

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Diare

Peningkatan frekuensi buang air besar yang terjadi sebanyak lebih dari 3 kali dengan kondisi feses yang cair atau lembek dapat dikatakan sebagai diare. Diare yang terjadi terus menerus dapat menyebabkan gangguan kesehatan akut seperti dehidrasi atau kekurangan cairan yang parah, diare juga dapat menyebabkan kematian apabila sudah sampai pada tahap akut (Pramana dkk., 2023). Penyakit diare dapat menyerang anak-anak maupun orang dewasa. Berdasarkan data WHO (*World Health Organization*) data kasus penyakit diare setiap tahunnya sebesar 443.832, untuk kasus diare pada balita sebesar 50.851 dan kasus diare secara global sebesar 1,7 miliar setiap tahunnya (Kirana dkk., 2025).

Peningkatan sekresi dari usus dan penyerapan usus yang terjadi karena adanya bakteri yang menginfeksi akan menyebabkan adanya inflamasi. Inflamasi terjadi karena bakteri yang menginfeksi mengeluarkan toksin sehingga diare dapat terjadi. Sifat infeksi bakteri yang invasif dapat menyebabkan leukosit berada dalam feses, sehingga diare dapat terjadi (Pramana dkk., 2023).

Mekanisme terjadinya diare diawali dengan tahap invasi bakteri patogen dengan menggunakan protein khusus seperti adhesin. Bakteri yang sudah menempel mengeluarkan enterotoksin yang menyebabkan adanya tekanan osmotik kedalam lumen. Tekanan osmotik menyebabkan peradangan

sehingga menyebabkan adanya hiperperistaltik pada usus besar, sehingga kemampuan usus besar dalam menyerap kembali cairan akan berkurang sehingga akan terjadi diare (Farida dkk., 2023)

Diare dapat disebabkan karena lingkungan yang tidak bersih seperti tercemarnya sumber air dengan tinja, kebiasaan tidak higienis dari setiap individu, kondisi tubuh setiap individu yang berbeda, pengolahan makan dan minum yang buruk serta status gizi seperti gizi buruk dan defisiensi vitamin. Secara klinis diare dapat terjadi karena adanya infeksi pada saluran pencernaan, dimana bakteri dapat masuk dan dapat menyebabkan gangguan pada flora normal pada usus. Bakteri-bakteri yang menyebabkan gangguan pada saluran pencernaan tersebut dapat terjadi karena lambung tidak dapat membunuh bakteri maupun virus yang masuk ke saluran pencernaan karena jumlah bakteri yang banyak (Ashar, 2022).

B. *Escherichia coli*

E. coli adalah flora normal pada saluran pencernaan manusia dan hewan. *E. coli* memiliki sifat sebagai patogen apabila terjadi peningkatan jumlah sehingga dapat menyebabkan infeksi dengan menghasilkan ETEC *heat-labile* dan *heat stable*. Kontaminasi yang disebabkan oleh *E. coli* dapat menyebabkan berbagai masalah salah satunya adalah diare. Kontaminasi yang dilakukan oleh *E. coli* dapat terjadi secara langsung maupun secara silang melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi (Bria dkk., 2022).

E. coli merupakan bakteri Gram negatif dengan ciri berbentuk kokobasil atau batang pendek serta tidak memiliki flagel yang mengelilingi

permukaan tubuhnya (Setyaningrum dkk., 2024). *E. coli* dapat melakukan proses perubahan genetik sehingga memiliki kemampuan virulensi yang dapat melakukan infeksi pada *host* yang ditempati. Suhu optimal dalam pertumbuhan *E. coli* antara 7°C hingga 44° C, namun suhu optimal untuk pertumbuhan *E. coli* adalah 37°C. Ciri-ciri penderita diare yang diakibatkan oleh *E. coli* adalah muntah, dehidrasi, volume buang air besar meningkat dan feses bercampur darah. Klasifikasi *E.coli* menurut Sumampouw (2019) adalah sebagai berikut:

Domain: Bacteria
Filum: Proteobacteria
Kelas: Gamma Proteobacteria
Ordo: Enterobacteriales
Famili: Enterobacteriaceae
Genus: *Escherichia*
Spesies: *Escherichia coli*

C. *Staphylococcus aureus*

S. aureus merupakan bakteri Gram positif yang memiliki sifat patogen dalam tubuh. *S. aureus* tidak dapat bergerak dan tidak dapat membentuk spora. *S. aureus* dapat tumbuh pada suhu 37°C. *S. aureus* memiliki struktur kapsul polisakarida yang dapat mengalami perubahan secara genetik sehingga memiliki kemampuan virulensi (Budiyanto dkk., 2021).

S. aureus dapat menghasilkan enterotoksin saat terjadi suatu kontaminasi. *S. aureus* mengeluarkan enterotoksin jenis *Staphylococcal enterotoxins* (SE) yang memiliki sifat *emetic* pada kasus diare (Tumboll dkk., 2025). Ciri orang yang terkena diare akibat infeksi *S. aureus* biasanya adalah muntah, kram perut, frekuensi buang air besar yang meningkat, inkubasi

bakteri di dalam saluran cerna biasanya kurang dari 12 jam (Ekawati dkk., 2022). Klasifikasi *S. aureus* menurut Sahli (2023) adalah sebagai berikut:

Domain: Bacteria
Filum: Firmicutes
Kelas: Bacilli
Ordo: Bacillales
Famili: Staphylococcaceae
Genus: *Staphylococcus*
Spesies: *Staphylococcus aureus*

D. Rosemary

Rosemary merupakan jenis tanaman semak dengan ciri memiliki daun berwarna hijau, ketinggian tanaman sekitar 1 meter dengan aroma yang sangat khas. Daun rosemary memiliki panjang 1 cm hingga 4 cm dengan lebar 2 hingga 4 mm dengan tekstur yang kasar dan tepi daun yang melengkung serta memiliki bunga berwarna ungu. Bagian pada tanaman rosemary yang sering digunakan biasanya adalah batang dan daunnya (Rizki dan Wathan, 2022). Berdasarkan hal tersebut tanaman rosemary dapat dilihat seperti pada Gambar 2.



Gambar 2. Tanaman Rosemary. a. Daun Rosemary b. Bunga Rosemary (Akshay dkk., 2021)

Biofarmaka atau yang dapat disebut dengan tanaman obat merupakan jenis tanaman yang dapat digunakan sebagai alternatif pengganti obat untuk melakukan penyembuhan maupun pencegahan bagi berbagai macam penyakit. Penggunaan bagian tanaman obat biasanya disesuaikan dengan cara pembuatan atau pengolahan tanaman obat tersebut. Tanaman obat yang memiliki khasiat tersebut memiliki kandungan metabolit sekunder (Sari dkk., 2022). Senyawa metabolit sekunder pada tanaman obat memiliki fungsi sebagai pertahanan pada tanaman. Metabolit sekunder memiliki senyawa yang memiliki fungsi yang berbeda satu dengan lainnya, biasanya berupa flavonoid, tanin, alkaloid, fenolik dan saponin. (Varianti dkk., 2021).

Rosemary memiliki banyak kandungan diantaranya antibakteri, antioksidan, antidepresan dan neuroprotektif (Rizki dan Wathan, 2022). Kandungan metabolit sekunder rosemary diantaranya adalah flavonoid, tanin, fenolik, alkaloid dan saponin. Senyawa yang memiliki sifat diare adalah flavonoid, tanin dan saponin (Priyatno dan Suryandari, 2022). Klasifikasi tumbuhan rosemary menurut Rizki dan Wathan (2022) dapat dilihat seperti dibawah ini:

Kingdom: Plantae
 Phylum : Spermatophyta
 Class : Magnoliopsida
 Sub Class : Asteridae
 Order : Lamiales
 Family : Lamiaceae
 Genus : *Rosmarinus*
 Spesies : *Rosmariniun officinalis* L.

Penggunaan rosemary pada umumnya dapat digunakan sebagai bahan tambahan aromatik, pengawet pada bidang kuliner. Kandungan asam

karsonik dan karnosol dalam rosemary juga dapat digunakan sebagai pengobatan anti kanker. Minyak atsiri yang dimiliki rosemary juga memiliki efek menenangkan dan dapat digunakan untuk pengobatan alzheimer (Gualbertus dkk., 2023).

E. Kombucha dan Fermentasinya

Kombucha merupakan minuman tradisional khas China yang cukup populer dan dinilai memiliki banyak manfaat untuk kesehatan (Nasution dan Nasution., 2022). Ketidakseimbangan mikroflora di dalam saluran cerna dapat menyebabkan laju kerja infeksi bakteri patogen pada usus. Penggunaan kombucha dapat digunakan sebagai produk probiotik yang dapat menjaga keseimbangan mikroflora sehingga diare dapat dicegah (Fatayati dkk., 2024).

Kombucha dibuat dengan cara fermentasi menggunakan bahan dasar teh dan gula (Nasution dan Nasution., 2022). Fermentasi kombucha paling optimal dilakukan selama 7 hingga 14 hari dengan suhu fermentasi 18°C hingga 26°C, pada saat dilakukan fermentasi akan terbentuk lapisan *biofilm* baru di atas lapisan induknya. Sukrosa yang terdapat dalam gula digunakan sebagai sumber energi bagi *scooby* melakukan fermentasi. Sukrosa digunakan untuk mempengaruhi produksi asam organik pada saat dilakukan fermentasi (Rosyada dkk., 2023).

Fermentasi kombucha dilakukan oleh kultur simbiotik atau kultur yang terdiri dari dua atau lebih mikroorganisme yang berupa jamur kombu atau dapat disebut dengan *scooby* (*Symbiotic Culture Of Bactery and Yeast*) (Laavanya dkk., 2021). *Scooby* (*Symbiotic Culture Of Bactery and Yeast*)

adalah kelompok dari bakteri dan ragi yang terdiri dari struktur selulosa yang memiliki fungsi sebagai pertahanan bagi *scooby*. *Scooby* memiliki ciri berbentuk seperti padatan kenyal yang mengikuti wadah fermentasi, biasanya *scooby* terletak pada atas permukaan substrat yang sedang difermentasi (Saras, 2023). Berdasarkan hal tersebut fungsi bakteri dan khamir pada proses fermentasi kombucha dapat dilihat seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Fungsi Bakteri dan Khamir pada Fermentasi Kombucha

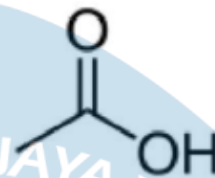
	Nama Kultur	Referensi
Bakteri asam Asetat	<i>Komagataeibacter</i>	Produksi lapisan biofilm dan menghasilkan asam asetat dan asam glukonat pada kombucha (Amalina dan dkk.,2024).
	<i>Gluconabacter xylinus</i>	Pengoksidasi glukosa menjadi asam glukonat (Amalina dan dkk.,2024).
	<i>Acetobacter xylinus</i>	Penghasil asam asetat (Amalina dan dkk.,2024).
	<i>Acetobacter xylinum</i>	Penghasil asam asetat (Amalina dan dkk.,2024).
Khamir	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Penghasil asam dan memiliki ketahanan terhadap perubahan suhu (Amalina dan dkk.,2024).
	<i>Saccharomyces pombe</i>	Memecah asam malat menjadi etanol (Amalina dan dkk.,2024).
	<i>Brettanomyces bruxellensis</i> .	Memecah gula menjadi etanol untuk memproduksi asam asetat (Amalina dan dkk.,2024).
Bakteri Asam Laktat	<i>Lactobacillus</i> spp.	Merombak glukosa menjadi asam laktat (Zubaidah dkk., 2021)
	<i>Lactococcus</i> sp.	Merombak glukosa menjadi asam laktat (Zubaidah dkk., 2021)

Bakteri dan ragi yang terdapat dalam *scooby kombucha* didominasi oleh golongan bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus* spp. dan *Lactococcus* sp. (Zubaidah dkk., 2021). Golongan bakteri asam asetat seperti *Komagataeibacter*, *Acetobacter xylinum*, *Gluconabacter xylinus* dan *Acetobacter xylinus*. Golongan khamir seperti *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces pombe*, *Brettanomyces bruxellensis* (Amalina dan dkk., 2024).

Kombucha dapat digunakan sebagai antibakteri dengan melakukan penghambatan pada bakteri patogen Gram negatif maupun Gram positif. Aktivitas antibakteri yang dilakukan oleh kombucha dapat dipengaruhi oleh pH rendah yang terbentuk selama fermentasi dan asam organik serta katekin yang berperan sebagai agen dalam menekan pertumbuhan bakteri patogen. Asam organik yang dihasilkan umumnya adalah asam asetat yang mengandung senyawa antibakteri dimana dapat berfungsi dalam menekan pertumbuhan bakteri patogen (Zubaidah dkk., 2022).

Mekanisme asam asetat dalam melakukan fungsinya untuk aktivitas antibakteri adalah asam asetat memiliki bentuk molekul utuh dan memiliki sifat lipofilik sehingga saat melakukan difusi ke dalam sel bakteri asam asetat dapat larut dan menembus membran fosolipid bilayer. Asam asetat memiliki pH yang rendah dan bakteri memiliki pH yang tinggi sehingga terjadi reaksi pemisahan menghasilkan ion hidrogen dan ion asetat. Pengasaman pada sitoplasma menyebabkan pH pada sitoplasma akan menurun sehingga bakteri akan menggunakan energi untuk menetralkan. Terganggunya sitoplasma pada bakteri menyebabkan aktivitas sel terganggu dan protein yang berada di

dalam bakteri mengalami denaturasi dan DNA rusak sehingga bakteri akan mati (Oktafiani dan Lestari, 2024). Gambar dari struktur kimia asam asetat seperti pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur Kimia Asam Asetat (Rijal dkk, 2025)

F. Konsentrasi Total Asam Tertitrasi pada Kombucha

Analisis yang mengukur banyaknya asam yang terdapat pada larutan dengan menentukan persentase total asam asetat yang dilakukan oleh bakteri asam asetat pada suatu fermentasi dapat disebut dengan analisis konsentrasi total asam tertitrasi (TAT). Total asam tertitrasi yang terbentuk didasarkan oleh banyaknya komponen asam pada suatu larutan. Titik akhir titrasi (TAT) yang didapatkan menentukan banyaknya konsentrasi H^+ yang ditemukan dalam larutan asam dan basa pada konsentrasi tertentu pada suatu larutan (Nielsen, 2003).

Konsentrasi total asam yang meningkat menjadi salah satu tanda bahwa adanya hasil metabolisme dari bakteri yang dapat menghasilkan asam-asam organik, diantaranya adalah asam asetat, asam laktat, asam glukonat dan asam glukoronat. Konsentrasi total asam akan berhubungan dengan pH dari larutan kombucha dan dengan waktu fermentasi, semakin lama waktu fermentasi maka akan semakin terjadi suatu peningkatan dari asam-asam organik dan nilai pH akan menurun (Nurhayati dkk., 2020).

Asam glukonat merupakan asam yang terbentuk selama proses fermentasi kombucha berlangsung. Fermentasi yang berlangsung akan membuat khamir melakukan perombakan pada sukrosa menjadi glukosa serta fruktosa, kemudian glukosa akan dikonversi menjadi asam glukonat. Asam glukonat yang terbentuk akibat konversi glukosa akan menyebabkan adanya penurunan pH sehingga dapat menghambat aktivitas bakteri (Ayuratri dan Kusnadi, 2017).

Asam asetat merupakan produk dari fermentasi kombucha yang dihasilkan dari bakteri asam asetat (BAA) seperti *Acetobacter*. Asam asetat memiliki kemampuan sebagai pengoksidasi dalam proses fermentasi aerob (Setiarto, 2020). Asam asetat yang terbentuk menyebabkan larutan menjadi asam dan dapat menghambat aktivitas bakteri dengan menembus kedalam membran semipermeabel bakteri (Oktafiani dan Lestari, 2024)

Asam laktat dihasilkan oleh bakteri asam laktat (BAL) dengan melakukan perubahan karbohidrat seperti glukosa menjadi asam laktat sehingga terjadi penurunan pH. Asam laktat yang dihasilkan mampu menurunkan pertumbuhan mikroorganisme patogen. Asam laktat berpengaruh kepada cita rasa kombucha sehingga kombucha memiliki rasa asam (Fadila dkk., 2025).

G. Uji Aktivitas Antibakteri

Senyawa yang memiliki sifat membunuh dan menghambat pertumbuhan bakteri dapat disebut dengan antibakteri. Mekanisme antibakteri dalam menghambat serta membunuh pertumbuhan bakteri dilakukan dengan

cara menghambat sintesis dinding sel, asam nukleat dan protein pada bakteri, metabolisme sel dan melisis sel (Frethernety dkk., 2023). Senyawa antibakteri dapat digolongkan menjadi tiga jenis yaitu bakteriostatik, bakteriolisis dan bakteriosidal (Margaretta dkk., 2025).

Bakteriolisis merupakan kemampuan senyawa bakteri dalam melisis dan menghambat pertumbuhan bakteri (Margaretta dkk., 2025). Bakteriostatik merupakan kemampuan senyawa antibakteri dalam mencegah pertumbuhan bakteri sedangkan bakteriosidal merupakan kemampuan senyawa antibakteri dalam membunuh bakteri. Kemampuan bakteriostatik dan bakteriosidal ditentukan oleh kepadatan bakteri, kondisi pertumbuhan bakteri dan lamanya uji (Irianti dkk., 2025).

a. Uji Zona Hambat

Uji zona hambat merupakan uji yang digunakan untuk mengetahui aktivitas senyawa antibakteri dalam membunuh bakteri uji. Metode uji zona hambat pada umumnya menggunakan difusi kertas cakram dan sumuran (Pakaya dkk., 2025). Metode uji zona hambat dengan metode sumuran merupakan metode yang dilakukan dengan membuat lubang pada media agar dan mengisi lubang dengan senyawa antibakteri dan luas zona bening yang terbentuk diamati. Metode sumuran lebih sering dipilih karena zona bening dapat diamati pada permukaan medium dan di dalam medium (Saputera dkk., 2019). Metode sumuran memiliki kekurangan yaitu rusaknya media pada saat melakukan pembuatan sumuran sehingga dapat mempengaruhi kerja senyawa antibakteri (Nurhayati dkk., 2020).

Metode difusi cakram merupakan metode yang dilakukan dengan membiarkan kertas cakram menyerap senyawa antibakteri. Kelebihan metode ini adalah mudah dilakukan dan tidak perlu keterampilan khusus dan biaya lebih murah. Kekurangan metode ini adalah zona hambat yang dihasilkan tidak maksimal karena terdapat resiko senyawa antibakteri tidak dapat berdifusi (Mustariani, 2023).

b. Konsentrasi Hambat Minimum

Konsentrasi hambat minimum merupakan metode yang dilakukan untuk mengetahui konsentrasi terendah dari suatu senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Safitri dan Roosdiana, 2020). Tujuan dilakukan uji konsentrasi hambat minimum adalah mengetahui konsentrasi zat antibakteri yang paling kecil untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Prinsip uji ini adalah sensitifitas bakteri uji akan berlawanan dengan zat antibakteri yang diberikan (Tarigan dan Muadifah, 2020).

Metode konsentrasi hambat minimum dapat dilakukan dengan cara menginokulasikan bakteri uji ke dalam media cair yang sudah terdapat agen antibakteri lalu dilakukan inkubasi. Media yang sudah dilakukan inkubasi diinokulasikan ke dalam media padat dengan cara *pour plate* dan diratakan dengan *drigalski* setelahnya dilakukan inkubasi selama 24 jam (Daris dkk., 2023). Metode konsentrasi hambat minimum dengan menggunakan agar merupakan metode yang memiliki waktu pengerjaan uji yang singkat dan penggunaan media cair lebih efektif

untuk senyawa bisa menghambat pertumbuhan bakteri. (Putri dan Paramita, 2023). Metode *pour plate* dilakukan karena bakteri yang digunakan ada pada fase logaritmik dan pertumbuhannya lebih merata pada medium (A'yuni dkk., 2025).

H. Hipotesis

1. Konsentrasi gula 40% merupakan konsentrasi gula yang optimal untuk menghasilkan total asam dan pH dalam rentang 2,5-4,2 selama proses fermentasi kombucha rosemary.
2. Kombucha dengan konsentrasi gula aren 20% merupakan konsentrasi yang memiliki aktivitas antibakteri terbesar terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* berdasarkan konsentrasi hambat minimum dan zona hambat.