

SKRIPSI

AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBUCHA ROSEMARY (*Rosmarinus officinalis*) DENGAN VARIASI KONSENTRASI GULA TERHADAP *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Disusun Oleh:
Anastasya Bella Christama
NPM: 200802106

PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
YOGYAKARTA
2026

AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBUCHA ROSEMARY (*Rosmarinus officinalis*) DENGAN VARIASI KONSENTRASI GULA TERHADAP *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

SKRIPSI

**Diajukan kepada Program Studi Biologi
Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta
guna memenuhi sebagian syarat untuk memperoleh
derajat Sarjana S-1**



Disusun Oleh:
Anastasya Bella Christama
NPM: 200802106

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
YOGYAKARTA
2026**

PENGESAHAN

Mengesahkan Skripsi dengan judul:

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBUCHA ROSEMARY
(*Rosmarinus officinalis*) DENGAN VARIASI KONSENTRASI GULA
TERHADAP *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC
25923**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Anastasya Bella Christama

NPM: 200802106

Konsentrasi Studi Teknobiologi-Industri

Program Studi Biologi

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji

pada hari Senin, 12 Januari 2026

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat
untuk memperoleh derajat Sarjana S-1

SUSUNAN TIM PENGUJI

Ketua Penguji,

(Dr. Dra. Exsyupransia Mursyanti, M.Si.)

Anggota Penguji,

(Drs. Boy Rahardjo Sidharta, M. Sc.)

Sekretaris Penguji,

(Dr. Nelsiani To'bungan, S.Pd., M.Sc.)

Yogyakarta, 30 Januari 2026

**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOLOGI**



Dekan,

(apt. Ines Septa Arsiningtyas, S.Farm., M.Sc., Ph.D.)

TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA

PENGESAHAN

Mengesahkan Skripsi dengan judul:

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBUCHA ROSEMARY
(*Rosmarinus officinalis*) DENGAN VARIASI KONSENTRASI GULA
TERHADAP *Escherichia coli* ATCC 25922 DAN *Staphylococcus aureus* ATCC
25923**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Anastasya Bella Christama

NPM: 200802106

Konsentrasi Studi Teknobia-Industri

Program Studi Biologi

Dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diujikan pada Senin, 12 Januari 2026

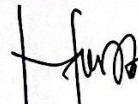
Menyetujui,

Dosen Pembimbing Utama,



(Dr. Dra. Exsyupransia Mursyanti, M.Si.)

Dosen Pembimbing Pendamping,



(Dr. Nelsiani To'bungan, S.Pd., M.Sc.)

PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Anastasya Bella Christama
NPM : 200802106
Judul Skripsi : AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBUCHA
ROSEMARY (*Rosmarinus officinalis*) DENGAN
VARIASI KONSENTRASI GULA TERHADAP
Escherichia coli ATCC 25922 dan *Staphylococcus*
aureus ATCC 25923

Menyatakan bahwa skripsi dengan judul tersebut di atas adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan saya susun dengan sejujurnya berdasarkan norma akademik dan bukan merupakan hasil plagiat. Adapun semua kutipan di dalam skripsi ini telah saya sertakan nama penulisnya dan telah saya cantumkan ke dalam Daftar Pustaka.

Pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya dan apabila di kemudian hari ternyata terbukti melanggar pernyataan tersebut, saya bersedia menerima sanksi akademik yang berlaku (dicabut predikat kelulusan dan gelar kesarjanaannya saya).

Yogyakarta, 30 Januari 2026

Yang menyatakan,



Anastasya Bella Christama
NPM: 200802106

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kehadiran Tuhan Yesus atas berkat, kasih dan karunia penyertaan-Nya, sehingga penulis mampu menyelesaikan seluruh proses penelitian, bimbingan dan menyelesaikan naskah Skripsi dengan judul “Aktivitas Antibakteri Kombucha Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 Dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923” yang dilakukan sebagai salah satu persyaratan wajib guna memperoleh gelar Sarjana Strata-1 (S1) di Program Studi Biologi, Fakultas Teknobiologi, Universitas Atmajaya Yogyakarta. Penulis menyadari bahwa bahwa selama proses penelitian, bimbingan dan penyusunan naskah ini dapat terlaksana dengan baik karena dukungan dari banyak pihak. Oleh sebab itu dengan segala kerendahan hati, penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada:

1. Tuhan Yesus yang sudah memberikan kekuatan dan kesehatan selama penulis melakukan seluruh proses pengerjaan skripsi.
2. Ibu Dr. Dra. Exsyupransia Mursyanti, M. Si. selaku Dosen Pembimbing Utama yang selalu memberikan motivasi, dukungan dan bimbingan selama kegiatan penelitian hingga penyusunan skripsi sampai selesai dengan sabar.
3. Ibu Dr. Nelsiani To'bungan, S.Pd., M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang selalu memberikan motivasi, dukungan dan bimbingan selama kegiatan penelitian hingga penyusunan skripsi sampai selesai dengan sabar.
4. Bapak Lukas Sri Utomo, Ibu Gabrielle Novie dan Gloria Devany Christama yang telah memberikan dukungan materi, cinta kasih, semangat dan juga doa.

5. Bernadeta Felicia Astrid, Juhan Adhista, Gabriela Alvina, Stevianie Sonya, Gracia Christanti, Isabelle Arietha, Aurelius Fersa, Alfa Ariyanto, Dominicus Julian, Nicolas Dhiko, Dionisius Hans serta teman-teman yang selalu memberikan semangat, dukungan dan membantu penulis selama melakukan penelitian.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan kelemahan. Penulis berharap nantinya penelitian ini dapat bermanfaat baik untuk penulis sendiri dan banyak pihak.

Yogyakarta, 30 Januari 2026

Anastasya Bella Christama

DAFTAR ISI

SKRIPSI.....	i
PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiii
ABSTRACT	xiv
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	8
C. Tujuan Penelitian.....	8
D. Manfaat Penelitian.....	8
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	9
A. Diare	9
B. <i>Escherichia coli</i>	10
C. <i>Staphylococcus aureus</i>	11
D. Rosemary	12
E. Kombucha dan Fermentasinya	14
F. Konsentrasi Total Asam Titrasi pada Kombucha.....	17
G. Uji Aktivitas Antibakteri	18
H. Hipotesis	21
III. METODE PENELITIAN	22
A. Tempat dan Waktu Penelitian.....	22
B. Alat dan Bahan.....	22
C. Rancangan Percobaan.....	23

D. Cara Kerja.....	24
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	38
A. Identifikasi Tanaman Rosemary	38
B. Kombucha Rosemary	39
C. Konsentrasi Asam Titrasi dan pH	43
D. Fitokimia Larutan Kombucha Rosemary	49
E. Uji Kemurnian Bakteri.....	53
F. Uji Daya Hambat Kombucha Rosemary.....	66
G. Konsentrasi Hambat Minimum Kombucha Rosemary	78
V. PENUTUP	84
A. Simpulan.....	84
B. Saran	84
DAFTAR PUSTAKA	85
LAMPIRAN	97

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Diagram Mekanisme Diare.....	3
Gambar 2.	Tanaman Rosemary. a. Daun rosemary b. Bunga Rosemary.....	12
Gambar 3.	Struktur Kimia Asam Asetat.....	17
Gambar 4.	Tanaman Rosemary (a) Daun Berbentuk Jarum, (b) Bagian Belakang Berwarna Putih (c) Bunga Berwarna Ungu.....	38
Gambar 5.	Kombucha Rosemary Gula Aren (a) Kombucha Rosemary Fermentasi Hari Ke-0 (b) Kombucha Rosemary Fermentasi Hari Ke-12.....	40
Gambar 6.	Total Asam Titrasi.....	43
Gambar 7.	pH Kombucha Rosemary.....	46
Gambar 8.	Uji Flavonoid Kualitatif Kombucha Rosemary (a) Hasil Uji Flavonoid.....	50
Gambar 9.	Reaksi Flavonoid dengan serbuk Magnesium dan HCl Pekat.....	51
Gambar 10.	Uji Tanin Kualitatif Kombucha Rosemary (a) Hasil Uji Tanin.....	51
Gambar 11.	Reaksi Tanin dengan FeCl_3	52
Gambar 12.	Uji Saponin Kualitatif Kombucha Rosemary (a) Hasil Uji Saponin.....	53
Gambar 13.	Uji Pengecatan Gram <i>S. aureus</i>	56
Gambar 14.	Uji Koloni Tunggal <i>S. aureus</i>	56
Gambar 15.	Uji Fermentasi Gula <i>S. aureus</i> (a) Medium Kontrol Glukosa (b) Hasil Positif Glukosa (c) Medium Kontrol Sukrosa (d) Hasil Positif Sukrosa (e) Medium Kontrol Laktosa (f) Hasil Positif Laktosa.....	58
Gambar 16.	Uji Katalase <i>S. aureus</i>	59
Gambar 17.	Uji Motilitas <i>S. aureus</i>	60
Gambar 18.	Uji Pengecatan Gram <i>E. coli</i>	61
Gambar 19.	Uji Koloni tunggal <i>E. coli</i>	62
Gambar 20.	Uji Fermentasi Gula <i>E. coli</i> (a) Medium Kontrol Glukosa (b) Hasil Positif Glukosa (c) Medium Kontrol Sukrosa (d) Hasil Positif Sukrosa (e) Medium Kontrol Laktosa (f) Hasil Positif Laktosa.....	64
Gambar 21.	Uji Katalase <i>E. coli</i>	65
Gambar 22.	Uji Motilitas <i>E. coli</i>	65
Gambar 23.	Zona Hambat Kombucha Rosemary dengan Variasi Konsentrasi Gula terhadap <i>E. coli</i> dan <i>S. aureus</i>	68
Gambar 24.	Uji Konsentrasi Hambat Minimum Kombucha Rosemary terhadap <i>E. coli</i>	79
Gambar 25.	Uji Konsentrasi Hambat Minimum Kombucha Rosemary terhadap <i>S. aureus</i>	81
Gambar 26.	Titration Kombucha Rosemary a) Konsentrasi 10% b) Konsentrasi	

	20% c) Konsentrasi 30% d) Konsentrasi 40%.....	110
Gambar 27.	Determinasi Tanaman Rosemary.....	111
Gambar 28.	Sertifikat Bakteri <i>E. coli</i>	112
Gambar 29.	Sertifikat Bakteri <i>S. aureus</i>	113
Gambar 30.	Uji Daya Hambat Kombucha Rosemary dan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif <i>E. coli</i>	114
Gambar 31.	Uji Normalitas Zona Hambat <i>E. coli</i>	114
Gambar 32.	Analisis Deskriptif <i>E. coli</i>	114
Gambar 33.	Uji Duncan <i>E. coli</i>	115
Gambar 34.	Uji Daya Hambat Kombucha Rosemary dan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif <i>S. aureus</i>	115
Gambar 35.	Uji Normalitas Zona Hambat <i>S. aureus</i>	115
Gambar 36.	Analisis Deskriptif <i>S. aureus</i>	116
Gambar 37.	Uji Duncan <i>E. coli</i>	116
Gambar 38.	Konsentrasi Hambat Minimum <i>E. coli</i> 20%.....	116
Gambar 39.	Konsentrasi Hambat Minimum <i>E. coli</i> 22,5%.....	116
Gambar 40.	Konsentrasi Hambat Minimum <i>E. coli</i> 25%.....	117
Gambar 41.	Konsentrasi Hambat Minimum <i>E. coli</i> 27,5%.....	117
Gambar 42.	Konsentrasi Hambat Minimum <i>E. coli</i> 30%.....	117
Gambar 43.	KHM Ciprofloxacin 0,00005% <i>E. coli</i>	117
Gambar 44.	KHM Ciprofloxacin 0,0001% <i>E. coli</i>	117
Gambar 45.	KHM Ciprofloxacin 0,0002% <i>E. coli</i>	117
Gambar 46.	KHM Ciprofloxacin 0,0003% <i>E. coli</i>	118
Gambar 47.	KHM Ciprofloxacin 0,0004% <i>E. coli</i>	118
Gambar 48.	KHM Ciprofloxacin 0,0005% <i>E. coli</i>	118
Gambar 49.	Konsentrasi Hambat Minimum <i>S. aureus</i> 20%.....	118
Gambar 50.	Konsentrasi Hambat Minimum <i>S. aureus</i> 22,5%.....	118
Gambar 51.	Konsentrasi Hambat Minimum <i>S. aureus</i> 25%.....	118
Gambar 52.	Konsentrasi Hambat Minimum <i>S. aureus</i> 27,5%.....	119
Gambar 53.	Konsentrasi Hambat Minimum <i>S. aureus</i> 30%.....	119
Gambar 54.	KHM Ciprofloxacin 0,00005 <i>S. aureus</i>	119
Gambar 55.	KHM Ciprofloxacin 0,0001% <i>S. aureus</i>	119
Gambar 56.	KHM Ciprofloxacin 0,0002% <i>S. aureus</i>	119
Gambar 57.	KHM Ciprofloxacin 0,0003% <i>S. aureus</i>	119
Gambar 58.	KHM Ciprofloxacin 0,0004% <i>S. aureus</i>	120
Gambar 59.	KHM Ciprofloxacin 0,0005% <i>S. aureus</i>	120

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Fungsi Bakteri dan Khamir pada Fermentasi Kombucha.....	15
Tabel 2.	Rancangan Percobaan Aktivitas Antibakteri Kombucha Rosemary (<i>Rosmarinus officinalis</i>) dengan Perlakuan Variasi Konsentrasi Gula untuk Bakteri Uji <i>E. coli</i> ATCC 25922 dan <i>S. aureus</i> ATCC 25923.....	24
Tabel 3.	Analisis pH kombucha Rosemary.....	44
Tabel 4.	Uji Kualitatif Flavonoid, Tanin dan Saponin Kombucha Rosemary.....	49
Tabel 5.	Uji Kemurnian <i>S. aureus</i>	55
Tabel 6.	Uji Kemurnian <i>E. coli</i>	60
Tabel 7.	Uji Daya Hambat Kombucha Rosemary dengan Variasi Konsentrasi Gula terhadap bakteri <i>E. coli</i> dan <i>S. aureus</i>	66
Tabel 8.	Konsentrasi Hambat Minimum Kombucha Rosemary dengan Variasi Konsentrasi Gula terhadap <i>E. coli</i> dan <i>S. aureus</i>	78

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Perhitungan Konsentrasi Gula dalam Pembuatan Kombucha	97
Lampiran 2.	Perhitungan Total Asam Tertitrasi.....	97
Lampiran 3.	Perhitungan Medium Nutrient Agar untuk Uji Zona Hambat.....	101
Lampiran 4.	Perhitungan Medium Nutrient Broth untuk Uji Zona Hambat.....	101
Lampiran 5.	Perhitungan Penggunaan Antibiotik <i>Ciprofloxacin</i>	102
Lampiran 6.	Perhitungan Luas Zona Hambat <i>E. coli</i>	102
Lampiran 7.	Perhitungan Luas Zona Hambat <i>S. aureus</i>	104
Lampiran 8.	Perhitungan Medium Nutrient Agar untuk Uji Konsentrasi Hambat Minimum.....	106
Lampiran 9.	Perhitungan Medium Nutrient Broth untuk Uji Zona Hambat.....	106
Lampiran 10.	Perhitungan Konsentrasi Kombucha Rosemary untuk Uji Zona Hambat.....	107
Lampiran 11.	Perhitungan Kontrol positif Kombucha Rosemary untuk Uji Zona Hambat.....	108
Lampiran 12.	Titration Kombucha Rosemary.....	110
Lampiran 13.	Determinasi Tanaman Rosemary.....	111
Lampiran 14.	Sertifikat Bakteri <i>E. coli</i>	112
Lampiran 15.	Sertifikat Bakteri <i>S. aureus</i>	113
Lampiran 16.	Uji Daya Hambat <i>E. coli</i>	114
Lampiran 17.	Analisis statistik <i>E. coli</i>	114
Lampiran 18.	Uji Daya Hambat <i>S. aureus</i>	115
Lampiran 19.	Analisis statistik <i>S. aureus</i>	115
Lampiran 20.	Konsentrasi Hambat Minimum <i>E. coli</i>	116
Lampiran 21.	Konsentrasi Hambat Minimum <i>S. aureus</i>	118

INTISARI

Diare yang disebabkan oleh bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* merupakan ancaman kesehatan serius. Penggunaan antibiotik secara menerus berisiko memicu resistensi, sehingga kombucha rosemary diteliti sebagai alternatif antibiotik alami. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui konsentrasi gula yang menghasilkan total asam dan pH serta mengetahui aktivitas antibakteri kombucha rosemary terhadap *S. aureus* dan *E. coli* berdasarkan daya hambat dan konsentrasi hambat minimum. Tahapan penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu arah dengan perlakuan antibiotik *ciprofloxacin* dan kontrol negatif (akuades dan rosemary), konsentrasi gula aren yaitu 10%, 20%, 30%, dan 40% dengan 5 kali pengulangan. Tanaman rosemary yang digunakan dilakukan determinasi dan kombucha rosemary yang dihasilkan dilakukan analisis pH, total asam dan analisis fitokimia kualitatif flavonoid, tanin, dan saponin. Uji kemurnian bakteri uji meliputi uji kemurnian katalase, pengecatan Gram, fermentasi karbohidrat, uji motilitas dan koloni tunggal. Aktivitas antibakteri diukur berdasarkan zona hambat dan konsentrasi hambat minimum. Hasil di analisis menggunakan ANOVA satu arah. Hasil kombucha rosemary mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan saponin, dengan pH 4,2 dan total asam 7,26%. Zona hambat *E.coli* terendah pada konsentrasi 10% dan tertinggi pada konsentrasi 30% yaitu $5,71 \pm 0,57$; $10,15 \pm 1,21$ pada *S. aureus* didapatkan zona hambat terendah pada konsentrasi 10% dan tertinggi pada konsentrasi 30% yaitu $5,74 \pm 1,94$; $7,38 \pm 0,83$. Konsentrasi hambat minimum kombucha rosemary pada *S. aureus* pada konsentrasi gula 25% dan pada kontrol positif 0,0002% sedangkan pada *E. coli* pada konsentrasi 27,5% dan kontrol positif 0,0003%.

Kata Kunci: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Kombucha rosemary, Aktivitas zona hambat, Konsentrasi hambat minimum.

ABSTRACT

Diarrhea caused by pathogenic bacteria such as *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* pose a serious health threat. Continuous use of antibiotics risks triggering resistance, leading to the investigation of rosemary kombucha as a natural antibiotic alternative. This study aims to determine the sugar concentration that optimizes total acidity and pH, as well as to evaluate the antibacterial activity of rosemary kombucha against *S. aureus* and *E. coli* based on inhibition zones and Minimum Inhibitory Concentration (MIC). The research utilized a one-way Completely Randomized Design (CRD) with Ciprofloxacin as the positive control and negative controls consisting of distilled water and rosemary. Four variations of palm sugar concentration (10%, 20%, 30%, and 40%) were tested with five replications. The rosemary underwent determination, while the resulting kombucha was analyzed for pH, total acidity, and qualitative phytochemicals (flavonoids, tannins, and saponins). Bacterial purity was verified through catalase tests, Gram staining, carbohydrate fermentation, motility tests, and single colony observations. Antibacterial activity was measured via inhibition zones and MIC, with results analyzed using one-way ANOVA. The results showed that rosemary kombucha contains flavonoids, tannins, and saponins, with a pH of 4.2 and total acidity of 7.26%. For *E. coli*, the inhibition zone ranged from $5,71 \pm 0,57$; $10,15 \pm 1,21$ For *S. aureus* the inhibition zone ranged from $5,74 \pm 1,94$; $7,38 \pm 0,83$. The zone ranged from The MIC for rosemary kombucha was 25% for *S. aureus* positive control 0.0002% and 27.5% for *E. coli* the positive control is 0.0003%.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Rosemary kombucha, Antibacterial activity, Minimum inhibitor concentration.