

Kesan Penambahan Fukoidan terhadap Kualiti Penyimpanan Kombucha (Effect of Fucoidan Addition on the Shelf-Life Qualities of Kombucha)

NURUL SHAHIRAH AZIZ¹, NUR SYAFIQA ABD AZIZ¹, SENG JOE LIM^{1,2}, NOOR-SOFFALINA SOFIAN-SENG^{1,2}, WAN AIDA WAN MUSTAPHA^{1,2}, HAFEEDZA ABDUL RAHMAN^{1,2}, NOORUL SYUHADA MOHD RAZALI^{1,2,*}

¹*Department of Food Sciences, Faculty of Science and Technology, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor, Malaysia*

²*Innovation Centre for Confectionery Technology, Faculty of Science and Technology, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor, Malaysia*

Diserahkan: 26 Ogos 2023/Diterima: 14 Mac 2024

ABSTRAK

Kombucha ialah minuman berasid yang dihasilkan daripada teh manis setelah penapaian menggunakan kultur simbiotik bakteria dan yis (SCOBY). Ekstrak fukoidan daripada rumpai laut menjadi bahan berfungsi tinggi antioksidan yang boleh meningkatkan kualiti penyimpanan kombucha. Objektif kajian ialah untuk mengukur kesan penambahan fukoidan pada kepekatan berbeza (0.0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.0 mg/mL) terhadap kualiti fizikokimia kombucha seperti warna, nilai TSS, nilai TA, nilai pH, flavonoid serta antioksida (TPC, DPPH dan FRAP) yang disimpan pada suhu 4 °C selama 14 hari. Kombucha yang diperkuat dengan fukoidan disediakan menggunakan teh bergula (150 g sukrosa/L larutan teh) yang ditapai dengan 150 mL kultur pemula SCOBY pada suhu 28 °C selama 7 hari. Selepas proses penapaian selesai, kombucha disimpan pada suhu 4 °C untuk pencirian fizikokimia dan bioaktiviti pada hari 0, 7 dan 14. Hasil kajian mendapati penambahan fukoidan mempengaruhi nilai warna a^* dan b^* ($p < 0.05$) namun tidak merubah kecerahan (L^*), menurunkan nilai TSS dan nilai TA ($p < 0.05$), meningkatkan nilai pH ($> \text{pH } 2.5$) serta merendahkan kandungan alkohol ($< 0.5\%$). Manakala, kesan bioaktiviti kombucha dengan kepekatan fukoidan 1.00 mg/mL mencatatkan peningkatan TFC: 5.78 ± 0.19 mg QUE/mL ($p < 0.05$), TPC: 0.47 ± 0.01 mg GAE/mL ($p < 0.05$) dan FRAP 390.43 ± 0.03 mg AAE/mL ($p < 0.05$) lebih tinggi selepas 14 hari berbanding sampel kawalan. Fukoidan serendah 0.25 mg/mL meningkatkan peratusan DPPH seiring peningkatan kepekatan ($p < 0.05$). Ciri fizikokimia, bioaktiviti serta antioksidan minuman kombucha telah meningkat setelah ditambah dengan 1.0 mg/mL fukoidan selepas 14 hari penyimpanan.

Kata kunci: Antioksidan; fizikokimia; ingredien fungsian; penapaian; SCOBY

ABSTRACT

Kombucha is an acidic drink produced from sweetened tea fermented for a few days using a symbiotic culture of bacteria and yeast (SCOBY). Fucoidan extracted from seaweed can be added into kombucha as a valuable functional ingredient due to its strong antioxidant properties. The objectives of this study were to determine the effect of adding fucoidan at different concentrations (0.0, 0.25, 0.50, 0.75, and 1.0 mg/mL) on the quality of kombucha stored at 4 °C for 14 days. Kombucha fortified with fucoidan (0.25-1.0 mg/mL) was prepared by fermenting the sweetened tea (150 g sugar/L tea solution) using 150 mL SCOBY starter culture at 28 °C for 7 days. Once the fermentation process completed, the kombucha was stored at 4 °C for 14 days for physicochemical and bioactivities characterization on 0, 7 and 14. Study on the physicochemical characteristics of kombucha found that the addition of fucoidan affects the colour values a^* and b^* ($p < 0.05$) but does not change the brightness (L^*), lowers the TSS value and TA value ($p < 0.05$), helps increase the pH value ($> \text{pH } 2.5$) as well as lowering the alcohol content ($< 0.5\%$). Whereas the kombucha with concentration of 1.00 mg/mL fucoidan shows higher TFC content i.e. 5.78 ± 0.19 mg QUE/mL ($p < 0.05$), TPC: 0.47 ± 0.01 mg GAE/mL ($p < 0.05$) and FRAP 390.43 ± 0.03 mg AAE/mL ($p < 0.05$) after 14 days compared to the control sample. Fucoidan as low as 0.25 mg/mL increase the percentage of DPPH as the concentration increased ($p < 0.05$). The physicochemical characteristics, bioactivity and antioxidant properties of kombucha drink increased after the addition of 1.0 mg/mL fucoidan within 14 storage days.

Keywords: Antioxidants; fermentation; functional ingredients; physicochemical; SCOBY

PENDAHULUAN

Minuman teh manis yang ditapai ataupun Kombucha ialah minuman tradisi yang tinggi dengan khasiat dan nutrisi. Minuman ini terhasil daripada penapaian teh manis menggunakan kultur simbiotik antara bakteria asid asetik (AAB), bakteria asid laktik (LAB) dan yis (SCOBY) dengan bahan sukrosa sebagai substrat (Leal et al. 2018; Villareal-Soto et al. 2018). Sukrosa dalam kombucha dihidrolisis dan ditukarkan oleh enzim invertase kepada glukosa dan fruktosa yang menjadi sumber karbon bagi sistem simbiotik SCOBY (Kallel et al. 2012). Semasa proses penapaian berlaku, pelbagai metabolit terhasil dalam kombucha seperti asid organik, gula, vitamin larut air, asid amino, lipid, protein, enzim hidrolitik, etanol, polifenol dan mineral (Bortolomedi et al. 2022). Kombucha diperakui memberikan kesan kesihatan yang baik kerana ia mengandungi pelbagai sebatian bioaktif yang mempunyai sifat berfungsi (Anantachoke et al. 2023). Kombucha juga semakin popular dan diminati oleh ramai pengguna kerana mempunyai ciri-ciri sensori yang menyegarkan dan unik dengan campuran rasa manis, masam, berasid serta rasa buah (Alderson et al. 2021). Jarrell et al. (2022) melaporkan penghasilan enzim, asid bakteria dan metabolit sekunder oleh mikroorganisma semasa proses penapaian produk seperti kombucha mempunyai sifat anti-keradangan dan anti-oksidan yang boleh melawan pelbagai penyakit. Antara manfaat kombucha yang telah diterokai oleh ramai pengkaji ialah kesan anti-mikrob, anti-oksidan, anti-karsinogenik (Jayabalan et al. 2011), anti-diabetes (Aloulou et al. 2012; Bhattacharya, Gachhui & Sil 2013), rawatan ulser gastrik (Banerjee et al. 2010) dan kolesterol tinggi (Yang et al. 2009).

Mutakhir ini, industri makanan dan saintis makanan giat melakukan usaha inovatif serta kajian dalam mencari bahan yang dapat meningkatkan khasiat produk sedia untuk dimakan. Dipacukan permintaan pengguna dan polisi-polisi kerajaan, bahan tambah tiruan atau sintetik dalam makanan amat memerlukan alternatif lain yang lebih mesra pengguna dan hijau. Antara sumber yang lebih mampan dan lestari dengan manfaat sebatian antioksidan semula jadi ialah daripada rumpai laut (Gunathilake et al. 2022). Rumpai laut perang kaya dengan sebatian bioaktif semula jadi seperti polifenol dan flavonoid (Lim, Wan Aida & Mohamad Yusof 2017). Tambahan lagi, fukoidan dalam rumpai laut menunjukkan aktiviti antioksidan yang tinggi dengan kehadiran polisakarida fukosa tersulfat yang bertindak sebagai kumpulan penarik elektron (Wang et al. 2019). Fukoidan juga mempunyai struktur tulang belakang galaktofuran yang unik dengan galaktosa dan fukosa sebagai monosakarida utama justeru meluaskan spektrum bioaktiviti untuk dieksploitasi sebagai ingredien berfungsi (Koh, Lu & Zhou 2020).

Fukoidan boleh menjadi ingredien berfungsi dalam makanan atau minuman untuk menghalang kerosakan oksidatif disebabkan pengoksidaan dan menggantikan aditif sintetik seperti hidroksianisole dibutilkan (BHA) dan hidroksitoluena dibutilkan (BHT) (Kumar, Tarafdan & Badgujar 2021). Selain mempunyai ciri antioksidan yang tinggi, fukoidan juga banyak manfaat kesihatan seperti anti-koagulan, anti-radang, antivirus, antitumor dan anti-oksidatif (Lim, Wan Aida & Mohamad Yusof 2017; Poveda-Castillo et al. 2018; Sanjeeva & Jeon 2021). Gabungan kombucha dan fukoidan serta interaksi proses hidrolisis dan penapaian boleh menghasilkan produk kesihatan yang bermanfaat dan berkualiti tinggi. Selain itu, penambahan polisakarida fukoidan dipercayai dapat membantu menjamin kualiti warna kombucha dengan memberi kestabilan pigmen semasa dalam penyimpanan berpanjangan (Mohd Isa et al. 2022). Kestabilan pigmen semasa dalam penyimpanan berpanjangan boleh memastikan warna minuman kombucha yang terhasil lebih berkualiti. Kombucha yang berkualiti tinggi juga dikaitkan dengan kesegarannya semasa diminum sejuk, rasa kurang manis, rendah kelikatan, mempunyai aroma buah-buahan serta sensasi masam-manis yang ringan dan lembut (Tran et al. 2020). Oleh itu, kajian ini dijalankan untuk mengenal pasti kesan penambahan kepekatan fukoidan yang berbeza terhadap sifat fizikokimia dan bioaktiviti kombucha yang disimpan pada suhu 4 °C selama 14 hari penyimpanan sebagai petunjuk kepada kualiti jangka hayat kombucha.

BAHAN DAN KAEDAH

Bahan mentah seperti teh hitam (Lipton) dan gula putih (PRAI) dibeli di Pasaraya CS, Bangi. Fukoidan (Supafuco) diperoleh dari kedai Cosway, Bangi dan kultur pemula kombucha (SCOBY) telah dibeli secara dalam talian (Shopee, *WinZx13*). Bahan kimia yang digunakan ialah reagen Folin-Ciocalteu, 7.5% (w/v), larutan natrium karbonat (N_2CO_3), asid galik, 5% (v/v) larutan fenol, asid sulfurik pekat (H_2SO_4), larutan glukosa, 1% larutan fenoltalein, 0.1 M larutan natrium hidroksida (NaOH), difenil-2- pikrihidrazil (DPPH), aluminium klorida (AlCl_3), metanol (CH_3OH), kalium asetat ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{K}$), kuarsetin, penimbal asetat (CH_3COONa), 2,4,6-tripiridil-s- triazin (TPTZ), asid hidroklorik (HCl) dan ferum (III) klorida heksahidrat ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), asid askorbik ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$), larutan natrium dikromat ($\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), etanol dan larutan asetat penampan. Semua bahan kimia yang digunakan dalam kajian ini adalah gred analitikal.

PENGHASILAN LARUTAN TEH

Larutan teh, teh pemula dan formulasi minuman kombucha yang ditambah dengan fukoidan telah dihasilkan menggunakan kaedah yang dinyatakan oleh Mohd Isa et al. (2022). Larutan teh telah dihasilkan dengan merendam 9 g teh dalam 1500 mL air suling (suhu 100 °C) selama 30 minit. Kemudian, sukrosa (kepekatan 150 g/L) telah ditambah ke dalam larutan teh tadi dan disejukkan (suhu bilik).

PENGHASILAN LARUTAN TEH PEMULA

Teh pemula telah dihasilkan dengan mencampurkan 1350 mL larutan teh tadi dengan 150 mL kultur pemula SCOBY ke dalam botol kaca yang telah disteril. Kemudian, botol kaca ditutup dengan kain muslin untuk proses penapaian pada suhu 28 °C selama 7 hari.

PENGHASILAN KOMBUCHA DENGAN PENAMBAHAN FUKOIDAN

Jadual 1 menunjukkan formulasi kombucha yang ditambah dengan fukoidan pada kepekatan berbeza (0.25, 0.5, 0.75 dan 1.00 mg/mL) untuk mengkaji kesan fukoidan terhadap kualiti penyimpanan minuman kombucha. Larutan teh, teh pemula, SCOBY dan fukoidan telah dimasukkan ke dalam botol kaca yang telah disteril mengikut formulasi Jadual 1.

Kemudian, setiap botol kaca telah ditutup dengan kain muslin untuk menjalani proses penapaian selama 7 hari pada suhu 28 °C. Setelah tamat proses penapaian, semua sampel telah disimpan pada suhu 4 °C selama 14 hari. Analisis fizikokimia dan bioaktiviti telah dijalankan ke atas sampel pada hari 0, 7 dan 14 penyimpanan.

PENENTUAN CIRI FIZIKOKIMIA KOMBUCHA

WARNA

Warna setiap sampel telah diukur menggunakan Konica Minolta Chroma Meter (Minolta CR-400, Jepun) mengikut kaedah dijelaskan oleh Ho et al. (2020). Parameter warna diukur sebagai nilai L*, a* dan b*. L* ialah kecerahan warna, +a* ialah kemerahan, -a* ialah kehijauan, +b* ialah kekuningan dan -b* ialah kebiruan.

PENENTUAN KEPEKATAN JUMLAH PEPEJAL TERLARUT (TSS)

Kepekatan jumlah pepejal larut (TSS) telah ditentukan pada suhu 28 °C menggunakan refraktometer digital (Atago PR-101, Jepun) yang dikalibrasi dengan air suling mengikut kaedah AOAC 932.12 (1990). Bacaan TSS direkodkan dalam unit °Brix. Satu darjah Brix bersamaan dengan satu gram jumlah pepejal larut dalam 100 g larutan.

PENENTUAN NILAI pH

Nilai pH setiap sampel telah diukur menggunakan prob pH elektronik (Mettler Toledo S220 Kit, Switzerland) mengikut kaedah dijelaskan oleh Goh et al. (2012). Sebanyak 5 mL sampel diambil untuk mengukur nilai pH dengan menggunakan alat meter pH yang dikalibrasi dengan penimbal pH 4 dan 7.

PERATUSAN KEASIDAN BOLEH TITRAT (TA)

Pentitratan asid-bes digunakan untuk menentukan keasidan boleh titrat (TA) menggunakan fenolftalein (0.1 %) sebagai

JADUAL 1. Komposisi ingredien dan kepekatan fukoidan yang digunakan bagi menghasilkan sampel kombucha

Formulasi	Larutan teh (mL)	Teh pemula (mL)	Lapisan pelikel selulosa (SCOBY) (g)	Fukoidan (mg/mL)
1 (kawalan)	180	20	50	0
2	180	20	50	0.25
3	180	20	50	0.5
4	180	20	50	0.75
5	180	20	50	1.00

penunjuk, mengikut teknik AOAC, 947.05 (2005). Larutan 0.1 M NaOH digunakan untuk menitrasi minuman kombucha yang dicairkan dengan air suling (1:10). Selepas itu, 25 mL larutan kombucha yang telah dicairkan dimasukkan ke dalam kelalang Erlenmeyer untuk proses pentitrasi. Sebanyak 4-5 titis larutan fenolftalein (1%) telah ditambah ke dalam campuran dan dikacau hingga sebatu. Pentitrasi dilakukan menggunakan larutan piawai 0.1 M NaOH sehingga warna merah jambu berterusan (30 saat) dan isi padu titer yang digunakan direkodkan. Keasidan ditentukan dan dinyatakan dalam gram asid asetik per liter sampel. Keasidan boleh ditrat dihitug menggunakan Persamaan (1).

$$\text{Asid asetik (\%)} = \frac{\text{Isi padu NaOH (mL)} \times 0.006}{\text{Isi padu sampel (mL)}} \times 100\% \quad (1)$$

dengan berat molekul asid asetik = 60 g/mol; 1 mL 0.1 M NaOH = 0.0060 g asid asetik; 1 mL sampel ujian \approx 1 g sampel.

PENENTUAN KANDUNGAN ALKOHOL

Penentuan kandungan alkohol dijalankan mengikut kaedah Ho et al. (2020). Sebanyak 1 mL sampel kombucha dicampur dengan 2.5% (w/v) 5 mL larutan $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, 5 mL asetat larutan penimbal (0.1 M, pH 4.3) dan 25 mL H_2SO_4 (1.0 M). Pengosong disediakan dengan menggantikan sampel dengan air ternyahion. Kemudian, campuran divorteks selama 1 minit dan dibiarkan selama 2 jam pada suhu 28 °C. Penyerapan diukur pada 578 nm menggunakan spektrofotometer (Epoch TM Microplate Spectrophotometer, Biotek Instrument, USA). Kandungan etanol telah ditentukan menggunakan Persamaan (2).

$$\text{Kandungan etanol (\%)} = R \times DF \quad (2)$$

dengan nilai R ialah nilai bacaan daripada lengkung piawai dan nilai DF ialah faktor pencairan.

PENENTUAN CIRI BIOKTIIVITI KOMBUCHA

ANALISIS KANDUNGAN FLAVONOID JUMLAH (TFC)

Penentuan kandungan flavonoid jumlah (TFC) telah dijalankan mengikut kaedah Chen et al. (2011). Sebanyak 0.5 mL kombucha dicampur secara berasingan dengan 0.1 mL 10% AlCl_3 , 0.1 mL 1 M $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{K}$ dan 2.8 mL H_2O . Selepas disimpan selama 30 minit, penyerapan diukur pada 415 nm menggunakan Epoch TM Microplate Spectrophotometer (Biotek Instrument, USA). Kuersetin pada kepekatan 0.1 ke 0.6 mg/mL telah digunakan sebagai

piawai dan nilai flavonoid telah dinyatakan sebagai miligram kesetaraan kuersetin per isi padu sampel kombucha (mg QUE/mL). Kandungan flavonoid ditentukan menggunakan Persamaan (3).

$$\text{TFC (mg QUE/mL)} = R \times DF \quad (3)$$

dengan nilai R ialah nilai bacaan daripada lengkung piawai dan nilai DF ialah faktor pencairan.

ANALISIS KANDUNGAN FENOLIK JUMLAH (TPC)

Penentuan jumlah kandungan fenolik minuman kombucha yang ditambah dengan fukoidan telah dijalankan menggunakan kaedah dinyatakan oleh Ho et al. (2020). Sebanyak 0.3 mL kombucha telah dicampurkan dengan 1.5 mL N_2CO_3 (7.5% w/v) dan dibiarkan selama 90 minit dalam keadaan gelap. Penyerapan diukur pada 750 nm ditentukan menggunakan spektrofotometer (Epoch TM Microplate Spektrofotometer, Biotek Instrument, USA). Lengkuk piawai asid galik disediakan pada kepekatan 0.003 ke 0.5 mg/mL dan TPC dinyatakan sebagai miligram kesetaraan asid galik per mililiter sampel (mg GAE/mL). Kandungan fenolik jumlah telah ditentukan menggunakan Persamaan (4).

$$\text{TPC (mg GAE/mL)} = R \times DF \quad (4)$$

dengan nilai R ialah nilai bacaan daripada lengkung piawai dan nilai DF ialah faktor pencairan.

UJIAN PEMERANGKAP RADIKAL BEBAS (DPPH)

Aktiviti antioksidan sampel ditentukan menggunakan ujian difenil-2- pikrihidrazil (DPPH) (Marques et al. 2012). Sebanyak 2 mL kombucha dicampur dengan 2 mL larutan DPPH metanolik (0.1 mmol/L). Campuran digoncang dan dibiarkan di dalam tempat gelap selama 20 minit. Penyerapan diukur pada 517 nm menggunakan spektrofotometer (Epoch TM Microplate Spektrophotometer, Biotek Instrument, USA) dan ditentukan menggunakan Persamaan (5).

$$\text{Aktiviti pemerangkapan radikal bebas (\%)} = \frac{A1 - A2}{A1} \times 100\% \quad (5)$$

dengan nilai A1 ialah daya serapan awal dan A2 ialah daya serapan sampel.

UJIAN KUASA PENURUNAN FERIK (FRAP)

Analisis kuasa penurunan ferik (FRAP) dilakukan mengikut Benzie dan Strain (1996). Sebanyak 0.1 mL kombucha dicampurkan dengan 0.7 mL larutan FRAP.

Reagen kuasa FRAP disediakan dengan mencampurkan CH_3COONa (0.3 M), 2,4,6-tripiridil-s-triazin TPTZ (10 mM) dalam 40 mM HCl dan 20 mM $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dengan nisbah 10:1:1 pada 37 °C. Selepas 60 minit disimpan dalam gelap, penyerapan diukur pada 593 nm menggunakan 96 mikroplat spektrofotometer (EpochTM Microplate Spektrophotometer, Biotek Instrument, USA). Penyeragaman ujian dilakukan dengan menyediakan lengkung piawai menggunakan larutan askorbik asid dalam air pada kepekatan 0.003 ke 0.5 mg/mL dan nilai FRAP dinyatakan sebagai mg askorbik asid setara setiap mL sampel (mg AAE/g). Nilai FRAP telah ditentukan menggunakan Persamaan (6).

$$\text{Kuasa penurunan ferik (mg AAE/g ekstrak)} = R \times DF \quad (6)$$

dengan nilai R ialah nilai bacaan daripada lengkung piawai dan nilai DF ialah faktor pencairan.

ANALISIS STATISTIK

Analisis ciri fizikokimia dan bioaktiviti telah dijalankan sebanyak tiga replikasi ($n=3$). Perisian Minitab (21.3.1, Minitab Inc., State College, USA) telah digunakan untuk menganalisis data yang diperolehi menggunakan ujian analisis varians (ANOVA) dua hala dan ujian Tukey bagi menentukan perbezaan antara sampel pada aras signifikan 95% atau $p < 0.05$.

HASIL DAN PERBINCANGAN

CIRI FIZIKOKIMIA KOMBUCHA

Jadual 2 menunjukkan nilai p untuk dua faktor (kepekatan fukoidan dan hari penyimpanan) dan interaksi antara kedua-dua faktor kajian bagi warna (parameter L^* , a^* dan b^*), jumlah pepejal terlarut (TSS), nilai pH, keasidan boleh titrat (TA) dan kandungan alkohol.

KESAN FAKTOR HARI PENYIMPANAN DAN KEPEKATAN FUKOIDAN TERHADAP WARNA KOMBUCHA

NILAI L^*

Faktor hari penyimpanan dan interaksi dilihat memberi kesan signifikan terhadap kecerahan, L^* dengan nilai $p = 0.018$ dan $p = 0.001$ masing-masing (Jadual 2). Namun, kepekatan fukoidan tidak memberikan sebarang kesan signifikan terhadap nilai kecerahan L^* ($p=0.126$) minuman kombucha (Jadual 2). Jadual 3 menunjukkan penambahan fukoidan memberikan kesan kecerahan yang sama meskipun 0.50 - 1.00 mg/mL fukoidan ditambah dan masa

penyimpanan meningkat. Hal ini menunjukkan kecerahan minuman kombucha dilihat stabil dengan penambahan fukoidan pada kepekatan yang berbeza. Nilai L^* kombucha yang konsisten bermula dengan penambahan fukoidan pada kepekatan 0.50, 0.75 dan 1.00 mg/mL dapat meningkatkan kualiti dan kestabilan warna sepanjang 14 hari tempoh penyimpanan. Penambahan fukoidan pada kepekatan 0.25 mg/ml pula telah meningkatkan kecerahan ($p < 0.05$) kombucha pada hari ke 14 ($L^* : 17.44 \pm 0.64$) berbanding hari 0 dan 7 (Jadual 3). Situasi ini berbeza dengan sampel kawalan yang menunjukkan kecerahan berubah-ubah dan menurun dengan signifikan pada hari ke 7 ($L^* : 15.24 \pm 0.45$). Kombucha yang diperkaya dengan fukoidan mempunyai kecenderungan untuk memiliki kecerahan yang lebih tinggi apabila tempoh penyimpan berpanjangan (Mohd Isa et al. 2022).

NILAI a^*

Nilai a^* memberikan penunjuk warna merah (nilai positif) dan kehijauan (nilai negatif). Hasil penentuan warna menunjukkan kepekatan fukoidan ($p=0.004$), hari penyimpanan ($p=0.000$) serta interaksi keduanya ($p=0.002$) telah memberi kesan perbezaan signifikan terhadap nilai a^* kombucha (Jadual 2). Jadual 3 menunjukkan nilai a^* ($p < 0.05$) bagi sampel kawalan pada hari 7 meningkat, manakala penambahan fukoidan pada kepekatan 1.00 mg/mL menurunkan nilai a^* pada hari 14 ($a^* : 4.70 \pm 0.49$) secara signifikan ($p < 0.05$). Ini menunjukkan penambahan fukoidan pada kepekatan yang tinggi telah mengurangkan keamatan warna merah dalam minuman kombucha semasa dalam penyimpanan. Sampel kombucha dengan kepekatan fukoidan 1.00 mg/mL pada hari ke 14 juga mempunyai nilai a^* yang terendah ($a^* : 3.62 \pm 0.09$; $p < 0.05$) berbanding sampel pada kepekatan 0.0, 0.25 dan 0.50 pada hari ke-7 (Jadual 3). Hal ini disebabkan oleh transformasi dan penurunan bahan polifenol semula jadi serta perubahan nilai pH apabila keasidan kombucha meningkat seiring dengan peningkatan hari penyimpanan (Chu & Chen 2006). Pengurangan nilai a^* berlaku akibat degradasi bahan polifenol seperti tanin oleh enzim tannase yang terhasil daripada bakteria *Lactobacillus* sp. dan yis *Saccharomyces* sp. (Nurhayati, Yuwanti & Urbahillah 2020). Perubahan semula jadi nilai a^* dalam sampel kawalan dilihat berubah-ubah dan meningkat ($p < 0.05$) pada hari ke 7 sepanjang tempoh penyimpanan. Namun, penambahan fukoidan (0.25, 0.50, 0.75 mg/mL) telah menunjukkan keamatan nilai a^* yang tidak berbeza sepanjang tempoh penyimpanan 0 ke 14 hari. Oleh itu, kestabilan keamatan warna merah yang bergantung kepada kehadiran bahan polifenol semula jadi dan nilai pH semasa penyimpanan dapat dikawal dengan lebih baik dengan penambahan fukoidan dalam kombucha.

NILAI b*

Nilai b* memberikan penunjuk warna kuning (nilai positif) dan kebiruan (nilai negatif). Jadual 2 menunjukkan hanya faktor hari penyimpanan ($p = 0.000$) yang memberi kesan signifikan terhadap nilai b* manakala kepekatan fukoidan tidak signifikan terhadap nilai b* ($p=0.448$). Jadual 3 menunjukkan trend nilai b* bagi semua kombucha menurun daripada hari 0 ke hari 14. Perubahan ini berlaku secara semula jadi seperti yang ditunjukkan daripada

sampel 0.0 mg/mL dan amat dipengaruhi oleh tempoh penyimpanan kombucha. Penurunan nilai b* berkemungkinan disebabkan oleh degradasi sebatian aktif (flavonoid) dalam media berasid semasa penapaian. Keamatan warna kuning minuman kombucha berkurangan semasa penyimpanan kerana penukaran pigmen thearubigin kepada theaflavin lalu menjadikan warna minuman kombucha lebih cair dan cerah (Jakubczyk et al. 2020; Murugesan et al. 2009). Sebatian theaflavin dimerik

JADUAL 2. Nilai p bagi faktor kajian terhadap analisis fizikokimia kombucha

Faktor	Nilai p						
	L*	a*	b*	TSS	pH	TA	Alkohol
Kepekatan fukoidan	0.126	0.004	0.448	0.000	0.000	0.000	0.043
Hari	0.018	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Kepekatan fukoidan*Hari	0.001	0.002	0.234	0.000	0.147	0.067	0.002

Nilai yang ditebalkan menunjukkan kesan signifikan dengan $p < 0.05$

JADUAL 3. Parameter warna L*, a* dan b* kombucha kesan daripada kepekatan fukoidan dan hari penyimpanan yang berbeza pada suhu 4 °C

Parameter warna	Kepekatan fukoidan (mg/mL)	Hari penyimpanan		
		0	7	14
L*	0.0	16.93 ± 0.95 ^{ab}	15.24 ± 0.45 ^c	16.84 ± 0.33 ^{abc}
	0.25	15.49 ± 0.45 ^{bc}	15.46 ± 0.26 ^{bc}	17.44 ± 0.64 ^a
	0.50	16.14 ± 0.55 ^{abc}	16.13 ± 0.6 ^{abc}	16.28 ± 0.40 ^{abc}
	0.75	16.72 ± 0.43 ^{abc}	16.99 ± 0.46 ^{ab}	16.64 ± 0.52 ^{abc}
	1.00	16.33 ± 0.86 ^{abc}	16.64 ± 0.27 ^{abc}	16.29 ± 0.63 ^{abc}
a*	0.0	4.89 ± 0.71 ^{bc}	6.72 ± 0.69 ^a	5.30 ± 0.17 ^{ab}
	0.25	4.59 ± 0.29 ^{bc}	5.80 ± 0.41 ^{ab}	5.18 ± 0.66 ^{abc}
	0.50	5.31 ± 0.14 ^{ab}	5.26 ± 0.82 ^{ab}	4.85 ± 0.78 ^{bc}
	0.75	4.69 ± 0.09 ^{bc}	4.90 ± 0.99 ^{bc}	4.27 ± 0.16 ^{bc}
	1.00	4.70 ± 0.49 ^{ab}	5.30 ± 0.09 ^{ab}	3.62 ± 0.09 ^c
b*	0.0	12.24 ± 0.44 ^{ab}	10.74 ± 0.64 ^{ab}	9.45 ± 0.27 ^b
	0.25	10.97 ± 0.53 ^{ab}	11.08 ± 0.79 ^{ab}	9.26 ± 0.45 ^b
	0.50	12.05 ± 0.39 ^{ab}	9.12 ± 0.67 ^b	8.61 ± 0.44 ^b
	0.75	15.65 ± 0.39 ^a	10.26 ± 0.48 ^{ab}	8.30 ± 0.43 ^b
	1.00	12.08 ± 0.29 ^{ab}	10.28 ± 0.55 ^{ab}	7.98 ± 0.52 ^b

Nilai menunjukkan min ± sisihan piawai, min (n=3). ^{a-c}Min dengan abjad yang berbeza menunjukkan perbezaan yang signifikan ($p < 0.05$) setiap parameter warna dengan kepekatan fukoidan dan hari penyimpanan yang berbeza

meningkat lebih 50% manakala thearubigin oligomerik berkurangan dengan signifikan selepas hari ke 15 penapaian teh (Kallel et al. 2012) menyumbang kepada kecairan warna kuning kombucha. Penambahan fukoidan dilihat dapat membantu kestabilan pigmen dan menyeragamkan kualiti warna kombucha sepanjang hari penyimpanan kerana ia tidak memberi perubahan signifikan terhadap kecerahan (nilai L^* ; $p=0.126$) dan keamatan warna (nilai b^* ; $p=0.448$). Penambahan fukoidan membantu menstabilkan warna secara keseluruhan dan mengimbangi kesan signifikan faktor hari penyimpanan yang merubah semua kualiti warna kombucha iaitu nilai L^* , a^* dan b^* (Jadual 2).

JUMLAH PEPEJAL TERLARUT (TSS)

Penentuan jumlah pepejal larut (TSS) penting untuk mengukur kemanisan dan sering dirujuk sebagai indeks gula (Managa et al. 2021). Gula atau sukrosa ialah sumber karbon utama dalam kombucha yang digunakan oleh bakteria asid asetik dan yis (SCOBY) untuk menghasilkan pelbagai metabolit (Leal et al. 2018). Jadual 2 menunjukkan kepekatan fukoidan, tempoh penyimpanan dan interaksinya mempunyai kesan signifikan ($p=0.000$) pada nilai TSS. Jadual 4 menunjukkan trend nilai TSS semakin menurun dengan penambahan hari penyimpanan dari 0 ke 14 hari. Nilai TSS pada hari 7 dan 14 adalah lebih rendah ($p<0.05$) dalam semua sampel berbanding nilai TSS pada hari 0. Enzim invertase yang dirembeskan oleh yis akan menghidrolisis sukrosa dalam kombucha kepada glukosa dan fruktosa (Mohd Ariff et al. 2023). Penukaran gula kompleks kepada gula ringkas monosakarida ini digunakan semasa penapaian untuk menghasilkan alkohol, asid, vitamin dan metabolit lain dalam kombucha (Cardoso et al. 2020; Mousavi et al. 2020). Kajian Kallel et al. (2012)

melaporkan kehilangan sukrosa dalam kombucha berkadaran linear dengan hari penyimpanan dan aktiviti enzim invertase.

Nilai TSS paling rendah dilihat dalam kombucha 1.00 mg/mL pada hari penyimpanan ke 7 (TSS: 8.93 ± 0.12 °Brix; $p<0.05$) dan ke 14 (TSS: 9.00 ± 0.00 °Brix; $p<0.05$) berbanding semua sampel yang lain (Jadual 4). Kajian Kumar et al. (2019) menunjukkan penurunan kandungan TSS lebih ketara dengan penggunaan kepekatan ekstrak rumpai laut lebih daripada 1%. Kehadiran polisakarida larut seperti fukoidan dan sebatian fenol dalam rumpai laut perang boleh membentuk kompleks berbalik dengan protein melalui ikatan hidrogen yang membawa kepada penurunan TSS (Wong & Cheung 2001).

NILAI pH

Hasil kajian menunjukkan hanya kepekatan fukoidan ($p=0.000$) dan hari penyimpanan ($p=0.000$) memberi kesan signifikan terhadap nilai pH kombucha (Jadual 2). Jadual 5 menunjukkan corak penurunan nilai pH bagi semua sampel dengan hari penyimpanan dan catatan bacaan terendah pada hari ke 14 berbanding hari 0 ($p<0.05$). Nilai pH terendah ialah sampel kawalan (pH: 2.48 ± 0.04 ; hari 14; $p<0.05$) manakala kombucha dengan 1.00 mg/mL fukoidan mempunyai nilai pH tertinggi (pH: 3.75 ± 0.02 ; hari 0; $p<0.05$). Penambahan fukoidan pada kepekatan 0.25, 0.50, 0.75 dan 1.00 mg/mL telah menaikkan nilai pH kombucha secara signifikan ($p<0.05$) berbanding kombucha kawalan pada setiap hari 0, 7 dan 14 penyimpanan suhu sejuk masing-masing (kecuali kombucha dengan 0.25 mg/mL fukoidan pada hari 0 penyimpanan).

Kehadiran fukoidan telah meningkatkan pH kombucha semasa tempoh penyimpanan disebabkan oleh sifat tinggi alkali fukoidan yang membantu mengimbangi keasidan

JADUAL 4. Jumlah pepejal terlarut dalam kombucha kesan daripada kepekatan fukoidan dan hari penyimpanan yang berbeza pada suhu 4 °C

Kepekatan fukoidan (mg/mL)	Jumlah pepejal terlarut (°Brix)		
	Hari penyimpanan		
	0	7	14
0.00	10.53 ± 0.06^{ab}	9.83 ± 0.06^c	9.18 ± 0.03^{fg}
0.25	10.40 ± 0.10^{ab}	9.62 ± 0.03^{cd}	9.00 ± 0.00^g
0.50	10.64 ± 0.04^{ab}	9.56 ± 0.14^{de}	9.43 ± 0.08^{ef}
0.75	10.71 ± 0.02^a	9.87 ± 0.06^{cd}	9.55 ± 0.05^{de}
1.00	10.69 ± 0.3^{ab}	8.93 ± 0.12^g	9.00 ± 0.00^g

Nilai menunjukkan min \pm sisihan piawai, min ($n=3$). ^{a-g}Min dengan abjad yang berbeza menunjukkan perbezaan yang signifikan ($p<0.05$) jumlah pepejal terlarut dengan kepekatan fukoidan dan hari penyimpanan yang berbeza

minuman yang ditapai sekali gus mengekalkan rasa dan kualitinya (Penalver et al. 2020). Penambahan fukoidan serendah 0.25 mg/mL dilihat dapat meningkatkan kualiti dan keselamatan kombucha kerana telah membantu meningkatkan pH melebihi pH 2.5 semasa penyimpanan suhu sejuk. Julat nilai pH yang selamat bagi minuman kombucha ialah antara 2.5 - 4.2 dan minuman yang rendah daripada pH 2.5 kurang sesuai dan kurang selamat untuk diminum (Mohd Ariff et al. 2023). Secara alaminya, penurunan nilai pH semasa penapaian berlaku secara semula jadi kerana penghasilan asid organik terutama iaitu asid asetik dalam kombucha sepanjang tempoh penyimpanan. Penurunan nilai pH adalah disebabkan oleh peningkatan kandungan asid organik seperti asid asetik, asid glukonik dan asid glukoronik hasil daripada aktiviti penapaian sebatian gula dan alkohol oleh yis dan bakteria (De Miranda et al. 2022; Jakubczyk et al. 2020; Tran et al. 2022; Yikmiş & Tuğgüm 2019). Pertumbuhan dan metabolisme yis, bakteria asid asetik (AAB) dan bakteria asid laktik (LAB) juga menghasilkan pelbagai jenis asid organik yang menyebabkan penurunan nilai pH (Neffe-Skocinska et al. 2017).

PERATUSAN KEASIDAN BOLEH TITRAT (TA)

Peratusan keasidan boleh titrat ialah ukuran penting keasidan atau kemasaman sesuatu makanan atau minuman. Ujian ini mengukur jumlah asid organik dalam sampel dan boleh digunakan untuk menilai kualiti dan keselamatan produk makanan atau minuman (Mashau, Jideani &

Maliwichi 2020). Menurut Jakubczyk et al. (2020), minuman kombucha mempunyai rasa unik dan masam kerana mengandungi pelbagai jenis asid organik. Jadual 6 menunjukkan hanya kepekatan fukoidan ($p=0.000$) dan hari penyimpanan ($p=0.000$) memberikan kesan signifikan terhadap peratusan keasidan boleh titrat (TA) kombucha. Terdapat corak peratusan nilai TA yang semakin tinggi sebagai penunjuk rasa kombucha yang semakin masam dengan pertambahan hari penyimpanan.

Keasidan boleh titrat dalam kombucha meningkat secara linear dan progresif dengan masa penyimpanan disebabkan oleh penapaian polisakarida seperti sukrosa dan fukosa yang berlaku secara simbiotik oleh bakteria pemula dan yis lalu menghasilkan pelbagai asid organik dan alkohol (Chakravorty et al. 2016; Kim & Adhikari 2020; Sharma et al. 2020). Etanol yang terhasil semasa penapaian juga boleh ditukar menjadi asid asetik oleh bakteria asid asetik (Villarreal-Soto et al. 2018). Pengesanan asid organik dalam kombucha melalui kaedah HPLC telah menunjukkan kehadiran asid oksalik, asid tartarik, asid piruvik, asid laktik dan asid suksinik serta sebatian asid asetik dan asid malik tertinggi melebihi 80% (Wang et al. 2022). Kepelbagaian asid organik ini memberikan keunikan sensori dan kemasaman yang kompleks terhadap kombucha. Kombucha dengan nilai TA tinggi menyokong pertumbuhan bakteria asid asetik seperti *Acetobacter*, *Komagataeibacter* dan *Gluconobacter* yang menghasilkan pelbagai asid organik dengan ciri antibakteria terhadap bakteria patogen yang boleh mencemarkan minuman kombucha (Hur et al. 2014).

JADUAL 5. Perubahan nilai pH kombucha kesan daripada kepekatan fukoidan dan hari penyimpanan yang berbeza pada suhu 4 °C

Kepekatan fukoidan (mg/mL)	Nilai pH		
	Hari penyimpanan		
	0	7	14
0.00	3.38 ± 0.02 ^e	3.23 ± 0.05 ^f	2.48 ± 0.04 ^j
0.25	3.47 ± 0.02 ^{de}	3.41 ± 0.03 ^e	2.58 ± 0.07 ⁱ
0.50	3.60 ± 0.02 ^c	3.56 ± 0.02 ^{cd}	2.77 ± 0.02 ^h
0.75	3.66 ± 0.02 ^{abc}	3.62 ± 0.07 ^{bc}	2.86 ± 0.02 ^{gh}
1.00	3.75 ± 0.02 ^a	3.74 ± 0.02 ^{ab}	2.93 ± 0.03 ^g

Nilai menunjukkan min ± sisihan piawai, min (n=3). ^{a-j}Min dengan abjad yang berbeza menunjukkan perbezaan yang signifikan ($p<0.05$) nilai pH dengan kepekatan fukoidan dan hari penyimpanan yang berbeza

PENENTUAN KANDUNGAN ALKOHOL

Kombucha dipasarkan sebagai minuman bukan alkohol, oleh itu penentuan alkohol amat penting untuk menjamin kualiti dan keselamatan minuman (De Miranda et al. 2022). Jadual 2 menunjukkan kepekatan fukoidan yang berbeza ($p=0.043$), tempoh penyimpanan ($p=0.000$) dan interaksi faktor ($p=0.002$) mempunyai kesan signifikan terhadap jumlah kandungan alkohol dalam kombucha. Jadual 7 menunjukkan kandungan etanol pada hari 7 penyimpanan meningkat secara signifikan ($p<0.05$) berbanding kandungan etanol pada hari 0 untuk semua sampel (kecuali kombucha ditambah 0.25 mg/mL fukoidan). Kandungan gula yang tinggi di awal hari penyimpanan ditukarkan oleh yis menjadi etanol dan meningkatkan peratusan alkohol (Ivanišová et al. 2020).

Fukoidan berpotensi menjadi sumber karbon yang baik kerana ia mempunyai komponen monosakarida seperti manosa, galaktosa, glukosa, ramnosa dan xilosa (Citkowska, Szekalska & Winnicka 2019; Wang et al. 2019). Yis menggunakan sumber karbon tersebut untuk menghasilkan alkohol dan karbon dioksida melalui proses glikolisis mengakibatkan peningkatan jumlah etanol semasa proses penapaian (Kim & Adhikari 2020). Penambahan hari penyimpanan daripada 0 ke 7 hari menunjukkan corak peningkatan etanol untuk sampel kawalan, 0.50, 0.75 dan 1.00 mg/mL yang signifikan ($p<0.05$). Beranjak ke hari 14, corak ini masing-masing menunjukkan pengurangan peratusan etanol namun tidak signifikan ($p>0.05$). Hasil kajian ini disokong oleh Jakubczyk et al. (2020), menyatakan kepekatan alkohol meningkat sehingga 3.0 - 3.5% pada hari ke 7 dan semakin berkurangan pada hari

ke 14. Penurunan etanol dalam kombucha adalah disebabkan oleh bakteria *Acetobacter* yang mengoksidakan etanol kepada asetik asid (Vohra et al. 2019). Kandungan alkohol dalam kombucha mesti kurang daripada 0.5% semasa proses penghasilan dan selepas penghantaran sebagai produk minuman bebas alkohol komersial (Mohd Ariff et al. 2023). Kualiti penyimpanan kombucha dengan penambahan fukoidan (0.25 – 1.00 mg/mL) selama 14 hari penyimpanan adalah kurang dari 0.5% dan selamat untuk diminum.

CIRI BIOAKIVITI KOMBUCHA

Jadual 8 menunjukkan nilai p untuk kepekatan fukoidan dan hari penyimpanan serta interaksi antara kedua-duanya bagi penentuan bioaktiviti; kandungan flavonoid jumlah (TFC), kandungan fenolik jumlah (TPC), aktiviti pemerangkap radikal bebas (DPPH) dan kuasa penurunan ferik (FRAP).

KANDUNGAN FLAVONOID JUMLAH (TFC)

Kombucha adalah minuman yang menjalani proses penapaian yang kaya dengan antioksidan seperti polifenol dan flavonoid (Massoud et al. 2022). Hasil kajian menunjukkan kepekatan fukoidan ($p=0.000$), hari penyimpanan ($p=0.000$) serta interaksi keduanya ($p=0.000$) telah memberi kesan signifikan terhadap kandungan flavonoid jumlah (TFC) kombucha (Jadual 8). Jadual 9 menunjukkan corak peningkatan TFC yang signifikan ($p<0.05$) sepanjang tempoh penyimpanan. Nilai TFC bagi

JADUAL 6. Peratusan keasidan boleh titrat kombucha kesan daripada kepekatan fukoidan dan hari penyimpanan yang berbeza pada suhu 4 °C

Kepekatan fukoidan (mg/mL)	Keasidan boleh titrat (%)		
	Hari penyimpanan		
	0	7	14
0.00	0.31 ± 0.02 ^{de}	0.55 ± 0.02 ^c	1.50 ± 0.04 ^a
0.25	0.28 ± 0.05 ^e	0.46 ± 0.13 ^{cd}	1.39 ± 0.03 ^{ab}
0.50	0.26 ± 0.01 ^e	0.38 ± 0.05 ^{de}	1.31 ± 0.03 ^b
0.75	0.25 ± 0.03 ^c	0.32 ± 0.02 ^{de}	1.26 ± 0.02 ^b
1.00	0.32 ± 0.02 ^{de}	0.41 ± 0.13 ^{ede}	1.28 ± 0.05 ^b

Nilai menunjukkan min ± sisihan piawai, min (n=3). ^{a-c}Min dengan abjad yang berbeza menunjukkan perbezaan yang signifikan ($p<0.05$) keasidan boleh titrat dengan kepekatan fukoidan dan hari penyimpanan yang berbeza

JADUAL 7. Peratusan jumlah kandungan etanol dalam kombucha kesan daripada kepekatan fukoidan dan hari penyimpanan yang berbeza pada suhu 4 °C

Kepekatan fukoidan (mg/mL)	Jumlah kandungan etanol (%)		
	Hari penyimpanan		
	0	7	14
0.00	0.27 ± 0.01 ^{de}	0.30 ± 0.00 ^{abc}	0.28 ± 0.02 ^{cde}
0.25	0.29 ± 0.04 ^{abcd}	0.29 ± 0.02 ^{abcd}	0.28 ± 0.03 ^{bcde}
0.50	0.26 ± 0.01 ^{cde}	0.33 ± 0.03 ^{ab}	0.29 ± 0.01 ^{abc}
0.75	0.22 ± 0.01 ^e	0.31 ± 0.02 ^{abc}	0.26 ± 0.02 ^{cde}
1.00	0.23 ± 0.01 ^{de}	0.34 ± 0.01 ^a	0.29 ± 0.04 ^a

Nilai menunjukkan min ± sisihan piawai, min (n=3). ^{a-c}Min dengan abjad yang berbeza menunjukkan perbezaan yang signifikan (p<0.05) jumlah kandungan etanol dengan kepekatan fukoidan dan hari penyimpanan yang berbeza

sampel kawalan, 0.25 mg/mL dan 0.75 mg/mL meningkat secara signifikan (p<0.05) pada hari terakhir penyimpanan berbanding hari 0 dan 7 manakala kombucha dengan 0.5 dan 1.0 mg/mL fukoidan berkadar terus dengan kepekatan fukoidan dan hari penyimpanan (p<0.05). Meskipun meningkat, kandungan flavonoid sampel kawalan berada pada nilai terendah jika dibandingkan kombucha dengan fukoidan (pada mana-mana kepekatan dalam Jadual 9).

Kandungan flavonoid tertinggi sebanyak 5.78 ± 0.19 mg QUE/mL (hari 14; p<0.05) diamati pada kepekatan 1.00 mg/mL (Jadual 9). Nilai TFC tinggi ini mungkin disebabkan rumpai laut mengandungi pelbagai sebatian bioaktif seperti fukoidan, fukoxantin, polifenol dan flavanoid (flavonol dan flavonol glikosida) (Kumar et al. 2019). Mikrob seperti *Candida tropicalis* boleh memecahkan dan mendegradasi sebatian flavonoid menjadi molekul lebih kecil dan menyebabkan peningkatan nilai TFC seiring dengan proses penapaian (La Torre et al. 2021). Selain itu, peningkatan TFC juga mungkin dipengaruhi oleh aktiviti yis semasa penapaian alkohol kerana yis *S. cerevisiae* juga boleh bertindak dan berinteraksi dengan flavonoid dalam teh dengan merembeskan enzim seperti alkoholdehidrogenase, amilase, β-glukosidase, invertase dan protease yang memecahkan molekul flavonoid lalu membebaskan komponen aktifnya (Antoniewicz et al. 2021; Hur et al. 2014). Ringkasnya, penambahan fukoidan terbukti membantu meningkatkan jumlah kandungan flavonoid dengan ketara dan menambah baik kualiti penyimpanan minuman kombucha pada suhu 4 °C selepas 14 hari.

KANDUNGAN FENOLIK JUMLAH (TPC)

Kombucha mempunyai ciri minuman berfungsi dengan sifat bioaktif kerana kehadiran sebatian fenol sebagai bahan antioksidan yang penting dalam memberikan manfaat kesihatan kepada pengguna (Antolak, Piechota & Kucharska 2021; Leal et al. 2018). Analisis varians dua arah menunjukkan kepekatan fukoidan (p=0.000), hari penyimpanan (p=0.000) serta interaksi keduanya (p=0.000) telah memberi kesan signifikan terhadap kandungan fenol jumlah (TPC) kombucha (Jadual 8). Jadual 10 menunjukkan corak pengurangan kandungan fenolik yang jelas (p<0.05) di hari ke 7 dan meningkat semula di hari ke 14 (p<0.05) untuk semua sampel (0.0 – 1.0 mg/mL). Kombucha dengan 0.25, 0.50, 0.75 dan 1.00 mg/mL fukoidan masing-masing menunjukkan kandungan bahan fenolik yang tinggi dan signifikan (p<0.05) pada 0, 7 dan 14 hari berbanding sampel kawalan.

Kehadiran ekstrak fukoidan membantu meningkatkan kandungan fenolik dalam minuman kombucha. Yis dan bakteria (dalam SCOBY) menghasilkan enzim yang memecahkan kompleks polifenol kepada bahagian fenol yang lebih kecil dan ringkas (Tan, Muhiaddin & Meor Hussin 2020). Selain itu, daun teh yang ditapai dengan kultur simbiotik bakteria dan yis boleh menukar katekin kepada sebatian fenol lain, asid galik dan flavonoid (Jakubczyk, Piotrowska dan Janda 2020). Kehadiran fukoidan dan pecahan sebatian fenol ini berpotensi menyumbang kepada peningkatan signifikan kandungan fenolik di dalam kombucha. Selain itu, penyimpanan suhu rendah dan sejuk juga boleh memelihara keaktifan bahan fenolik dan menyebabkan ia menjadi lebih pekat lalu meningkatkan jumlah kandungan fenol (Deng et al. 2018).

JADUAL 8. Nilai p bagi faktor kajian terhadap analisis bioaktiviti kombucha

Faktor	Nilai p			
	TFC	TPC	DPPH	FRAP
Kepekatan fukoidan	0.000	0.000	0.000	0.000
Hari	0.000	0.000	0.000	0.000
Kepekatan fukoidan*Hari	0.000	0.000	0.000	0.000

Nilai yang ditebalkan menunjukkan kesan signifikan dengan $p < 0.05$

JADUAL 9. Nilai kandungan flavonoid jumlah dalam kombucha kesan daripada kepekatan fukoidan dan hari penyimpanan yang berbeza pada suhu 4 °C

Kepekatan fukoidan (mg/mL)	Kandungan flavonoid jumlah (mg QUE/mL)		
	Hari penyimpanan		
	0	7	14
0.00	0.31 ± 0.02 ⁱ	0.32 ± 0.03 ⁱ	3.90 ± 0.07 ^d
0.25	0.81 ± 0.01 ^{gh}	0.73 ± 0.02 ^h	4.13 ± 0.12 ^c
0.50	1.24 ± 0.03 ^f	0.94 ± 0.06 ^g	4.74 ± 0.06 ^b
0.75	1.34 ± 0.02 ^{ef}	1.17 ± 0.05 ^f	4.84 ± 0.05 ^b
1.00	1.48 ± 0.02 ^e	1.23 ± 0.02 ^f	5.78 ± 0.19 ^a

Nilai menunjukkan min ± sisihan piawai, min (n=3). ^{a-i}Min dengan abjad yang berbeza menunjukkan perbezaan yang signifikan ($p < 0.05$) jumlah kandungan flavonoid dengan kepekatan fukoidan dan hari penyimpanan yang berbeza

JADUAL 10. Kandungan fenolik jumlah dalam kombucha kesan daripada kepekatan fukoidan dan hari penyimpanan yang berbeza pada suhu 4 °C

Kepekatan fukoidan (mg/mL)	Kandungan fenolik jumlah (mg GAE/mL)		
	Hari penyimpanan		
	0	7	14
0.00	0.29 ± 0.01 ^h	0.24 ± 0.0 ⁱ	0.34 ± 0.01 ^{efg}
0.25	0.33 ± 0.01 ^{fg}	0.29 ± 0.00 ^h	0.35 ± 0.01 ^e
0.50	0.34 ± 0.01 ^{ef}	0.32 ± 0.00 ^g	0.37 ± 0.01 ^{cd}
0.75	0.38 ± 0.00 ^c	0.34 ± 0.00 ^{ef}	0.41 ± 0.01 ^b
1.00	0.40 ± 0.00 ^b	0.35 ± 0.00 ^{de}	0.47 ± 0.01 ^a

Nilai menunjukkan min ± sisihan piawai, min (n=3). ^{a-i}Min dengan abjad yang berbeza menunjukkan perbezaan yang signifikan ($p < 0.05$) kandungan fenolik jumlah dengan kepekatan fukoidan dan hari penyimpanan yang berbeza

AKTIVITI PEMERANGKAPAN RADIKAL BEBAS (DPPH)

Kepekatan fukoidan ($p=0.000$), hari penyimpanan ($p=0.00$) serta interaksi keduanya ($p=0.000$) telah memberi kesan signifikan terhadap aktiviti pemerangkapan radikal bebas (DPPH) kombucha (Jadual 8). Trend peratusan aktiviti pemerangkapan DPPH untuk semua sampel menurun secara signifikan ($p<0.05$) dengan peningkatan hari penyimpanan dan berkadar langsung dengan penambahan kepekatan fukoidan. Pengurangan aktiviti pemerangkapan DPPH dalam kombucha berlaku secara semula jadi dan beransur-ansur dalam semua sampel. Keputusan ini disokong oleh kajian Tan, Muhiadin dan Meor Hussain

(2020) yang menunjukkan nilai DPPH sampel kombucha berkurangan dari 89.12 kepada 87.15% selepas 21 hari penyimpanan pada suhu 4 °C. Semasa penyimpanan, kapasiti antioksidan mungkin berkurangan kerana enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisma berupaya menukar sebatian fenol terkonjugasi yang mempunyai kuasa penghapus kepada bentuk fenol bebas dengan struktur yang kurang kuasa penghapusan. Kemudian, semasa penyimpanan perubahan dalam komposisi sebatian antioksidan teh kombucha mungkin terhasil daripada pembentukan sebatian tertentu seperti dalam kuersetin sekaligus menurunkan aktiviti antioksidan sepanjang 30 hari penyimpanan teh kombucha (La Torre et al. 2021).

JADUAL 11. Aktiviti pemerangkapan radikal bebas DPPH (%) dalam kombucha kesan daripada kepekatan fukoidan dan hari penyimpanan yang berbeza pada suhu 4 °C

Kepekatan fukoidan (mg/mL)	Aktiviti pemerangkapan DPPH (%)		
	Hari penyimpanan		
	0	7	14
0.00	88.99 ± 0.06 ^h	87.97 ± 0.06 ⁱ	86.02 ± 0.03 ^l
0.25	90.07 ± 0.06 ^e	88.13 ± 0.06 ^h	87.00 ± 0.01 ^k
0.50	91.00 ± 0.00 ^c	88.87 ± 0.06 ^g	87.53 ± 0.06 ^j
0.75	91.23 ± 0.06 ^b	90.00 ± 0.00 ^e	89.77 ± 0.06 ^f
1.00	93.03 ± 0.06 ^a	91.23 ± 0.06 ^b	90.25 ± 0.01 ^d

Nilai menunjukkan min ± sisihan piawai, min (n=3). ^{a-l}Min dengan abjad yang berbeza menunjukkan perbezaan yang signifikan ($p<0.05$) aktiviti pemerangkapan radikal bebas dengan kepekatan fukoidan dan hari penyimpanan yang berbeza

JADUAL 12. Aktiviti kuasa penurunan ferik dalam kombucha kesan daripada kepekatan fukoidan dan hari penyimpanan yang berbeza pada suhu 4 °C

Kepekatan fukoidan (mg/mL)	Aktiviti kuasa penurunan ferik (mg AAE/mL)		
	Hari penyimpanan		
	0	7	14
0.00	400.42 ± 0.03 ^e	389.07 ± 0.12 ^h	370.00 ± 0.00 ^m
0.25	401.23 ± 0.01 ^d	389.9 ± 0.17 ^{ef}	374.00 ± 0.00 ^l
0.50	403.37 ± 0.12 ^c	390.20 ± 0.02 ^g	380.3 ± 0.03 ^k
0.75	404.60 ± 0.17 ^b	398.45 ± 0.12 ^f	385.00 ± 0.00 ⁱ
1.00	405.15 ± 0.05 ^a	400.44 ± 0.13 ^e	390.43 ± 0.03 ^g

Nilai menunjukkan min ± sisihan piawai, min (n=3). ^{a-m}Min dengan abjad yang berbeza menunjukkan perbezaan yang signifikan ($p<0.05$) aktiviti kuasa penurunan ferik dengan kepekatan fukoidan dan hari penyimpanan yang berbeza

Peratus pemerangkapan radikal DPPH juga meningkat dengan signifikan ($p < 0.05$) dengan peningkatan kepekatan fukoidan pada hari 0, 7 dan 14, masing-masing (Jadual 11). Penambahan fukoidan 0.25 - 1.00 mg/mL menunjukkan trend peningkatan peratusan pemerangkapan DPPH berbanding sampel kawalan dengan nilai tertinggi $93.03 \pm 0.06\%$ (hari 0; 1.00 mg/mL; $p < 0.05$) dan terendah $86.02 \pm 0.03\%$ (hari 14; 0.00 mg/mL; $p < 0.05$). Peningkatan aktiviti perencatan DPPH ini dipengaruhi oleh kehadiran sebatian fenol yang bertindak sebagai antioksidan yang menyumbang hidrogen untuk memerangkap radikal bebas (Husni et al. 2022). Fukoidan mempunyai aktiviti antioksidan sekunder yang tinggi untuk merencat dan menghapuskan radikal bebas (Lim et al. 2022). Aktiviti sekunder merendahkan kadar tindak balas pengoksidaan melalui pelbagai mekanisma dan membantu untuk meningkatkan aktiviti antioksidan primer (Koh, Lu & Zhou 2019; Mishra & Bisht 2011). Selain itu, kehadiran kumpulan sulfat dalam fukoidan dengan polisakarida berat rendah (MW) menjadi antioksidan sekunder dengan akses aktiviti perencatan yang lebih tinggi dan kuat berbanding pecahan molekul berat tinggi (MW) (Koh, Lu & Zhou 2019).

AKTIVITI KUASA PENURUNAN FERIK (FRAP)

Kepekatan fukoidan ($p = 0.000$), hari penyimpanan ($p = 0.000$) serta interaksi keduanya ($p = 0.000$) telah memberi kesan signifikan terhadap kuasa penurunan ferik (FRAP) kombucha yang disimpan pada suhu 4°C (Jadual 8). Ujian FRAP mengukur potensi dan kekuatan bahan antioksidan dalam kombucha untuk menurunkan ion ferik (Fe^{3+}) kepada ion ferus (Fe^{2+}). Jadual 12 menunjukkan peningkatan masa simpanan (0 - 14 hari) telah mengurangkan nilai FRAP kombucha kawalan dan kombucha ditambah fukoidan (0.25 - 1.0 mg/mL; $p < 0.05$) secara signifikan ($p < 0.05$). Aktiviti antioksidan kombucha dilaporkan menurun semasa penyimpanan berpanjangan disebabkan beberapa faktor seperti keadaan penyimpanan, konstituen kimia dan aktiviti air (Aliah et al. 2022). Massoud et al. (2022) melaporkan penyimpanan sejuk yang berpanjangan merendahkan metabolisma yis dan bakteria untuk menghasilkan sebatian yang mempunyai ciri - ciri antioksidan yang tinggi (Liszkowska & Berlowska 2021).

Pertambahan kepekatan fukoidan 0.25, 0.50, 0.75 dan 1.00 mg/mL dalam kombucha meningkatkan aktiviti kuasa penurunan ferik dengan lebih tinggi dan signifikan ($p < 0.05$) berbanding sampel kawalan tanpa fukoidan pada setiap hari penyimpanan (Jadual 12). Penambahan 1.00 mg/mL fukoidan memberi nilai FRAP tertinggi sebanyak 405.15 ± 0.05 mg AAE/mL (hari 0; $p < 0.05$) dan 390.43 ± 0.03 mg

AAE/mL (hari 14; $p < 0.05$) berbanding sampel kawalan dan kepekatan lain. Kandungan sulfat dalam fukoidan melalui pensulfatan monomer fukosa yang bertindak sebagai kumpulan penarik elektron ialah kunci yang menentukan kekuatan bioaktif dan kapasiti antioksidan (Koh, Lu & Zhou 2019; Wang et al. 2019). Kesan penambahan kepekatan fukoidan ke dalam kombucha meningkatkan kandungan sulfat yang menjadi punca antioksidan dan memberikan nilai FRAP lebih tinggi ($p < 0.05$) berbanding sampel kawalan. Keputusan ini disokong oleh kajian Husni et al. (2022) menyatakan aktiviti antioksidan kombucha adalah berkadar terus dengan peningkatan kandungan sulfat daripada fukoidan dan menyebabkan peningkatan dalam aktiviti antioksidan. Sulfat adalah sejenis sebatian ion yang terdiri daripada sulfur dan oksigen (Müller & Rauhut 2018). Ia terhasil sebagai sebatian sampingan apabila yis atau mikroorganisma lain memecahkan karbohidrat semasa penapaian anaerobik berlangsung. Kandungan sulfat yang tinggi menyebabkan polifenol dan sebatian lain yang terdapat dalam kombucha menjadi lebih aktif dan menyumbang kepada peningkatan aktiviti antioksidan (Zayed et al. 2020). Di samping itu, kandungan sulfat fukoidan juga boleh membantu mengurangkan kesan negatif pengoksidaan pada kombucha seterusnya meningkatkan aktiviti antioksidan (Wang et al. 2019).

KESIMPULAN

Fukoidan dalam kombucha dapat meningkatkan kualiti dan keselamatan produk serta memberi nilai tambah yang baik sebagai minuman inovatif yang baru dan menyihatkan. Penambahan fukoidan memberi kesan positif terhadap ciri fizikokimia kombucha seperti meningkatkan kestabilan warna, mengurangkan jumlah pepejal terlarut, pengimbangan nilai pH, penghasilan asid organik bersifat antibakteria dengan peningkatan peratusan keasidan boleh titrat dan peningkatan keseluruhan aktiviti antioksidan secara signifikan (TFC, TPC, DPPH dan FRAP) sepanjang tempoh penyimpanan kombucha. Kesimpulannya, kajian ini menunjukkan penambahan fukoidan (0.25 - 1.00 mg/mL) ke dalam kombucha dapat meningkatkan kualiti fizikal dan biokimia produk secara jelas pada suhu penyimpanan 4°C selepas 14 hari.

PENGHARGAAN

Kajian ini telah dijalankan dengan menggunakan dana penyelidikan Universiti Kebangsaan Malaysia iaitu Geran Galakan Penyelidik Muda (GGPM 2020 021). Setinggi-tinggi penghargaan kepada Jabatan Sains Makanan dan

Pusat Inovasi Teknologi Manisan (MANIS), Fakultas Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia, yang memperuntukkan kemudahan infrastruktur yang diperlukan untuk projek penyelidikan ini.

RUJUKAN

- Alderson, H., Liu, C., Mehta, A., Gala, H.S., Mazive, N.R., Chen, Y., Zhang, Y., Wang, S. & Serventi, L. 2021. Sensory profile of kombucha brewed with New Zealand ingredients by focus group and word clouds. *Fermentation* 7(3): 100.
- Aliah, Z.M., Nor Arifah, M.N., Muhiadin, B.J., Bizura Hazida, M.R., Muna, M.A., Anis Asyila, M., Norhayati, H. & Anis Shobirin, M.H. 2022. The effects of encapsulation process involving arabic gum on the metabolites, antioxidant and antibacterial activity of kombucha (fermented sugared tea). *Food Hydrocolloids for Health* 2: 100072.
- Aloulou, A., Hamden, K., Elloumi, D., Ali, M.B., Hargafi, K., Jaouadi, B., Ayadi, F., Elfeki, A. & Ammar, E. 2012. Hypoglycemic and antilipidemic properties of kombucha tea in alloxan-induced diabetic rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 12: 63.
- Anantachoke, N., Duangrat, R., Sutthiphakul, T., Ochaikul, D. & Mangmool, S. 2023. Kombucha beverages produced from fruits, vegetables, and plants: A review on their pharmacological activities and health benefits. *Foods* 12(9): 1818.
- Antolak, H., Piechota, D. & Kucharska, A. 2021. Kombucha tea - A double power of bioactive compounds from tea and symbiotic culture of bacteria and yeasts (SCOBY). *Antioxidants* 10(10): 1541.
- Antoniewicz, J., Kochman, J., Jakubczyk, & Janda-Milczarek, K. 2021. The influence of time and storage conditions on the antioxidant potential and total phenolic content in homemade grape vinegars the influence of time and storage conditions on the antioxidant potential and total phenolic content in homemade grape vinegars. *Molecules* 26(24): 7616.
- AOAC. 2005. AOAC Official Method 947.05. *Acidity of Milk, Titrimetric Method*. USA: American Organization of Analytical Chemist International.
- AOAC. 1990. AOAC Official Method 932.12. *Solids (Soluble) in Fruits and Fruit Products*. USA: American Organization of Analytical Chemist International.
- Banerjee, D., Hassarajani, S.A., Maity, B., Narayan, G., Bandyopadhyay, S.K. & Chattopadhyay, S. 2010. Comparative healing property of kombucha tea and black tea against indomethacin-induced gastric ulceration in mice: Possible mechanism of action. *Food & Function* 1(3): 284.
- Benzie, I. & Strain, J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 239: 70-76.
- Bhattacharya, S., Gachhui, R. & Sil, P.C. 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. doi:10.1016/j.fct.2013.07.051
- Bortolamedi, B.M., Paglarini, C.S. & Brod, F.C.A. 2022. Bioactive compounds in kombucha: A review of substrate effect and fermentation conditions. *Food Chemistry* 385: 132719.
- Cardoso, R.R., Neto, R.O., Dos Santos D'Almeida, C.T., do Nascimento, T.P., Pessete, C.G., Azevedo, L., Martino, H.S.D., Cameron, L.C., Ferreira, M.S.L. & Barros, F.A.R.D. 2020. Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities. *Food Research International* 128: 108782.
- Chakravorty, S., Bhattacharya, S., Chatzinotas, A., Chakraborty, W., Bhattacharya, D. & Gachhui, R. 2016. Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. *International Journal of Food Microbiology* 220: 63-72.
- Chen, H.J., Chung, C.P., Chiang, W. & Lin, Y.L. 2011. Anti-inflammatory effects and chemical study of a flavonoid-enriched fraction from adlay bran. *Food Chemistry* 126(4): 1741-1748.
- Chu, S.C. & Chen, C. 2006. Effects of origins and fermentation time on the antioxidant activities of kombucha. *Food Chemistry* 98(3): 502-507.
- Citkowska, A., Szekalska, M. & Winnicka, K. 2019. Possibilities of fucoidan utilization in the development of pharmaceutical dosage forms. *Marine Drugs* 17(8): 458.
- De Miranda, J.F., Ruiz, L.F., Silva, C.B., Uekane, T.M., Silva, K.A., Gonzalez, A.G.M., Fernandes, F.F. & Lima, A.R. 2022. Kombucha: A review of substrates, regulations, composition, and biological properties. *Journal Food Science* 87: 503-527.
- Deng, M., Deng, Y., Dong, L., Ma, Y., Liu, L., Huang, F., Wei, Z., Zhang, Y., Zhang, M. & Zhang, R. 2018. Effect of storage conditions on phenolic profiles and antioxidant activity of *Litchi Pericarp*. *Molecules* 23(9): 2276.
- Goh, W.N., Rosma, A., Kaur, B., Fazilah, A., Karim, A.A. & Bhat, R. 2012. Fermentation of black tea broth (kombucha): Effects of sucrose concentration and fermentation time on the yield of microbial cellulose. *International Food Research Journal* 19(1): 109-117.

- Gunathilake, T., Akanbi, T.O., Suleria, H.A.R., Nalder, T.D., Francis, D.S. & Barrow, C.J. 2022. Seaweed phenolics as natural antioxidants, aquafeed additives, veterinary treatments and cross-linkers for microencapsulation. *Marine Drugs* 20(7): 445.
- Ho, C.W., Lazim, A., Fazry, S., Hussain Zaki, U.K.H., Massa, S. & Lim, S.J. 2020. Alcoholic fermentation of soursop (*Annona muricata*) juice via an alternative fermentation technique. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 100(3): 1012-1021.
- Hur, S.J., Lee, S.Y., Kim, Y.C., Choi, I. & Kim, G.B. 2014. Effect of fermentation on the antioxidant activity in plant-based foods. *Food Chemistry* 160: 346-356.
- Husni, A., Izmi, N., Ayunani, F.Z., Kartini, A., Husnayain, N. & Isnansetyo, A. 2022. Characteristics and antioxidant activity of fucoidan from *Sargassum hystrix*: Effect of extraction method. *International Journal of Food Science* 2022: 3689724.
- Ivanišová, E., Meňhartová, K., Terentjeva, M., Harangozo, E., Kántor, A. & Kačániová, M. 2020. The evaluation of chemical, antioxidant, antimicrobial and sensory properties of kombucha tea beverage. *Journal of Food Science and Technology* 57(5): 1840-1846.
- Jakubczyk, K.P., Piotrowska, G. & Janda, K. 2020. Characteristics and biochemical composition of kombucha-fermented tea. *General Medicine and Health Science* 26(2): 94-96.
- Jakubczyk, K., Kaldunska, J., Kochman, J. & Janda, K. 2020. Chemical profile and antioxidant activity of the kombucha beverage derived from white, green, black and red tea. *Antioxidants* 9(5): 447.
- Jarrell, J.A., Walia, N., Nemergut, D., Agadi, A. & Bennett, J.W. 2022. Inoculation, growth and bactericidal effects of three kombucha cultures. *Microbiology Research* 13(1): 128-136.
- Jayabalan, R., Chen, P.N., Hsieh, Y.S., Prabhakaran, K., Pitchai, P., Marimuthu, S., Thangaraj, P., Swaminathan, K. & Yun, S.E. 2011. Effect of solvent fractions of kombucha tea on viability and invasiveness of cancer cells-characterization of dimethyl 2-(2-hydroxy-2-methoxypropylidene) malonate and vitexin. *Indian Journal of Biotechnology* 10(1): 75-82.
- Kallel, L., Desseaux, V., Hamdi, M., Stocker, P. & Ajandouz, E.H. 2012. Insights into the fermentation biochemistry of Kombucha teas and potential impacts of Kombucha drinking on starch digestion. *Food Research International* 49(1): 226-232.
- Kim, J. & Adhikari, K. 2020. Current trends in kombucha: Marketing perspectives and the need for improved sensory research. *Beverages* 6(1): 1-19.
- Koh, H.S.A., Lu, J. & Zhou, W. 2019. Structure characterization and antioxidant activity of fucoidan isolated from *Undaria pinnatifida* grown in New Zealand. *Carbohydrate Polymers* 212: 178-185.
- Kumar, Y., Tarafdan, A. & Badgujar, P.C. 2021. Seaweed as a source of natural antioxidants: Therapeutic activity and food application. *Journal of Food Quality* 2021: 5753391.
- Kumar, Y., Tarafdar, A., Kumar, D. & Badgujar, P.C. 2019. Effect of Indian brown seaweed *Sargassum wightii* as a functional ingredient on the phytochemical content and antioxidant activity of coffee beverage. *Journal of Food Science and Technology* 56(10): 4516-4525.
- La Torre, C., Fazio, A., Caputo, P., Plastina, P., Caroleo, M.C., Cannataro, R. & Cione, E. 2021. Effects of long-term storage on radical scavenging properties and phenolic content of kombucha from black tea. *Molecules* 26(18): 5474.
- Leal, J.M., Suarez, L.V., Jayabalan, R., Oros, J.H. & Escalante-Aburto, A. 2018. A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. *CYTA-Journal of Food* 16(1): 390-399.
- Lim, S.J., Syed Khalafu, S.H., Böhmendorfer, S., Rosenau, T., Maskat, M.Y., Sofian Seng, N.S., Mohd Razali, N.S. & Wan Mustapha, W.A. 2022. Monosaccharide profile and antioxidant activities of sulphated polysaccharide extracted from Indonesian brown seaweed (*Sargassum* sp.). *Sains Malaysiana* 51(10): 3195-3202.
- Lim, S.J., Wan Mustapha, W.A. & Maskat, M.Y. 2017. Seaweed tea: Fucoidan-rich functional food product development from Malaysian brown seaweed, *Sargassum binderi*. *Sains Malaysiana* 46(9): 1573-1579.
- Liszowska, W. & Berłowska, J. 2021. Yeast fermentation at low temperatures: Adaptation to changing environmental conditions and formation of volatile compounds. *Molecules* 26(4): 1035.
- Managa, M.G., Akinola, S.A., Remize, F., Garcia, C. & Sivakumar, D. 2021. Physicochemical parameters and bioaccessibility of lactic acid bacteria fermented chayote leaf (*Sechium edule*) and pineapple (*Ananas comosus*) smoothies. *Frontiers in Nutrition* 8: 649189.
- Marques, M.R., Paz, D.D., Batista, L.P.R., Barbosa, C.O., Araújo, M.A.M. & Moreira-Araújo, R.S.R. 2012. An *in vitro* analysis of the total phenolic content, antioxidant power, physical, physicochemical, and chemical composition of *Terminalia catappa* Linn fruits. *Food Science and Technology* 32(1): 209-213.
- Mashau, M.E., Jideani, A.I.O. & Maliwichi, L.L. 2020. Evaluation of the shelf-life extension and sensory properties of mahewu - A non-alcoholic fermented beverage by adding Aloe vera (*Aloe barbadensis*) powder. *British Food Journal* 122(11): 3420-3432.
- Massoud, R., Jafari-Dastjerdeh, R., Naghavi, N. & Khosravi-Darani, K. 2022. All aspects of antioxidant properties of kombucha drink. *Biointerface Research in Applied Chemistry* 12(3): 4018-4027.

- Mishra, R. & Bisht, S.S. 2011. Antioxidants and their characterization. *Journal of Pharmacy Research* 4(8): 2744-2746.
- Mohd Ariff, R., Chai, X.Y., Chang, L.S., Fazry, S., Othman, B.A., Babji, A.S. & Lim, S.J. 2023. Recent trends in Kombucha: Conventional and alternative fermentation in development of novel beverage. *Food Bioscience* 53: 102714.
- Mohd Isa, N.I., Ibrahim, N.N.A., Sabran, S.N.J., Sofian-Seng, N.S., Lim, S.J., Abdul Rahman, H., Wan Mustapha, W.A. & Mohd Razali, N.S. 2022. Kesan kepekatan fukoidan dan tempoh penapaian terhadap pencirian fizikokimia kombucha diperkuat dengan fukoidan. *Sains Malaysiana* 51(10): 3295-3306.
- Mousavi, S.M.M., Hashemi, S.A., Zarei, M., Gholami, A., Chin, W.L., Wei, H.C., Omodifar, N., Bahrani, S. & Mazraedoost, S. 2020. Recent progress in chemical composition, production, and pharmaceutical effects of kombucha beverage: A complementary and alternative medicine. *Evidence Based Complementary Alternative Medicine* 2020: 4397543.
- Müller, N. & Rauhut, D. 2018. Recent developments on the origin and nature of reductive sulfurous off-odours in wine. *Fermentation* 4(3): 62.
- Murugesan, G.S., Sathishkumar, M., Jayabalan, R., Binupriya, A.R., Swaminathan, K. & Yun, S.E. 2009. Hepatoprotective and curative properties of Kombucha tea against carbon tetrachloride-induced toxicity. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 19(4): 397-402.
- Neffe-Skocinska, K., Sionek, B., Scibisz, L. & Kolozyn-Krajewska, D. 2017. Acid contents and the effect of fermentation condition of kombucha tea beverages on physicochemical, microbiological and sensory properties. *Cyta-Journal of Food* 15: 601-607.
- Nurhayati, N., Yuwanti, S. & Urbahillah, A. 2020. Karakteristik fisikokimia dan sensori kombucha *Cascara* (kulit kopi ranum). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* 31(1): 38-49.
- Peñalver, R., Lorenzo, J.M., Ros, G., Amarowicz, R., Pateiro, M. & Nieto, G. 2020. Seaweeds as a functional ingredient for a healthy diet. *Marine Drugs* 18(6): 301.
- Poveda-Castillo, G.D.C., Rorigo, D., Martinez, A. & Pina-Pérez M.C. 2018. Bioactivity of fucoidan as an antimicrobial agent in a new functional beverage. *Beverages* 4(3): 64.
- Sanjeewa, K.K.A. & Jeon, Y.J. 2021. Fucoidans as scientifically and commercially important algal polysaccharides. *Marine Drugs* 19(6): 284.
- Sharma, R., Garg, P., Kumar, P., Bhatia, S.K. & Kulshrestha, S. 2020. Microbial fermentation and its role in quality improvement of fermented foods. *Fermentation* 6(4): 106.
- Tan, W.C., Muhiadin, B.J. & Meor Hussin, A.S. 2020. Influence of storage conditions on the quality, metabolites, and biological activity of soursop (*Annona muricata* L.) kombucha. *Frontier Microbiology* 11: 603481.
- Tran, T., Roullier-Gall, C., Verdier, F., Martin, A., Schmitt-Kopplin, P., Alexandre, H., Grandvalet, C. & Tourdot-Maréchal, R. 2022. Microbial interactions in kombucha through the lens of metabolomics. *Metabolites* 12(3): 235.
- Tran, T., Grandvalet, C., Verdier, F., Martin, A., Alexandre, H. & Tourdot-Maréchal, R., 2020. Microbiological and technological parameters impacting the chemical composition and sensory quality of kombucha. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 19(4): 2050-2070.
- Villarreal-Soto, S., Beaufort, S., Bouajila, J., Souchard, J. & Taillandier, P. 2018. Understanding kombucha tea fermentation: A review. *Journal of Food Science* 83(3): 580-588.
- Vohra, B.M., Fazry, S., Sairi, F. & Babul-airianah, O. 2019. Effects of medium variation and fermentation time on the antioxidant and antimicrobial properties of kombucha. *Journal Fundamental Applied Science* 15: 298-302.
- Wang, X., Wang, D., Wang, H., Jiao, S., Wu, J., Hou, Y., Sun, J. & Yuan, J. 2022. Chemical profile and antioxidant capacity of Kombucha tea by the pure cultured Kombucha. *LWT - Food Science and Technology* 168: 113931.
- Wang, Y., Xing, M., Cao, Q., Ji, A., Liang, H. & Song, S. 2019. Biological activities of fucoidan and the factors mediating its therapeutic effects: A review of recent studies. *Marine Drugs* 17(3): 183.
- Wong, K. & Cheung, P.C. 2001. Influence of drying treatment on three *Sargassum* species 2. Protein extractability, *in vitro* protein digestibility and amino acid profile of protein concentrates. *Journal of Applied Phycology* 13(1): 51-58.
- Yang, Z.W., Ji, B.P., Zhou, F., Li, B., Luo, Y., Yang, L. & Li, T. 2009. Hypocholesterolaemic and antioxidant effects of kombucha tea in high-cholesterol fed mice. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 89(1): 150-156.
- Yikmiş, S. & Tuğgüm, S. 2019. Evaluation of microbiological, physicochemical and sensorial properties of purple basil kombucha beverage. *Turkish Journal of Agriculture- Food Science and Technology* 7(9): 1321-1327.

Zayed, A., El-Aasr, M., Ibrahim, A.S. & Ulber, R. 2020. Fucoidan characterization: Determination of purity and physicochemical and chemical properties. *Marine Drugs* 18(11): 571.

*Pengarang untuk surat-menyurat; email: syuhada_ns@ukm.edu.my