

**DER EINFLUSS DER ZEITSVERLÄNGERUNGS EINER
FERMENTATION DES KOMBUCHA TEES AUF DEM
BAKTERIENWACHSTUM VON *Staphylococcus aureus* DURCH
IN VITRO**

ABSCHLUSSARBEIT

VON

VERI INDRIYANI

158700056



**BIOLOGIE FAKULTÄT
MEDAN AREA UNIVERSITÄT**

MEDAN

2018

MEDAN AREA UNIVERSITÄT

© Urheberrechtlich geschützt

Dokument akzeptiert 25/10/22

1. Zitieren Sie dieses Dokument nicht ganz oder teilweise ohne Quellenangabe

2. Zitate dienen nur Bildungs-, Forschungs- und wissenschaftlichen Schreibzwecken

3. Es ist verboten, diese Arbeit ganz oder teilweise ohne Genehmigung der Universität von Medan Area in irgendeiner Form zu reproduzieren

Zugang von (repository.uma.ac.id)25/10/22

ABSTRAK

Diese Untersuchung hat ein Ziel, um der Einfluss einer Verlängerung einer Fermentationszeit von Kombucha Tees herauszufinden, die mit dem Wachstum des Bakteriums *Staphylococcus aureus* durch vitro auftritt wurde. Diese Studie benutzt einfach vollständiges randomisierte Design durch experimentellen Methoden. Es gibt vier Behandlungen, nämlich Kombuchas Fermentation für 10 Tagen, 14 Tagen, 18 Tagen und 22 Tagen. Jeder wurde mit 5 Wiederholungen durchgeführt. Das Ergebniss zeigt, dass Fermentation des Kombucha Tees auf einem Wachstum von *Staphylococcus aureus* mit verschiedenen Ergebnisse hemmen kann. Auf dieser Fall es sich zu der Behandlung passt. Die Datenanalyse unter ANOVA und LSD-Test (Least Significant Differences) zeigte, dass die Fermentation des Kombucha Tees unbedingt eine signifikante Hemmung gegen das Wachstum von *Staphylococcus aureus* hat. Die Fermentation des Kombucha Tees konnte sich die maximale Sperrzone bis 14.3 mm in 22 Tagen produzieren.

Stichwörter : die Fermentation, der Kombucha Tees, die *Staphylococcus aureus*, die Sperrzone

KAPITEL I

EINLEITUNG

1.1 Hintergrund

Kombucha oder wird genannt als Teepilz und Dipopilz von vielen Leuten in Indonesien ist eine Fermentation von Tee, die gemischte kulture Bakterien und auch Hefe nutzt. Deswegen wird saurer Geschmack und eine Schichte von Nata hervorbringen werden. Viele Länder haben ihm schon lange besonders in Europa und Japan erkannt. Viele Leute vermuten, dass Kombucha zuerst bei der Chinesen konsumiert wurde, davon wirklich schon diesen Fermentation der Tee vor 3000 Jahren erkannt haben (Naland, 2008).

Der Fermentationsprozess von Kombucha Tees produziert manche verschiedene wichtige Verbindung wie Polyphenole, organische Säuren (Essigsäure, Gluconsäure, Milchsäure), Vitamin B Komplex, Vitamin C, Enzyme und Antibiotika (Naland, 2008). Diese obene Inhalte haben sicher eine Wirkung für Gesundheit wie die Überwindung des Problems des Bluthochdrucks oder niedriger Blutdruck, Rheuma, Fettleibigkeit, Arthritis, Migräne, Diabetes und so weiter. Danach ist der Inhalt von Kombucha ganz wichtig für den menschlichen Körper, um als eine Befestigung vom Angriffen durch pathogene Bakterien zu formen. Kombucha gilt als eine antimikrobielle Verbindung, die das Wachstum von Bakterien wie *Shigella sonnei*, *Escherichia coli* und *Salmonella typhimurium* versperren können (Restuati, 2011).

Die Bakterien, die normale Flora im menschlichen Körper sind. Im Allgemeinen sind nicht pathogen (Krankheitserreger). Aber leider hängt alles von bestimmten Situationen ab. Sie können auch manchmal gelegentlicher Krankheitserreger (Pathogen). Eines der normalen Bakterien in unserem Körper ist *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* ist eine

Grampositive der Bakterien und gehört zur Gruppe der Enterobacter Bakterien. Dies ist normal im menschlichen Körper. Aber in Lebensmitteln gilt seine Existenz als eine Verschmutzung. Der Verdauungstrakt ist anfällig für infektionsverursachende Mikroorganismen. Weil der Verdauungstrakt auch einer Eintrittspunkt für Lebensmittel und Getränke, bei denen aus einer potentiellen Gefährdung besteht, dass die Infektionen verursachen können. Eine Infektion kann durch Bakterien, Viren, Würmer, Protozoen und Pilze verursacht werden (Pajariu, 2010).

Die antibakterielle Kraft von Kombucha Tees wurde durch mehrere Studien bewiesen, darunter sind Rofiq (2002), der der Einfluss der Unterdrückung der spezifischen Wirkung eines Stoffes vom fermentierten Kombucha Tees auf *Salmonella Pullorum* Bakterien durch in vitro untersuchte. Die Ergebnisse zeigten, dass fermentierten Kombucha Tees einen hemmenden Einfluss gegen *Salmonella pullorum* haben. Andere Forschung von Nurul (2010) erzählt uns über Analyse der Kondition und der potenziellen Dauerhaftigkeit der fermentierten Kombucha Tees bei der Hemmung des Wachstums pathogenen Bakterien (*Vibrio cholerae* dan *Bacillus cereus*). Das Ergebnis beweist eine Interaktion unterschiedlich zwischen die Art des Mediums und Dauerhaftigkeit der Kombucha Getränkegärung/Getränkefermentation. Es hat eine Potenz, um eine Entwicklung von *Vibrio cholerae* und *Bacillus cereus* zu hemmen.

Eine weitere Studie von Simanjuntak (2017) untersuchte die antibakterielle Wirkung von Robusta Kaffee, der mit Kombucha gegen *Salmonella typhi* fermentiert. Es zeigte davon, dass es während 6, 12 und 18 Tagen eine komplette Fermentation gibt, die eine antibakterielle Eigenschaften gegen *Salmonella typhi* hatten. Die höchste Sperrzone wurde bei 18 Tagen Fermentation gefunden. Andere Untersuchung wird von Aryadnyani (2012) durchgeführt, zeigte eine Verlängerung der Fermentationszeit von Kombucha Tees um 6 Tagen, 10 Tagen, 14 Tagen

an und 18 Tagen das Wachstum von *Escherichia coli* hemmen können. Das Ergebnis erklärt davon, dass die optimale Fermentation von Kombucha Tees etwa 10 Tagen stattfindet.

Die Länge der Fermentationszeit wird die Fähigkeit bestimmt, einen Organismus zu züchten. Eine weitere Studie kommt aus Sari (2010). Sie erzählt, dass ein Fermentationsprozess von Kombucha durch die Dauer der Fermentation, nicht nur die Anzahl des Tees und Zuckers, sondern auch der Starter beeinflusst werden wurde. Dann werden alle Dinge im fermentierenden Teemedium zugesetzt. Der Prozess der Fermentations konnte die Änderung der physikalischen und chemischen Eigenschaften bewirken. Aus einigen der obigen Beschreibungen ist es notwendig für eine ichtige Analyse, um einen optimalen Zeitpunkt der Kombucha Fermentation auf das Wachstum von *Staphylococcus* durch *in vitro* zu testen.

1.2 Die Abfassung des Problemes

Was die Verlängerung der Fermentationszeit von Kombucha Tees beeinflusst sich auf einem Wachstum von *Staphylococcus aureus* durch *in vitro*.

1.3 Der Zweck der Untersuchungs

Um einen Einfluss der Verlängerung der Fermentationszeit von Kombucha Tees auf einem Wachstum von *Staphylococcus aureus* durch *in vitro* zu wissen.

1.4 Die Hypothese der Untersuchungs

Die Verlängerung der Fermentationszeit von Kombucha Tees beeinflusst auf einem Wachstum von *Staphylococcus aureus*.

1.5 Der Nutzen der Untersuchungs

Um eine Wissenschaft und die Erfahrung der Autorin über die hemmende Kraft des Kombucha Tees gegen *Staphylococcus aureus* zu erweitern, als eine Information besonders für alle Gesellschaft über Vorteile des Kombucha Tees für Gesundheit, auch als eine Informationsmaterial über die hemmende Kraft des Kombucha Tees gegen *Staphylococcus aureus* für mehrere Forscher/in in die Zukunft, eine Informationsmaterial über die Nützlichkeit des Kombucha Tees und sein Einfluss sperrt sich die Bakterien von *Staphylococcus aureus*.



KAPITEL II

DIE LITERATURISCHE UNTERSUCHUNG

2.1. Kombucha

2.1.1 Gesichte

Greenwalt *et al.*, sagte, dass Kombucha ein traditioneller fermentierte Tee ist, den damals ganz populär in den USA wegen ihrer Auswirkung für die Gesundheit war. Kombucha ist ein süßes Teegetränk. Dieser Tamarindentee (kurz saurer Tee) ist schon bei vielen Leuten aus der ganzen Welt getrunken worden. Kombucha wird häufig als gesundes Getränk konsumiert. Denn dieser Tee ist ganz leicht und genug sicher. Wenn jemand ihn nach Hause produzieren möchte. Kombucha oder wird genannt als Teepilz und Dipopilz von vielen Leuten in Indonesien ist eine Fermentation von Tee, die gemischte kulture Bakterien und auch Hefe nutzt. Deswegen wird saurer Geschmack und eine Shichte von Nata hervorbringen werden. Viele Länder haben ihm schon lange besonders in Europa und Japan erkannt. Viele Leute haben ihm besonders gut gewußt. Wie die Überwindung des Problems des Bluthochdrucks oder niedriger Blutdruck, Rheuma, Fettleibigkeit, Arthritis, Migräne, Diabetes und so weiter (Restuati, 2011).

Viele Leute vermuten, dass Kombucha zuerst bei der Chinesen konsumiert wurde, davon wirklich schon diesen Fermentation der Tee vor 3000 Jahren erkannt haben Der Name von Kombucha kommt aus zwei Wörtern, nämlich "kombu" und "cha". Cha kommt aus Chinessisch, bedeutet als Tee. Kombu war ein Name des koreanischen Heilers aus dem 5. Jahrhundert. Ungefähr um 414 v.Chr (vor Christus) heilte er sich erfolgreich den Kaiser von Japan. Er heißte Inkyo. Der Kaiser hatte eine längere starke Verstopfung. Danach wurde von Heilern fermentiertem Tee geheilt. Wegen seiner Hilfe gab ihm der Kaiser diesem Kraut mit Kombucha. Es bedeutet ein Kräutertee von einem Heiler, genannt als Kombu (Naland, 2008).

2.1.2 Die Mikroorganismen, der Akteur des Fermentationsprozesses

Die Kultur von Kombucha enthalten sich von einige Vielzahl von Bakterien und Hefen. Der Pilz, der eine Rolle bei der Bildung von Kombucha spielt, wird als Hefe (*yeast*) genannt. Sie sind *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces ludwigii*, *Saccharomyces apiculatusvarietas*, *Schizosaccharomyces bailii*, *Candida fomata*, *Mycoderma*, *Mycotorula*, und *Z. Rouxii* (Restuati, 2011). Die beteiligten Bakterien sind *Acetobacter xylium*, *Xylinoides*, *Gluconicum*, *Acetobacter ketogenum*, *Pithiafermentans*, *Torula varietas* (Naland, 2008) *A. aceti*, *A.pasteurianus*, *Gluconobacter*, *Brettanomyces bruxellensis*, *B. intermedius* (Hidayat et al.,2006). Diese beiden Arten von Mikroorganismen leben sich einander abhängig und bilden Kolonien. Pilz und Bakterienkolonien leben in Symbiose. Deshalb ist es ganz schlimm für andere pathogene Organismen die Zusammenarbeit dieser beiden Arten von Mikroorganismen zu verunreinigen. Wegen des Fermentationsprozesses macht der sauren Umgebungskondition natürlich ganz schwer spezielle für Fremdorganismen, der Umwelt mit niedrigem pH-Wert unerwünschte (Naland, 2008). Kombucha sieht wie ein weißes Blatt von Gelatine (Gel) aus, das eine Dicke von 0,3-1,2 cm hat. Endlich ist es in einer Tonmembran eingeschlossen worden. Die Experten nennen diesen bakteriellen Pilz als *Symbiosis Colony of Bacterial Yeast* (Scoby-Kolonie). Seine gelartige Natur lässt sich allein die Form der Scoby - Kolonie, der eine Form vom Behälter (Zuchtplatz) folgt. Wähsend in einer Umgebung enthält sich von die Glukose und süßer Tee. Diese Kolonie soll eine Schichtanordnung bilden, die mehrere Zeit später dicker bekommen wird (Naland, 2008).

2.1.3 Der Inhalt des Kombucha Tees

Während des kulturen fermentierenden Tee von Kombucha wird eine Menge Alkohol (0,5-1%), Kohlendioxid, Vitamine des B-Komplexes (B1/Thiamin, B2/Riboflavin, B3/Niacin, Nikotinsäure, B6/Pyridoxin, B12/Cyanocobalamin, B15), Vitamin C, Folsäure (Citroforum Faktor oder Leucovorin), Glucuronsäure, Essigsäure, Hyaluronsäure (Hyaluronidasesäure). Chondroitinsulfat, Milchsäure (2-Hydroxypropansäure), manche ähnliche Verbindungen wie essentielle Aminosäuren, Enzyme, Antibiotika und andere Inhaltsstoffe wie Polyphenole und Usninsäure entstehen, die eine wichtige Rolle als ein Antivirus und Antibakteriell spielen (Hidayat *et al.*, 2006 ; Naland, 2008).

2.1.4 Der Nutzen von Kombucha

Kombucha ist von der Gessellschaft an einer besten Lösung des Problemes für Gesundheit geglaubt, wie Bluthochdruck, Rheuma, Fettleibigkeit, Arthritis, Migräne, Diabetes und andere. Kombucha kann sich die Kraft der Immunitäts gegen Ansteckung von außen stärken. Er hat die Fähigkeit auf einige Toxinen zu binden. Danach entfernt sie sie mit dem Urin aus dem Körper. Der antimikrobieller Gehalt in Kombuchas Getränken konnte sich auch das Wachstum von *Shigella sonnei*, *Escherichia coli* *Salmonella typhimurium* hemmen (Hidayat *et al.*, 2006). Es meint, dass der Kombination aus Glucuronsäure und die Milchsäure in Kombucha total effektiv sind, um ganze Mikroorganismen (Bakterien, Viren und Pilze) zu zerstören. Diese neuste Untersuchung von Kombucha hat beweisen, dass die Aktivität der antimikrobiellen pathogenen Mikroorganismen unterschiedlich sind, der am meistens durch Essigsäure verursacht. Diese

Essigsäure ist bekannt, um eine Anzahl von Gram Bakterien und noch positiv-negativ Gram zu hemmen und abzutöten (Talawat *et al.*, 2006).

Einige gemachte Studie für manchen Nutzer des Kombucha Tees ist in Kargasok (Russland), Polen, Amerika, China und mehreren anderen Ländern gefunden, die Wirksamkeit von Kombucha zu beweisen. Der Einwohner von Kargasok konsumieren sich jeden Tag Kombucha. Deshalb konnte jemand da länger als 100 Jahre leben. Obwohl sie schon alt sind. Aber sie tun immer noch kaum Aktivitäten wie Menschen, die noch produktiv sind. In Russland wird Kombucha auch zur Behandlung von Alkoholikern verwendet haben. Nach dem Verbrauch an Kombucha regelmäßig wird die Gewohnheit der alkoholischen Getränke langsamer reduzieren und sogar es ist verlassen. Die heilende Wirksamkeit von Kombucha basiert auf die Gluconsäure, Glucuronsäure, Milchsäure, Essigsäure, Vitamin C, Vitamin B und antibiotische Substanzen. Am Ende ist Kombucha kein Medizin und wird nicht als der Nutzen von verschreibungspflichtigen Medikamenten vom Arzt ersetzt können. Grundsätzlich spielt Kombucha eine Rolle bei der Steigerung der Gesundheit und Immunität des Körpers. Mit zunehmenden Konditionen und Körpergesundheit werden eine Prävention und Behandlung der Heilung von verschiedenen Krankheiten optimaler sein. Die Ergebnisse der Fermentation und Oxidation der Mikroorganismen in Kombucha produzieren sich eine Vielzahl von organischen Säuren, Vitaminen, und Enzyme. Einige der Vorteile von Kombucha sind die Krebsprävention und die Verbesserung der Leberfunktion, hilft bei der Behandlung von Bluthochdruck, Schlaganfall, Schmerzen, Hals, Fett und Cholesterin, Immunität und Gesicht-Hauthygiene (Naland, 2008).

2.1.5 Der Prozess des Kombucha Tees

Der Fermentationsprozess beginnt, wenn die Kultur Glukose in Alkohol und CO₂ umwandelt. Danach gibt es eine Reaktion mit Wasser, das eine Kohlensäure schafft. Dazu wird Alkohol Essigsäure oxidieren. Der ausgebildete Gluconsäure von der Oxidation bildet zwischen Glucose und Bakterien aus Acetobacter. Die Kultur produziert gleichzeitig auch andere organische Säuren. A. xylinum Bakterien ändert sich einen Zucker in Zellulose. Es wird Nata genannt und schwimmt entlang auf der Oberfläche des Mediums. Wenn die Nährstoffe im Medium verbraucht wurden, soll die Kultur doch kein Wachstum mehr haben. Die Kultur wird wieder aktiv, wenn sie wieder Nährstoffe erhält. Die Fermentationszeit dauert etwa 4-14 Tagen lang. Je länger die Gärung passiert, desto weniger hat sie eine Süße. Die empfohlene Fermentationszeit beträgt vor 14 Tagen. Wegen des vollständigen fermentierten Zuckers hat natürlich ein starkes weinähnliche Arom. An 10 Tagen der Gärungs, mit einem anfänglichen Zuckergehalt von 8%, wird Fruktose 25 g/L, Gluconatsäure 3,1 g/L und Essigsäure 2 g/L erhalten. Wenn die Fermentation auf 14 Tage verlängert wird. Dann wird Fructose sich auf 15,03 g/L, Gluconsäure 6,64 g/L und Essigsäure 8,61 g/L ändern. Neben dem Tee kann Kombucha auch aus verschiedenen Rohstoffen wie Äpfeln, Karotten hergestellt werden. Bei der Verwendung für Getränke oder aus landwirtschaftlichen Abfällen wie flüssiger Tofu, Tempe und Tapioka, ob es für die Zelluloseproduktion verwendet wird (Restuati, 2011).

Die mikrobiellen und biochemischen Veränderungen, die in Kombucha auftritt haben, sind wie folgt:

a. Hefe und Bakterienwachstum

Während der Inkubationszeit (6-14 Tagen) vermehrt die Zahl der lebenden Hefen. Obwohl die endgültige Zellzahl hoch bleibt, aber die Zahl nimmt weiter ab, wenn sie ständig fermentiert. Die Konzentration an Hefezellen in der Flüssigkeit ist im Allgemeinen höher, als sich die der Hefezellen in der Nagelhaut befindet. Beim Wachstum in PDA gibt es zwei Arten von Kolonien. Diese Sache zeigt, dass in Kombucha zwei Arten von Hefe gefunden wurden. Das gleiche Ergebnis treten sich auch auf in Essigsäurebakterien, die eine höhere Zahl als in der Nagelhaut erscheint. (Restuati, 2011).

b. Die Änderungen im Zuckergehalt

Die Saccharosekonzentration nahm linear vor 30 Tagen ab, gefolgt von mit langsamerem Rückgang. Die mittlere Glukosekonzentration steigte und erreichte höchste Konzentration (1,2 Prozent) nach 30 Tagen. Es bedeutet, dass die Fruktosekonzentration steigt während der Fermentationszeit und erreichte 5,5 Prozent nach 30 Tagen (Hidayat *et al.*, 2006).

c. Die Produktion von Ethanol

Die Änderungen der Konzentration des enthaltenen Ethanols im Kombucha während der Fermentation erscheint eine Progression in der frühen Phase der Gärung, die nach 20 Tagen von der Fermentation 0,55 Prozent bis zum Ende der Fermentation erreicht (Hidayat *et al.*, 2006).

d. Die Änderungen der organischen Säuren

Die Produktion der organischen Säuren zeigte während der Fermentation einen Anstieg und erreichte 1,1 g/100 ml bei 30 Tagen. Darauf fällt nach 60 Tagen der Fermentation nur 0,8 g/100 ab. Die Gluconsäure und andere organische Säuren wurden auch nach 6 Tagen vom

Fermentation entdeckt und erreichte am Ende der Fermentation 3,9 g/100 ml (Hidayat *et al.*, 2006). Die Menge der *Bernsteinsäure* und *Gluconsäure* nahm mit der Fermentationslänge zu. Es hat auch mit der antibakteriellen Kraft gegen *V. cholera*, *S. typhi* und *P. Aeruginosa*, der wirklich während der Fermentation einen Anstieg schafft (Talawat *et al.*, 2006)

2.1.6 Das Prinzip der Fermentation des Kombucha Tees

Im Allgemeinen besteht es aus drei wichtigen Faktoren bei der Herstellung des Kombucha Tees. Zuerst ist es die pilzbakterielle Kolonien, die " Scoby Kolonien " oder Kombucha Kolonien genannt werden. Dieses Organismus gilt als ein erster Schlüssel zum Fermentationsprozess. Das zweite ist ein lebendes Medium der Kolonie, wie eine zuckerhaltigen Teelösung (Glucose) aus sieht. Seine Funktion ist eine Energiequelle oder Nahrung für Pilzkolonien und Bakterien bei der Ausübung ihres Lebens. Die dritte ist die Umweltbedingungen. Dieser Fermentationsprozess braucht sehr eine Luftumgebung mit geringer Sauerstoffgehalt. Es ist ebenso bei der Temperatur und Luftfeuchtigkeit. Eine hohe Temperatur macht dem Akteur der Fermentations ihre Tätigkeit nicht gut erfüllen.

2.1. Die Tätigkeit von Antibakterie

Eine Antibakterie ist eine Verbindung, die ein Wachstum blockieren kann, sogar Bakterien abtöten. Die Antibakterielle wird durch in vitro gemessen, um die Potenz des bakteriellen Mittels zu bestimmen, seine Konzentration in Körperflüssigkeiten oder Geweben, die Anfälligkeit einer bestimmten Bakterien auf eigene Verbindung direkt mit bestimmten Konzentrationen (Gunawan, *et al.*, 2004). Basierend auf selektiven Toxizitätseigenschaften. Es gibt Substanzen als bakteriostatisch, die das Wachstum von Bakterien hemmen konnten. Die

andere wird als Bakterizide genannt, die die Bakterien vernichtet (Pelczar und Chan, 2005). Der Wirkmechanismus der Antibakterien sind :

a. Die Beschädigung der Zellwände

Wegen der Zellwandschäden von der Antimikrobielle verursachen eine Lyse. Der andere Defektstoß lässt sich eine Bildung von Protoplasten erscheinen. Ein Protoplast ist eine Anordnung von Zellen ohne Wände und sind anfälliger für Lyse (Pelczar und Chan, 2005).

b. Die Änderung der Zellpermeabilität

Die Zytoplasmamembran hält an bestimmten Materialien innerhalb der Zelle fest und organisiert sich jeden Zu und Abfluss von andere Materialien. Die Membran passt auf der Versammlung der Zellkomponenten. Ein Defekt dieser Membran verursacht zu einer Hemmung von Zellwachstum oder Zelltod (Pelczar und Chan, 2005).

c. Die Veränderungen von Protein und Nukleinsäuremolekülen

Das Leben einer Zelle hängt von der Aufrechterhaltung von Protein, Säuremolekülen und Nukleinsäure in ihrem natürlichen Zustand ab. Ein Zustand oder eine Substanz, die diesen Zustand sich verändert. Das heißt denaturierende Proteine und Nukleinsäuren. Die beide können Zellen schädigen, ohne es wieder repariert konnte. Die hohe Temperatur und Konzentrationen von einiger Chemikalien können etwas wie Koagulase und vor allem irreversiblen Zellbestandteilen auslösen (Pelczar und Chan, 2005).

d. Die Enzymhemmung

Jedes Enzym ist in der Zelle als ein potenzielles Ziel für einen Blockierer. Diese Hemmung kann große Störung des Stoffwechsels oder Zelltod machen (Pelczar und Chan, 2005).

e. Die Hemmung der Nukleinsäuresynthese und Protein

Heutzutage spielen DNA, RNA und Proteine eine wichtige Rolle in den normalen Lebensvorgängen von Zellen. (Pelczar und Chan, 2005). Dies bedeutet, dass jede Störung in der Form oder Funktion des Stoffes gibt. Diese Substanzen können erstmal bei vielen Nachteilen der Zellen bringen (Pelczar und Chan, 2005). Diffusion gehört zu einer antibakteriellen Testmethoden für eine Substanz, die ganz häufig verwendet ist. Die Diffusionsmethode wird in mehrere Prüfung mit dem Scheibendiffusions geteilt, nach dem Test von Kirby & Bauer. Die Wirksamkeit des antimikrobiellen Mittels wurde bei dieser Discdiffusionmethode bestimmt. Eine Platte, die ein antimikrobielles Mittel enthält, wird auf ein implantiertes Agarmedium komplett mit der Mikroorganismen gelegt. Endlich wird auf den Agarmedien diffundieren. Das freie saubere Bereich zeigt an die Hemmung des Wachstums von Mikroorganismen durch antimikrobielle Mittel auf der Oberfläche des Agarmediums. Die E-Testmethode wurde verwendet, um MIC (Minimum Inhibitory Concentration) oder minimale Hemmschwelle abzuschätzen, ist eine Mindestkonzentration von einem antimikrobiellen Agent, das Wachstum von Mikroorganismen zu hemmen (Harmita und Radji, 2006).

Eine Untersuchung von Greenwalt *et.al.*, (1998) bewiesen, dass die antibakterielle Aktivität von Kombucha gegen pathogene Mikroorganismen hauptsächlich von sauren Substanzen in Kombucha beigetragen werden. Auf dieser Fall wird deutlich dadurch einen

festgestellten Test erklärt, denen die gleiche Hemmung erfährt. Aber nachdem dieser Teeprobe von Kombucha wird neutralisiert. Plötzlich lässt sich diese antibakterielle Aktivität verschwinden. Wahrscheinlich wird daher die Aktivität der antibakteriellen Eigenschaften am meisten auf die Säure des Kombucha Tees beigetragen. Kombucha enthält 7 g/l (0,7%) Essigsäure. Die Essigsäure hat im Kombucha antibakteriell Aktivität durch in vitro gegen *Shigella sonnei*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella cholerasius*, und *Agrobacterium tomeفاعiens*.

Im Allgemeinen passiert eine Symbiose beim Kombucha Fermentationsprozess zwischen *Acetobacter* Bakterien *xylinum* und die Hefe von *Saccharomyces cerevisiae*. Diese Symbiose produziert Säuren und Alkohol, die das Wachstum der fremden Mikroorganismen hemmt, die nicht von Pilzen Kombucha Tees stammen.

2.2. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus ist ein Name, die Teil der Gattung Staphylokokken ist. Diese Bakterie wurde zuerst von Pasteur und Koch beobachtet und kultiviert. Dann starten in der 1880er bei Ogston und Rosenbach zu untersuchen. Der Gattungsname von *Staphylococcus* wurde von Ogston gegeben. Denn diese Bakterie sah mikroskopisch auf die erste Beobachtung wie eine Weintraube aus. Hinzu wird der Artnamen von *aureus* von Rosenbach angegeben. Es verursacht wird, denn diese Bakterienkolonie sieht in Reinkultur farbig gelb golden aus. Rosenbach enthüllte auch, dass *Staphylococcus aureus* als eine Ursache für Infektionen in Wunden und Furunkeln gilt. Der natürliche menschliche Lebensraum von *Staphylococcus aureus* befindet sich in Haut, Nase, Mund und Dickdarm. Es gibt eine Belastung, wo auf normalen

Bedingungen des Immunsystems ist. *Staphylococcus aureus* ist nicht pathogen (einer normale Mikrofloramensch) (Jawetz, 2008).

2.2.1. Die Taxonomie

Taxonomie von *Staphylococcus aureus* nach Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (2009):

Abteilung: Firmicutes

Klasse: Bazillen

Bestellung: Bacilles

Familie: Staphylococcaceae

Gattung: Staphylococcus

Spezies: Staphylococcus aureus

2.2.2. Morphologie

Staphylococcus aureus ist ein aerobes grampositives Bakterium, das Pigmente gelb produziert und fakultative Anaerobier, keine Sporen produziert, Laktose vergärt, positiver Katalase Test. Dann kann es in einer salzhaltigen Umgebung mit der hohen Konzentration (halophil) überleben, nicht beweglich, kann in der Regel paarweise oder Trauben mit einem Durchmesser von ca. 0,8 – 1,0 m, optimale Temperatur 37°C wachsen. Das Staphylokokken aureus enthält Polysaccharide und Proteine, die als Antigene funktioniert. Sie sind wichtige Substanz in der Struktur der Zellwand (Elliot, et al 2009).

2.2.3 Habitat

Das natürliche Habitat von *Staphylococcus aureus* beim Menschen ist die Haut, Nase, Mund und Dickdarm. *Staphylococcus aureus* ist eine Mikrobiota, die oft in der Haut, und Nase gefunden kann. Aber die Nase findet normalerweise als der Entwicklung der Kolonisation statt. Normalerweise ist es nicht pathogen im Körper, aber manchmal kann Infektionen und schwere Erkrankungen verursachen. Deswegen ist die Bakterien resistent für Antibiotika. Einige von ihnen gelten als normale Flora auf der Haut und den Schleimhäuten eingestuft Menschen. Sie lösen Eiter, Abszess, verschiedene pyogene Infektionen und Septikämie tödlich aus (Jawetz, 2008).

2.2.4. Pathogenese und klinische Beschreibung

Die meisten *Staphylococcus* sind eine normale Flora der Haut, Atemwege, und Verdauungstrakt beim Menschen. Diese Bakterien kann auch auf der Luft und herum der Umgebung gefunden. Der pathogene *Staphylococcus aureus* ist invasiv. Er bewirkt Hämolyse, eine Koagulase bildet und kann auch Mannit selbst fermentieren (Jawetz, 2008).

Eine Infektion von *Staphylococcus aureus* ist durch Gewebeschäden und eitriger Abszess gezeichnet. Mehrere Infektionskrankheiten, die durch *Staphylococcus aureus* verursacht werden. Darunter sind Furunkel, Akne, Impetigo und Wundinfektionen. Die schwereren Infektionen sind Lungenentzündung, Mastitis, Phlebitis, Meningitis, Harnwegsinfektionen, Osteomyelitis und Endokarditis. *Staphylococcus aureus* ist auch eine hauptsatliche nosokomiale Infektionen, Lebensmittelvergiftung und toxisches Schocksyndrom (Sjoekoer, 2005).

Hier sind die Beispiele :

a. Geschwür

Geschwür oder Abszesse wie Pickel ist eine Hautinfektionen in der Umgebung Haarfollikel, Talgdrüsen oder Schweißdrüsen. Zunächst tritt eine lokalisiert Gewebenekrose. Dann tritt sich die Fibrinkoagulation um die Läsion und herum die Lymphgefäße auf. Dazu wird die Bildung einer Wand geführt, die den Nekroseprozess begrenzt. Die Infektion kann sich auf jeden Teil des Körpers durch die Lymphgefäße und Blutgefäße entwickeln. Nachdem gibt es eine Entzündung der Venen, Thrombose, sogar Bakteriämie. Die Bakteriämie kann Endokarditis, hämatogene akute Osteomyklitis, Meningitis oder Lungeninfektion (Sjoekoer, 2005) verursachen.

b. Direkte Kontamination

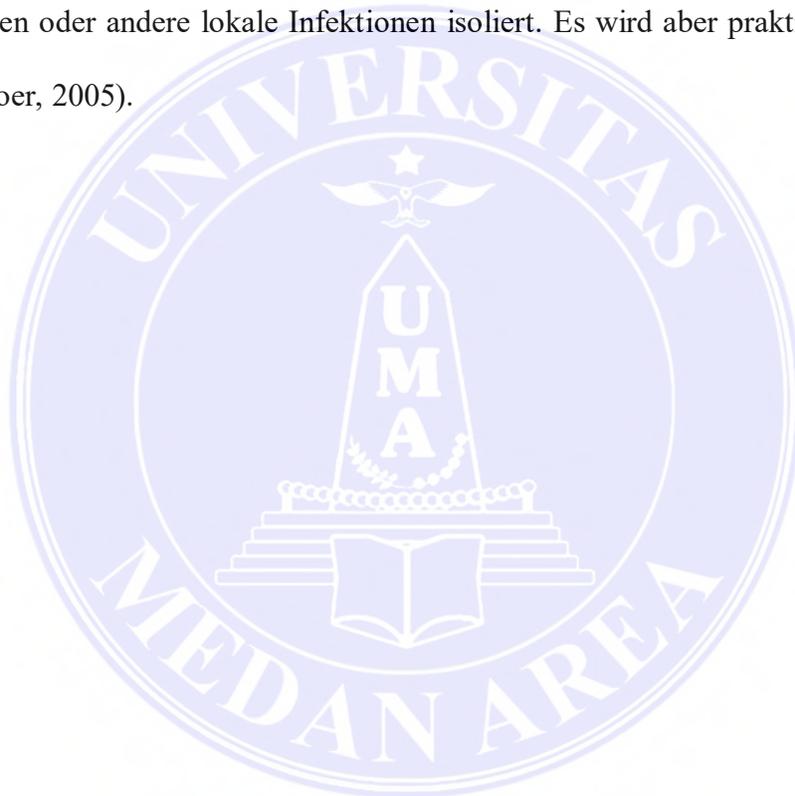
Staphylococcus aureus in offenen Wunden (z. B. postoperative Wunden) oder Infektionen nach einem Trauma ist eine Ursache für nosokomiale Infektionen (z. B. chronische Osteomyelitis nach einer offenen Fraktur) und danach einer Meningitis, Schädelbruch. (Sjoekoer, 2005). C.

c. Lebensmittelvergiftung

Eine Lebensmittelvergiftungen können durch Enterotoxin-Kontaminationen von *Staphylococcus aureus* verursacht werden. Der Zeitpunkt des Auftretens von Vergiftungssymptomen ist normalerweise schnell Zweite hängt vom Immunsystem und der aufgenommenen Toxinmenge ab. Die Menge des Toxins, die eine Vergiftungen ca 1,0 g/g Lebensmittel verursachen. Die Vergiftungssymptome sind durch starke Übelkeit, Erbrechen und Durchfall ohne Fieber gezeichnet (Sjoekoer, 2005).

e. Toxisches Schocksyndrom (SST)

Das toxische Schocksyndrom (SST) bei einer Infektion von *Staphylococcus aureus* tritt plötzlich auf mit Symptomen wie hohes Fieber, Erbrechen, Durchfall, Myalgie, Hautausschlag und Hypotonie, Herzversagen und Niere in schweren Fällen. SST tritt häufig innerhalb in der ersten fünf Tagen der Menstruation bei jungen Frauen, oder bei Kindern und Männern, die schon ihre Wunden mit *Staphylococcus* infiziert hat. *Staphylococcus aureus* kann aus Vagina, Tampons, Wunden oder andere lokale Infektionen isoliert. Es wird aber praktisch nicht im Blut gefunden (Sjoekoer, 2005).



KAPITEL III

DIE METHODOLOGIE DER UNTERSUCHUNGS

3.1 Die Lage und die Zeit von Untersuchung

Diese Untersuchung wurde von April bis Juni 2018 in einem Gesundheitslabor auf der William Iskandarstraße Nummer 4, Medan durchgeführt.

3.1 Die Werkzeuge und Materialien

3.1 Die Werkzeuge

Die Werkzeuge, die in dieser Untersuchung verwendet wird. Darunter sind Gasherd, Glasgefäß, Filter Tee, Gazedeckel, Gummilauge, Autoklav, Erlenmeyerkolben, Kochplatte, Stiel Rührer, Mikropipette und Spitze, steriles Wattestäbchen, Digitalwaage, Becherglas, Petrischale, Reagenzgläser und Röhrengestelle, Wattestäbchen, Pinzetten und Messschieber.

3.2.2. Die Materialien

Die Materialien, die in dieser Untersuchung verwendet wird. Sie sind Kombuchas Starter, Tee, Kristallzucker, *Staphylococcus aureus*-Bakterienisolat, steriles destilliertes Wasser, Mueller Hinton Agar (MHA) Medium, und *leere Scheibe*.

3.3. Der Method von Untersuchung

Diese Untersuchung wird experimentell durchgeführt. Das verwendete Untersuchungsdesign ist ein vollständig randomisiertes Design mit 4 Behandlungen am 10. Tagen der Fermentation, 14 Tagen, 18 Tagen und 22 Tagen mit jeweils 5 Wiederholungen der

Behandlungs. Die beobachtete Parameter ist ein Durchmesser der Hemmzone, den bei jeder Fermentation von Kombucha gebildet wurde.

3.4. Die Arbeitsläufe

3.4.1. Die Starterverjüngung von Kombucha

Das Starter von Kombucha wurde von Tirta Ning Nusantara auf der Gede Desastraße II Nummer 5, Bali bezogen. Die Pflege des Kombucha Starters wird ihm in einen Glasbehälter gemacht, bei dem gerade mit Trinkwasser gewaschen wurde. Es ist darauf zu achten, dass es kein Schmutz auf dem Kombucha Starter gibt. Der Kombucha-Starter wurde in einen Glasbehälter gelegt, den einem Kombucha Tee und gekühlter süßer Tee gegeben wurde. Nächste wird der Glasbehälter mit Gaze verschlossen und kann in einem Raumtemperatur gelagert (Nuraini, 2017).

3.4.2. Die Produktion von Kombucha Tees (Hidayat *et al.*, 2006)

Der Herstellung des Kombucha Tees wurde gemacht, mit 30 Gramm Tee in einem Glas oder einen Edelstahlbehälter füllt, der bereits zwei Liter Wasser enthält. Später wird es aufgeköcht und etwa 15 Minuten ziehen lassen, bis sich der Tee aufgelöst hat. Dann wird Tee mit dem Filtertuch gefiltert. Nachdem fügen 250 g Zucker hinzu und rührt es sofort. Der Tee wird in einen sauberen Glas oder Edelstahlbehälter gefüllt. Nachdem der Tee kalt ist, soll Kombucha Starters hinzugefügt und die Mutterlauge aus der vorherigen Fermentation bis zu 10%. Die Oberseite des Behälters ist mit Gaze bedeckt, die mit einem Gummiband zusammengebunden ist, um kleine Mengen Sauerstoff zu liefern (mikroaerophil). Nächste Schritt wird für 10 Tagen (Versuch 1), 14 Tagen (Versuch 2), 18 Tagen (Versuch 3), 22 Tagen

(Experiment 4) beim Raumtemperatur inkubiert. Die optimale Temperatur ist 23-27°C, vor Sonnenlicht geschützt wird. Dann es muss stoß und vibrationsfrei sein.

3.4.3. Das pathogene Isolat der Bakterien

Ein reines Isolat von *Staphylococcus aureus* wurde in einem Gesundheitslabor in Medan durchgeführt und auf Mueller Hinton Agar (MHA)-Medien. Das Isolate wurde bei 25-300 °C inokuliert und für eine spätere Wiederverwendung aufbewahrt.

3.4.4. Die Herstellung von MHA Medien – Staphylococcus aureus

Die Herstellung des MHA (Muller Hinton Agar) Mediums wurde unter Verwendung von MHA-Medium hergestellt und wog bis zu 3,4 Gramm. Dann hatten 100 ml destilliertes Wasser zugegeben. Die homogenisierende Medienaufhängung wird auf einer Kochplatte erhitzen, bis es kocht. Dann wird das Medium durch Verwendung eines Autoklaven bei 121°C, bei 2 ATM für 15 Minuten sterilisiert. Das Medium, das bereits steril war, zur weiteren Verwendung im Kühlschrank aufbewahrt.

3.4.5. Die Herstellung der Kombucha Tees vom Antagonistentest mit Staphylococcus aureus

Die Herstellung der Kombucha Tees vom Antagonistentest mit *Staphylococcus aureus* wurde hergestellt. Dadurch vorbereitet sich auf die Testmedien in Form von sterilem MHA. Dann gießt etwas zur Petrischalen aseptisch und erstarren lässt. Eine Suspension von pathogenen Bakterien wird mit 10⁸ äquivalente Zelldichte CFU oder gleichwertig zum Mc Farland des Standards hergestellt. Ein steriles Wattestäbchen wurde genommen und zur Suspension von pathogenen Bakterien getaucht. Dann verteilt sich darauf gleichmäßig auf der Medienoberfläche.

Kombucha wurde basierend auf jeder Behandlung zubereitet (10 Tage, 14 Tagen, 18 Tagen und 22 Tagen). Die Flüssigkeit von Kombucha mit Variationen der Fermentationszeits, wurde mit 10 L auf der Oberfläche des leeren Disc getropfte. Eine leere Scheibe wurde auf MHA-Medium mit der Suspension implantiert und inkubiert vor 24 Stunden. Der erscheinenden Durchmesser von Hemmzone wird dann mit dem Messschieber gemessen.

3.5. Die Datenanalyse

Die Daten, die aus den Untersuchungsergebnisse erhalten wird, ist eine Durchmesser der Hemmzonen aus jeder Behandlung des Kombucha Tee gegen *Staphylococcus aureus* Bakterien zu wissen. Diese erhaltenen Daten werden statistisch nach RAL (Completely Randomized Design) mit vier verschiedenen Behandlung und fünf Wiederholungen ausgewertet.

Der Hypothesentests wurden durch Varianzanalyse oder ANOVA Least Significant Differences (LSD)-Test durchgeführt, um die beste Zeitverbesserung der Fermentation des Kombucha Tees bei der Einfluss des Wachstums von *Staphylococcus aureus in-vitro* herauszufinden.