

# Profiling Kandungan Senyawa Hasil Fermentasi Kombucha Langsung dengan Metode GC-MS

Isdaryanti<sup>1\*</sup>, Nur Amaliah<sup>1</sup>, Nursyamsi SY<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Pendidikan Biologi, Universitas Sulawesi Barat

Jl. Prof. Dr. Baharuddin Lopa SH, Sulawesi Barat

<sup>1\*</sup>e-mail: [isdaryanti@unsulbar.ac.id](mailto:isdaryanti@unsulbar.ac.id)

## Abstrak

Kombucha saat ini telah menjadi minuman kesehatan yang diminati oleh masyarakat karena kandungan senyawa bioaktifnya yang beragam. Terdapat tren inovasi dalam memperkaya kombucha dengan penambahan buah yang dapat meningkatkan citarasa dan nilai gizinya. Namun, penggunaan buah langsung dalam kombucha merupakan hal yang belum pernah tercatat sebelumnya. Buah langsung sebagai buah lokal diketahui mengandung senyawa-senyawa bioaktif seperti polifenol, flavonoid, dan terpenoid yang memiliki manfaat bagi kesehatan manusia. Sehingga, penggunaan buah langsung sebagai substrat tambahan dalam fermentasi kombucha dapat meningkatkan kandungan senyawa bioaktif. Tujuan utama penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif yang terkandung pada kombucha langsung sehingga dapat digunakan sebagai minuman alternatif bagi kesehatan. Metode penelitian yang digunakan yaitu eksperimental melalui fermentasi terkontrol serta penggunaan alat GC-MS untuk menganalisis kandungan senyawa bioaktif secara kualitatif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat 7 jenis metabolit yang tergolong kedalam -6 kelompok yaitu flavonoid (4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl), asam lemak (dodecanoic acid, 3-hydroxy dan oleic acid), trisakarida (melezitose), disakarida (lactose); dan heterosiklik (methacrylic acid, tetradecyl ester) serta aldehida siklik (5-hydroxymethylfurfural). Senyawa 4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl dan oleic acid adalah senyawa potensial yang memiliki aktivitas antiinflamasi, antimikroba dan antioksidan.

**Kata kunci**— fermentasi, GC-MS, kombucha, langsung, metabolit

## Abstract

*Kombucha has become a popular health beverage due to its diverse range of bioactive compounds. There is an ongoing trend of innovating kombucha by adding fruits to enhance its taste and nutritional value. However, the use of langsung fruit in kombucha is previously unrecorded. Langsung, as a local fruit, is known to contain bioactive compounds such as polyphenols, flavonoids, and terpenoids that have health benefits. Therefore, incorporating langsung fruit as an additional substrate in kombucha fermentation can increase the content of bioactive compounds. The primary goal of this research is to identify the bioactive compounds present in langsung kombucha, making it a potential alternative health beverage. The research methodology involves experimental procedures with controlled fermentation and the use of GC-MS equipment to qualitatively analyze the bioactive compound content. The study's findings reveal the*

*presence of seven types of metabolites classified into six groups: flavonoids, fatty acids, trisaccharides, disaccharides, heterocyclic compounds, and cyclic aldehydes. Among these, compounds like 4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl, and oleic acid show potential for anti-inflammatory, antimicrobial, and antioxidant activities.*

**Keywords**— *fermentation, GC-MS, kombucha, langsung, metabolite*

## 1. PENDAHULUAN

Kombucha, minuman fermentasi asam yang semakin populer di kalangan masyarakat, telah menjadi sorotan penelitian dalam beberapa tahun terakhir. Kombucha dikenal sebagai minuman kesehatan karena mengandung berbagai senyawa dengan sifat antibakteri, antiinflamasi, dan antioksidan yang bermanfaat bagi tubuh. Minuman ini dihasilkan melalui fermentasi campuran gula, teh, dan mikroorganisme tertentu, yang dikenal sebagai SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*). Dalam proses fermentasi kombucha ditemukan berbagai kelompok mikroorganisme, termasuk *Saccharomyces* sp. dan *Schizosaccharomyces* sp. sebagai kelompok ragi serta *Acetobacter pasteurianus*, *Gluconobacter oxydans*, dan *Komagataeibacter* sebagai kelompok bakteri yang berperan dalam pembuatan kombucha [1]. Jenis dan jumlah mikroorganisme yang berperan dipengaruhi oleh komponen substrat dan faktor lingkungan.

Umumnya, gula tebu digunakan sebagai substrat utama dalam proses fermentasi kombucha. Gula tebu berfungsi sebagai sumber energi dan substrat bagi mikroorganisme dalam membentuk aroma, rasa, dan warna kombucha. Hasil fermentasi kombucha mengandung berbagai komponen, termasuk asam organik, asam asetat, asam suksinat, asam piruvat, gula, vitamin, dan asam amino [2,3,4]. Namun, saat ini telah terjadi pergeseran jenis substrat yang digunakan. Hal ini bertujuan meningkatkan kualitas kombucha serta memberikan variasi rasa dan manfaat gizi. Tren inovatif telah mendorong penambahan berbagai jenis buah sebagai substrat tambahan dalam proses fermentasi. Salah satu buah yang menarik perhatian adalah buah langsung (*Lansium domesticum*).

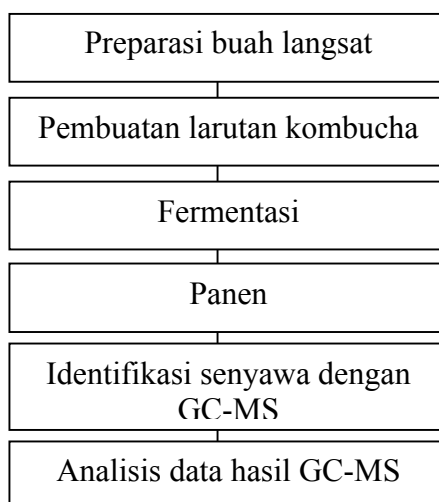
Langsat merupakan buah lokal yang kaya akan senyawa bioaktif seperti polifenol, flavonoid, dan terpenoid [5]. Selain itu, buah ini sangat melimpah di Indonesia serta belum dimanfaatkan dalam pembuatan kombucha serta memiliki karakter rasa yang khas. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk melakukan profiling kandungan senyawa hasil fermentasi kombucha dengan penambahan buah langsung menggunakan metode GC-MS (*Gas Chromatography-Mass Spectrometry*). Metode GC-MS terbukti efektif dalam mengidentifikasi senyawa-senyawa bioaktif dalam berbagai bahan alam, termasuk hasil fermentasi [6,7]. Penelitian ini diharapkan akan memberikan pemahaman yang lebih mendalam tentang jenis senyawa bioaktif yang terkandung dalam kombucha langsung, serta potensi manfaat kesehatannya. Kontribusi penelitian ini diharapkan akan memajukan perkembangan kombucha sebagai minuman kesehatan yang lebih bermanfaat dan berkualitas.

## 2. METODE PENELITIAN

### 2.1 Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Sulawesi Barat. Kegiatan penelitian dilaksanakan pada bulan Juni hingga Agustus 2023.

### 2.1.1 Tahapan penelitian



Gambar 1. Diagram alir metode penelitian

## 2.2 Prosedur penelitian

### 2.2.1 Preparasi buah langsung

Buah langsung yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan buah langsung yang segar serta diambil secara acak. Buah yang telah didapatkan kemudian dicuci, dan dikupas. Daging buah kemudian dihaluskan menggunakan blender. Halusan daging disterilkan pada suhu 60° C selama 5 menit.

### 2.2.2 Pembuatan larutan kombucha

Teh yang digunakan dalam penelitian ini adalah teh lokal yang beredar di pasar tradisional. Sebanyak 8% gram teh dilarutkan dan dipanaskan hingga mendidih, kemudian disaring. Gula sebanyak 20% dimasukkan kedalam larutan teh, kemudian didinginkan pada wadah steril dan tertutup. Larutan teh manis yang telah dingin kemudian ditambahkan 8% larutan langsung kemudian dihomogenkan serta 20% starter ditambahkan kemudian dihomogenkan kembali. Aquadest kemudian ditambahkan hingga mencapai 1 liter.

### 2.2.3 Fermentasi

Larutan kombucha langsung yang telah dibuat kemudian ditutup menggunakan kain steril yang berpori. Larutan tersebut kemudian difermentasi selama 10 hari dengan suhu 30° C hingga 40° C pada ruang terbuka.

### 2.2.4 Panen

Setelah 10 hari fermentasi dilaksanakan pengecekan rasa, bau dan warna. Jika indikator fisik tersebut telah sesuai maka dilaksanakan panen kombucha. Larutan tersebut kemudian dimasukkan kedalam wadah steril untuk diidentifikasi kandungan metabolitnya.

### 2.2.5 Identifikasi senyawa dengan GC-MS

Identifikasi senyawa menggunakan alat instrumental GC-MS dengan versi B.07.05.2479 *Agilent technology, inc* dengan menggunakan metode Hotmian dan de Melo [6,7] yang dimodifikasi. Sampel yang digunakan adalah larutan kombucha yang telah disaring dengan menggunakan kertas saring. Hasil penyaringan kemudian diinjeksikan kedalam instrument GC-MS dengan 3 kali pengulangan. Kolom yang digunakan yaitu 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm dengan suhu 60 hingga 260° C.

### 2.2.6 Analisis hasil GC-MS

Peak yang diperoleh kemudian dianalisis untuk diidentifikasi jenis senyawa yang terkandung dalam kombucha langsung. Puncak kromatogram serta spectrum massa digunakan sebagai standar dalam mengidentifikasi serta mengkonfirmasi hasil indentifikasi senyawa.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### Fermentasi kombucha langsung

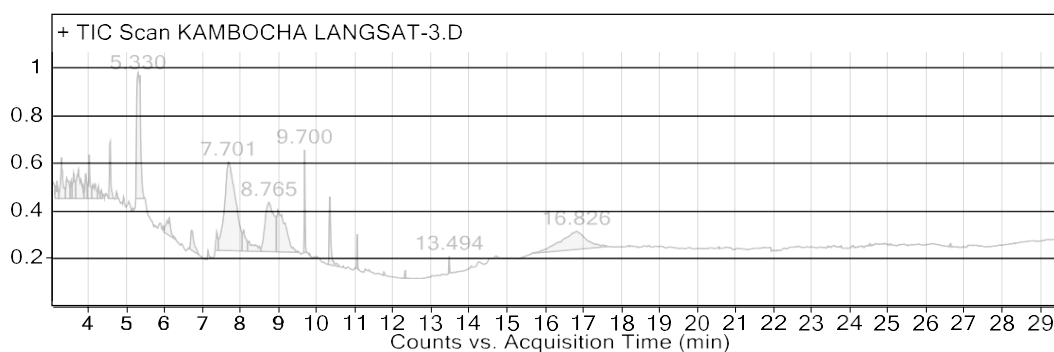
Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan buah langsung dalam kombucha memberikan dampak signifikan pada produk akhir fermentasi (Tabel 1). Karakter dominan yang terlihat dari kombucha langsung adalah bau cuka yang sangat kuat. Bau asam lebih cepat terbentuk pada kombucha dengan penambahan langsung. Sehingga, kehadiran kandungan gula serta asam dari buah menyebabkan terjadinya percepatan aktivitas degradasi oleh mikroorganisme. Oleh karena itu, waktu fermentasi yang tepat untuk kombucha dengan karakter rasa buah manis keasaman adalah 4 hingga 8 hari. Hal ini karena fermentasi yang terlalu lama dapat meningkatkan rasa asam dan konsentrasi asam yang sangat tinggi dapat menimbulkan dampak negatif bagi tubuh seperti kerusakan ginjal serta iritasi pada kulit [10] (Tabel 1).

Tabel 1. Perbedaan kombucha langsung dan kontrol

Indikator	Kombucha langsung	Kontrol
Warna	Coklat kekuningan	Coklat
Bau	Bau asam lebih kuat	Bau asam standar
Kecepatan fermentasi	Sangat cepat	Lambat
Pertumbuhan anakan scoby	Sangat cepat	Lambat

Waktu fermentasi yang singkat pada proses fermentasi kombucha langsung sesuai dengan beberapa hasil penelitian lainnya [8,9]. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa waktu fermentasi terbaik untuk kombucha dengan penambahan buah asam seperti stroberi adalah 4 hari. Sedangkan, waktu fermentasi kombucha orisional umumnya berlangsung 8 hingga 12 hari. Selain itu, penambahan buah langsung dalam kombucha meningkatkan keunikan dari produk akhir yang dihasilkan. Hal ini karena buah langsung memiliki karakter rasa manis-keasaman serta rasa pahit dari bijinya. Oleh karena itu, produk minuman yang dihasilkan memiliki rasa yang khas (Gambar 2).

### Profil metabolit



Gambar 2. Kromatogram hasil GC-MS kombucha langsung


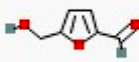

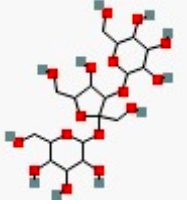
Hasil GC-MS menunjukkan adanya 6 kromatogram *base peak* (Gambar 1). Namun hasil integrasi *peak* menunjukkan adanya 10 area yang diperoleh (tabel 2). Kesepuluh area tersebut kemudian diidentifikasi secara kualitatif melalui metode perbandingan data spektrum yang diperoleh dengan data spektrum di bank data (Tabel 2).

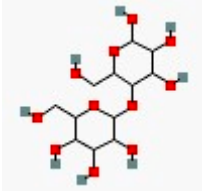
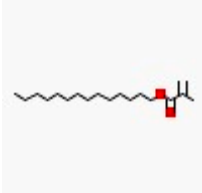
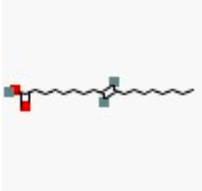
Tabel 2. Integrasi *peak* hasil GC-MS

Peak	Start	RT	End	Height	Area	Area %
1	3.254	3.318	3.42	1713862.5	7201483.52	9.54
2	3.997	4.048	4.112	1839496.5	5148648.02	6.82
3	4.548	4.599	4.697	2373776.5	6119739.3	8.1
4	5.266	5.33	5.496	5270772.5	36770077.59	48.7
5	7.432	7.701	8.06	3709792.97	75508101.23	100
6	8.547	8.765	8.957	2065183.54	34282139.9	45.4
7	8.957	8.996	9.56	1743632.69	28105462.88	37.22
8	9.666	9.7	9.768	4298075.02	5621654.91	7.45
9	10.304	10.354	10.598	2859632.83	9490060.44	12.57
10	11.04	11.072	11.123	1441912.56	1951697.87	2.58

Hasil identifikasi menunjukkan hanya 7 senyawa yang berhasil diidentifikasi sedangkan 3 senyawa lainnya tidak dapat teridentifikasi. Hal tersebut dapat disebabkan oleh adanya kontaminan dalam senyawa tersebut. Selain itu, puncak yang rendah juga merupakan salah satu faktor penyebab lainnya. Oleh karena itu tahapan preparasi sampel sebelum diinjeksi sangat penting untuk dilakukan (Tabel 3).

Tabel 3 Hasil identifikasi metabolit dari GC-MS

No	Nama senyawa	MW	Molecular formula	Struktur 2 Dimensi
1	4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl	144.12 g/mol	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	
2	5-Hydroxymethylfurfural	126.11 g/mol	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	
3	Dodecanoic acid, 3-hydroxy	216.32 g/mol	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> O <sub>3</sub>	
4	Melezitose	504.4 g/mol	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>16</sub>	

5	Lactose	342.3 g/mol	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	
6	Methacrylic acid, tetradecyl ester	282.5 g/mol	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	
8	Oleic acid	282.5 g/mol	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	

Senyawa yang terkandung dalam kombucha langsung adalah hasil metabolit dari mikroba, terutama *Saccharomyces cerevisiae*. Asam oleat, 4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl, dan dodecanoic acid, 3-hydroxy merupakan metabolit dari *Saccharomyces cerevisiae* [11]. Berdasarkan beberapa referensi [12,13,14,15] ketujuh jenis senyawa yang berhasil diidentifikasi, secara umum tidak ditemukan baik pada kombucha original maupun yang telah dimodifikasi. Perbedaan tersebut dapat dipengaruhi oleh perbedaan metode ekstraksi, jenis alat GC-MS yang digunakan serta perbedaan substrat dan mikroflora yang ada pada bahan untuk membuat kombucha. Oleh karena itu, perbedaan senyawa tersebut tidak dapat digunakan sebagai senyawa indikator khas dari kombucha langsung.

Senyawa yang terdapat pada kombucha langsung yang menunjukkan potensi pengembangan yang signifikan berdasarkan referensi, yakni asam oleat dan 4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl. Asam oleat merupakan asam lemak esensial yang diperlukan oleh tubuh manusia, dan telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri, antiinflamasi, serta digunakan dalam berbagai pengobatan, termasuk pengobatan penyakit kanker [16]. Di sisi lain, 4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl diketahui memiliki aktivitas antimikroba, antiinflamasi, dan sifat antioksidan yang signifikan [17]. Oleh karena itu, berdasarkan referensi yang ada, senyawa-senyawa ini memiliki potensi besar sebagai agen antiinflamasi, antibakteri, antijamur, serta manfaat lainnya bagi kesehatan manusia. Akan tetapi, kehadiran senyawa melezitose dalam kombucha juga perlu diperhatikan, hal ini karena senyawa ini tergolong sulit dicerna dan dapat menyebabkan malnutrisi pada lebah. Meskipun belum ada penelitian tentang potensi bahaya pada manusia, dosis senyawa melezitose dalam kombucha perlu diperhitungkan secara cermat [18].

#### 4. KESIMPULAN

Senyawa yang teridentifikasi pada kombucha langsung melalui analisis GC-MS yaitu 4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl; 5-hydroxymethylfurfural; Dodecanoic acid, 3-hydroxy; melezitose; lactose; methacrylic acid, tetradecyl ester; dan oleic acid. Senyawa 4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl dan oleic acid merupakan senyawa potensial yang memiliki aktivitas antioksidan, antimikroba dan antiinflamasi.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada kementerian pendidikan dan kebudayaan riset dan teknologi melalui program pendanaan penelitian dosen pemula (BIMA 2023) penelitian dan publikasi ini dapat dirilis.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] Bishop, P., Pitts, E. R., Budner, D., & Thompson-Witrick, K. A. 2022. Chemical composition of kombucha. *Beverages*, 8(3), 45.
- [2] Li, S., Zhang, Y., Gao, J., Li, T., Li, H., Mastroyannis, A., ... & Chang, K. 2022. Effect of Fermentation Time on Physiochemical Properties of Kombucha Produced from Different Teas and Fruits: Comparative Study. *Journal of Food Quality*, 2022.
- [3] Naufal, A., Harini, N., & Putri, D. N. 2022. Karakteristik Kimia dan Sensori Minuman Instan Kombucha dari Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Berdasarkan Konsentrasi Gula dan Lama Fermentasi. *Food Technology and Halal Science Journal*, 5(2), 137-153.
- [4] Fitriani, P. P. E. Kadar Alkohol, Kadar Gula, Dan Derajat Keasaman Pada Fermentasi Minuman Kombucha Salak Bali Alcohol Content, Sugar Content, and Acidity Degree Kombucha Fermented Drink from Salak Bali Anak Agung Ngurah Dwi Ariesta Wijaya Putra1, Ida Ayu Putu Ary Widnyani1.
- [5] Yunus, I. 2018. Skrining Fitokimia Dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Langsat (*Lansium Domesticum* Corr) Terhadap Larva *Artemia Salina* Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Pharmacon*, 7(3).
- [6] de Melo, C. W. B., de Lima Costa, I. H., de Souza Santos, P., & de Jesus Bandeira, M. 2022. Identification of the profile of volatile compounds in commercial kombucha added with hibiscus (*Hibiscus rosa-sinensis*) Identificação do perfil de compostos voláteis em kombucha comercial adicionado de hibisco (*Hibiscus rosa-sinensis*). *Brazilian Journal of Development*, 8(3), 16208-16225.
- [7] Hotmian, E., South, E. F., & Tallei, T. 2021. GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry) Analysis Of Nut Grass Tuber (*Cyperus rotundus* L.) Methanolic Extract. *Jurnal Pharmacon*, 10(2), 849-856.
- [8] Li, S., Zhang, Y., Gao, J., Li, T., Li, H., Mastroyannis, A., & Chang, K. 2022. Effect of Fermentation Time on Physiochemical Properties of Kombucha Produced from Different Teas and Fruits: Comparative Study. *Journal of Food Quality*, 2022.
- [9] Shanzet, F. F. F., Karna, N. P. I. S., Khairunnisa, N., Amelia, A., Himawan, A., Darmayasa, I. B. G., & Ramona, Y. 2023. Pengaruh suplementasi buah dan lama fermentasi terhadap mutu organoleptik kombucha teh hitam. *Cassowary*, 6(1), 9-17.
- [10] Batista, P., Penas, M. R., Pintado, M., & Oliveira-Silva, P. (2022). Kombucha: Perceptions and Future Prospects. *Foods*, 11(13), 197.
- [11] Pubchem. URL : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Accessed on 20 August 2023.
- [12] Wang, Z., Ahmad, W., Zhu, A., Geng, W., Kang, W., Ouyang, Q., & Chen, Q. 2023. Identification of volatile compounds and metabolic pathway during ultrasound-assisted kombucha fermentation by HS-SPME-GC/MS combined with metabolomic analysis. *Ultrasonics Sonochemistry*, 94, 106339.
- [13] 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.
- [14] Yang, J., Lagishetty, V., Kurnia, P., Henning, S. M., Ahdoot, A. I., & Jacobs, J. P. (2022). Microbial and chemical profiles of commercial kombucha products. *Nutrients*, 14(3), 670.

- [15] Villarreal-Soto, S. A., Bouajila, J., Pace, M., Leech, J., Cotter, P. D., Souchard, J. P., ... & Beaufort, S. (2020). Metabolome-microbiome signatures in the fermented beverage, Kombucha. *International Journal of Food Microbiology*, 333, 108778.
- [16] Tran, T., Romanet, R., Roullier-Gall, C., Verdier, F., Martin, A., Schmitt-Kopplin, P., & Tourdot-Maréchal, R. 2022. Non-Targeted metabolomic analysis of the Kombucha production process. *Metabolites*, 12(2), 160.
- [17] Yu, X., Zhao, M., Liu, F., Zeng, S., & Hu, J. (2013). Identification of 2, 3-dihydro-3, 5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one as a strong antioxidant in glucose–histidine Maillard reaction products. *Food research international*, 51(1), 397-403.
- [18] Swears, R. M., & Manley-Harris, M. 2021. Composition and potential as a prebiotic functional food of a Giant Willow Aphid (*Tuberolachnus salignus*) honeydew honey produced in New Zealand. *Food Chemistry*, 345, 128662.