

## PERBEDAAN WAKTU FERMENTASI DALAM PEMBUATAN TEH KOMBUCHA DARI EKSTRAK TEH HIJAU LOKAL *Arraca Kiara*, *Arraca Yabukita*, *Pekoe* DAN *Dewata* SEBAGAI MINUMAN FUNGSIONAL UNTUK ANTI OKSIDAN

Agustine Susilowati

Pusat Penelitian Kimia, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia  
Kawasan PUSPIPTEK, Serpong, Tangerang – 15314, Telepon [021]7560929,  
Faksimil [021]7560549  
E-mail: agustine\_1408@yahoo.co.id

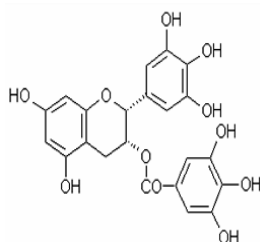
### Abstrak

Fermentasi teh kombucha selama 1 dan 2 minggu pada suhu ruang dengan konsentrasi starter kombucha 5% (v/v substrat) dan sukrosa 10% (b/v) menggunakan ekstrak teh hijau lokal *Camellia sinensis* grade *Arraca Kiara* dan *Arraca Yabukita* dan *Camellia assamica* grade *Pekoe* dan *Dewata* dengan pembandingan teh hitam komersial, menghasilkan teh kombucha dengan komposisi yang berbeda. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui waktu fermentasi optimal pada 4 jenis ekstrak teh hijau untuk anti oksidan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa waktu fermentasi terbaik dicapai selama 2 minggu oleh *Arraca Kiara* yang menghasilkan teh kombucha dengan total polyfenol, *L-theanine*, total padatan, total asam dan gula reduksi berturut-turut sebesar 8,06 % (b.k), 1,2951% (b.k), 11,841%, 0,395 % dan 7,5 mg/mL. Pada kondisi ini ekstrak teh hijau *Arraca Kiara*, *Arraca Yabukita*, *Pekoe*, *Dewata* menghasilkan total polyfenol berturut-turut sebesar 8,006, 2,165, 2,521 dan 3,271 % (berat kering) atau lebih tinggi berturut-turut sebesar 893% atau 8,93x, 151% atau 15,14x, 193% atau 19,3x dan 280% atau 28x, dibandingkan total polyfenol hasil teh kombucha dari teh komersial (0,861%).

**Kata kunci** : teh hijau, kombucha, fermentasi, ekstrak, polifenol.

### PENDAHULUAN

Teh kombucha telah lama dikenal dalam berbagai variasi baik dari jenis teh, starter kombucha maupun proses pembuatannya. Komposisi teh kombucha terutama polyfenol, menjadikan minuman ini sebagai minuman fungsional untuk anti oksidan. Beberapa jenis teh hijau lokal memiliki keunggulan oleh komposisinya diantaranya adalah jenis *Camellia sinensis* lokal grade *Aracca Kiara* dan *Aracca Yabukita*, sedangkan jenis *Camellia assamica* grade *Pekoe* dan *Dewata* (Anonymous, 2007). Ekstrak teh hijau hasil proses pemurnian menggunakan membran mikrofiltrasi 0,2 µm memungkinkan diperolehnya senyawa-senyawa aktif teh hijau yang lebih baik oleh karena sistem mikrofiltrasi mampu menyaring makromolekul > 500.000 g/mol atau partikel dengan ukuran 0,1 - 10 µm sehingga senyawa teh dengan kisaran ukuran < 0,2 µm akan lolos sebagai permeat diantaranya kafein, pigment anthocyanine (0,1 - 10 µm); polifenol, asam-asam organik, asam-asam amino, vitamin dan mineral (0,001-0,1 µm) (Anonymous, 2005).



Polyfenol teh terutama EGCG (Epygalo Chatekin Galat) (Gambar 1.) merupakan senyawa yang berperan dalam pencegahan penyakit kanker oleh aktifitas anti oksidannya yang menekan pertumbuhan sel-sel kanker. Katekin dari teh hijau dapat mengeliminasi radikal bebas secara efektif penyebab berbagai varietas sel cancer dan memiliki efek positif terhadap pertumbuhan tumor sebagai inhibitor (Liu, 2006 a ; Gong, dkk., 2006).

Gambar 1. Epigallocatechin-3-gallate (EGCG)

Kultur kombucha merupakan kerjasama simbiotik dari ragi dan bakteri yaitu *Acetobacter xylinum* dan yeast yaitu *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces ludwigii*, *Saccharomyces bisporus*, *Zygosaccharomyces* sp dan beberapa jenis khamir (*Torulopsis* sp) (Malbasa, dkk., 2008). Sel kapang akan menghidrolisis sukrosa membentuk glukosa dan fruktosa untuk produksi ethanol, sedangkan bakteri akan mengkonversi glukosa membentuk asam glukonat dan fruktosa akan membentuk asam asetat. *Acetobacter* sp dalam kultur kombucha mengoksidasi etanol menjadi asetaldehid selanjutnya menjadi asam asetat. Akumulasi dari masing-masing metabolit selain membentuk asam glukuronat, asam laktat, vitamin, asam-asam amino, antibiotik, serta zat-zat lain

yang bermanfaat untuk kesehatan (Jayabalan, dkk., 2008) dan beraroma spesifik (Dufresne & Farnworth, 2000). Dengan waktu fermentasi yang lama dimungkinkan membentuk komposisi yang lebih baik dibandingkan dengan sebelum fermentasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui komposisi teh kombucha terutama polyfenol dari waktu fermentasi yang berbeda yaitu 1 dan 2 minggu fermentasi pada empat jenis ekstrak teh hijau lokal dengan pembanding (kontrol) teh hitam untuk memperoleh teh kombucha sebagai minuman fungsional untuk anti oksidan.

## METODA PENELITIAN

### Bahan dan Peralatan

Bahan berupa daun teh hijau (kering) lokal varietas *Camellia assamica* grade *Pekoe* dan *Dewata*, *Camellia sinensis* grade *Arraca Kiara* dan *Arraca Yabukita* dari Perkebunan teh PT CAKRA/KABEPE didaerah Ciwidey, Jawa Barat; teh hitam komersial; kultur kombucha; media PDA; bahan kimia untuk analisis dan membran mikrofiltrasi polisulfon komersial GRM-0.2-PP berpori-pori 0.2  $\mu\text{m}$ . Peralatan yang digunakan berupa peralatan ekstraksi skala semi pilot (15 - 25 L), pemanas, peralatan filtrasi (High Separation Frequency); plate & frame type cross-flow membrane filtration modul (LabUnit M20, DSS, Denmark); peralatan fermentasi skala laboratorium (incubator & laminar-flow) dan peralatan gelas. Instrumen utama adalah Spectrofotometer UV-1201.

### Rancangan Penelitian

Pembuatan teh kombucha dari ekstrak (permeat) teh hijau *Camellia assamica* grade *Pekoe* & *Dewata* dan *Camellia sinensis* grade *Arraca Kiara* & *Arraca Yabukita* dengan variasi waktu fermentasi selama 1 dan 2 minggu dengan pembanding teh hitam komersial. Analisis dilakukan meliputi total padatan (Gravimetry), gula reduksi (Somogyi Nelson), total asam (Titrasi) (Anonymous, 1980), L-theanine (Metode Nynhidrin) (Xiao, 2006), Total polifenol (Methode Folin Denis) (Liu, 2006 b).

### Tahapan Proses

Penyeduhan teh hijau dilakukan dengan air panas ( $\pm 90^\circ\text{C}$ ) selama 15 menit pada rasio 1 bagian teh kering dengan total air 15 bagian secara bertahap, filtrasi lolos 200 mesh atau feed (umpan). Umpan dilewatkan sistem mikrofiltrasi modul dengan tekanan operasi 4 bar, frekuensi motor pompa 20 Hz, suhu ruang selama 30 menit (Susilowati, dkk., 2009). Permeat/ekstrak hasil pemurnian merupakan bahan baku dalam fermentasi kombucha. Fermentasi teh kombucha dilakukan dengan membuat starter kombucha pada media PDA dan dibiakkan selama 5 hari pada suhu  $30^\circ\text{C}$  selanjutnya dibuat cairan starter kombucha dengan menuangkan 100 mL aquades steril kedalam biakan kombucha, dikocok dan suspensi selanjutnya dituang sebanyak 5% (v/v) dalam biomasa (permeat /ekstrak) teh hijau yang telah diencerkan (1 bagian permeat dengan 1 bagian air), ditambah dengan sukrosa (10% b/v) dan difermentasi selama 1 dan 2 minggu pada suhu ruang dalam wadah gelas bertutup kain kasa.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### 1. Karakteristik daun kering dan ekstrak teh hijau.

Daun teh hijau kering *Camellia assamica* grade *Pekoe* & *Dewata* masing-masing tampak sebagai gulungan bulat, pendek, kurang seragam, bertekstur agak keras, kurang lentur, berwarna hijau keabuan, sedangkan daun teh hijau kering *Camellia sinensis* grade *Arraca Kiara* & *Arraca Yabukita* lebih seragam, berwarna hijau segar dan bertekstur lebih lembut seperti ditunjukkan pada Gambar 2a, 2b, 2c dan 2d.



Gambar 2. Daun teh hijau kering varietas *Camellia assamica* grade *Pekoe* (a) & *Dewata* (b) dan varietas *Camellia sinensis* grade *Arraca Kiara* (c) & *Arraca Yabukita* (d).

Setelah proses penyeduhan, dihasilkan suspensi berwarna antara hijau tua sampai kuning tua kecoklatan dengan aroma spesifik, berasa sepat yang selanjutnya melalui proses pemurnian menggunakan modul membran mikrofiltrasi 0,2 $\mu$ m dihasilkan permeat (ekstrak) yaitu bagian yang lolos pada membran, dengan gradasi warna kuning sampai kecoklatan. Keempat jenis permeat teh hijau memiliki perbedaan fisik yang dipengaruhi oleh proses pengolahan dan interaksi kondisi proses pemurnian. Diketahui membran mikrofiltrasi 0,2 $\mu$ m akan meloloskan polyfenol lebih banyak dari pada menahannya pada permukaan membran oleh karena ukuran partikelnya (BM antara 200-600 Da) (Liu, 2006a) atau berkisar antara 0,001-0,01  $\mu$ m (Anonymous, 2005). Komposisi permeat sebelum fermentasi ditunjukkan pada Tabel 1.

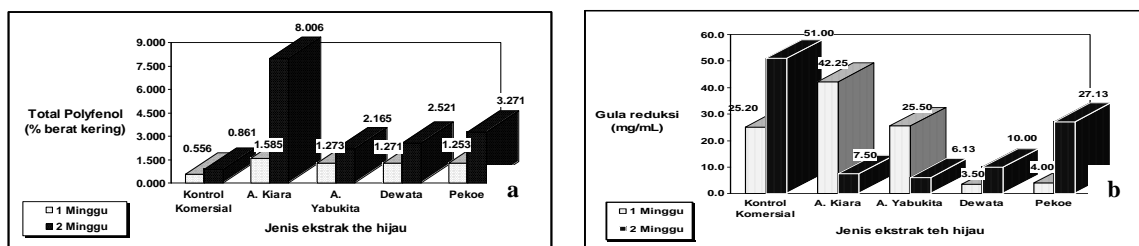
Tabel 1. Komposisi ekstrak teh hijau hasil pemurnian melalui membran mikrofiltrasi 0,2 $\mu$ m

Jenis Komponen.	Jenis ekstrak teh hijau.			
	<i>A. Kiara</i>	<i>A. Yabukita</i>	<i>Dewata</i>	<i>Pekoe</i>
Polyfenol (% b.k)	14,01	13,47	12,988	22,031
L-theanine (% b.k)	1,95	1,29	1,74	1,534
Total Padatan (%)	0,99	1,031	1,054	0,621
Total Asam (%)	0,176	0,132	0,088	0,219
Gula reduksi (mg/mL)	4,75	13,0	7,0	3,0

## 2. Pengaruh waktu fermentasi terhadap komposisi teh kombucha.

### Total Polyfenol (% berat kering) dan Gula reduksi (mg/mL)

Fermentasi kombucha menghasilkan total polyfenol dan gula reduksi teh kombucha seperti ditunjukkan pada Gambar 3a dan 3b. Total polyfenol menunjukkan peningkatan setelah 2 minggu fermentasi pada seluruh jenis ekstrak teh hijau dan kontrol teh hitam komersial. Penambahan sukrosa dalam fermentasi ini akan mengaktifkan enzim-enzim (invertase) mikroba sehingga meningkatkan degradasi komponen teh (TF/Theaflavin dan TR/Thearubigins) sebagai isomer epikatein (EGCG, EGC, ECG dan EC) dan akan meningkatkan total polyfenol (Jabalayan, dkk., 2007). Polyfenol teh dapat bertransformasi menjadi bentuk senyawa lain oleh reaksi-reaksi kimia secara asimilatif dan disimilatif selama fermentasi berlangsung (Liu, 2006 a). Secara keseluruhan optimisasi total polyfenol dicapai oleh *Arraca Kiara* (8,006% b.k), lebih tinggi dibandingkan dengan *Pekoe* (3,271% b.k, *Dewata* (2,1521 % b.k) dan *Arraca Yabukita* (2,165% b.k) dan kontrol teh hitam komersial (0,8610% b.k) pada waktu fermentasi 2 minggu. Pada kondisi ini teh kombucha dari ekstrak teh hijau *Arraca Kiara*, *Arraca Yabukita*, *Dewata* dan *Pekoe* menghasilkan total polyfenol berturut-turut lebih tinggi sebesar 893% atau 8,93x, 151% atau 15,1x, 280% atau 28x dan 193% atau 19,3x, dibandingkan total polyfenol teh kombucha dari teh hitam komersial (0,861%). Gula reduksi pada teh kombucha merupakan metabolit sisa glukosa dan fruktosa yang tidak terhidrolisis oleh bakteri *Acetobacter xylinum* sehingga masih terdeteksi (Anonymous, 1980). Fermentasi kombucha selama 1 dan 2 minggu menurunkan gula reduksi pada biomasa ekstrak teh hijau *A. Kiara*, *A. Yabukita* dan *Dewata*, namun meningkat pada *Pekoe* dan kontrol teh hitam. Diduga, hal ini berkaitan dengan proses pengolahan teh, selain pengaruh konsentrasi polisakarida awal teh, aktifitas enzim invertase dan kondisi. *A. Kiara* dan *A. Yabukita* diolah secara *steam* pada suhu rendah (80°C) sehingga lebih terjaga polysakaridanya, sedangkan *Dewata* dan *Pekoe* diolah secara *fanfiring* pada suhu >175°C (Anonymous, 2007) sehingga banyak komponen teh terdegradasi dan teh hitam komersial mengalami fermentasi alami sehingga memiliki komposisi yang berbeda. Pada *A. Kiara*, *A. Yabukita* seluruh substrat telah habis dihidrolisis pada minggu I sehingga hanya sedikit tersisa pada minggu ke 2, sedangkan pada *Dewata* dan *Pekoe*, kultur lebih sulit beradaptasi sehingga baru menampakkan gula reduksi yang berbeda pada 2 minggu fermentasi. Dibandingkan dengan ekstrak teh sebelum fermentasi (tanpa sukrosa) pada Tabel 1, fermentasi meningkatkan gula reduksi baik pada 1 minggu maupun 2 minggu fermentasi. Optimisasi gula reduksi dicapai pada *A. Kiara* dengan gula reduksi sebesar 42,25 mg/mL, lebih rendah (51 mg/mL) dari gula reduksi teh hitam komersial selama 2 minggu fermentasi.

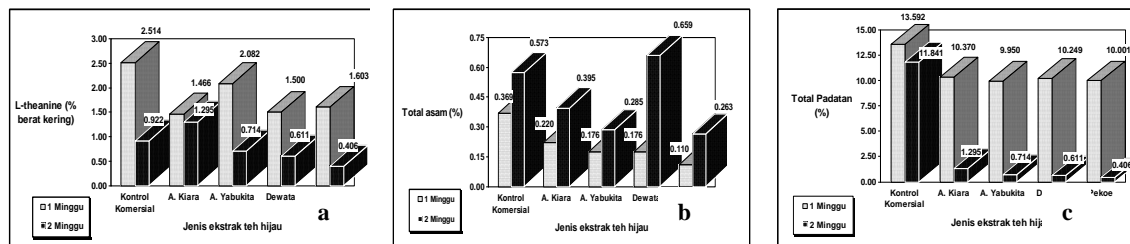


Gambar 3. Hubungan antara jenis ekstrak teh hijau (1:1) dengan waktu fermentasi terhadap total polyfenol (a) dan gula reduksi (b) teh kombucha.

### L-theanine (% berat kering), Total Asam (%) dan Total Padatan (%)

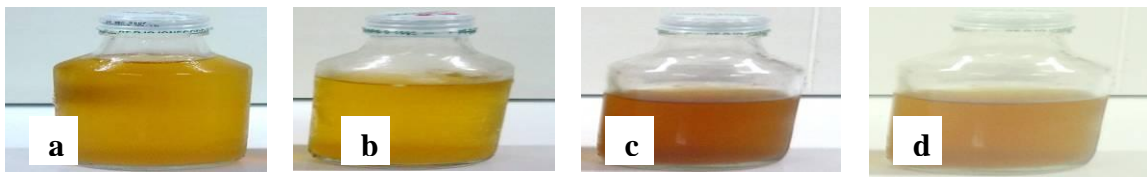
L-theanine adalah asam amino unik berperan penting dalam formasi neurotransmitter gamma-aminobutyric acid (GABA) yang selanjutnya akan memberikan rasa rileks tanpa menyebabkan rasa berdebar (Adham, dkk., 2006), sedangkan total asam merupakan parameter penting dalam fermentasi kombucha sebagai metabolit yang dihasilkan mikroba selama fermentasi berlangsung (Malbasa, dkk., 2008) dan total padatan merupakan akumulasi seluruh komponen teh baik terlarut maupun tak terlarut. Dalam fermentasi kombucha, L-theanine dan asam-asam amino yang lain berperan dalam terbentuknya aroma teh keseluruhan oleh proses biogenesis kultur kombucha, selain dari komponen lain (Chlorophyll, carotenoids, lipid dan volatile komponen yang diketahui terdapat >600 jenis molekul pada daun teh) (Dufresne dan Farnworth, 2000). Pada waktu fermentasi 2 minggu terjadi penurunan L-theanine pada seluruh jenis ekstrak teh yang diduga ini disebabkan digunakannya L-theanine sebagai sumber protein kultur kombucha untuk pertumbuhannya atau reaksi-reaksi yang berkaitan dengan metabolisme mikroba, selain dugaan bahwa L-theanine telah bereaksi dengan komponen teh lain untuk menghasilkan aroma teh kombucha yang spesifik sehingga tidak terdeteksi lagi sebagai L-theanine. Meskipun demikian, dibandingkan dengan ekstrak teh hijau sebelum fermentasi, terjadi peningkatan L-theanine pada *A. Yabukita* dan *Pekoe*, namun penurunan L-theanine pada *A. Yabukita* dan *Dewata* pada 1 minggu fermentasi. Optimisasi L-theanine dicapai pada *A. Yabukita* dengan L-theanine sebesar 2,082 % (berat kering), lebih rendah (2,514% berat kering) dari pada L-theanine teh hitam komersial selama 1 minggu fermentasi seperti ditunjukkan pada Gambar 4a. Terhadap total asam, fermentasi kombucha 2 minggu menghasilkan total asam yang lebih tinggi dari pada 1 minggu pada seluruh ekstrak teh hijau dan kontrol teh hitam seperti ditunjukkan pada Gambar 4b. Hal ini diduga berkaitan dengan terjadinya reaksi-reaksi kimia secara asimilatif dan disimilatif oleh kultur kombucha selama fermentasi berlangsung. Biotransformasi glukosa dan fruktosa oleh bakteri asam asetat (*Acetobacter*) terutama *A. xylinum* akan menghasilkan asam glukonat dan asam-asam organik lainnya yaitu asam laktat, asam malat, asam oksalat, asam butirat, asam glururonik (Anonymous, 2008) yang terhitung sebagai total asam. Ekstrak teh hijau *Dewata* menghasilkan total asam lebih tertinggi (0,659 %) dibandingkan dengan *Arraca Kiara* (0,395%), *Arraca Yabukita* (0,285%), *Pekoe* (0,263%) dan teh hitam komersial (0,573%) pada fermentasi 2 minggu oleh aktifitas enzim invertase *Acetobacter* dan konsentrasi awal dan metode pengolahannya. Pada 2 minggu fermentasi perolehan gula reduksi sebagai metabolit sisa yang tak terhidrolisis yang diperlihatkan pada Gambar 5 menunjukkan bahwa ekstrak teh hijau *Dewata* tidak lebih tinggi (10 mg/mL) dari pada *Pekoe* (27,13 mg/mL), *A. Yabukita* (6,13 mg/mL) dan *A. Kiara* (7,6 mg/mL), dengan kata lain hampir seluruh perolehan glukosa dan fruktosa pada *Dewata*, *A. Yabukita* dan *A. Kiara*, dihidrolisis membentuk asam-asam organik sebagai total asam. Dibandingkan dengan total asam ekstrak teh hasil mikrofiltrasi, fermentasi kombucha meningkatkan total asam pada *Arraca Kiara*, *Arraca Yabukita*, *Dewata* dan *Pekoe* berturut-turut sebesar 55,45, 53,75, 86,64 dan 16,86% pada 2 minggu fermentasi, atau optimisasi total asam dicapai pada *Dewata* dengan total asam sebesar 0,659 % (berat kering), lebih tinggi dari pada total asam teh hitam komersial (0,5733% berat kering) selama 2 minggu fermentasi. Terhadap total padatan, laju fermentasi memperlihatkan peningkatan pada minggu ke 1, namun pada fermentasi minggu ke 2 terjadi penurunan total padatan pada seluruh jenis ekstrak teh seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4c. Peningkatan total padatan pada minggu ke 1 diduga disebabkan kontribusi sukrosa (10% b/v) dan

kultur kombucha (0,5% v/v) dan hasil metabolit kultur kombucha yang masih pada komponen antara (intermediate) yaitu glukosa dan fruktosa. Semakin bertambah waktu fermentasi komponen-komponen tersebut membentuk komponen volatil (asam-asam organik) dan etanol yang lebih mudah menguap dan polyfenol dengan berat molekul rendah dan ukuran partikel yang lebih kecil yang secara keseluruhan menurunkan total padatan. Dibandingkan dengan total padatan awal bahan, fermentasi 2 minggu meningkatkan total padatan pada *Arraca Kiara* dan *Arraca Yabukita* masing-masing sebesar 30,82 dan 30,75%, namun menurunkan total padatan pada *Dewata* dan *Pekoe* masing-masing sebesar 42 dan 34,64%. Optimisasi total padatan dicapai pada *Arraca Kiara* dengan total padatan sebesar 1,295 %, lebih rendah dari pada total padatan teh hitam komersial (11,841%) selama 2 minggu fermentasi.



Gambar 4. Hubungan antara jenis ekstrak teh hijau (1:1) dengan waktu fermentasi terhadap L-theanine (a), total asam (b) dan total padatan (c) teh kombucha.

Dari fermentasi teh kombucha selama 2 minggu dihasilkan biomasa teh kombucha dengan komposisi dan kualitas fisik seperti yang ditunjukkan pada Gambar 5a, 5b, 5c dan 5d.



Gambar 8. Biomasa teh kombucha dari ekstrak teh hijau *Arraca Kiara* (a), *Arraca Yabukita* (b), *Dewata* (c) dan *Pekoe* (d)

Teh kombucha dari *Arraca Kiara* dan *Arraca Yabukita* berwarna kuning kecoklatan, lebih terang dan lebih jernih dibandingkan dengan *Dewata* dan *Pekoe*. Dibandingkan dengan ekstrak teh hijau sebelum fermentasi, secara keseluruhan biomasa tampak lebih keruh oleh karena hanya difiltrasi lolos 0 mesh untuk memisahkan mikroba/kultur kombucha.

## KESIMPULAN

Ekstrak teh hijau *Arraca Kiara* dan *Arraca Yabukita* menghasilkan teh kombucha yang jernih, lebih terang, gradasi warna antara kuning muda-kecoklatan, beraroma segar dan asam, sedangkan *Dewata* dan *Pekoe* sedikit lebih kental, warna lebih coklat dan aroma yang lebih asam menyerupai vinegar. Semakin lama fermentasi akan meningkatkan total polyfenol dan total asam, namun menurunkan L-theanine, gula reduksi dan total padatan pada seluruh jenis ekstrak teh. Berdasarkan kandungan total polyfenol, fermentasi selama 2 minggu menghasilkan teh kombucha dengan komposisi yang lebih baik dari pada 1 minggu. Optimisasi jenis ekstrak teh hijau terbaik dicapai oleh *Arraca Kiara* dengan komposisi total polyfenol, L-theanine, total padatan, total asam dan gula reduksi berturut-turut sebesar 8,06 % (b.k), 1,2951% (b.k), 11,841%, 0,395 % dan 7,5 mg/mL. Pada kondisi ini ekstrak teh hijau *Arraca Kiara*, *Arraca Yabukita*, *Pekoe*, *Dewata* menghasilkan total polyfenol berturut-turut sebesar 8,006, 2,165, 2,521 dan 3,271 % (berat kering) atau berturut-turut lebih tinggi sebesar 893% atau 8,93x, 151% atau 15,14x, 193% atau 19,3x dan 280% atau 28x, dibandingkan total polyfenol hasil teh kombucha dari teh komersial (0,861%).

**DAFTAR PUSTAKA**

- Adham, M. A., S. Higashiguchi, K. Horie, Mujo, K., H. Hatta, H. Yokogoshi. 2006. Relaxation and Immunity enhancement effects of  $\gamma$ -Aminobutyric Acid (GABA). *Journal of BioFactors* 26 (3) 201 – 208.
- Anonymous. 2005. Membrane Technology for Process Industry, [http www.pcims.com./images/TP105.5us. pdf](http://www.pcims.com./images/TP105.5us.pdf); PCI Membrane System Inc., Milford, U.S.A.
- Anonymous. 2007. Proses pembuatan teh hijau, Katalog, PT KBP Chakra, Bandung;
- Anonymous. 1980. Official Methods of Analysis, Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C.
- Dufresne, C and Farnworth, E. 2000. Tea, kombucha, and health : a review, *Food Res Int* 33 (6), 409 – 421, C, online at [www.elsevier.com/locate/foodres](http://www.elsevier.com/locate/foodres).
- Gong, Z.H. 2006. Tea Beverage Processing. Principle and Technology of Tea Comprehensive Processing, International Training Workshop of Tea Science, Hunan Agricultural University, Changsa, Hunan, P.R. China, 21 Juli-10 Agustus;
- Liu, Z. 2006 a. Heathcare Functions of Tea and Global Nutraceuticals Industry .Principle and Technology of Tea Comprehensive Processing, International Training Workshop of Tea Science, Hunan Agricultural University, Changsa, Hunan, P.R. China, 21 Juli-10 Agustus.
- Liu, Z. 2006 b. New techniques for tea catechins extraction. In : International Training Workshop of Tea Science, Hunan Agricultural University. China, 21 July – 10 August.
- R. Malbasa, E. Loncar, M. Djuric. 2008. Comparison of the products of Kombucha fermentation on sucrose and milasses, *Journal of Food Chemistry* 106 (2008) 1039-1045, online at [www.elsevier.com/locate/foodchem](http://www.elsevier.com/locate/foodchem).
- R. Jayabalan, S. Marimuthu, K.Swaminathan. 2007. Changes in free scavenging ability of kombucha tea during fermentation, *Journal of Food Chemistry* 109 (2008) 227-234, online at [www.elsevier.com/locate/foodchem](http://www.elsevier.com/locate/foodchem)
- Susilowati, A, Aspiyanto, Sri Moerniati, Melanie, H dan Maryati,Y. 2009. Teknik Pemisahan L-Theanine dari Teh Hijau (*Camellia sinensis*) melalui sistem Multifiltrasi, Laporan Kegiatan Akhir Tahun Kegiatan Program Insentif Peneliti dan Perekayasa Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia-Departemen Pendidikan Nasional, Pusat Penelitian Kimia-LIPI, PUSPIPTEK-Serpong.
- Xiao, W. 2006. Processing and determination of L-theanine : Principle and technology of tea comprehensive processing. International Training Workshop of Tea Science, Hunan Agricultural University, Changsa, Hunan, P.R. China, 21 Juli-10 Agustus.