

PROFIL METABOLIT MINUMAN FERMENTASI KOMBUCHA DAUN CENGKEH (*SYZYGIUM AROMATICUM* (L.) MERR. & L. M. PERRY)

Agustina Monalisa Tangapo* & Erika Kolompoy

Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Sam Ratulangi, Jl. Kampus UNSRAT, Manado, 95115

*Email: agustina.tangapo@unsrat.ac.id

Abstrak

Kombucha merupakan minuman fermentasi yang kaya akan manfaat bagi kesehatan. Umumnya fermentasi kombucha dapat menggunakan berbagai jenis daun sebagai substrat. Dalam penelitian ini kombucha difermentasi menggunakan substrat daun cengkeh sebagai media fermentasi. Daun cengkeh yang diketahui mengandung senyawa fenolik yang tinggi sehingga dapat meningkatkan kandungan antioksidan kombucha. Pendekatan analisis metabolomik dilakukan agar diperoleh informasi profil metabolit kombucha untuk mengetahui manfaat dari kombucha. Tujuan penelitian ini adalah menganalisis profil metabolit minuman fermentasi kombucha daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*). Proses fermentasi kombucha daun cengkeh dilakukan selama tujuh hari dengan konsentrasi gula 10%, 0,8% daun cengkeh, dengan penambahan SCOBY dan 10% starter larutan kombucha sebelumnya. Analisis profil metabolit dilakukan menggunakan GC-MS. Hasil analisis metabolomik tak-tertarget pada kombucha daun cengkeh memperoleh 25 senyawa metabolit yang didominasi oleh senyawa 3-Deoxy-d-mannoic lactone (22,8%); 5-Mercaptotetrazole (13,77%); dan 5-Hydroxymethylfurfural. Penelitian ini menambah pengetahuan tentang profil metabolit kombucha berbasis daun cengkeh dan bioaktivitas kombucha daun cengkeh melalui analisis dari hasil metabolit yang teridentifikasi. Informasi dari hasil penelitian ini dapat meningkatkan inovasi produk minuman fungsional berbasis fermentasi.

Kata kunci: cengkeh, fermentasi, kombucha, metabolomik, senyawa bioaktif

Abstract

Kombucha is a fermented beverage known for its numerous health benefits. Generally, kombucha fermentation can utilize various types of leaves as substrates. In this study, kombucha was fermented using clove leaves as the fermentation medium. Clove leaves are known to contain high levels of phenolic compounds, which can enhance the antioxidant content of kombucha. A metabolomic analysis approach was employed to obtain information on the metabolite profile of kombucha and to determine its potential health benefits. The aim of this study was to analyze the metabolite profile of clove leaf (*Syzygium aromaticum*) fermented kombucha. The fermentation process was carried out for seven days using 10% sugar, 0.8% clove leaves, with the addition of SCOBY and 10% of a starter from previously fermented kombucha. Metabolite profiling was conducted using GC-MS analysis. The untargeted metabolomic analysis of clove leaf kombucha identified 25 metabolites, predominantly 3-Deoxy-d-mannoic lactone (22.8%), 5-Mercaptotetrazole (13.77%), and 5-Hydroxymethylfurfural. This study contributes to the understanding of the metabolite profile and bioactivity of clove leaf-based kombucha through analysis of the identified metabolites. The findings of this research may support the development of innovative functional fermented beverages.

Keywords: clove, fermentation, kombucha, metabolomics, bioactive compounds

PENDAHULUAN

Minuman fermentasi, termasuk kombucha, telah mendapat perhatian luas dalam dekade terakhir karena berpotensi memberikan manfaat kesehatan melalui kandungan metabolit bioaktif. Kombucha dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan, anti mikroba, hingga potensi dalam meningkatkan kesehatan gastrointestinal melalui modulasi mikrobiota usus (Jayabalan et al., 2014). Sebuah tinjauan sistematis terbaru menekankan bahwa fermentasi tidak hanya meningkatkan ketersediaan senyawa bioaktif dari substrat, tetapi juga menghasilkan metabolit baru dengan relevansi fisiologis (Kapp & Sumner, 2019). Selain itu, arah penelitian kombucha telah berkembang dari sekadar karakterisasi kimia sederhana menjadi kajian berbasis multi-omik. Analisis metagenomik dan metabolomik telah digunakan untuk memahami hubungan antara konsorsium mikroba *Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast* (SCOBY), perubahan kimia, serta aktivitas biologis kombucha. Pendekatan ini memungkinkan pemetaan lintasan metabolik spesifik yang berkontribusi terhadap rasa, aroma, dan manfaat fungsional minuman fermentasi tersebut (Villarreal-Soto et al., 2020).

Tren global minuman fungsional mendorong eksplorasi substrat non-konvensional berbasis tanaman obat atau rempah dengan kandungan fitokimia tinggi. Daun merupakan bagian tanaman yang kaya akan polifenol, flavonoid, dan tanin, sehingga potensial diolah melalui fermentasi untuk meningkatkan bioaktivitasnya. Kajian terbaru menunjukkan bahwa penggunaan bahan non-tradisional dalam kombucha dapat memperkuat aktivitas antioksidan dan memperluas potensi terapeutik (Zubaidah et al., 2018). Dalam konteks etnofarmakologi, daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) memiliki dasar empiris dan ilmiah yang kuat. Daun

cengkeh dikenal kaya akan eugenol dan senyawa fenolik lain dengan aktivitas antioksidan, antiinflamasi, dan anti mikroba (Aldabaan et al., 2024). Oleh karena itu, substrat ini menjadi kandidat menarik untuk difermentasi menjadi minuman fungsional.

Profil metabolit sekunder kombucha ditentukan oleh dua faktor utama yaitu fermentasi oleh mikroba dan karakteristik kimia substrat. Mikroba dalam SCOBY menghasilkan biotransformasi yang mengubah polifenol kompleks menjadi bentuk turunan yang lebih bioavailable, serta memproduksi asam organik, etanol, dan senyawa volatile (Bishop et al., 2022). Namun, bukti kuat juga menunjukkan pengaruh substrat terhadap metabolit akhir. Jenis daun atau teh yang digunakan akan menentukan kandungan awal fenolik dan flavonoid yang menjadi dasar biotransformasi mikroba. Perbandingan berbagai jenis teh sebagai substrat telah membuktikan adanya perbedaan signifikan pada profil metabolit kombucha (Villarreal-Soto et al., 2020).

Penelitian kombucha modern banyak memanfaatkan analisis metabolomik untuk mengidentifikasi metabolit kunci selama fermentasi. Kajian berbasis daun cengkeh masih terbatas, meskipun penelitian efek substrat pada kombucha berbasis teh (*Camellia sinensis*) sudah cukup banyak. Hal ini penting mengingat daun cengkeh kaya fitokimia unik dengan potensi manfaat kesehatan yang berbeda. Penelitian profil metabolit sekunder pada kombucha berbahan daun cengkeh dapat mengidentifikasi biomarker spesifik, dan mendukung pengembangan minuman fungsional berbasis bahan lokal yang terstandar. Pendekatan ini dapat memperkuat inovasi pangan fungsional dan diversifikasi produk berbasis sumber daya hayati lokal. Tujuan penelitian ini adalah menganalisis profil metabolit sekunder yang dihasilkan pada minuman fermentasi kombucha dengan substrat daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L. Merr. & L.M. Perry) menggunakan pendekatan metabolomik berbasis GC-MS.

METODOLOGI

Fermentasi kombucha daun cengkeh

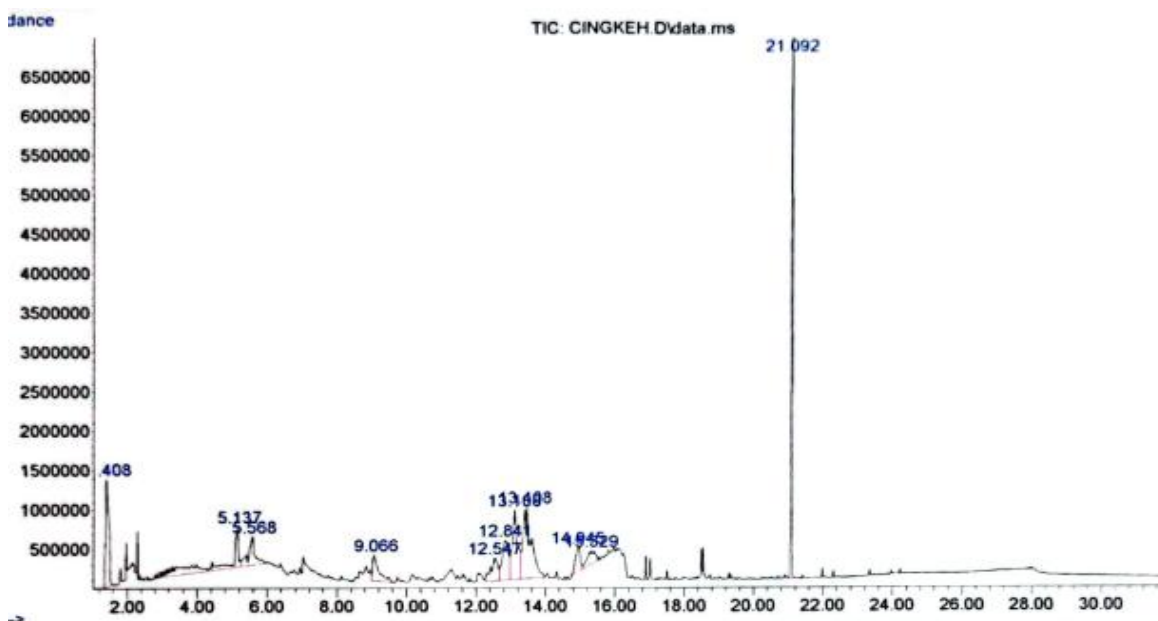
Pembuatan kombucha dengan menyiapkan wadah fermentasi yang sudah disterilkan dengan masing-masing berisi 1000 ml akuades yang telah direbus hingga mendidih. Kemudian ditambahkan delapan gram (0,8%) daun cengkeh dan dimasukkan ke dalam wadah tersebut. Selanjutnya, ditambahkan 10% gula, dan diaduk sampai gula larut. Setelah semua tahapan selesai, didinginkan sampai suhu ruang. Setelah itu, ditambahkan SCOBY dan starter kombucha 100 ml. Kemudian fermentasi kombucha dilakukan selama tujuh hari pada suhu ruangan (Sanggor et al., 2024).

Analisis GC-MS

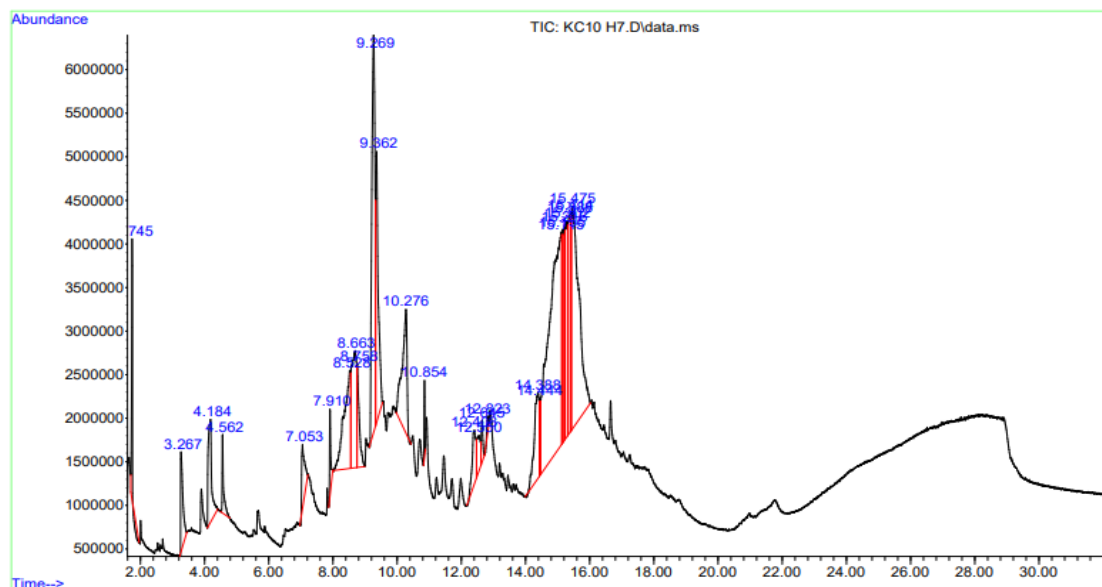
Sampel kombucha berbahan daun cengkeh disiapkan untuk analisis metabolomik menggunakan instrumen GC-MS Agilent 8890 GC System yang dilengkapi dengan kolom HP-5MS. Cairan kombucha terlebih dahulu difiltrasi menggunakan perangkat Extrelut sebelum diinjeksikan ke dalam sistem. Volume injeksi berkisar antara 0,2 hingga 1 µL dengan pelarut metanol. Preparasi sampel dilakukan dengan melarutkan tiga gram bahan dalam metanol, kemudian larutan tersebut dimasukkan ke injektor. Kondisi analisis ditetapkan dengan suhu injektor 290 °C, split ratio 50:1, dan gas pembawa helium pada laju alir 1 mL/menit. Program suhu kolom dimulai dari 40°C, kemudian dinaikkan 15°C per menit hingga mencapai 290°C dan ditahan selama 10 menit. Deteksi dilakukan dengan MSD dengan *solvent delay* 2,6 menit, sedangkan pengolahan data menggunakan perangkat lunak MassHunter Workstation Quantitative Analysis versi 10.0.707.0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil kromatografi GC-MS kombucha daun cengkeh menunjukkan adanya 11 kromatogram *base peak* sebelum fermentasi dan 25 senyawa metabolit setelah fermentasi (Gambar 1). Semua area tersebut kemudian diidentifikasi secara kualitatif melalui metode perbandingan data spektrum yang diperoleh dengan data spektrum di bank data. Senyawa metabolit yang diperoleh dari GC-MS selanjutnya diidentifikasi untuk mengetahui apakah senyawa yang terdapat pada sampel merupakan antioksidan. Hal ini dilakukan dengan mencari rantai senyawa di database PubChem dan kemudian menyalin rantai yang diperoleh ke way2drug.com untuk mengetahui potensi senyawa metabolit tersebut. Hasil analisis metabolomik tak-tertarget menggunakan GC-MS dapat dilihat pada Gambar 1 untuk teh daun cengkeh (sebelum difermentasi) dan Gambar 2 untuk kombucha cengkeh setelah tujuh hari fermentasi.



Gambar 1. Hasil GC-MS Teh Daun Cengkeh



Gambar 2. Kombucha Daun Cengkeh Setelah Tujuh Hari Fermentasi

Tabel 1. Kandungan Senyawa Teh Daun Cengkeh

No	Waktu Retensi (Menit)	Nama Senyawa	Luas Area (%)
1	1.408	Hydroxylamine, 0-methyl	10,11
2	5.137	Ethanol, 2,2'-oxybis	12,28
3	5.568	2-Hydroxy-gamma-butyrolactone	5,41
4	9.066	5-Hydroxymethylfurfural	4,82
5	12.547	Pentanoic acid, butyl ester	4,42
6	12.841	9-Ocyadecenoic acid	7,56
7	13.108	2-Butenoic acid, ethyl ester	10,72
8	13.408	Glukukrolakton	17,10
9	14.945	1,3,4,5-Tetrahydroxycyclohexanecar	2,80
10	15.329	3-Deoxy-d-mannoic lacton	3,12
11	21.092	Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester	21,67

Tabel 2. Kandungan Senyawa Kombucha Daun Cengkeh Setelah Fermentasi Tujuh Hari

No	Waktu Retensi (Menit)	Nama Senyawa	Luas Area (%)	Potensi Fungsi
				Antioksidan (Hardoko <i>et al.</i> , 2019)
				Antioksidan (way2drug.com)
				Antidepresan (way2drug.com)
1	1.745	Acetic acid	1,15	Antibakteri (way2drug.com)
2	3.267	Diglycolic acid	1,75	Ophthalmic (way2drug.com)
3	4.184	N-Methyl-D3-aziridine	2,96	Antioksidan (Isdar <i>et al.</i> 2023)
4	4.562	4,5-Dihydro-2-methylimidazole-4-on	0,87	
5	7.053	Pyrimidine-4,6-diol, 5-methyl-	1,42	
6	7.910	4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-di hydroxy-6-methyl	0,75	Antioksidan (Rassem <i>et al.</i> , 2018)
7	8.528	Propanal, 2,3-dihydroxy	5,18	Antioksidan (Ga dan Cinthya, 2022)
8	8.663	Erythritol	4,72	Antioksidan (Rassem <i>et al.</i> , 2018)
9	8.758	Propanal, 2,3-dihydroxy	1,92	
10	9.269	5-Hydroxymethylfurfural	9,95	Antioksidan (Zhao <i>et al.</i> , 2013)
11	9.362	1,2,3-Propanetriol, 1-acetate	5,75	Antioksidan (way2drug.com)
12	10.276	4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-di hydroxy-6-methyl	4,87	Antioksidan (Isdar <i>et al.</i> , 2023)
13	10.854	Eugenol	0,37	
14	12.408	Propanediamide, 2-amino-	1,65	Antioksidan (Prabawati <i>et al.</i> , 2015)
15	12.550	Butanoic acid, 3-oxo-, propyl ester	1,05	Antibiotik (way2drug.com)
16	12.645	1-(2-Methyl -1,2,4-triazol-3-yl) ethanone	0,53	Antioksidan (way2drug.com)
17	12.283	D-erythro-Pentose, 2-deoxy	0,14	Antivirus (way2drug.com)
18	14.388	Gluc-octanoic acid lactone	3,35	Antioksidan (way2drug.com)
19	15.115	3-Deoxy-d-mannoic lactone	22,8	Antioksidan (way2drug.com)
20	15.155	5-hydroxy-2-methyl-1,3-dioxane	1,89	Antioksidan (Anjarsari <i>et al.</i> , 2020)
21	15.216	1,4-Anhydro-d-galactitol	2,83	
22	15.302	1,4-Anhydro-d-galactitol	4,13	Antioksidan (way2drug.com)
23	15.388	Ethyl trans-3-methyl-2	4,19	Antioksidan (way2drug.com)
24	15.414	Oxiranecarboxylate	1,33	Antioksidan (way2drug.com)
25	15.475	5-Mercaptotetrazole	13,77	Antidiabetes (way2drug.com)
				Antioksidan (Sezgin <i>et al.</i> , 2022)
				Antibakteri (way2drug.com)

Hasil GC-MS menunjukkan bahwa senyawa metabolit yang ada pada kombucha cengkeh berbeda dengan teh daun cengkeh yang tidak difermentasi. Teh daun cengkeh memperoleh 11 senyawa metabolit (Tabel 1) dan kombucha cengkeh setelah fermentasi 7 hari memperoleh 25 senyawa metabolit (Tabel 2). Senyawa yang dihasilkan pada teh daun cengkeh berbeda dengan kombucha cengkeh. Hal ini disebabkan oleh perubahan kondisi fermentasi yang mempengaruhi sintesis dan degradasi senyawa metabolit (Lee *et al.*, 2019). Fermentasi dapat mempengaruhi aktivitas enzim, pH, suhu, dan konsentrasi substrat, sehingga dapat mempengaruhi sintesis senyawa metabolit. Aktivitas enzim, seperti enzim oksidase dan reduktase, berperan penting dalam sintesis dan degradasi senyawa metabolit. Fermentasi juga dapat mempengaruhi aktivitas enzim, sehingga menghasilkan perubahan pada profil senyawa metabolit.

Berdasarkan hasil GC-MS yang diperoleh menunjukkan kombucha cengkeh mengandung 25 senyawa metabolit setelah difermentasi dan terdapat tiga senyawa yang mendominasi dengan luas area (%) tertinggi yaitu senyawa 3-Deoxy-d-mannoic lactone (22,8%); 5-Mercaptotetrazole (13,77%); 5-Hydroxymethylfurfural (9,95%). Ketiga senyawa tersebut diketahui memiliki potensi sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidan dari kombucha daun cengkeh tidak hanya dari ketiga senyawa tersebut, namun juga dari senyawa-senyawa lainnya yang terkandung pada kombucha daun cengkeh sesuai hasil analisis GC-MS, yaitu Acetic acid; Diglycolic acid; 4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-di hydroxy-6-methyl; Propanal, 2,3-dihydroxy-, (S)-; Erythritol; 1,2,3-Propanetriol, 1-acetate; Eugenol; Butanoic acid, 3-oxo-, propyl ester; D-erythro-Pentose, 2-deoxy-; Gluc-octanoic acid lactone; 5-hydroxy-2-methyl-1,3-dioxane; 1,4-Anhydro-d-galactitol; 1,4-Anhydro-d-galactitol; dan Oxiranecarboxylate.

Berdasarkan analisis literatur, senyawa *3-Deoxy-d-mannioic lactone* yang memiliki luas area tertinggi pada kombucha daun cengkeh, termasuk senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri dan antioksidan. Mannioic lactone termasuk senyawa yang memberikan rasa dan bau khas (Anjarsari *et al.*, 2020). Senyawa ini juga diperoleh dengan area tertinggi pada penelitian yang dilakukan oleh Ghosh *et al.* (2015). Hasil penelitian mereka menunjukkan *3-Deoxy-d-mannioic lactone* pada daun *Clerodendrum viscosum* dengan % area tertinggi yaitu 35,69%. Sebelumnya juga telah dilaporkan senyawa ini juga merupakan antioksidan yang menangkal radikal bebas dan *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Rashad *et al.*, 2023).

Senyawa *5-Mercaptotetrazole* (13,77%) merupakan senyawa yang dapat ditemukan pada gandum dan berperan dalam sebagai agen perlakuan pendahuluan pada biji dan mengurangi dampak negatif dari situasi stres kadmium dalam perkecambahan biji (Hameed, 2020). Senyawa *5-Mercaptotetrazole* merupakan senyawa turunan tetrazol dengan atom belerang yang terikat pada cincin tetrazol, struktur kimianya menunjukkan senyawa ini mampu menangkap radikal bebas. Namun, diperlukan lebih banyak penelitian lebih lanjut untuk memahami sepenuhnya efek biologis dan potensi manfaat kesehatan dari senyawa ini.

Senyawa *5-Hydroxymethylfurfural* dengan % area 9,95 merupakan senyawa yang memiliki manfaat sebagai antioksidan. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Zhao *et al.* (2013) menunjukkan *5-Hydroxymethylfurfural* (5-HMF) memiliki kekuatan antioksidan yang dapat membantu mencegah terjadinya radikal bebas (ROS) dan memperlambat proses oksidasi. Senyawa ini juga diketahui dapat mengendalikan radikal bebas 2,2-Azinobis-3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic Acid (ABTS) dan DPPH, yang merupakan salah satu dari tiga jenis radikal bebas yang paling umum, serta dapat mengurangi kandungan radikal bebas dan *monooksida malondialdehyde* (MDA) dalam eritrosit.

KESIMPULAN

Analisis metabolomik tak-tertarget pada kombucha daun cengkeh memperoleh 25 senyawa metabolit yang didominasi oleh senyawa *3-Deoxy-d-mannioic lactone* (22,8%); *5-Mercaptotetrazole* (13,77%); dan *5-Hydroxymethylfurfural*. Fermentasi dan jenis substrat yang digunakan mempengaruhi profil metabolit kombucha.

DAFTAR PUSTAKA

- Aldabaan, N. A., Turakani, B., Mahnashi, M. H., Shaikh, I. A., Alhazmi, A. Y., Almasoudi, H. H., Abdulaziz, O., Khuwaja, G., Khan, A. A., Basavegowda, N., Dafalla, S. E., Muddapur, U. M., & Iqbal, S. M. S. (2024). Evaluation of antimicrobial, anticancer, antidiabetic, antioxidant activities and silver nanoparticles synthesized from Indian Clove- *Syzygium aromaticum* leaf extract. *Journal of King Saud University - Science*, 36(4). <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2024.103142>
- Bishop, P., Pitts, E. R., Budner, D., & Thompson-Witrick, K. A. (2022). Kombucha: Biochemical and microbiological impacts on the chemical and flavor profile. In *Food Chemistry Advances* (Vol. 1). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100025>
- Jayabalan, R., Malbaša, R. V., Lončar, E. S., Vitas, J. S., & Sathishkumar, M. (2014). A review on kombucha tea-microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. In *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* (Vol. 13, Issue 4). <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12073>
- Kapp, J. M., & Sumner, W. (2019). Kombucha: a systematic review of the empirical evidence of human health benefit. *Annals of Epidemiology*, 30. <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2018.11.001>
- Sanggor, J., Kolompoy, E., Taroreh, J., Saranga, R., & Tangapo, A. M. (2024). Psikobiotik Kombucha Cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry) Sebagai Alternatif Herbal Antidepresan. *Berita Biologi*, 23(2), 235–247. <https://doi.org/10.55981/beritabiologi.2024.2125>
- Villarreal-Soto, S. A., Bouajila, J., Pace, M., Leech, J., Cotter, P. D., Souchard, J. P., Taillandier, P., & Beaufort, S. (2020). Metabolome-microbiome signatures in the fermented beverage, Kombucha. *International Journal of Food Microbiology*, 333. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108778>
- Zubaidah, E., Yurista, S., & Rahmadani, N. R. (2018). Characteristic of physical, chemical, and microbiological kombucha from various varieties of apples. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 131(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/131/1/012040>