimpulan baru (Moher et al. 2009; Khaneghah and Sant'Ana 2020). Beberapa kelebihan yang dimiliki meta-analisis adalah bersifat lebih objektif, risiko bias yang rendah, dan lebih ekonomis (Gurevitch et al. 2018). Selain itu, St-Pierre (2001) menyatakan bahwa meta-analisis berbasis ketersediaan data yang dapat digunakan untuk menjelaskan data hasil pengamatan dari berbagai penelitian sejenis yang dilakukan pada waktu, tempat, dan orang

yang berbeda. Beberapa kelebihan yang dimiliki menjadi salah satu pertimbangan penulis menggunakan kajian meta-analisis sebagai metode dalam penelitian.

METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain perangkat lunak *Microsoft Excel*, *Web Plot Digitizer*, dan *Open MEE*. *Microsoft Excel* dan *Open MEE* digunakan untuk melakukan olah data, sedangkan *Web Plot Digitizer* berfungsi untuk mengekstrak data yang disajikan dalam bentuk grafik atau kurva.

Bahan yang digunakan merupakan artikel hasil penelitian dari jurnal bereputasi (terindeks Q1-Q4 dan minimal SINTA 2). Artikel diperoleh dari beberapa *database*, antara lain PubMed, Proquest, Science Direct, Wiley Online Library, Scopus, Springer Link, dan Google Scholar.

Penyusunan Pertanyaan Penelitian

Terdapat dua pendekatan yang dapat digunakan untuk menyusun pertanyaan penelitian, yaitu PICO (*Population, Intervention, Comparison, dan Outcome*) dan SPIDER (*Sample, Phenomenon of Interest, Design, Evaluation, Research Type*) (Methley et al. 2014). PICO biasa digunakan pada sintesis data secara kuantitatif, sedangkan SPIDER digunakan dalam sintesis data secara kualitatif dan campuran. Pertanyaan penelitian yang diajukan pada kajian meta-analisis ini adalah: bagaimana pengaruh lama waktu fermentasi terhadap karakteristik kimia teh kombucha yang dihasilkan? Pertanyaan penelitian dirumuskan menggunakan pendekatan PICO seperti yang telah diuraikan pada Tabel 1.

Tabel 1 Informasi detail tentang PICO (population, intervention, comparison, dan outcome)

PICO	Keterangan
Population	Teh kombucha
Intervention	Proses fermentasi selama 8-14 hari
Comparison	Proses fermentasi selama 7 hari
Outcome	Karakteristik kimia (kadar flavonoid, total fenolik, etanol, asam asetat, total asam, dan aktivitas antioksidan).

Pencarian Awal dan Validasi Ide

Proses pencarian awal artikel dilakukan pada database Pubmed dan Google Scholar dengan kata kunci “*kombucha tea*” dan “*kombucha beverage*”. Tujuan dari tahap ini adalah untuk memastikan bahwa artikel dengan pertanyaan penelitian yang diajukan tersedia cukup banyak. Identifikasi terhadap keberadaan artikel meta-analisis yang sejenis juga dilakukan untuk melakukan validasi bahwa artikel tidak menggunakan pertanyaan penelitian yang sama dengan pertanyaan yang peneliti ajukan.

Pencarian Bukti Penelitian yang Relevan dengan Strategi Sistematis

Strategi pencarian artikel dilakukan dengan cara menentukan *database* dan kata kunci yang tepat. Database yang digunakan merupakan database yang diketahui memuat banyak artikel terkait dengan pertanyaan penelitian, antara lain PubMed, Proquest, Science Direct, Wiley Online Library, Scopus, Springer Link, dan Google Scholar. Kata kunci pencarian ditentukan berdasarkan PICO atau mengulang dan memodifikasi kata kunci yang sudah ada pada meta-analisis atau *systematic review* sebelumnya. Proses pencarian dapat menjadi lebih sempit dan tepat dengan memanfaatkan boolean operator, yaitu menambahkan kata “AND”, “OR”, dan “NOT” diantara kata kunci yang digunakan (Ecker dan Skelly 2010).

Kata kunci yang dimasukkan yaitu “*kombucha*”, “*kombucha tea*”, “*fermentation tea*”, “*fermentation time*”, “*fermented tea*”, “*kombucha beverage*”, dan “*kombucha beverages*”. Pencarian secara manual juga diterapkan untuk memaksimalkan proses pencarian, yaitu dengan melihat daftar pustaka dalam artikel yang lolos seleksi.

Seleksi dan Pengelolaan Proses Pencarian

Proses seleksi artikel dilakukan berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi dengan bantuan diagram alir *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis* (PRISMA). Penggunaan metode PRISMA bertujuan untuk pelaporan secara sistematis. Diagram alir tersebut memetakan jumlah artikel yang akan diidentifikasi, dimasukkan, dikeluarkan, dan alasan dikeluarkannya artikel dari bahan kajian meta-analisis (Moher et al. 2009). Kriteria inklusi dan eksklusi disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2 Kriteria inklusi dan eksklusi artikel

Kriteria	
Inklusi	merupakan original paper dan bereputasi (terindeks Q1- Q4 dan minimal SINTA 2) populasi yang diteliti pada artikel adalah teh kombucha dari jenis teh hitam atau hijau perlakuan yang digunakan dalam artikel merupakan lama waktu fermentasi (7 hari dan 8-14 hari) menganalisis satu atau lebih parameter yang diperlukan: Kadar asam asetat, flavonoid, total fenolik, etanol, total asam, dan aktivitas antioksidan melaporkan atau menyajikan data kuantitatif yang meliputi nilai rata-rata, standar deviasi atau standar eror, dan jumlah ulangan dari kelompok kontrol maupun eksperimen. memiliki bentuk full text dan dapat didownload
Eksklusi	artikel duplikasi artikel systematic review (sintesis kualitatif dan kuantitatif) artikel yang tidak menggunakan Bahasa Inggris

Ekstraksi Data

Ekstraksi data dilakukan terhadap artikel yang lolos seleksi dan dirangkum ke dalam satu *database* berbasis *Microsoft Excel* (Kasenta 2016; Tawfik et al. 2019). Informasi yang diambil dan dimasukkan ke dalam *database* antara lain nama penulis, tahun terbit, satuan parameter, lama waktu fermentasi, jenis daun teh, konsentrasi sukrosa, konsentrasi starter, konsentrasi daun teh, dan data kuantitatif (nilai rata-rata, standar deviasi atau eror, dan jumlah ulangan pada kelompok kontrol maupun eksperimen). Artikel yang menyajikan data kuantitatif dalam bentuk grafik atau kurva diekstraksi menggunakan *Web Plot Digitizer* untuk memperoleh estimasi angka yang sesuai dan akurat.

Sintesis Kuantitatif

Data disintesis menjadi satu parameter kuantitatif yang disebut dengan *effect size*. Hedges'd (*Standardized Mean Difference/SMD*) dipilih sebagai *effect size* untuk menyeragamkan unit sehingga data dari berbagai studi dapat

digabungkan dan dievaluasi (Tawfik et al. 2019). Sintesis kuantitatif dilakukan menggunakan *Microsoft Excel* dan divalidasi dengan *Open MEE*.

Hasil yang diperoleh dari sintesis kuantitatif yaitu nilai S, J, d, Vd, Sd, Wd, Wd x d, τ², Vd*, Wd*, dan Wd* x d dari masing-masing studi serta nilai D*+, 95% CI (*Confidence Interval*), heterogenitas, Vd*+, dan Sd*+ dari kumulatif studi setiap parameter. (Borenstein et al. 2009). Nilai d, D*+, dan 95% CI dituangkan ke dalam grafik *forest plot* sebagai nilai *effect size* masing-masing studi, *effect size* kumulatif, dan *confidence interval* (Verhagen and Ferreira 2014). Berikut merupakan persamaan yang digunakan untuk menghitung *effect size* menggunakan Hedges'd (Borenstein et al. 2009).

$$d = \frac{\bar{X}_e - \bar{X}_c}{S} J \tag{Pers. (1)}$$

$$J = 1 - \frac{3}{(4(Nc+Ne-2)-1)} \tag{Pers. (2)}$$

$$S = \sqrt{\frac{(Ne-1)(Se)^2 + (Nc-1)(Sc)^2}{(Ne+Nc-2)}} \tag{Pers. (3)}$$

$$Vd = \frac{(Nc+Ne)}{(NcNe)} + \frac{d^2}{(2(Nc+Ne))} \tag{Pers. (4)}$$

$$Wd = \frac{1}{Vd} \tag{Pers. (5)}$$

Keterangan:

- d : *effect size* studi
- Xe : nilai rata-rata kelompok eksperimen
- Xc : nilai rata-rata kelompok kontrol
- Ne : jumlah sampel kelompok eksperimen
- Nc : jumlah sampel kelompok kontrol
- Se : standar deviasi kelompok eksperimen
- Sc : standar deviasi kelompok kontrol
- J : faktor koreksi
- S : SD *pooled*
- Vd : nilai varians dari Hedges'd
- Wd : bobot studi

Model yang digunakan untuk menghitung SMD kumulatif dalam penelitian ini adalah *random effect*. Berikut merupakan persamaan yang digunakan untuk menentukan *effect size* kumulatif menggunakan model *random effect* (Borenstein et al. 2009).

$$d = \frac{\bar{X}_e - \bar{X}_c}{S} J \tag{Pers. (1)}$$

$$J = 1 - \frac{3}{(4(Nc+Ne-2)-1)} \tag{Pers. (2)}$$

$$S = \sqrt{\frac{(Ne-1)(Se)^2 + (Nc-1)(Sc)^2}{(Ne+Nc-2)}} \tag{Pers. (3)}$$

$$Vd = \frac{(Nc+Ne)}{(NcNe)} + \frac{d^2}{(2(Nc+Ne))} \tag{Pers. (4)}$$

$$Wd = \frac{1}{Vd} \tag{Pers. (5)}$$

$$\tau^2 = \frac{Q-df}{c} \tag{Pers. (6)}$$

$$Q = \sum Wd \times d^2 - \frac{(\sum Wd \times d)^2}{\sum Wd}, df = k-1 \quad \text{Pers. (7)}$$

$$C = \sum Wd - \frac{\sum (Wd^2)}{\sum Wd} \quad \text{Pers. (8)}$$

$$D^{*+} = \frac{\sum (Wd^* \times d)}{\sum (Wd^*)} \quad \text{Pers. (9)}$$

$$Wd^* = \frac{1}{vd^*} \quad \text{Pers. (10)}$$

$$Vd^* = Vd + \tau^2 \quad \text{Pers. (11)}$$

$$95\% CI^* = 1,96 \times Sd^{*+} \quad \text{Pers. (12)}$$

$$Vd^{*+} = \frac{1}{\sum (Wd^*)} \quad \text{Pers. (13)}$$

$$Sd^{*+} = \sqrt{Vd^{*+}} \quad \text{Pers. (14)}$$

$$I^2 = \frac{Q-df}{Q} \times 100\% \quad \text{Pers. (15)}$$

Keterangan:

τ^2 : variansi true effect

Q : jumlah kuadrat terbobot

df : degree of freedom

k : jumlah studi yang dianalisis

D^{*+} : effect size kumulatif

Wd^* : bobot d setelah diestimasi

Vd^* : nilai varian effect size setelah diestimasi

Vd^{*+} : varian effect size kumulatif setelah diestimasi

Sd^{*+} : standar deviasi kumulatif setelah diestimasi

95% CI: confidence interval

I^2 : heterogenitas

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pencarian dan Seleksi Studi

Total artikel yang memiliki kesesuaian judul dengan kata kunci yang digunakan untuk pencarian pada 6 *database* (PubMed, Proquest, Science Direct, Wiley Online Library, Scopus, dan Springer Link) yaitu sebanyak 1.437 artikel (Gambar 1).

Artikel yang diperoleh dilakukan seleksi dan diketahui sebanyak 1.221 artikel tidak memiliki kesesuaian judul, abstrak, dan jenis artikel (*review* atau *prosiding*), sehingga tersisa 216 artikel. Selanjutnya, terseleksi 53 artikel yang tidak terduplikasi, isi artikel relevan, dan dapat diunduh secara keseluruhan (*full text*).

Hasil evaluasi terhadap 53 artikel berbentuk *full text* diketahui bahwa sebanyak 1 artikel tidak menggunakan bahasa Inggris, 26 artikel tidak memiliki kelengkapan data kuantitatif (nilai rata-rata, standar deviasi atau eror, dan jumlah sampel dari kelompok kontrol dan eksperimen), dan 16 artikel tidak melaporkan teh kombucha dengan lama proses fermentasi selama 7 hari, sehingga

tersisa 10 artikel yang dapat digunakan sebagai bahan kajian meta-analisis.

Ekstraksi Data

Ekstraksi data dilakukan pada 10 artikel yang telah lolos seleksi. Data yang diperoleh pada masing-masing artikel antara lain nama penulis, tahun terbit, satuan parameter, nilai rata-rata kelompok kontrol dan eksperimen, nilai standar deviasi kelompok kontrol dan eksperimen, jumlah ulangan kelompok kontrol dan eksperimen, lama waktu fermentasi, jenis daun teh, konsentrasi sukrosa, konsentrasi starter, dan konsentrasi daun teh (Tabel 3). Ekstraksi terhadap data kuantitatif (rata-rata, standar deviasi atau eror, dan jumlah ulangan) bertujuan untuk memperoleh nilai *effect size* kumulatif yang kemudian diinterpretasikan sebagai besarnya pengaruh.

Lama waktu fermentasi yang diambil adalah 7 hari (kontrol) dan 8-14 hari (eksperimen). Penetapan teh kombucha dengan lama waktu fermentasi 7 hari sebagai kelompok kontrol dikarenakan oleh adanya penelitian yang menyatakan bahwa proses metabolisme SCOBY berlangsung optimal selama 7 hari pertama. Hal tersebut ditunjukkan dengan penelitian Malbasa et al. (2011) yang menyatakan bahwa dalam kondisi aerobik, selama 7 hari simbiosis kombucha mampu mengubah substrat (sukrosa dan teh) menjadi minuman yang sedikit berkarbonasi, asam, dan menyegarkan. Produksi etanol paling optimal juga berlangsung pada hari ke 3-7 fermentasi (Chakravorty et al. 2016). Hasil ekstraksi data menunjukkan bahwa terdapat 11 data pada parameter asam asetat, 7 data flavonoid, 6 data total fenolik, 5 data etanol, 7 data total asam, dan 6 data aktivitas antioksidan. Data yang diperoleh dimasukkan kedalam *Microsoft Excel* (Tabel 3).

Fermentasi Teh Kombucha selama 8-14 Hari

Seluruh data pada masing-masing parameter kemudian diolah menggunakan *Microsoft Excel* dan *OpenMEE* untuk menentukan nilai *effect size* antar studi (d), *effect size* kumulatif (D^{*+}), *confidence interval* (95% CI), dan heterogenitas (I^2). Nilai-nilai tersebut disajikan dalam bentuk grafik *forest plot* dan dianalisis untuk mengetahui pengaruh lama waktu proses fermentasi terhadap karakteristik kimia dan aktivitas antioksidan teh kombucha.

Tabel 4 menunjukkan nilai SMD kumulatif, 95% CI, dan heterogenitas dari seluruh

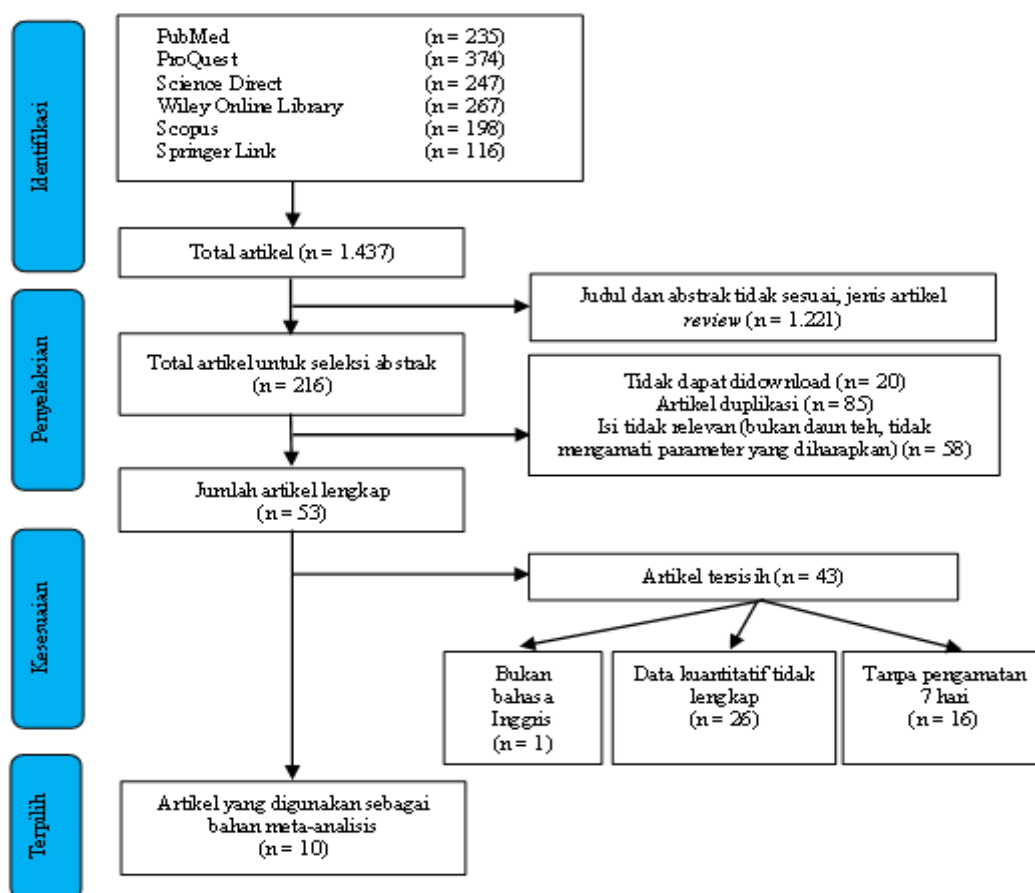
karakteristik kimia teh kombucha yang diamati (kadar flavonoid, total fenolik, etanol, asam asetat, total asam, dan aktivitas antioksidan). Lama waktu proses fermentasi selama 8-14 hari berperan sebagai intervensi. Berdasarkan hasil perhitungan menggunakan metode Hedges'd dapat diketahui bahwa nilai *Standardized Mean Difference* (SMD) kumulatif pada seluruh parameter >0.8, yaitu berkisar antara 0,98 hingga 12,63 (Tabel 4). Nilai SMD yang diperoleh menunjukkan bahwa lama waktu proses fermentasi selama 8-14 hari berpengaruh kuat terhadap seluruh karakteristik kimia teh kombucha. Hal ini sesuai dengan pengelompokan nilai *effect size*, yaitu pengaruh lemah ($d = 0,2 - 0,5$), sedang ($d = 0,5 - 0,8$), dan kuat ($d > 0,8$) (Koricheva et al. 2013).

Asam asetat merupakan parameter yang memiliki nilai SMD paling tinggi diantara parameter lainnya, yaitu sebesar 12,63 dengan *confidence interval* (95% CI) sebesar 8,26 dan *p value* 0,003. Hal tersebut menunjukkan bahwa lama waktu proses fermentasi selama 8-14 hari secara signifikan berpengaruh paling kuat pada kadar asam asetat teh kombucha. Hasil kajian

meta-analisis juga menunjukkan bahwa pengaruh kuat dari lama waktu proses fermentasi terhadap kadar etanol teh kombucha adalah yang paling kecil diantara parameter lain yang diamati. Hal ini dapat diketahui dari nilai SMD yang diperoleh paling kecil, yaitu sebesar 0,98 dengan 95% CI sebesar 5,60 dan *p value* >0,005.

Pengaruh Lama Waktu Proses Fermentasi selama 8-14 Hari terhadap Perubahan Kadar Asam Asetat Teh Kombucha

Sebelas data melaporkan pengaruh lama waktu proses fermentasi selama 8-14 hari terhadap kadar asam asetat teh kombucha (Gambar 2). Nilai SMD kumulatif menunjukkan nilai yang positif, yaitu sebesar 12,63 dengan 95% CI sebesar 4,37 s.d. 20,89. Hal ini mengindikasikan bahwa lama waktu proses fermentasi selama 8-14 hari secara signifikan berpengaruh kuat dalam meningkatkan kadar asam asetat teh kombucha, sehingga kadar asam asetat teh kombucha berbeda signifikan (garis horizontal tidak memotong garis $x=0$) dengan teh kombucha hasil fermentasi selama 7 hari.



Gambar 1 Diagram alir PRISMA

Tabel 3 Hasil ekstraksi data terhadap 10 artikel

Referensi	Satuan	Eksperimen (8-14 hari)		Kontrol (7 hari)		N	Lama fermentasi (8-14 hari)	Jenis teh
		Rata-rata	SD	Rata-rata	SD			
1. Flavonoid								
Jakubczyk et al. 2020	mg/L	126,7	5,2	90,5	0,7	3	14	black tea
Jakubczyk et al. 2020	mg/L	181,3	4,8	146,8	3,4	3	14	green tea
Gaggia et al. 2018	mg/g DW	13,87	0,79	14,46	0,19	3	14	black tea
Gaggia et al. 2018	mg/g DW	15,11	0,22	18,49	0,73	3	14	green tea
Chakravorty et al. 2016	µg QE/100mg	1,36	0,37	0,965	0,309	3	14	black tea
Bhattacharya et al. 2011	µg QE	6,911	0,308	6,504	0,309	6	10	black tea
Bhattacharya et al. 2011	µg QE	7,496	0,358	6,504	0,309	6	14	black tea
2. Total fenolik								
Jakubczyk et al. 2020	mg/L	126,7	5,2	90,5	0,7	3	14	black tea
Jakubczyk et al. 2020	mg/L	181,3	4,8	146,8	3,4	3	14	green tea
Chakravorty et al. 2016	µg GAE/10mg	13,87	0,79	14,46	0,19	3	14	black tea
Bhattacharya et al. 2011	µg GAE	15,11	0,22	18,49	0,73	6	10	black tea
Bhattacharya et al. 2011	µg GAE	1,36	0,37	0,965	0,309	6	14	black tea
Vitas et al. 2020	Mg GA/mL	6,911	0,308	6,504	0,309	3	10	green tea
3. Etanol								
Jakubczyk et al. 2020 (1)	%	2,00	0,00	3,25	0,50	3	14	black tea
Jakubczyk et al. 2020 (1)	%	2,75	0,50	3,00	0,00	3	14	green tea
Gaggia et al. 2018	mg/mL	5,83	0,08	4,69	0,05	3	14	black tea
Gaggia et al. 2018	mg/mL	4,18	0,03	2,81	0,01	3	14	green tea
Chakravorty et al. 2016	g/L	0,14	0,01	0,28	0,01	3	14	black tea
4. Asam asetat								
Jakubczyk et al. 2020	mg acetic acid/L	9083,03	0,36	7039,08	0,36	3	14	black tea
Jakubczyk et al. 2020	mg acetic acid/L	9147,4	0,31	7039,21	0,12	3	14	green tea
Jakubczyk et al. 2020 (1)	mg acetic acid/100mL	908,30	0,36	703,91	0,03	3	14	black tea
Jakubczyk et al. 2020 (1)	mg acetic acid/100mL	914,74	0,31	703,92	0,02	3	14	green tea
Gaggia et al. 2018	mg/mL	9,18	0,15	3,18	0,00	3	14	black tea
Gaggia et al. 2018	mg/mL	7,65	0,00	4,22	0,02	3	14	green tea
Chakravorty et al. 2016	g/L	12,53	0,83	5,72	0,21	3	14	black tea
Vitas et al. 2020	g/L	0,84	0,01	0,66	0,01	3	10	black tea
Vitas et al. 2020	g/L	1,66	0,07	1,31	0,02	3	10	green tea
Malbasa et al. 2007	g/L	0,361	0,019	0,3	0,015	3	10	black tea
Malbasa et al. 2007	g/L	0,536	0,014	0,3	0,015	3	14	black tea
5. Total asam								
Malbasa et al. 2011	g/L	7,065	0,295	5,173	0,21	3	10	black tea
Malbasa et al. 2011	g/L	8,028	0,254	6,448	0,253	3	10	green tea
Vitas et al. 2020	g/L	6,267	0,093	2,733	0,02	3	10	black tea
Vitas et al. 2020	g/L	4,151	0,072	3,236	0,031	3	10	green tea
Malbasa et al. 2007	g/L	0,941	0,028	0,575	0,043	3	10	black tea
Malbasa et al. 2007	g/L	1,164	0,036	0,575	0,043	3	14	black tea
Akarca G, 2021	%	14,71	1,76	14,09	1,26	2	14	black tea
6. Aktivitas antioksidan								
Jakubczyk et al. 2020	%	61,04	1,99	70,63	0,53	3	14	black tea
Jakubczyk et al. 2020	%	88,23	0,83	91,40	0,57	3	14	green tea
Malbasa et al. 2011	%	31,92	1,81	36,63	2,54	3	10	black tea
Malbasa et al. 2011	%	55,78	1,88	62,81	1,88	3	10	green tea
Vohra et al. 2019	%	55,00	0,98	70,69	0,98	3	14	black tea
Vohra et al. 2019	%	78,20	2,94	84,08	2,29	3	14	green tea

Pengaruh Lama Waktu Proses Fermentasi selama 8-14 Hari terhadap Perubahan Kadar Asam Asetat Teh Kombucha

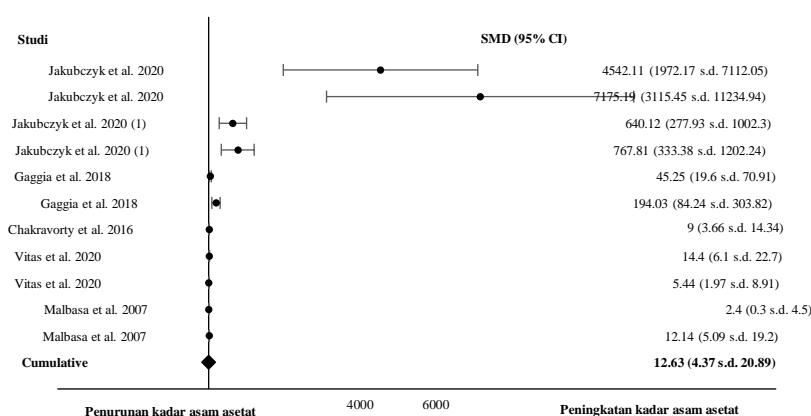
Sebelas data melaporkan pengaruh lama waktu proses fermentasi selama 8-14 hari terhadap kadar asam asetat teh kombucha (Gambar 2). Nilai SMD kumulatif menunjukkan nilai yang positif, yaitu sebesar 12,63 dengan 95% CI sebesar 4,37 s.d. 20,89. Hal ini mengindikasikan bahwa lama

waktu proses fermentasi selama 8-14 hari secara signifikan berpengaruh kuat dalam meningkatkan kadar asam asetat teh kombucha, sehingga kadar asam asetat teh kombucha berbeda signifikan (garis horizontal tidak memotong garis x=0) dengan teh kombucha hasil fermentasi selama 7 hari.

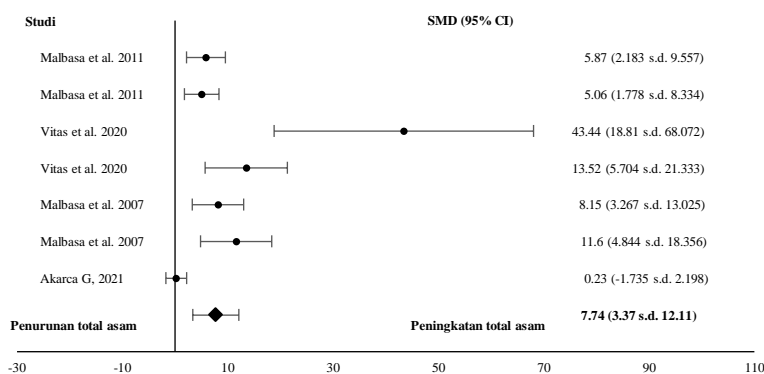
Tabel 4 Nilai *Standardized Mean Difference* (SMD), 95% CI, dan heterogenitas karakteristik kimia teh kombucha yang difermentasi selama 8-14 hari

Parameter	Teh kombucha selama 8-14 hari proses fermentasi				Heterogenitas	
	N	SMD	95% CI	P value	I ²	P value
Flavonoid	7	1,48	1,98	0,143	84,12	<0,001
Total fenolik	6	1,70	1,89	0,078	78,93	<0,001
Etanol	5	0,98	5,60	0,732	89,40	<0,001
Asam asetat	11	12,63	8,26	0,003	88,29	<0,001
Total asam	7	7,74	4,37	<0,001	84,39	<0,001
Aktivitas antioksidan	6	-3,27	1,66	<0,001	57,62	0,038

Keterangan: N (jumlah data), SMD (Standardized Mean Difference)



Gambar 2 *Forest plot* pengaruh lama waktu proses fermentasi 8-14 hari terhadap perubahan kadar asam asetat teh kombucha



Gambar 3 *Forest plot* pengaruh lama waktu proses fermentasi 8-14 hari terhadap perubahan total asam teh kombucha

Tingginya asam asetat pada teh kombucha yang difermentasi di atas 7 hari diduga disebabkan oleh jumlah bakteri asam asetat dalam kultur SCOBY yang lebih dominan dibandingkan dengan jenis mikroorganisme lain. Akibatnya adalah metabolit yang dihasilkan dari aktivitas bakteri asam asetat juga tinggi. Hal tersebut telah dilaporkan oleh Marsh et al. (2014) bahwa *Gluconacetobacter* spp. merupakan jenis bakteri

asam asetat yang mendominasi dalam kultur SCOBY, yaitu sebesar 85%, sehingga asam asetat menjadi metabolit dominan yang dihasilkan dari proses fermentasi teh kombucha.

Kadar asam asetat yang terkandung dalam teh kombucha berkaitan dengan keberadaan etanol yang diproduksi oleh khamir. Etanol dimanfaatkan oleh bakteri asam asetat untuk memproduksi asam asetat. Chakravorty et al.

(2016) melaporkan bahwa etanol dalam teh kombucha mengalami peningkatan maksimum pada hari ke-7 yaitu mencapai 0,28 g/L dan setelahnya mengalami penurunan. Hal ini dikarenakan substrat untuk pertumbuhan khamir semakin berkurang sehingga proses fermentasi dilanjutkan oleh bakteri asam asetat untuk memproduksi asam asetat, yaitu dengan memanfaatkan etanol melalui proses oksidasi (Chen and Liu 2000). Oleh karena itu, kandungan asam asetat dalam teh kombucha hasil fermentasi selama 8-14 mengalami peningkatan yang signifikan.

Pengaruh Lama Waktu Proses Fermentasi selama 8-14 Hari terhadap Perubahan Total Asam Teh Kombucha

Analisis total asam bertujuan untuk mengetahui jumlah asam secara keseluruhan yang terdapat dalam teh kombucha. Hasil meta-analisis terhadap 7 data menunjukkan bahwa SMD kumulatif bernilai positif, yaitu sebesar 7,74 dengan 95% CI sebesar 3,37 s.d. 12,11 (Gambar 3). Hal ini menunjukkan bahwa lama waktu proses fermentasi selama 8-14 hari secara signifikan berpengaruh kuat terhadap peningkatan total asam teh kombucha, sehingga menyebabkan kadar total asam berbeda signifikan (garis horizontal tidak memotong garis x=0) dengan teh kombucha yang difermentasi selama 7 hari.

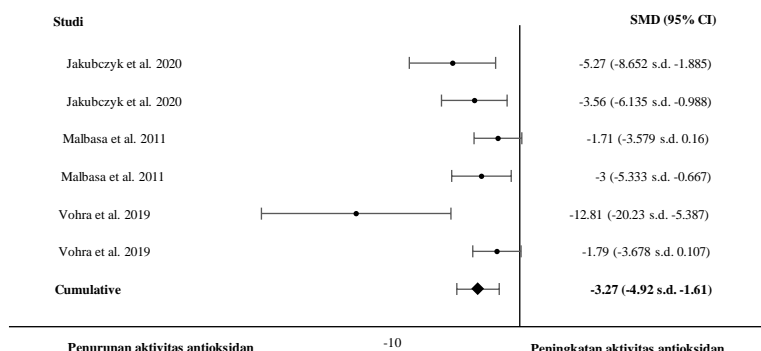
Tingginya total asam pada produk akhir teh kombucha diduga berkaitan dengan pemanfaatan sukrosa dan teh sebagai sumber karbon dan nitrogen oleh mikroorganisme selama proses fermentasi berlangsung untuk memproduksi asam-asam organik. Hal ini telah dijelaskan oleh Kaewkod et al. (2019) bahwa mikroorganisme menggunakan sukrosa sebagai sumber nutrisi utama untuk menghasilkan banyak asam organik,

sehingga total asam teh kombucha dari teh hitam menunjukkan jumlah yang tinggi.

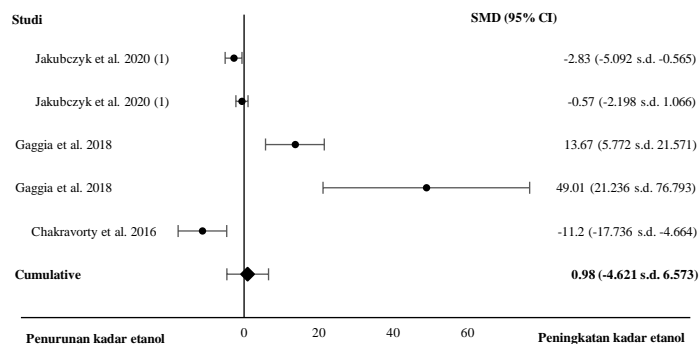
Pengaruh Lama Waktu Proses Fermentasi selama 8-14 Hari terhadap Perubahan Aktivitas Antioksidan Teh Kombucha

Hasil kajian meta-analisis menunjukkan bahwa proses fermentasi yang lebih lama (8-14 hari) secara signifikan berpengaruh kuat terhadap penurunan aktivitas antioksidan, sehingga aktivitas antioksidan berbeda signifikan dengan teh kombucha hasil fermentasi selama 7 hari, yaitu lebih rendah. Hal ini ditunjukkan dengan besarnya SMD kumulatif aktivitas antioksidan bernilai negatif, yaitu -3,27 dengan 95%CI sebesar -4,92 s.d. -1,61 dan garis horizontal tidak memotong garis x=0 (Gambar 4). Ahmed et al. (2020) melaporkan bahwa peningkatan aktivitas antioksidan teh kombucha hitam terjadi hingga hari ke 8 proses fermentasi dan mengalami penurunan seiring dengan lamanya waktu fermentasi.

Aktivitas antioksidan yang menurun setelah proses fermentasi selama 7 hari diduga berkaitan dengan aktivitas mikroorganisme dalam memproduksi enzim yang dapat mendegradasi polifenol kompleks menjadi molekul yang lebih kecil semakin berkurang. Hal ini terlihat dari kadar total fenolik dan flavonoid pada teh kombucha yang difermentasi selama 8-14 hari tidak berbeda signifikan dengan hasil fermentasi selama 7 hari (Tabel 4). Sesuai dengan pernyataan Jayabalan et al. (2008) yaitu senyawa polifenol yang terkandung dalam teh bertanggungjawab atas sifat antioksidan yang dimiliki teh kombucha. Oleh karena itu, apabila peningkatan polifenol yang diperoleh dari aktivitas mikroorganisme tidak signifikan maka aktivitas antioksidan teh kombucha mengalami penurunan.



Gambar 4 Forest plot pengaruh lama waktu proses fermentasi 8-14 hari terhadap perubahan aktivitas antioksidan teh kombucha



Gambar 5 *Forest plot* pengaruh lama waktu proses fermentasi 8-14 hari terhadap perubahan kadar etanol teh kombucha

Pengaruh Lama Waktu Proses Fermentasi selama 8-14 Hari terhadap Perubahan Kadar Etanol Teh Kombucha

Gambar 5 merupakan *forest plot* dari 5 studi yang menunjukkan pengaruh lama waktu proses fermentasi selama 8-14 hari terhadap kadar etanol teh kombucha. SMD kumulatif yang diperoleh bernilai positif, yaitu sebesar 0,98 dengan 95% CI sebesar -4,621 s.d. 6,573. Hal ini menunjukkan bahwa lama waktu proses fermentasi selama 8-14 hari berpengaruh kuat terhadap peningkatan kadar etanol teh kombucha (nilai SMD kumulatif >0,8). Hasil kajian meta-analisis menunjukkan bahwa peningkatan kadar etanol teh kombucha yang difermentasi selama 8-14 hari tidak signifikan (garis horizontal tidak memotong garis $x=0$), sehingga kadar etanol teh kombucha yang difermentasi selama 7 dan 8-14 hari tidak berbeda signifikan.

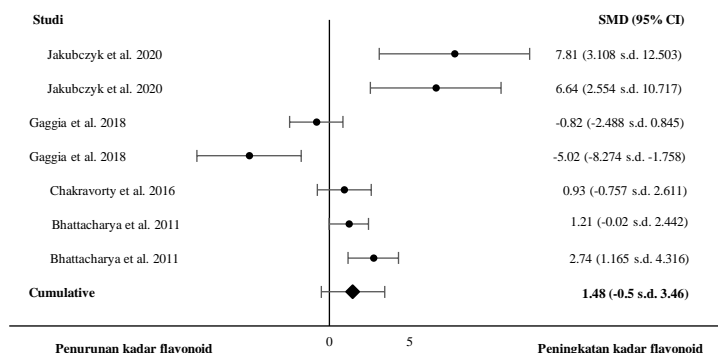
Peningkatan kadar etanol yang tidak signifikan pada fermentasi hari ke 8-14 disebabkan oleh aktivitas khamir dalam memproduksi etanol mulai menurun pada lama fermentasi diatas 7 hari. Hal ini diduga disebabkan oleh konsentrasi sukrosa yang semakin berkurang seiring dengan lamanya waktu proses fermentasi. Sukrosa memiliki peranan penting yaitu dimanfaatkan oleh khamir secara anaerobik untuk menghasilkan etanol selama proses fermentasi berlangsung (Jayabalan et al. 2010). Konsentrasi sukrosa yang semakin berkurang menyebabkan produksi etanol oleh khamir juga semakin menurun.

Hasil penelitian lain dijelaskan oleh Markov et al. (2003) bahwa bakteri asam asetat aerob

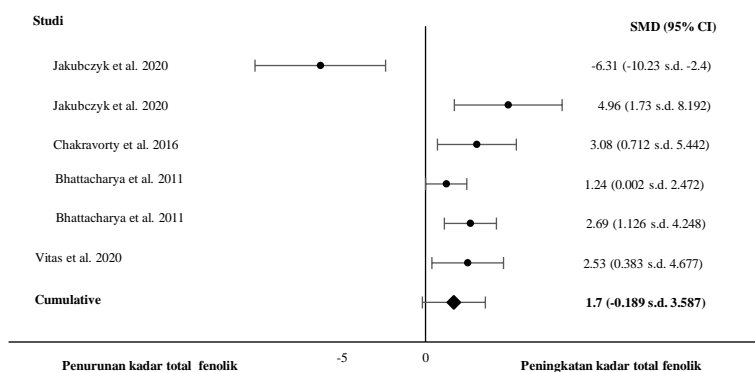
obligat menggunakan etanol untuk memproduksi asam organik, terutama asam asetat melalui oksidasi etanol. Hal tersebut menyebabkan kadar etanol teh kombucha hasil fermentasi 7 dan 8-14 hari tidak berbeda signifikan. Penelitian Chakravorty et al. (2016) semakin mendukung hasil kajian meta-analisis, dengan melaporkan bahwa fermentasi selama 1-7 hari mengalami peningkatan kadar etanol paling tinggi dan mengalami penurunan setelah fermentasi hari ke-7. Berdasarkan hasil kajian meta-analisis, proses fermentasi selama 14 hari disarankan kepada produsen yang ingin memperoleh karakteristik teh kombucha dengan tingkat keasaman cukup tinggi namun memiliki kadar etanol yang masih dalam jumlah tidak berbeda signifikan dengan hasil proses fermentasi selama 7 hari.

Pengaruh Lama Waktu Proses Fermentasi selama 8-14 Hari terhadap Perubahan Kadar Flavonoid dan Total Fenolik Teh Kombucha

Hasil kajian meta-analisis (Gambar 6 dan 7) menunjukkan bahwa lama waktu proses fermentasi selama 8-14 hari berpengaruh kuat terhadap peningkatan kadar flavonoid dan total fenolik teh kombucha. Hal ini ditunjukkan dengan SMD kumulatif (95%CI) bernilai positif, dan lebih besar dari 0,8, yaitu secara berturut-turut sebesar 1,48 (-0,5 s.d. 3,46) dan 1,70 (-0,189 s.d. 3,587). Namun garis horizontal *effect size* kumulatif pada grafik *forest plot* memotong garis $x=0$, menunjukkan bahwa peningkatan kadar flavonoid dan total fenolik pada proses fermentasi selama 8-14 hari tidak signifikan, sehingga kadar kedua parameter pada teh yang difermentasi selama 8-14 hari tidak berbeda signifikan dengan teh kombucha hasil fermentasi selama 7 hari.



Gambar 6 Forest plot pengaruh lama waktu proses fermentasi 8-14 hari terhadap perubahan kadar flavonoid teh kombucha



Gambar 7 Forest plot pengaruh lama waktu proses fermentasi 8-14 hari terhadap perubahan kadar total fenolik teh kombucha

Kadar flavonoid dan total fenolik yang meningkat pada proses fermentasi yang lebih lama (8-14 hari) disebabkan oleh kemampuan mikroorganisme dalam menghidrolisis kompleks polifenol dalam daun teh membentuk senyawa fenolik (Antolak et al. 2021). Selama proses fermentasi, mikroorganisme membebaskan beberapa enzim seperti fitase, α -galaktosidase, dan tannase yang telah diketahui mampu mendegradasi senyawa polifenol kompleks dan flavonoid menjadi molekul-molekul kecil, sehingga meningkatkan senyawa fenolik yang teridentifikasi (Duenas et al. 2007).

Perbedaan yang tidak signifikan kadar flavonoid dan total fenolik pada lama fermentasi 8-14 hari dengan 7 hari diduga berkaitan dengan ketersediaan substrat (sumber karbon dan nitrogen) yang semakin berkurang seiring dengan semakin lamanya waktu proses fermentasi (8-14 hari). Berkurangnya jumlah substrat yang tersedia menyebabkan aktivitas mikroorganisme menurun sehingga kemampuan dalam menghidrolisis kompleks polifenol daun teh semakin menurun

dan senyawa fenolik bebas yang terbentuk juga semakin berkurang atau tidak optimal. Akibatnya adalah peningkatan flavonoid dan total fenolik pada teh kombucha yang difermentasi lebih lama (8-14 hari) menjadi tidak signifikan. Hal ini semakin diperkuat dengan penelitian Jayabalan et al. (2007) yang melaporkan bahwa kandungan total fenolik sangat tinggi pada saat fermentasi hari ke-3. Setelah 3-6 hari fermentasi, jumlah senyawa fenolik terjaga stabilitasnya hingga 15 hari fermentasi.

Daun teh pada dasarnya mengandung senyawa polifenol seperti flavonoid (Jayabalan et al. 2008). Penelitian yang dilakukan oleh Jakubczyk et al. (2020) melaporkan bahwa kadar flavonoid dan total fenolik dalam teh secara berturut-turut sebesar 254,1 mg/L dan 269,0 mg/L pada teh hijau, sedangkan pada teh hitam sebesar 231,7 mg/L dan 183,1 mg/L. Oleh karena itu dimungkinkan adanya pengaruh dari jenis daun teh terhadap kadar flavonoid dan total fenolik teh kombucha.

KESIMPULAN

Kajian meta-analisis menunjukkan bahwa proses fermentasi selama 8-14 hari berpengaruh kuat terhadap karakteristik kimia (kadar asam asetat, total asam, aktivitas antioksidan, kadar etanol, kadar flavonoid, dan total fenolik) teh kombucha dan secara signifikan mampu meningkatkan kandungan asam asetat dan total asam. Teh kombucha yang difermentasi selama 8-14 hari memiliki kadar flavonoid, total fenolik, dan kadar etanol yang tidak berbeda signifikan dengan teh kombucha hasil fermentasi selama 7 hari. Aktivitas antioksidan teh kombucha yang difermentasi selama 8-14 hari lebih rendah dibandingkan dengan teh kombucha hasil fermentasi selama 7 hari. Lama fermentasi paling berpengaruh kuat terhadap kadar asam asetat dan total asam yang menjadi cita rasa khas dalam produk akhir teh kombucha.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, R. F., M. S. Hikal, and K. A. Abou-Taleb. 2020. Biological, chemical, and antioxidant activities of different types kombucha. *Annals of Agricultural Science* 65: 35-41.
- Akarca, G. 2021. Determination of potential antimicrobial activities of some local berries fruits in kombucha tea production. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 64: 1-15.
- Antolak, H., D. Piechota, and A. Kucharska. 2021. Kombucha tea- a double power of bioactive compounds from tea and symbiotic culture of bacteria and yeasts (SCOBY). *Antioxidants* 10(1541): 1-20.
- Battikh, H., K. Chaieb, A. Bakhrouf, and E. Ammar. 2013. Antibacterial and antifungal activities of black and green kombucha teas. *Journal of Food Biochemistry* 37(2): 231-236.
- Bhattacharya, S., R. Gachhui, and P. C. Sil. 2011. Hepatoprotective properties of kombucha tea against tbhp-induced oxidative stress via suppression of mitochondria dependent apoptosis. *Pathophysiology* 18: 221-234.
- Bhattacharya, S., R. Gachhui, and P. C. Sil. 2013. Effect of kombucha, a fermented black tea in attenuating oxidative stress mediated tissue damage in alloxan induced diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology* 60: 328-340.
- Borenstein, M., L. V. Hedges, J. P. T. Higgins, and H. R. Rothstein. 2009. *Introduction to meta-analysis*. John Wiley & Sons, Ltd, United Kingdom.
- Chakravorty, S., S. Bhattacharya, A. Chatzinotas, W. Chajraborty, D. Bhattacharya, and R. Gachhui. 2016. Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. *International Journal of Food Microbiology* 220: 63-72.
- Chen, C., and B. Y. Liu. 2000. Changes in major components of tea fungus metabolites during prolonged fermentation. *Journal of Applied Microbiology* 89: 834-839.
- Coelho, R. M. D., A. L. de Alemida, R. Q. G. do Amaral, R. N. da Mota, and P. H. M. de Sousa. 2020. Kombucha: Review. *International Journal of Gastronomy and Food Science* 22: 1-12.
- Duenas, M., T. Hernandez, and I. Estrella. 2007. Changes in the content of bioactive polyphenolic compounds of lentils by the action of exogenous enzymes effect on their antioxidant activity. *Food Chemistry* 101: 90-97.
- Ecker, E. D., and A. C. Skelly. 2010. Conducting a winning literature search. *Evidence Based Spine Care Journal* 1(1): 9-14.
- Gaggia, F., L. Baffoni, M. Galiano, D. S. Nielsen, R. R. Jakobsen, J. L. Castro-Mejía, S. Bosì, F. Truzzi, F. Musumeci, G. Dinelli, and D. Di Gioia. 2019. Kombucha beverage from green, black and rooibos teas: A comparative study looking at microbiology, chemistry and antioxidant activity. *Nutrients* 11(1): 1-22.
- Goh, W. N., A. Rosma, B. Kaur, A. Fazilah, A. A. Karim, and R. Bhat. 2012. Fermentation of black tea broth (kombucha): effect of sucrose concentration and fermentation time on the yield of microbial cellulose. *International Food Research Journal* 19(1): 109-117.
- Gurevitch, J., J. Koricheva, S. Nakagawa, and G. Stewart. 2018. Meta-analysis and the science of research synthesis. *Nature* 555: 175-182.
- Jakubczyk, K., I. Gutowska, J. Antoniewicz, and K. Janda. 2020. Evaluation of fluoride and selected chemical parameters in kombucha

- derived from white, green, black, and red tea. *Biological Trace Element Research* 1-6.
- Jakubczyk, K., J. Kaldunska, J. Kochman, and K. Janda. 2020. Chemical profile and antioxidant activity of the kombucha beverage derived from white, green, black, and red tea. *Antioxidant* 9(447): 1-15.
- Jayabalan, R., S. Marimuthu, and K. Swaminathan. 2007. Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation. *Food Chemistry* 102(1): 392-398.
- Jayabalan, R., P. Subathradevi, S. Marimuthu, M. Sathishkumar, and K. Swaminathan. 2008. Changes in free radical scavenging ability of kombucha tea during fermentation. *Food Chemistry* 109: 227-234.
- Jayabalan, R., K. Malini, M. Sathishkumar, K. Swaminathan, and S. E. Yun. 2010. Biochemical characteristics of tea fungus produced during kombucha fermentation. *Food Science Of Biotechnology* 19(3): 843-847.
- Kaewkod, T., S. Bovonsombut, and Y. Tragoolpua. 2019. Efficacy of kombucha obtained from green, oolong, and black teas on inhibition of pathogenic bacteria, antioxidation, and toxicity on colorectal cancer cell line. *Microorganisms* 7(700): 1-18.
- Khaneghah, A. M., and A. S. Sant'Ana. 2020. Systematic review and meta-analysis: Applications in food science, challenges, and perspectives. *Food Research International* 134(109245).
- Kasenta, A. M. 2016. Efek Raktopamin Hidrokoloida terhadap Karakteristik Fermentasi Rumen, Produksi, dan Kualitas Daging Sapi Potong: Kajian In Vitro dan Meta-Analysis. *Thesis*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Koricheva, J., J. Gurevitch, and K. Mengersen. 2013. *Handbook of meta-analysis in ecology and evolution*. Princeton University Press, United Kingdom.
- Loncar, E., M. Djuric, R. Malbasa, L. J. Kolarov, and M. Klasnja. 2006. Influence of working conditions upon kombucha conducted fermentation of black tea. *Food and Bioproduct Processing* 84(3): 186-192.
- Malbasa, R., E. Loncar, and M. Djuric. 2007. Comparison of the products of kombucha fermentation on sucrose and molasses. *Food Chemistry* 106: 1039-1045.
- Malbasa, R. V., E. S. Loncar, J. S. Vitas, and J. M. Canadovic-Brunet. 2011. Influence of starter culture on the antioxidant activity of kombucha beverage. *Food Chemistry* 127(4): 1727-1731.
- Markov, S., V. Jerinic, D. Cvetkovic, E. Loncar, and R. Malbasa. 2003. Kombucha-functional beverage: Composition, characteristics and process of biotransformation. *Hemijaska Industrija* 57(10): 456-462.
- Marsh, A. J., O. O'Sullivan, C. Hill, R. P. Ross, and P. D. Cotter. 2014. Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple kombucha (tea fungus) samples. *Food Microbiology* 38: 171-178.
- Methley, A. M., S. Campbell, C. Chew-Graham, R. McNally, and S. Cheraghi-Sohi. 2014. PICO, PICOS and SPIDER: A comparison study of specificity and sensitivity in three search tools for qualitative systematic reviews. *BMC Health Service Research* 14: 579.
- Moher, D., A. Liberati, J. Tetzlaff, D. G. Altman, and The Prisma Group. 2009. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis: The prisma statement. *PLoS Medicine* 6(7).
- Mordor Intelligence. 2019. *Global Kombucha Market-Growth, Trends and Forecast (2019-2024)*. Mordor Intelligence website: retrieved from <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/kombucha-market>.
- Soto, S. A. V., S. Beaufort, J. Bouajila, J. P. Souchard, and P. Taillandier. 2018. Understanding kombucha tea fermentation: A review. *Journal of Food Science* 83(3): 580-588.
- Sreeramulu, G., Y. Zhu, and W. Knol. 2001. Characterization of antimicrobial activity in kombucha fermentation. *Acta Biotechnology* 21: 49-56.

- St-Pierre, N. R. 2001. Invited review: integrating quantitative findings from multiple studies using mixed model methodology. *Journal of Dairy Science* 84(4): 741-755.
- Sun, T. Y., J. S. Li, and C. Chen. 2015. Effects of blending wheatgrass juice on enhancing phenolic compounds and antioxidant activities of traditional kombucha beverage. *Journal of Food and Drug Analysis* 23: 709-718.
- Tawfik, G. M., K. A. S. Dila, M. Y. F. Mohamed, D. N. H. Tam, N. D. Kien, A. M. Ahmed, and N. T. Huy. 2019. A step by step guide for conducting a systematic review and meta-analysis with simulation data. *Tropical Medicine and Health* 47(46): 1-9.
- Verhagen, A. P., and M. L. Ferreira. 2014. Forest plot. *Journal of Physiotherapy* 60: 170-173.
- Vina, I., R. Linde, A. Patetko, and P. Semjonovs. 2013. Glucuronic acid from fermentation beverages: biochemical functions in humans and its role in health protection. *International Journal of Recent Research And Applied Studies* 14(2): 217-230.
- Vitas, J., S. Vukmanovic, J. Cakarevic, L. Popovic, and R. Malbasa. 2020. Kombucha fermentation of six medicinal herbs: Chemical profile and biological activity. *Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly* 26(2): 157-170.
- Vohra, B. M., S. Fazry, F. Sairi, and O. Babul-Airianah. 2019. Effects of medium variation and fermentation time on the antioxidant and antimicrobial properties of kombucha. *Malaysian Journal of Fundamental Applied Sciences* 15: 298-302.