

# The Acute Toxicity Of Soursop Leaf Kombucha on Male Zebra Fish (*Danio Rerio*)

Dini Sri Damayanti<sup>1\*</sup>, Andini Tarisa Anwar<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bagian Fisiologi, Fakultas Kedokteran , Universitas Islam Malang, Malang,Indonesia

<sup>2</sup>Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran , Universitas Islam Malang, Malang, Indonesia

Email: [dinisridamayanti@unisma.ac.id](mailto:dinisridamayanti@unisma.ac.id)

## Abstrak

**Pendahuluan:** Kombucha daun sirsak merupakan minuman fermentasi yang mengandung senyawa fenolik dan berfungsi sebagai antioksidan, namun keamanannya belum diketahui. **Tujuan Penelitian:** Penelitian ini bertujuan untuk menentukan LC50 kombucha daun sirsak pada ikan zebra jantan dewasa. **Metode:** Uji toksisitas dilakukan pada lima dosis berbeda: 12.000 ppm, 25.000 ppm, 50.000 ppm, 100.000 ppm, dan 200.000 ppm, serta kelompok kontrol. Setiap akuarium berisi 10 ekor ikan zebra dalam 2 L air. Pengamatan terhadap perubahan perilaku berenang dan jumlah kematian dilakukan dalam waktu 96 jam setelah pemberian kombucha daun sirsak. Proses pengulangan sebanyak 3 kali. Data dianalisis menggunakan Analisis Probit. **Hasil:** Hasil penelitian menunjukkan bahwa perubahan perilaku berenang dan kematian ikan zebra mulai terjadi pada dosis 50.000 ppm. Semakin tinggi dosis, semakin besar jumlah kematian. Nilai LC50 kombucha daun sirsak adalah 58.118 ppm. **Kesimpulan:** Berdasarkan nilai LC50 ini, dapat disimpulkan bahwa kombucha daun sirsak tidak bersifat toksik

**Kata kunci :** Ikan zebra, LC50, Kombucha daun sirsak

## Abstract

**Introduction:** Soursop leaf kombucha is a fermented beverage containing phenolic compounds and functions as an antioxidant, but its safety is unknown. **Aims:** This study aimed to determine the LC50 of soursop leaf kombucha in adult male zebrafish. **Methods:** Toxicity tests were conducted at five different doses: 12,000ppm, 25,000ppm, 50,000ppm, 100,000ppm, and 200,000ppm, as well as a control group. Each aquarium contained 10 zebrafish in 2 L of water. Observations on changes in swimming behaviour and the number of deaths were conducted within 96 hours of soursop leaf kombucha administration. Data were analyzed using Probit Analysis. Three repetitions were performed. **Results:** The results showed that changes in swimming behaviour and mortality began to occur at a dose of 50,000 ppm. The higher the dose, the greater the number of deaths. The LC50 value of soursop leaf kombucha was 58,118 ppm. **Conclusion:** Based on the LC50 value, it can be concluded that soursop leaf kombucha is not considered toxic.

**Keywords :** Zebra fish, LC50, Sorsoup leaves kombucha

## I. PENDAHULUAN

Kombucha merupakan salah satu jenis minuman fermentasi yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat di China, Korea, dan Jepang. Kombucha diketahui mengandung bakteri asam laktat, asam organik, senyawa fenolik, dan etanol. Senyawa aktif dalam kombucha diketahui memiliki efek antioksidan, antibakteri, penurun kolesterol, dan penurun glukosa darah.<sup>1</sup> Kombucha disebutkan mempunyai potensi sebagai antioksidan lebih baik dibandingkan ekstrak etanol daun sirsak karena mengandung lebih banyak senyawa fenol aktif.<sup>2</sup> Selain itu kombucha disebutkan lebih aman dibandingkan ekstrak etanol daun sirsak. Hal ini disebabkan ekstrak etanol hanya banyak digunakan dalam penelitian, mempunyai kandungan alkohol, senyawa aktif lebih banyak sehingga cenderung meningkatkan toksisitas, belum diketahui dosis keamanannya, serta tidak ada bukti evidence based dari penggunaan ekstrak etanol daun sirsak untuk manusia.<sup>3</sup> Hasil penelitian uji toksisitas akut menggunakan larva udang dibuktikan bahwa ekstrak etanol daun sirsak mempunyai IC50 sebesar 12.57 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak memiliki sangat toksik sehingga berpotensi digunakan sebagai anti kanker.<sup>4</sup> Meskipun kombucha aman untuk dikonsumsi manusia, namun beberapa penelitian juga membuktikan kombucha juga mempunyai efek samping seperti iritasi mukosa lambung, alergi, asidosis, dan gagal ginjal akut terutama jika di konsumsi oleh orang tua, penderita tukak lambung dan dosis berlebih.<sup>5</sup>

Awalnya, bahan dasar pembuatan kombucha adalah daun teh karena mengandung banyak senyawa fenolik. Namun saat ini, mulai banyak dikembangkan sumber fenol selain daun teh untuk produksi kombucha misalnya daun kopi, buah naga, dan lain lain.<sup>6,7</sup> Tanaman sirsak (*Annona muricata* Linn termasuk dalam famili *Annonaceae*. Daun sirsak diketahui mengandung senyawa

fenolik sehingga memungkinkan untuk dijadikan bahan baku pembuatan kombucha.<sup>1</sup> Disamping itu daun sirsak juga banyak mengandung senyawa aktif golongan alkaloid seperti acetogenin dan senyawa golongan terpenoid Annonacin sebagai senyawa aktif utama.<sup>8</sup>

Model hewan banyak digunakan dalam pengujian toksisitas obat atau produk alami, termasuk ikan zebra. Ikan zebra (*Danio rerio*), sebelumnya dikenal sebagai *Brachydanio rerio*, adalah spesies ikan air tawar tropis kecil yang berasal dari Asia Selatan dan Sungai Gangga di India. Ikan zebra digunakan sebagai model karena murah, mudah didapat dan dibiakkan, memiliki susunan genetik 70% mirip dengan manusia, dan tahan terhadap lingkungan asam.<sup>9</sup>

Kurangnya penelitian yang mengkaji efek toksik akut kombucha daun sirsak pada hewan coba menjadi alasan utama dilakukannya penelitian ini. Uji toksisitas akut dilakukan untuk menentukan LC50 kombucha daun sirsak. Indikator toksisitas akut dinilai berdasarkan jumlah kematian ikan zebra dan perubahan perilaku berenang yang diamati dalam 96 jam setelah pemberian kombucha daun sirsak dalam air akuarium. Hasil penelitian ini diharapkan bisa mendukung pengembangan produk kombucha yang aman dikonsumsi oleh manusia.

## II. METODE PENELITIAN

Uji toksisitas akut kombucha daun sirsak dilakukan di laboratorium dengan desain *post-test control group-only*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Penelitian Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang (UNISMA), dari Oktober hingga Desember 2024. Penelitian ini telah disetujui oleh Komite Etik Penelitian Kesehatan Rumah Sakit Islam Universitas Islam Malang (UNISMA) dengan No. 49/KEPK/RSI-U/X/2024.

Peralatan yang digunakan untuk penelitian ini terdiri dari akuarium statis untuk perawatan dan perlakuan ikan zebra, yang dilengkapi dengan kontrol aerasi, pH meter, dan termometer. Air yang digunakan adalah air tanah dan bebas klorin. Ikan zebra dibudidayakan oleh Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang, dan telah dikonfirmasi oleh Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Airlangga, Surabaya, dengan nomor registrasi /ULMKILP/UA.FPK/10/2024. Kultur Simbiotik Bakteri dan Yeast (SCOBY) diperoleh dari pasar *on line*. Bubuk daun sirsak diperoleh dari Materia Medika Batu dengan nomor penetapan ULMKILP/UA.FPK/10/2024.

Penelitian dimulai dengan pembuatan kombucha dari bubuk daun sirsak. Sebanyak 12 g bubuk daun sirsak dimasukkan ke dalam kantong teh. Air sebanyak 1L dimasukkan ke dalam penangas air dan dididihkan. Kantong teh yang berisi bubuk daun sirsak direndam dalam air mendidih selama 5 menit. 100 g gula ditambahkan ke dalam panci, diaduk rata, lalu didinginkan. Setelah dingin, air dipindahkan ke dalam stoples kaca dan ditambahkan 30g cairan SCOBY. Stoples ditutup dengan kain bersih dan diikat dengan karet gelang. Proses fermentasi dilakukan selama 14 hari. Stoples disimpan pada suhu ruangan dan terlindung dari sinar matahari langsung. Proses fermentasi dihentikan ketika nata telah terbentuk dan pH berada di antara 3-5.<sup>10</sup>

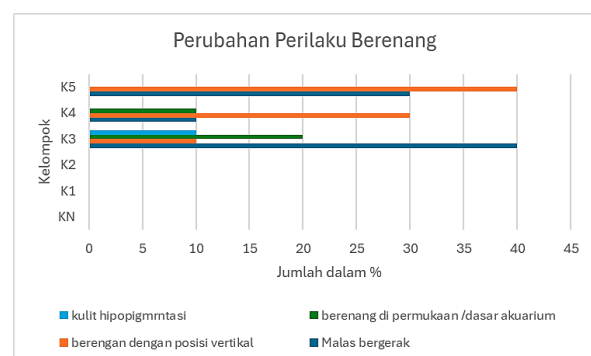
Enam puluh (60) ekor ikan zebra jantan dewasa ditempatkan dalam akuarium 10 liter. Ikan yang sehat dipilih, ditandai dengan gerakan aktif, warna kulit cerah, dan tidak ada perubahan perilaku berenang. Suhu air diatur pada 25°C, pH antara 7-8, dan terpasang aerasi. Pencahayaan disediakan selama 14 jam per hari dan kegelapan selama 10 jam per hari. Pakan diberikan dua kali sehari. Air akuarium diganti setiap dua hari sekali. Proses aklimatisasi berlangsung selama 14 hari.

Enam akuarium disiapkan untuk uji toksisitas. Akuarium pertama hanya diisi dengan 2 L air, sementara akuarium 2-6 diisi dengan air 2L yang telah ditambahkan kombucha daun sirsak, dengan konsentrasi akhir 12.500 ppm, 25.000 ppm, 50.000 ppm, 100.000 ppm, dan 200.000 ppm. Sepuluh ikan zebra kemudian ditebar di setiap akuarium. Pengamatan terhadap perubahan perilaku berenang, seperti keengganan untuk bergerak, posisi kepala di atas atau di bawah, lebih sering berenang di permukaan/dasar akuarium, kulit hipopigmentasi atau hiperpigmentasi, dan mortalitas dicatat pada 0 menit, 30 menit, 60 menit, 3 jam pertama, 6 jam pertama, 12 jam pertama, 24 jam pertama, jam ke-48, jam ke-72, dan jam ke-96. Makanan tidak diberikan selama uji toksisitas. Makanan terakhir diberikan 24 jam sebelum perlakuan. Penggantian air dilakukan setiap dua hari, dengan suhu air 25°C. pH diukur di setiap akuarium selama penggantian. Proses pengulangan dilakukan sebanyak 3 kali. Uji toksisitas diulang tiga kali.<sup>11,12</sup>

Analisis data perubahan perilaku berenang pada ikan zebra dilakukan secara deskriptif, sedangkan analisis data untuk mengukur LC50 menggunakan Analisis Probit dengan perangkat lunak SPSS, edisi 27.<sup>11</sup>

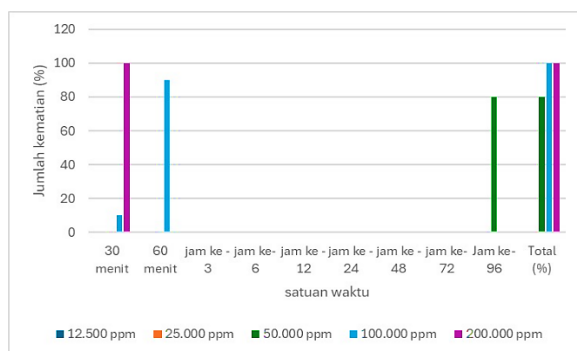
### III. HASIL

Uraian perubahan perilaku berenang ikan zebra akibat paparan kombucha daun sirsak berbagai dosis dan LC50 kombucha daun sirsak dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2.



### GAMBAR 1. PERUBAHAN PERILAKU BERENANG IKAN ZEBRA

Keterangan :  
K1 : kombucha dosis 12.500 ppm  
K2 : kombucha dosis 25.000 ppm  
K3 : kombucha dosis 50.000 ppm  
K4 :Kombucha dosis 100.000 ppm  
K5 : kombucha dosis 200.000 ppm



GAMBAR 2. JUMLAH KEMATIAN IKAN ZEBRA PER SATUAN WAKTU SETELAH DITAMBAHKAN KOMBUCHA DAUN SIRSAK PADA BERBAGAI DOSIS

Hasil pengamatan menunjukkan perubahan perilaku berenang mulai terjadi setelah pemberian kombucha pada konsentrasi 50.000 ppm, 100.000 ppm, dan 200.000 ppm. Perubahan perilaku berenang yang diamati meliputi ikan yang menjadi kurang aktif, berenang dengan kepala tegak ke atas atau ke bawah, terus-menerus berenang di permukaan atau dasar akuarium, dan perubahan warna kulit menjadi hipopigmentasi. Kematian ikan zebra juga terjadi pada konsentrasi 50.000 ppm sebanyak 80% pada jam ke 96, konsentrasi 100.000 ppm terjadi kematian sebesar 10% pada jam pertama dan menjadi 100% pada jam ketiga, sedangkan konsentrasi 200.000 ppm terjadi kematian ikan zebra sebanyak 100% terjadi pada jam ketiga. Hasil analisa probit menunjukkan LC50 kombucha daun sirsak sebesar 51.118 ppm.

#### IV. PEMBAHASAN

Dalam pengobatan tradisional, tanaman sirsak banyak digunakan untuk mengobati berbagai penyakit seperti sakit kepala, insomnia, penyakit kulit, sebagai antibakteri, antiparasit, hipertensi,

antiinflamasi, antikanker, dan diabetes.<sup>13</sup> Kebanyakan orang mengonsumsinya dalam bentuk infusa atau rebusan yang terbuat dari daun segar atau kering. Efek farmakologis infusa atau rebusan daun sirsak berkaitan dengan senyawa aktif dalam ekstraknya, yaitu asam fenolik, flavonoid, alkaloid, serta senyawa utama asetogenin dan anonasin. Akhir-akhir ini, konsumsi daun sirsak di masyarakat meningkat karena efek antikankernya yang telah diakui.<sup>8</sup>

Kombucha merupakan produk herbal yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat Asia karena memiliki manfaat kesehatan yang bermanfaat, termasuk sifat antioksidan, antiinflamasi, antikanker, antibakteri, antihipertensi, antidiabetik, dan antihiperlipidemia.<sup>6</sup> Efek-efek ini berkaitan dengan kandungan senyawa aktif dalam kombucha, seperti senyawa fenolik, asam organik terutama asam glukuronat dan asam asetat, vitamin, mineral, dan asam amin. Potensi antioksidan kombucha dikatakan lebih tinggi daripada infus atau rebusan karena kandungan senyawa fenolik dan flavonoidnya yang lebih tinggi dan lebih aktif.<sup>2</sup>

Badan Pengawas Obat dan Makanan (FDA) merekomendasikan bahwa kombucha aman untuk dikonsumsi sebagai minuman. Namun, dalam kondisi tertentu, konsumsi kombucha memerlukan kehati-hatian khusus, terutama bagi pasien dengan defisiensi imun, bayi, anak di bawah usia 4 tahun, dan ibu hamil. Hal ini berkaitan dengan kandungan senyawa aktif atau adanya kontaminasi bakteri selama proses pembuatan produk fermentasi.<sup>5</sup> Oleh karena itu, pengujian keamanan kombucha sangat penting untuk memastikan keamanan konsumen, terutama untuk konsumsi jangka Panjang.<sup>3,5,14</sup>

Pengujian toksisitas embrio pada ikan zebra merupakan metode pengujian toksisitas yang umum; namun, pengujian toksisitas juga dapat dilakukan pada ikan zebra dewasa.<sup>12</sup> Penelitian ini menggunakan lima dosis

eksploratif kombucha daun sirsak, yaitu 12.500 ppm, 25.000 ppm, 50.000 ppm, 100.000 ppm, dan 200.000 ppm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ikan zebra mulai mengalami perubahan klinis setelah diberikan kombucha daun sirsak pada konsentrasi 50.000 ppm, 100.000 ppm, dan 200.000 ppm. Ikan zebra menjadi malas berenang, berenang dengan kepala vertikal di atas atau di bawah, dan lebih sering berenang di permukaan air atau di dasar akuarium. Kematian ikan zebra juga mulai terjadi setelah pemberian kombucha daun sirsak 50.000 ppm. Ikan zebra dianggap mati jika tidak ada gerakan setelah ekornya dirangsang.<sup>(11)</sup> Konsentrasi kombucha daun sirsak 50.000 ppm, 100.000 ppm, dan 200.000 ppm menyebabkan mortalitas masing-masing sebesar 45%, 90%, dan 100% dari total sampel. Semakin tinggi dosis kombucha daun sirsak yang diberikan, semakin cepat dan semakin besar pula jumlah kematian ikan zebra. Hasil analisis probit menunjukkan LC50 sebesar 58.118 ppm.

Perubahan perilaku dan kematian dari ikan zebra setelah ditambahkan kombucha dalam air akuarium diduga disebabkan faktor keasaman dari air akuarium. Semakin tinggi konsentrasi kombucha daun sirsak, semakin rendah pH air akuarium. Hal ini disebabkan kombucha mengandung asam-asam organik, terutama asam glukuronat, asam laktat, dan asam asetat.<sup>1</sup>

Insang merupakan organ utama yang berperan untuk mengatur keseimbangan asam basa pada ikan zebra.<sup>15</sup> Kegagalan mengkompensasi pada lingkungan asam mengakibatkan penurunan penyerapan ion Na<sup>+</sup> di sel epitel insang. Penurunan ini disebabkan oleh efek penghambatan kadar ion H<sup>+</sup> yang tinggi di dalam air. Transpor ion Na<sup>+</sup> terkait dengan Na<sup>+</sup>H<sup>+</sup> ATPase atau penukar Na<sup>+</sup>H<sup>+</sup>, sehingga ion H<sup>+</sup> yang tinggi di dalam air menghambat penyerapan Na<sup>+</sup>. Lebih lanjut disebutkan bahwa kondisi lingkungan yang asam menyebabkan

kerusakan dari protein *tight junction di epitel insang*. Kerusakan ini berkaitan dengan penurunan penyerapan ion Ca<sup>2+</sup>, sehingga meningkatkan permeabilitas paraseluler. Dan mengakibatkan penurunan kadar ion Na<sup>+</sup> plasma. Kadar ion Na<sup>+</sup> plasma yang rendah menyebabkan penurunan volume cairan intravaskular, yang mengganggu fungsi jantung dan dapat menyebabkan kematian.<sup>16,17</sup>

Peningkatan konsentrasi kombucha daun sirsak dalam air akuarium diduga juga menyebabkan asidosis dalam darah ikan zebra. Asidosis menyebabkan penurunan ikatan antara hemoglobin dan oksigen, sehingga terjadi hipoksia pada sel-sel saraf. Kondisi ini menyebabkan ikan zebra berenang lebih sering di permukaan air untuk mendapatkan oksigen yang cukup. Hipoksia juga mengurangi metabolisme aerobik, sehingga mengurangi penggunaan energi untuk bergerak.<sup>16,18</sup> Hal ini menjelaskan ikan zebra menjadi malas atau enggan bergerak akibat pemberian kombucha daun sirsak dosis tinggi. Asidosis juga mengakibatkan penurunan kadar ion Ca<sup>2+</sup>, yang menyebabkan penurunan sekresi neurotransmitter serotonin dan asetilkolin yang berperan dalam pergerakan ikan zebra, sehingga mengakibatkan ikan zebra malas untuk berenang. Selain itu gangguan fungsi saraf juga diduga menyebabkan gangguan keseimbangan, sehingga ikan zebra berenang dengan posisi kepala miring ke atas atau ke bawah.<sup>18</sup>

Selain karena keasaman air yang menyebabkan asidosis, tidak menutup kemungkinan perubahan perilaku dan kematian ikan zebra disebabkan oleh kandungan senyawa aktif dalam kombucha daun sirsak. Senyawa utama dari daun sirsak adalah acetogennin. Acetogennin termasuk golongan senyawa alkaloid.<sup>19</sup> Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa acetogennin bersifat sitotoksik.<sup>8</sup> Semakin tinggi konsentrasi kombucha daun sirsak, diduga semakin tinggi kadar acetogennin sehingga

efek sitotoksik semakin besar. Namun demikian masih perlu dilakukan pembuktian lebih lanjut adanya kandungan acetogennin pada kombucha daun sirsak karena adanya proses fermentasi kemungkinan juga dapat mempengaruhi efektifitas senyawa aktif tersebut.

Adanya proses fermentasi pada pembuatan kombucha akan meningkatkan jumlah dan aktifitas senyawa golongan fenol.<sup>20</sup> Secara fisiologis senyawa fenol dapat bersifat antioksidan dengan cara mendonorkan satu elektronnya, menambahkan atom hydrogen dan khelasi logam transisi sehingga senyawa radikal berubah menjadi senyawa yang lebih netral.<sup>21</sup> Namun demikian, dalam jumlah besar atau terdapatnya ion  $\text{Cu}^{2+}$  potensi antioksidan senyawa fenol akan berubah menjadi prooksidan sehingga menyebabkan kerusakan dan kematian sel.<sup>22,23</sup> Dengan demikian dapat diduga tingginya konsentrasi kombucha akan meningkatkan kandungan senyawa fenol, sehingga memicu pembentukan radikal bebas yang menimbulkan perubahan perilaku dan kematian sel.

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah kombucha daun sirsak memiliki LC50 sebesar 58.118 ppm, yang memenuhi kriteria aman. Pada dosis lebih besar dapat menyebabkan efek toksik sehingga meningkatkan kematian ikan zebra.

Kelemahan dari penelitian ini hanya menguji perubahan perilaku dan jumlah kematian ikan zebra akibat pemberian kombucha daun sirsak secara akut. Penelitian ini tidak mengukur perubahan ion dalam darah, insang dan otak ikan zebra serta profil metabolit dari kombucha, sehingga kedepan perlu untuk dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui perubahan-perubahan tersebut pada pemberian akut kombucha daun sirsak pada ikan zebra. Disamping itu penelitian untuk mengetahui kemananan

penggunaan kombucha jangka panjang, maka perlu dilakukan penelitian lanjutan uji toksisitas sub kronik dan kronik pada hewan coba.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Alkazman, BSM, Harnett, JE dan Hanrahan, JR. 2022. Ttraditional Uses, Phytochemistry and Pharmacological Activities of Annonaceae. *Molecules*, May 27;27(11):3462. doi: 10.3390/molecules27113462.
- [2]. de Oliveira, P.V., da Silva Júnior, A.H., de Oliveira, C.R.S., Assumpção, C.F., 2023. Kombucha benefits, risks and regulatory frameworks: A review. *Food Chemistry Advances*, Oct. Vol.2. p. 100288. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100288>.
- [3]. Onsun, B., Toprak, K and Sanlier, N. 2025. Kombucha Tea: A Functional Beverage and All its Aspects. *Curr Nutr Rep.*, May 24;14(1):69. doi: 10.1007/s13668-025-00658-9.
- [4]. Wauran, V P. 2024. Toxicity Testing Of Soursop Leaf Extract (*Annona muricata L.*) as An Anticancer Candidate With The Brine Shrimp Lethality Test (Bslt) Method. *Pharmacol*, Hal. 13(2), 692–700. <https://doi.org/10.35799/Pha.13.2024.49449>.
- [5]. Murphy, TE., Walia, K dan Farber, JM. 2018, Safety Aspects and Guidance for Consumers on the Safe Preparation, Handling and Storage of Kombucha — A Fermented Tea Beverage. *Food Protection Trends*, Vol 38, No. 5, p. 329–337.
- [6]. Anantachoke, N., Duangrat, R., Sutthiphatkul, 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. <https://doi.org/10.3390/foods12091818>.
- [7]. Zubaidah, E., Dea, EC and Sujuti, H. 2022. Physicochemical and Microbiological Characteristics of Kombucha Based on Various Concentration of Javanese Turmeric (*Curcuma xanthorrhiza*). *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, Volume 44 Pagination 102467 ISSN 1878-8181.
- [8]. Antony, P and Vijayan, R. 2016. Acetogenins from *Annona muricata* as potential inhibitors of antiapoptotic proteins: a molecular modeling study. *ADrug Des Devel Ther*, Apr 13;10:1399-410. doi: 10.2147/DDDT.S103216.
- [9]. Chahardehi, Amir Modarresi, Arsad, H and Lim, V., 2020. Zebrafish as a Successful Animal Model for Screening Toxicity of Medicinal Plants. *Plants*, hal. (9), 1345; doi:10.3390/plants9101345.
- [10]. Damayanti, Dini Sri dan Bintari, YR. 2024. Antibacterial And Antioxidant Potential of Three

- Kinds of Kombucha. *Jurnal Kesehatan Syahkuala*, 1-10. doi.org/10.24815/jks.v24i3.37228.
- [11]. Narko, T., Wibowo, M.S., Damayanti, S., Wibowo, I., 2020. Acute Toxicity Tests of Fermented Robusta Green Coffee Using Zebrafish Embryos (*Danio rerio*). *Pharmacogn J.*, 12(3): 485-492.
- [12]. Satpathy, L. and Parida, S.P. Acute Toxicity Assessment and Behavioral Responses Induced by *Kandhamal haladi* in Adult Zebrafish (*Danio rerio*). 2021, *Biointerface Research in Applied Chemistry*, Volume 11, Issue 1, 7368 - 7381. https://doi.org/10.33263/BRIAC111.73687381.
- [13]. Mutakin, M., Fauziati, R., Fadhilah, F. N., Zuhrotun, A., Amalia, R., & Hadisaputri, Y. E. (2022). Pharmacological Activities of Soursop (*Annona muricata* Lin.). *Molecules*, 27(4), 1201. https://doi.org/10.3390/molecules2704120114.
- [14]. Meeme, R., Mukisa, I M dan Mugabi, R. 2023. Kombucha Production in Uganda: Quality Aspects and Compliance with Standards. *Food Sciencetech Journal*, 5(2), 145-165. http://dx.doi.org/10.33512/fsj.v5i2.
- [15]. Evans, D.H. 1987. The Fish Gill: Site of Action and Model for Toxic Effects of Environmental Pollutants. *Environ Health Perspect.*, Apr;71:47-58. doi: 10.1289/ehp.877147.
- [16]. Lewis, L. dan kwong, RWM., 2018. Zebrafish as a Model System for Investigating the Compensatory Regulation of Ionic Balance during Metabolic Acidosis. *Int. J. Mol. Sci.*, hal. 19(4), 1087; https://doi.org/10.3390/ijms19041087
- [17]. Zimmer, A.M. and Perry, S.F., 2022. *Physiology and aquaculture: A review of ion and acid-base regulation by the gills of fishes*. *Fish and Fisheries*, 25 March, https://doi.org/10.1111/faf.12659.
- [18]. JavadiEsfahani, R dan Kwong, RWM., 2019. The sensory-motor responses to environmental acidosis in larval zebrafish: Influences of neurotransmitter and water chemistry. *J Chemosphere*, Vol 235, https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.06.133.
- [19]. Ragasa, C.Y., Soriano, G., Torres, O.B., Don, M., & Shen, C. (2012). Acetogenins from *Annona muricata*. *Polymer Journal*, 4, 32-37.
- [20]. Doğan, C. and Doğan, N. 2023. Kombucha Beverage: Comparative Study Based on Bioactive Properties and Antimicrobial Potentials of Different Plant Infusion. *Journal of Advanced Research in Natural and Applied Sciences*, Vol. 9, Issue 1, Pages: 15-27.
- [21]. Zeb, A. 2020. Concept, mechanism, and applications of phenolic antioxidants in foods. *J Food Biochem*, hal. Sep;44(9):e13394. doi: 10.1111/jfbc.13394.
- [22]. Jomová K, Hudecova L, Lauro P, Simunkova M, Alwasel SH, Alhazza IM, Valko M. A Switch between Antioxidant and Prooxidant Properties of the Phenolic Compounds Myricetin, Morin, 3',4'-Dihydroxyflavone, Taxifolin and 4-Hydroxy-Coumarin in the Presence of Copper(II) Ions: A Spectroscopic, Absorption Titration and DNA Damage Study. *Molecules*. 2019 Nov 27;24(23):4335. doi: 10.3390/molecules24234335. PMID: 31783535
- [23]. Spissu, Y., Gil, K. A., Dore, A., Sanna, G., Palmieri, G., Sanna, A., Cossu, M., Belhadj, F., Gharbi, B., Pinna, M. B., Barberis, A., Tuberoso, C. I. G., & D'hallewin, G. (2023). Anti- and Pro-Oxidant Activity of Polyphenols Extracts of Syrah and Chardonnay Grapevine Pomaces on Melanoma Cancer Cells. *Antioxidants*, 12(1), 80. https://doi.org/10.3390/antiox1201008024.