

ARTIKEL

## PSIKOBIOTIK KOMBUCHA CENGKEH (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M Perry) SEBAGAI ALTERNATIF HERBAL ANTIDEPRESAN

(*Clove (Syzygium aromaticum (L.) Merr. & L.M. Perry) Kombucha Psychobiotics as an Antidepressant Herbal Alternative*)

Jeanette Sanggor<sup>1</sup>, Erika Kolompoy<sup>1</sup>, Julio Taroreh<sup>1</sup>, Rafael Saranga<sup>2</sup>, Agustina Monalisa Tangapo<sup>\*,1</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Biologi, Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi, Jl. Kampus Bahu, Manado, 95115.

<sup>2</sup>Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Sam Ratulangi, Jl. Kampus Bahu, Manado, 95115.

### ABSTRAK

Gangguan depresi terjadi akibat keseimbangan neurotransmitter (norepinefrin, dopamin dan serotonin) terganggu seperti kurangnya kadar serotonin yang menjadi salah satu faktor penting terjadinya gangguan depresi. Kombucha merupakan minuman hasil fermentasi teh dan gula dengan simbiosis bakteri dan yeast. Daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry) memiliki kandungan minyak atsiri mencapai 2-3%, dengan kadar eugenol antara 80-85%. Eugenol pada cengkeh sendiri dapat memperbaiki kadar neurotransmitter pada otak dengan menghambat monoamin-oksidadase. Tujuan penelitian ini adalah menganalisis karakteristik psikobiotik kombucha cengkeh dan potensinya sebagai herbal antidepresan. Penelitian ini dilakukan dengan menganalisis karakteristik kimia dan mikrobiologi kombucha, uji organoleptik, analisis metabolomik dan uji aktivitas antidepresan. Berdasarkan hasil penelitian, minuman herbal kombucha cengkeh memiliki potensi psikobiotik sebagai inovasi pengembangan alternatif herbal antidepresan. Berdasarkan analisis karakteristik kimia dan mikrobiologi serta organoleptik, variasi kombucha cengkeh yang direkomendasikan ialah pada varian gula 20% dan lama fermentasi 14 hari. Hasil uji aktivitas antidepresan menunjukkan kombucha cengkeh memiliki potensi antidepresan karena adanya penurunan waktu imobilitas pada tikus.

Kata Kunci: antidepresan, cengkeh, kombucha, psikobiotik

## ABSTRACT

*Depressive disorders occur due to a disturbed balance of neurotransmitters (norepinephrine, dopamine, and serotonin), such as a lack of serotonin levels, which is one of the important factors in depressive disorders. Kombucha is a drink made by fermenting tea and sugar with a symbiosis of bacteria and yeast. Clove leaves (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry) contain up to 2–3% essential oil, with eugenol levels between 80 and 85%. Eugenol in cloves itself can improve neurotransmitter levels in the brain by inhibiting monoamine oxidase. The purpose of this study was to analyze the psychobiotic characteristics of clove kombucha and its potential as an herbal antidepressant. This research was conducted by analyzing the chemical and microbiological characteristics of kombucha, organoleptic test, metabolomic analysis and antidepressant activity test. Based on the results of the study, clove kombucha herbal drink has psychobiotic potential as an alternative development innovation for antidepressant herbs. Based on the analysis of chemical and microbiological characteristics and organoleptic factors, the recommended variation of clove kombucha is a 20% sugar variant with a 14-day fermentation time. The results of the antidepressant activity test showed that clove kombucha has antidepressant potential due to a decrease in immobility time in rats.*

**Keywords:** *antidepressants, cloves, kombucha, psychobiotics*

## PENDAHULUAN

Depresi merupakan gangguan kesehatan mental yang berhubungan dengan kerja otak yang menyebabkan gejala perubahan emosi, kehilangan minat, penurunan energi, hingga sulit tidur yang terjadi secara terus-menerus. Sebagai dampak pandemi COVID-19, prevalensi stres meningkat sebesar 29,6%; sedangkan prevalensi kegelisahan dan depresi meningkat sebesar 31,9% dan 33,7% (Salari *et al.*, 2020). Depresi bisa menjadi kondisi yang serius pada kesehatan, karena akan menyebabkan orang dengan gangguan depresi akan sangat menderita serta menurunkan kemampuan bekerja, sekolah, maupun lingkungan keluarga. Bila tidak segera ditangani, depresi dapat mengarah pada tindakan bunuh diri. Sesuai data World Health Organization (WHO), bahwa lebih dari 700.000 orang meninggal karena bunuh diri setiap tahun. Bunuh diri menjadi penyebab kematian keempat pada usia 15-29 tahun (WHO, 2023).

Gangguan depresi terjadi akibat keseimbangan neurotransmitter terganggu seperti kurangnya kadar serotonin yang menjadi salah satu faktor penting terjadinya gangguan depresi. Pengobatan depresi dapat dilakukan dengan mengkonsumsi obat-obatan modern seperti obat psikotropika (antidepresan). Namun demikian, terdapat efek samping dari penggunaan obat psikotropika terhadap pasien yang mengalami gangguan kesehatan mental seperti gangguan neurologik seperti gemetar, juga gangguan hormonal yang dapat mengakibatkan kantuk, mudah lelah, detak jantung menjadi cepat, serta dapat menyebabkan ketergantungan untuk penggunaan secara terus menerus (Valdovinos *et al.*, 2017). Oleh karena efek samping dari penggunaan obat adiktif, maka saat ini banyak berkembang pemanfaatan obat-obatan dari bahan alami termasuk pemanfaatan minuman probiotik sebagai antidepresan.

Kombucha merupakan minuman probiotik hasil fermentasi cairan teh dan gula dengan bantuan aktivitas bakteri dan yeast dan memanfaatkan psikobiotik. Psikobiotik adalah intervensi eksogen yang mempengaruhi kesehatan mental dengan modulasi mikrobiota usus (Kim and Shin, 2018; Jayabalan *et al.*, 2014). Peranan psikobiotik dalam saluran cerna adalah mensekresikan substansi seperti serotonin, melatonin, histamin, dan asetilkolin yang dapat bekerja pada sistem saraf dari inang mikroba tersebut. Hal ini menunjukkan adanya hubungan antara otak dengan mikroba komensal di saluran cerna yang diperkirakan menjadi bagian yang berperan untuk menjaga keseimbangan mikroba dalam usus dan juga berperan besar memodulasi fungsi otak dan perilaku manusia (Sarayar *et al.*, 2014). Berdasarkan hal ini, mengkonsumsi psikobiotik dalam jumlah yang tepat dapat memberikan dampak positif bagi kesehatan mental. Kombucha dapat dipadukan dengan berbagai bahan alam untuk memperkaya rasa dan khasiatnya sebagai minuman kesehatan.

Provinsi Sulawesi Utara merupakan penghasil cengkeh terbesar di Indonesia, dengan luas lahan perkebunan cengkeh sekitar 74.932 hektar. Kabupaten Minahasa sendiri memiliki 24.939 hektar lahan tanaman cengkeh perkebunan rakyat (BPS SULUT, 2018). Saat ini masyarakat lebih sering memanfaatkan kuncup bunga cengkeh dibanding daunnya yang dapat dimanfaatkan sepanjang tahun. Cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry) memiliki kandungan minyak atsiri di dalam bunga mencapai 21,3%, dengan kadar eugenol antara 78-95%. Dari daun cengkeh sendiri dapat mencapai kadar eugenol antara 80-85% (Tuslinah *et al.*, 2023). Eugenol pada cengkeh sendiri dapat memperbaiki kadar neurotransmitter pada otak dengan menghambat Monoamin-Oksidase (MAO) (Mathiazhagan *et al.*, 2013).

Penambahan cengkeh pada kombucha dapat memperkaya rasa dan meningkatkan efektivitas kombucha sebagai antidepresan. Sejauh ini, belum ada penelitian yang membahas mengenai kombucha cengkeh yang dapat menghasilkan psikobiotik penyeimbang kadar neurotransmitter. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis karakteristik psikobiotik kombucha cengkeh dan menganalisis kemampuan kombucha cengkeh sebagai antidepresan. Hasil penelitian diharapkan dapat memanfaatkan cengkeh sebagai rempah yang banyak diproduksi di Sulawesi Utara sebagai solusi permasalahan depresi di Indonesia.

## **BAHAN DAN METODE**

### **Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biologi Lanjut Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sam Ratulangi Manado, Laboratorium Forensik POLDA SULUT, dan pengambilan sampel dilakukan di Desa Kapataran, Kecamatan Lembean Timur, Kabupaten Minahasa, Sulawesi Utara.

### **Persiapan bahan**

Sampel berupa daun dan kuncup bunga yang sudah dikeringkan. Lima ratus gram daun cengkeh disiapkan, dicuci hingga bersih dan dipisahkan dari rantingnya. Kemudian daun ditiriskan dan dipisahkan dengan daun yang sudah kuning dan dijemur hingga kering. Tahap selanjutnya dihancurkan hingga menjadi serbuk kasar lalu diisi pada kantong teh sebanyak 2 gram per kantong.

### **Pembuatan Kombucha Cengkeh**

Sampel daun dan kuncup bunga cengkeh dikeringkan dengan cahaya matahari. Pembuatan kombucha cengkeh diawali dengan membuat teh daun cengkeh 0,8% (b/v). Proses ini dilakukan dengan menyeduh empat kantong teh daun cengkeh (delapan gram) ke dalam akuades 1000 ml yang telah dididihkan terlebih dahulu selama 20 menit. Setelah itu, teh tersebut disaring dan dimasukkan ke dalam stoples kaca berukuran 2,5 l, yang telah dibilas dengan air panas sebelumnya. Selanjutnya, teh diberi gula dengan variasi gula 10%, 20% dan 30%. Setiap perlakuan konsentrasi gula dilakukan dengan tiga kali pengulangan. Larutan teh tersebut kemudian didinginkan sampai mencapai suhu  $\pm 45^{\circ}\text{C}$ . Setelah didinginkan, teh ditambahkan dengan SCOBY dan 10% larutan starter kombucha. Selanjutnya, stoples ditutup dengan kain katun dan diikat dengan karet. Sebagai pembanding, dibuat juga kombucha teh hitam dengan perlakuan dan variasi gula yang sama. Semua perlakuan difermentasi selama 14 hari untuk fermentasi pada suhu ruang, dan diatur agar tidak terkena sinar matahari secara langsung.

### **Analisis Karakteristik Kimia**

Analisis karakteristik kimia kombucha dilakukan dengan mengukur pH menggunakan pH meter (Hanna) yang dikalibrasi pada pH 4 dan 7 (Ahmed *et al.*, 2020), mengukur total gula dengan metode spektrofotometri (AOAC, 1999) menggunakan spektrofotometer UV-VIS (Shimadzu UV-1800), mengukur padatan terlarut dengan alat refraktometer (Jakubczyk *et al.*, 2020), mengukur total asam dengan metode titrasi asam basa (AOAC, 1999). Analisis total gula dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan  $\lambda=540$  nm. Larutan glukosa standar dihitung absorbansinya pada berbagai konsentrasi dan diperoleh persamaan regresi  $y = 0,0046x + 0,0384$ .

Hasil spektrofotometri larutan kombucha dimasukkan dalam persamaan regresi sebagai nilai  $y$  dan didapatkan data analisis total gula kombucha cengkeh dan kombucha teh hitam.

### **Analisis Karakteristik Mikrobiologi**

Analisis mikrobiologi dilakukan dengan penghitungan bakteri asam laktat dan yeast selama masa fermentasi. Mikroba diisolasi dengan metode spread plate dan dihitung dengan metode Total Plate Count (TPC) pada media agar De Man, Rogosa, and Sharpe (MRSA) untuk menghitung total bakteri dan media agar Glucose Yeast Extract (GYE) untuk menghitung total yeast. Pengenceran  $10^{-1}$  dilakukan dengan mengambil 1 mL sampel kombucha ke 9 mL larutan NaCl 0,9% dalam tabung reaksi. Pengenceran dilakukan hingga  $10^{-3}$ . Hasil pengenceran kemudian diinokulasikan sebanyak 100  $\mu$ l ke dalam masing-masing media MRSA dan GYE pada cawan petri. Cawan petri dibalik dan diinkubasi selama 24 jam. Total bakteri dan total yeast dihitung dengan metode TPC (Wang *et al.*, 2023; Mukadam *et al.*, 2016).

### **Uji Organoleptik**

Variabel pengamatan pada uji organoleptik kombucha dengan 20 panelis meliputi warna, aroma, tekstur, dan keseluruhan secara umum dengan menggunakan skor 1 sampai 7 (1= sangat tidak suka, 2=tidak suka, 3=agak tidak suka, 4= netral/biasa, 5= agak suka, 6= suka, 7= sangat suka) (Hardoko *et al.*, 2020). Data yang dihasilkan akan dianalisis dengan menggunakan analisis statistik Analysis of Variance (ANOVA) pada taraf nyata 5%. Variasi kombucha yang paling disukai dan berbeda nyata dari semua variabel yang diamati dilanjutkan untuk analisis metabolomik dan aktivitas antidepresan.

### **Analisis Metabolomik**

Sampel kombucha cengkeh dipersiapkan untuk analisis metabolomik yang dilakukan dengan alat GC-MS Agilent 8890 GC System di laboratorium Forensik POLDA SULUT, dengan kolom HP-5MS. Preparasi sampel dilakukan dengan melarutkan tiga gram sampel dengan metanol untuk selanjutnya diinjeksi ke dalam injektor. Suhu injektor 290°C dengan split rasio 50:1, gas pembawa yaitu helium dengan laju alir 1 ml/menit. Suhu kolom diprogram 40°C, naik 15°C/menit sampai 290°C kemudian ditahan 10 menit. Detektor yang digunakan yaitu MSD dengan *solvent delay* 2,6 menit. Data dianalisis menggunakan perangkat lunak MassHunter Workstation Quantitative Analysis (versi 10.0.707.0).

### **Uji Aktivitas Antidepresan**

Uji aktivitas antidepresan dilakukan dengan metode *force swimming test* (FST) atau uji berenang paksa menggunakan hewan uji tikus (Abelaira *et al.*, 2013). Pengujian ini dilakukan dengan Keterangan Layak Etik No. KEPK.01/10/370/2023, yang dikeluarkan oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Poltekes Kemenkes Manado. Tikus (*Rattus novergicus*) diadaptasikan dengan lingkungan pengujian terlebih dahulu selama satu minggu sebelum diuji. Uji FST dilakukan pada 9 (sembilan) tikus jantan (rata-rata berat 100 gram) yang dibagi dalam tiga kelompok secara merata. Kelompok pertama sebagai kontrol negatif dengan pemberian akuades 4mL/200gBB, kelompok kedua sebagai kelompok kontrol positif diberikan fluoxetine 2mg/200gBB dan kelompok ketiga diberikan kombucha cengkeh 4 mL/200gBB. Perlakuan diberikan secara oral pada tikus setiap jam 9 pagi selama 7 hari. Metode FST dilakukan sebelum perlakuan dan sesudah perlakuan pada hari ke-7, satu jam setelah dosis terakhir pemberian perlakuan.

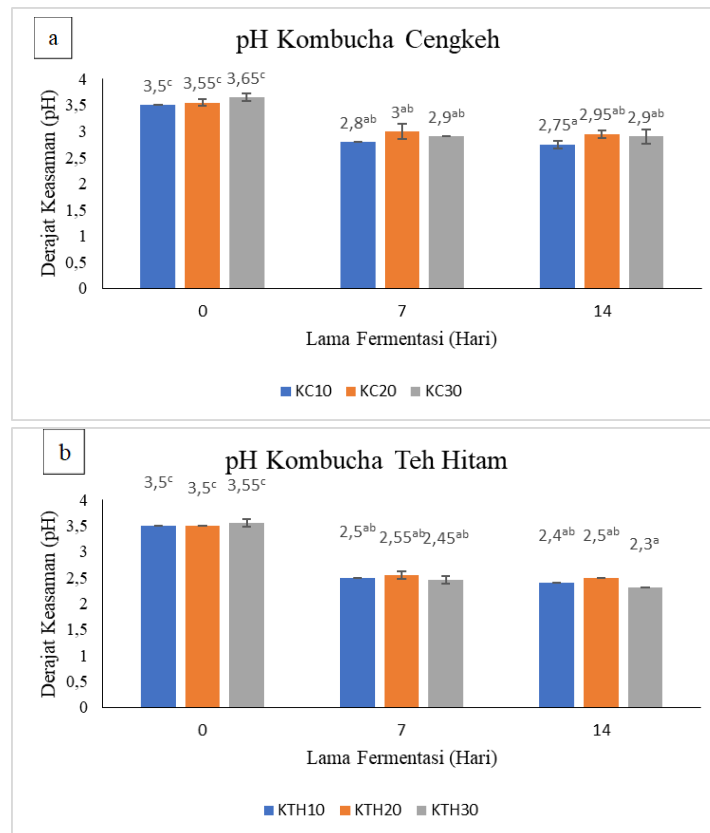
## **HASIL**

### **Karakteristik Kimia**

#### **Penurunan pH**

Dari hasil penelitian diperoleh bahwa rata-rata pH kombucha cengkeh berkisar di nilai pH 3,5 hingga 2,75, dan pH kombucha teh hitam berkisar di nilai pH 3,55 hingga 2,3 (Gambar 1). Hasil analisis menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi gula dan lama fermentasi berpengaruh nyata

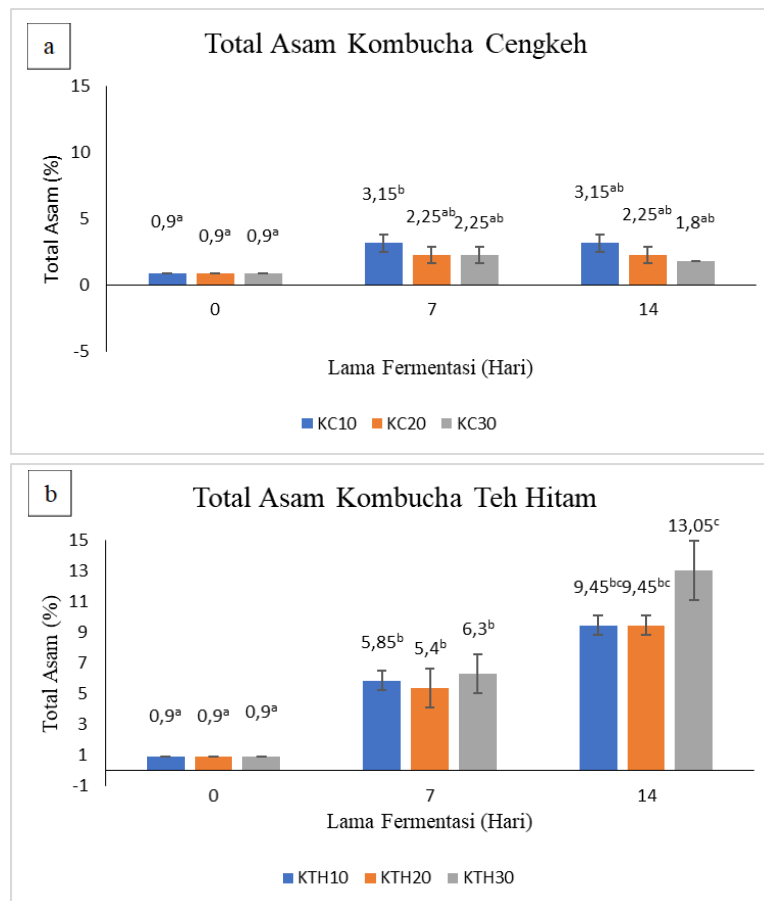
terhadap nilai pH. Namun demikian, pada waktu fermentasi yang sama, nilai pH dari kombucha tidak berbeda nyata pada kombucha dengan variasi gula. Nilai pH pada kombucha teh hitam lebih rendah dibandingkan kombucha cengkeh pada fermentasi hari ke-7 dan ke-14.



**Gambar 1.** pH Kombucha Cengkeh (a) dan Kombucha Teh Hitam (b) (*pH of Clove Kombucha (a) and Black Tea Kombucha (b)*).

### Total Asam

Analisis total asam dilakukan sebelum ditambahkan starter dan setelah dilakukan fermentasi sesuai lama fermentasi yang diuji yaitu 0, 7, dan 14 hari. Hal ini bertujuan untuk mengetahui perubahan total asam yang terjadi selama fermentasi. Analisis total asam dilakukan dengan menggunakan metode titrasi asam basa. Rata-rata total asam pada kombucha dapat dilihat pada Gambar 2.

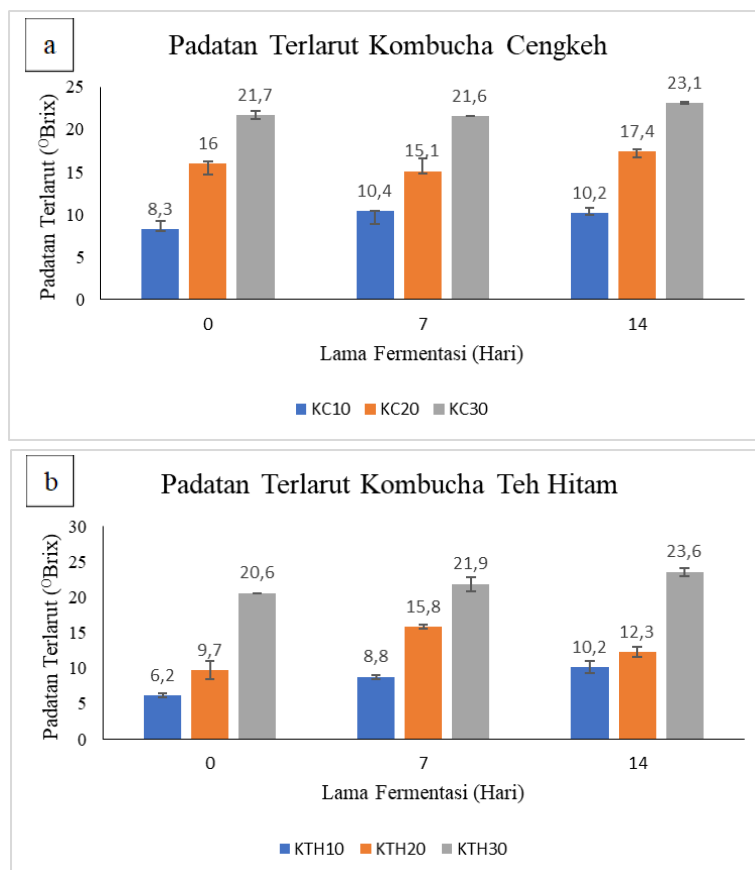


**Gambar 2.** Total Asam Kombucha Cengkeh (a) dan Kombucha Teh Hitam (b) (*Total Acid of Clove Kombucha Acid (a) and Kombucha Black Tea (b)*)

Nilai total asam sampel uji dan sampel kontrol (teh hitam) memiliki peningkatan nilai total asam. Pada sampel uji kombucha cengkeh dan kombucha teh hitam memiliki total asam 0,9% pada fermentasi hari pertama dan sebelum penambahan starter. Pada sampel kombucha cengkeh lama fermentasi 7 hari memiliki total asam 3,15%, 2,25%, dan 2,25% pada variasi gula 10%, 20%, dan 30%. Hal ini berbeda dengan sampel pembandingan kombucha teh hitam yang memiliki total asam berkisar antara 5,4% hingga 6,3%. Sampel kombucha cengkeh pada lama fermentasi 14 hari juga memiliki nilai yang sama dengan lama fermentasi 7 hari, sedangkan pada kombucha teh hitam menunjukkan peningkatan dengan kisaran antara 9,45% hingga 13,05%.

### **Padatan Terlarut**

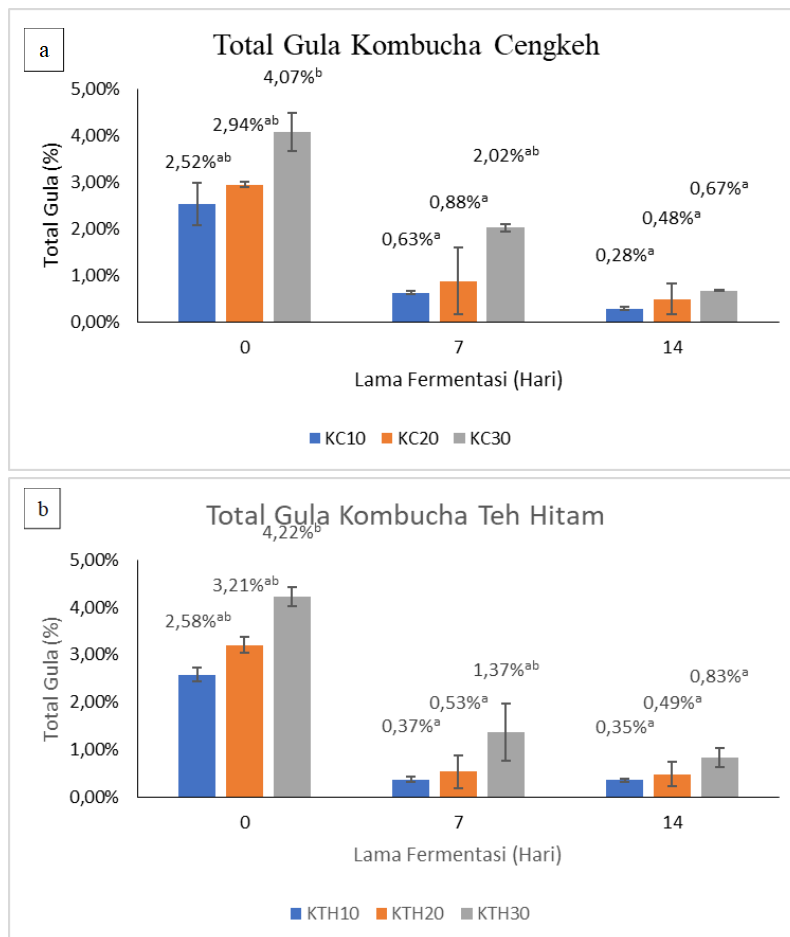
Analisis kadar total padatan terlarut bertujuan untuk menentukan banyaknya zat padat terlarut pada kombucha cengkeh dan kombucha teh hitam dalam satuan Brix<sup>o</sup>. Pada lama fermentasi 0 hari total padatan terlarut kombucha cengkeh berkisar antara 8,3 – 21,7<sup>o</sup>Brix dan pada lama fermentasi 14 hari berkisar antara 10,2 – 23,1<sup>o</sup>Brix (Gambar 3).



**Gambar 3.** Padatan Terlarut Kombucha Cengkeh (a) dan Kombucha Teh Hitam (b) (*Dissolved Solids Clove Kombucha (a) and Black Tea Kombucha (b)*)

### **Total Gula**

Analisis total gula dilakukan sebelum ditambahkan starter dan setelah dilakukan fermentasi sesuai lama fermentasi yang diuji yaitu 0, 7 dan 14 hari (Gambar 4). Hal ini bertujuan untuk mengetahui perubahan total gula yang terjadi selama fermentasi. Hasil analisis menunjukkan bahwa terjadi perbedaan nyata perubahan total gula selama proses fermentasi yang terjadi dari hari ke-0 sampai hari ke-14. Total gula pada kombucha cengkeh maupun kombucha teh hitam menunjukkan penurunan seiring dengan lama fermentasi. Perlakuan variasi gula tidak berpengaruh nyata terhadap total gula pada lama fermentasi yang sama.



**Gambar 4.** Total Gula Kombucha Cengkeh (a) dan Kombucha Teh Hitam (b) (*Total Sugar of Kombucha Cloves (a) and Black Tea Kombucha (b)*)

### Karakteristik Mikrobiologi

Berdasarkan hasil analisis mikrobiologi, total bakteri pada kombucha cengkeh (KC) selama fermentasi berkisar antara  $9,0 \times 10^{-3}$  hingga  $4,2 \times 10^{-4}$  CFU/mL pada hari ke-0, kemudian  $3,1 \times 10^{-4}$  hingga  $1,0 \times 10^{-5}$  CFU/mL pada hari ke-7, dan mencapai  $2,06 \times 10^{-5}$  CFU/mL pada pengamatan hari ke-14. Total yeast berkisar antara  $9,0 \times 10^{-3}$  hingga  $4,2 \times 10^{-4}$  CFU/mL pada hari ke-0, kemudian  $3,1 \times 10^{-4}$  hingga  $1,0 \times 10^{-5}$  CFU/mL pada hari ke-7, dan mencapai  $2,06 \times 10^{-5}$  CFU/mL pada pengamatan hari ke-14 (Tabel 1).

**Tabel 1.** Total Bakteri dan Total Yeast Kombucha Cengkeh dan Kombucha Teh Hitam (*Total Bacteria and Total Yeast Clove Kombucha and Black Tea Kombucha*)

Sampel (Sample)	Total Bakteri (Total Bacteria) (CFU/mL)			Total Yeast (Total Yeast) (CFU/mL)		
	hari 0 (day 0)	hari 7 (day 7)	hari 14 (day 14)	hari 0 (day 0)	hari 7 (day 7)	hari 14 (day 14)
KC10	$4,2 \times 10^{-4}$	$5,1 \times 10^{-4}$	$8,0 \times 10^{-4}$	$1,9 \times 10^{-4}$	$3,5 \times 10^{-4}$	$6,0 \times 10^{-3}$
KC20	$9,0 \times 10^{-3}$	$3,1 \times 10^{-4}$	$2,1 \times 10^{-5}$	$1,3 \times 10^{-5}$	$7,1 \times 10^{-4}$	$6,1 \times 10^{-4}$
KC30	$2,8 \times 10^{-4}$	$1,0 \times 10^{-5}$	$2,6 \times 10^{-4}$	$6,5 \times 10^{-4}$	$8,5 \times 10^{-4}$	$2,8 \times 10^{-4}$
KTH10	$3,5 \times 10^{-4}$	$2,6 \times 10^{-4}$	$2,0 \times 10^{-3}$	$2,5 \times 10^{-5}$	$2,5 \times 10^{-5}$	$3,0 \times 10^{-3}$
KTH20	$6,9 \times 10^{-4}$	$8,0 \times 10^{-3}$	$4,0 \times 10^{-3}$	$1,2 \times 10^{-5}$	$8,3 \times 10^{-4}$	$2,5 \times 10^{-4}$
KTH30	$1,5 \times 10^{-5}$	$1,7 \times 10^{-4}$	$5,0 \times 10^{-3}$	$1,7 \times 10^{-5}$	$4,0 \times 10^{-3}$	$2,2 \times 10^{-4}$

Keterangan: KC= Kombucha Cengkeh, KTH= Kombucha Teh Hitam, 10,20,30 = Variasi % gula. (Notes: KC= Clove Kombucha, KTH= Black Tea Kombucha, 10,20,30 = Variation % sugar)



## Uji Organoleptik

Hasil analisis statistik menunjukkan warna, rasa, dan keseluruhan kombucha pada tiap sampel berbeda nyata sedangkan aroma menunjukkan angka tidak beda nyata (Tabel 2). Hal ini dikarenakan seluruh sampel ditambahkan daun cengkeh. Cengkeh juga memunculkan aroma yang harum karena mengandung minyak atsiri yang mudah menguap.

**Tabel 2.** Hasil Uji Organoleptik Kombucha Cengkeh Berdasarkan Warna, Rasa, Aroma, dan Keseluruhan (*Kombucha Organoleptic Test Results Based on Color, Taste, Aroma, and Overall*).

Kode Sample (Sample Code)	Warna (Color)	Rasa (Taste)	Aroma (Aroma)	Keseluruhan (Overall)
KC 10 H7	3,90±1,37 <sup>a</sup>	5,05±1,39 <sup>cd</sup>	5,05±1,05	5,25±1,12 <sup>cd</sup>
KC 20 H7	4,45±1,76 <sup>ab</sup>	5,00±1,52 <sup>cd</sup>	4,80±1,32	5,00±1,38 <sup>cd</sup>
KC 30 H7	4,85±1,57 <sup>bc</sup>	5,30±1,63 <sup>de</sup>	4,55±1,47	5,25±1,33 <sup>cd</sup>
KC 10 H14	4,00±1,56 <sup>ab</sup>	3,35±1,66 <sup>ab</sup>	4,15±1,42	3,85±1,60 <sup>ab</sup>
KC 20 H14	4,45±1,19 <sup>ab</sup>	4,90±1,41 <sup>cd</sup>	4,25±1,62	4,75±1,25 <sup>cd</sup>
KC 30 H14	4,95±1,57 <sup>bc</sup>	5,95±1,39 <sup>de</sup>	4,90±1,55	5,60±1,35 <sup>bc</sup>

Keterangan: KC= Kombucha Cengkeh; KTH= Kombucha Teh Hitam; 10,20,30 = Variasi % gula (Notes: KC= Kombucha Clove; KTH = Black Tea Kombucha; 10,20,30 = Variation % Sugar)

## Analisis Metabolomik

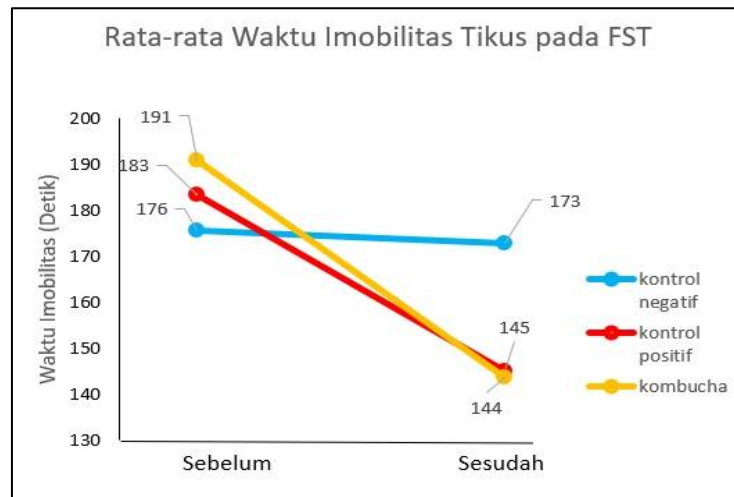
Hasil analisis GC-MS dalam bentuk kromatogram yang menunjukkan bahwa kombucha cengkeh mengandung senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas antidepresan. Senyawa-senyawa tersebut adalah propanoic acid, 2-oxo-, methyl ester; dihydroxyacetone; 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one; 5-hydroxymethylfurfural; eugenol (Tabel 3) (Kovtun *et al.*, 2022; Liang *et al.*, 2022; Hao *et al.*, 2020). Senyawa eugenol yang terkandung dalam kombucha cengkeh memiliki efek antidepresan untuk memperbaiki kadar neurotransmitter pada otak dengan menghambat MAO (Monoamin-Oksidase) (Mathiazhagan *et al.*, 2013).

**Tabel 3.** Kandungan Senyawa Kombucha Cengkeh (*Compound Content of Kombucha Clove*)

Waktu Retensi (Retention time) (Menit)	Nama Senyawa (Compound Name)	Area (%)	Berpotensi sebagai (Potential as)
3,881	Propanoic acid, 2-oxo-, methyl ester	2,36	Antidepressant, Imipramin-like GABA aminotransferase inhibitor
4,112	Dihydroxyacetone	6,1	Antidepressant, Imipramin-like GABA C receptor agonist Monoamine uptake inhibitor
7,821	2,3-Dihydro-3,5- dihydroxy-6-methyl - 4H-pyran-4-one	4,63	GABA aminotransferase inhibitor TNF expression inhibitor
9,145	5- Hydroxymethylfurfural	36,57	GABA aminotransferase inhibitor Interleukin agonist TNF expression inhibitor
10,835	Eugenol	6,59	GABA aminotransferase inhibitor Antioxidant GABA C receptor antagonist MAO B substrate

## Aktivitas Antidepresan

Hasil analisis perbandingan rata-rata waktu imobilitas tikus pada pre-test dan posttest pada FST menunjukkan tikus perlakuan kontrol positif yang menerima antidepresan fluoxetine dan perlakuan yang menerima kombucha mengalami penurunan waktu imobilitas dibanding dengan kontrol negatif yang menerima akuades. Secara statistik analisis menunjukkan tidak ada perbedaan nyata terhadap waktu imobilitas tikus dengan tiga perlakuan tersebut. Namun demikian, terjadi penurunan waktu imobilitas tikus secara signifikan sebelum perlakuan dan sesudah perlakuan pada kontrol positif dan kombucha. Pada kontrol positif menurun dari 183 detik menjadi 145 detik sedangkan perlakuan kombucha menurun dari 191 detik menjadi 144 detik rata-rata waktu imobilitas (Gambar 6). Berbeda halnya dengan kontrol negatif yang menunjukkan tidak ada perubahan signifikan waktu imobilitas dari pre-test dan posttest.



**Gambar 6.** Rata-rata waktu imobilitas tikus pada FST (*Mean time of immobility of mice at FST*)

## PEMBAHASAN

Penurunan pH terjadi selama proses fermentasi berlangsung, baik pada kombucha cengkeh maupun kombucha teh hitam dengan konsentrasi gula 10%, 20%, dan 30%. Hal ini dapat terjadi karena pada saat proses fermentasi teh kombucha menghasilkan zat-zat asam yang terakumulasi, asam-asam yang terbentuk adalah hasil metabolisme bakteri penghasil asam, sehingga terakumulasinya asam-asam yang terbentuk akan menurunkan pH kombucha (Hafsari *et al.*, 2021). Semakin lama fermentasi maka total gula kombucha akan semakin menurun, hal ini disebabkan gula yang ada digunakan sebagai nutrisi oleh kultur kombucha yang pada akhir fermentasi menghasilkan alkohol, asam-asam organik serta metabolit lainnya. Metabolisme gula oleh yeast menjadi etanol yang selanjutnya diubah menjadi asam-asam organik oleh bakteri asam asetat menyebabkan nilai pH menurun. Selama proses fermentasi berlangsung, sukrosa akan digunakan oleh scoby dalam proses metabolisme. Hasil metabolisme dari scoby akan memecah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa, glukosa yang dihasilkan akan dipakai dalam metabolisme menghasilkan etanol yang akan dipakai oleh bakteri dalam scoby untuk dikonversi menjadi asam asetat (Ojo dan de Smidt, 2023). Nilai total asam berkaitan dengan nilai pH, dimana semakin tinggi total asam maka nilai pH akan semakin rendah (Saputra *et al.*, 2017). Nilai pH yang semakin rendah juga menunjukkan penipisan sukrosa yang lebih besar oleh mikroba (Cohen *et al.*, 2023).

Sampel kombucha cengkeh tidak memiliki peningkatan nilai total asam yang besar yaitu dari 0,9% hingga yang tertinggi pada hari ke 14 yaitu 3,15%, berbeda dengan sampel pembanding kombucha teh hitam yang mengalami peningkatan total asam dari 0,9% hingga 13,05% pada fermentasi hari ke 14. Berdasarkan hasil analisis, diketahui bahwa terjadi peningkatan total asam antara kombucha cengkeh dan kombucha teh hitam. Peningkatan total asam juga dilaporkan oleh Puspaningrum *et al.*, (2022), bahwa total asam pada kombucha kopi arabika meningkat dari 0,06% pada hari ke-0 menjadi 1,51% pada fermentasi hari ke-14.

Padatan terlarut pada kombucha cengkeh dan kombucha teh hitam yang diberikan variasi gula 10%, 20% dan 30% tidak memiliki nilai yang berbanding jauh. Total padatan terlarut tertinggi yaitu dengan gula variasi 30% baik pada kombucha cengkeh dan kombucha teh hitam. Kandungan senyawa yang terdapat dalam cengkeh berperan aktif menghambat pertumbuhan bakteri sehingga terjadi penurunan aktivitas dari bakteri untuk menghidrolisis gula (Azizah, 2017). Kultur SCOBY salah satunya khamir akan menghidrolisis gula atau sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa. Sisa-sisa sukrosa, laktosa dan asam-asam organik akan terhitung sebagai total padatan terlarut (Budiandari *et al.*, 2023). Selain itu penambahan konsentrasi gula juga menjadi faktor penting karena semakin banyak konsentrasi gula yang ditambahkan berpengaruh pada nilai padatan terlarut total minuman.

Bakteri dan khamir yang berada di dalam sistem fermentasi kombucha berperan sangat penting dalam proses fermentasi. Simbiosis yang dilakukan oleh bakteri dan yeast di dalam fermentasi kombucha menghasilkan minuman kombucha dengan jumlah dan kadar senyawa kimia yang meningkat. Bukan hanya itu, konsorsia bakteri dan yeast memainkan simbiosis yang sangat kuat sehingga dapat melindungi sistem fermentasi kombucha dan menghambat pertumbuhan bakteri yang berpotensi mengkontaminasi proses fermentasi (Soto *et al.*, 2018). Berdasarkan hasil analisis mikrobiologi, dapat dilihat bahwa terjadi kenaikan jumlah bakteri pada kombucha cengkeh (KC) pada hari ke 7 dan 14, sedangkan pada kombucha teh hitam (KTH) terjadi penurunan total bakteri dan yeast. Penurunan jumlah sel dikarenakan pH kombucha yang cenderung asam dapat menghambat aktivitas sel-sel dari yeast serta jumlah sel akan menurun, sehingga kepadatan sel juga akan menurun.

Hasil analisis menunjukkan secara keseluruhan bahwa kombucha cengkeh gula 30% dengan lama fermentasi 14 hari (KC30H14) adalah yang tertinggi. Namun demikian, kombucha cengkeh dengan gula 20% dan lama fermentasi 7 hari (KC20H7) direkomendasikan sebagai perlakuan terbaik. Dari hasil organoleptik keseluruhan menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan dengan KC30H14, dan dari parameter pH dengan nilai pH 3, masih dalam kisaran yang dapat diterima. Selain itu, total asam KC20H7 adalah 2,25 juga tidak berbeda nyata dengan KC30H14. Total gula KC20H7 berada di nilai 0,88% artinya tidak mengandung kadar gula yang tinggi, lebih rendah dibandingkan KC30H14 (2,02%).

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya potensi dari kombucha cengkeh untuk dikembangkan sebagai antidepresan, karena tikus dalam kelompok yang diberi kombucha cengkeh cenderung mengalami penurunan waktu imobilitas sehingga memiliki tingkat depresi yang lebih rendah. Waktu imobilitas selama FST dihitung sebagai ukuran dari tingkat depresi tikus, waktu imobilitas yang semakin rendah menunjukkan potensi antidepresan dari produk yang diberikan semakin besar (Riyana *et al.*, 2023). Dalam penelitian lebih lanjut, perlu memperhitungkan faktor-faktor lain seperti dosis kombucha, durasi pengobatan, dan pengulangan uji untuk mengkonfirmasi hasil ini dan memahami lebih lanjut mekanisme aksi kombucha cengkeh sebagai agen antidepresan.

## **KESIMPULAN**

Berdasarkan hasil penelitian, minuman herbal kombucha cengkeh memiliki potensi psikobiotik sebagai inovasi pengembangan alternatif herbal antidepresan. Berdasarkan analisis karakteristik kimia dan mikrobiologi serta organoleptik, variasi kombucha cengkeh yang direkomendasikan ialah pada varian gula 20% dan lama fermentasi 14 hari. Adapun senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas antidepresan terkandung dalam kombucha cengkeh salah satunya adalah eugenol. Hasil uji aktivitas antidepresan menunjukkan kombucha cengkeh memiliki potensi antidepresan karena adanya penurunan waktu imobilitas pada tikus.

## **UCAPAN TERIMA KASIH**

Tim peneliti mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi dan Universitas Sam Ratulangi yang telah mendanai penelitian ini melalui pendanaan PKM-RE Tahun 2023.

## KONTRIBUSI PENULIS

JS: membuat konsep penelitian, mengumpulkan data penelitian, membuat draf artikel; EK: mengumpulkan data penelitian; JT: mengumpulkan data penelitian, menganalisis data; RS: mengumpulkan data penelitian, membuat draf artikel; AMT: membuat konsep penelitian, membuat draf artikel dan merevisi naskah akhir.

## REFERENSI

- Abelaira, H. M., Reus, G. Z., Quevedo, J. 2013. Animal models as tools to study the pathophysiology of depression. *Revista brasileira de psiquiatria (Sao Paulo, Brazil: 1999)*. 35 Suppl 2, pp. S112–S120.
- Ahmed, R.F., Hikal, M.S., Abou-Taleb, K.A. 2020. Biological, chemical and antioxidant activities of different types kombucha. *Annals of Agricultural Sciences*. 65, pp. 35-41.
- Association of Official Analytical Chemist (AOAC). 1999. *Official Methods of Analysis*. Washington DC.
- Azizah A., Suswati I., Agustin S. M. 2017. Efek anti mikroba ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Secara in Vitro. *Jurnal Ilmu Kesehatan dan Kedokteran Keluarga Sainatika Medika*. 13(1), pp. 31-35.
- Badan Pusat Statistika Provinsi Sulawesi Utara (BPS SULUT). 2018. Luas Tanaman Cengkeh Perkebunan Rakyat (Hektar), 2015-2016. [https://sulut.bps.go.id/dynamictable/2018/01/23/204/luas-tanaman%20cengkeh-perkebunan-rakyat-menurut-kabupaten-kota-di-sulawesi-utara-ha-2015---2016.html\(BPS\)](https://sulut.bps.go.id/dynamictable/2018/01/23/204/luas-tanaman%20cengkeh-perkebunan-rakyat-menurut-kabupaten-kota-di-sulawesi-utara-ha-2015---2016.html(BPS)). Diakses pada tanggal 29 September 2023.
- Budiandari, R.U., Azara, R., Adawiyah R., dan Prihatiningrum A. E. 2023. Studi karakteristik kimia minuman probiotik kombucha sari kulit nanas (*Ananas comosus*). *Teknologi Pangan: Media Informasi dan Komunikasi Ilmiah Teknologi Pertanian*. 14(2), pp.181-188
- Cohen, G., Sela, D.A., Nolden, A.A. 2023. Sucrose Concentration and Fermentation Temperature Impact the Sensory Characteristics and Liking of Kombucha. *Foods*. 12, p. 3116. <https://doi.org/10.3390/foods12163116>
- Hafsari, A. R., Asriana, G., Farida, W.N. 2021. Karakteristik pH Kultur Kombucha Teh Hitam dengan Jenis Gula Berbeda Pada Fermentasi Batch-Kultur. Seminar Nasional Biologi (SEMABIO). 6, pp. 228–232.
- Hardoko, Harisman, E.K., Puspitasari, Y.E. 2020. The kombucha from *Rhizophora mucronata* Lam. Herbal tea: characteristics and the potential as an antidiabetic beverage. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*. 8(5), pp. 410-421.
- Hao, C., Gao, Z., Liu, X., Rong, Z., Jia, J., Kang, K., Guo, W., and Li, J. 2020. Intravenous administration of sodium propionate induces antidepressant of prodepressant effect in a dose dependent manner. *Nature*. 10:19917.
- 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, p. 447, doi:10.3390/antiox9050447.
- Jayabalan, R., Malbasa, R., Loncar, E., Vutas, J., and Sathishkumar, M. 2014. A Review on Kombucha Tea-Microbiologu, Composition, Fermentation, Beneficial Effects, Toxicity, and Tea Fungus. *Comphrenhensive Reviewes in Food Science and Food Safety*. 13(4), pp. 538-550.
- Kim, Y. K., and Shin C. 2018. The Microbiota-Gut Brain Axis in Neuropsychiatric Disorders: Pathophysiological Mechanisms and Novel Treatments. *Current Neuropsychology*. 16(5), pp. 559-573.
- Kovtun, A.S., Averina, O.V., Angelova, I.Y., Yunes, R.A., Zorkina, Y.A., Morozova, A.Y., Pavlichenko, A.V., Syunyakov, T.S., Karpenko, O.A., Kostyuk, G.P., and Danilenko, V.N. 2022. Alterations of the Composition and Neurometabolic Profile of Human Gut Microbiota in Major Depressive Disorder. *Biomedicines*, 10, p. 2162.

- Liang, X., Mai, P., Qin, H., Li, S., Ou, W., Liang, J., Zhong, J., and Liang, M. Integrated 16S rRNA sequencing and metabolomic analysis to investigate the antidepressant role of Yang-Xin-Jie-Yu decoction on microbe-gut-metabolite in chronic unpredictable mild stress-induced depression rat model. *Frontiers in Pharmacology*. 13:972351.
- Mathiazhagan, S., Anand, S., Parthiban, R., and Sankaranarayanan, B. 2013. Antidepressant-like Effect of Ethanolic Extract from *Caryophyllus aromaticus* in Albino Rats. *Journal of Dental and Medical Science*. 4(2), pp. 37–40.
- Mukadam, T.A., Punjabi, K., Deshpande, S.D., Vaidya, S.P., Chowdhary, A.S. 2016. Isolation and Characterization of Bacteria and Yeast from Kombucha Tea. *Int. J.Curr.Microbiol.App.Sci*. 5(6), pp. 32-41.
- Ojo, A. O., and de Smidt, O. 2023. Review: Microbial Composition, Bioactive Compounds, Potential Benefits and Risks Associated with Kombucha: A Concise Review. *Fermentation*. 9, p. 472,
- Puspaningrum, D.H.D., Sumandewi, N.L.U., Sari, N.K.Y. 2022. Karakteristik Kimia dan Aktivitas Antioksidan Selama Fermentasi Kombucha Cascara Kopi Arabika (*Coffea arabika* L.) Desa Catur Kabupaten Bangli. *Jurnal Sains dan Edukasi Sains*, 5(2), pp. 44-51.
- Riyana, A., Fathurrahman, F., and Roebiakto, E. 2023. Javanese Ginseng Root Extract (*Talinum paniculatum* (Jacq) Gaertn) to Increase Superoxide Dismutase Activities in White Male Sprague Dawley Rats by Using a Forced Swimming Test Model. *Tropical Health and Medical Research*. 5(1), pp. 54-60
- Salari, N., Far, A. H., Jalali, R., Raygani, A. V., Rasoulpoor, S., Mohammadi, M., Rasoulpoor S., and Paveh. B. K. 2020. Prevalence of Stress, Anxiety, Depression Among the General Population During the COVID-19 Pandemic: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Global Health*. 16(57).
- Sarayar, A.M., Reteng, P., dan Kowel, R. 2014. Potensi Psikobiotik Sebagai Terapi Alternatif Gangguan Depresi Mayor. *JIMKI: Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kedokteran Indonesia*. 2(2), pp. 49-60
- Saputra, H. W., Muin, R., dan Permata, E. 2017. Karakteristik fisik produk fermentasi kombucha dari berbagai daun berflavanoid tinggi. *Jurnal Teknik Kimia*. 23(4).
- Soto, S.A.V., Beaufort, S., Bouajila, J., Souchard, J.P., Taillandier, P. 2018. Understanding Kombucha Tea Fermentation: A Review. *Journal of Food Science*. 83(3), pp. 580-588.
- Tuslinah, L., Yeni Aprillia, A., Nurdianti, L., & Septiani, D. 2023. Analysis Of the Levels of Eugenol in Clove Leaf Oil (*Syzygium aromaticum*) After Water Was Distilled Using Gas Chromatography-Mass Spectrometry Method Article History. *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*. 14(2), pp. 184-193.
- Valdovinos, G. M., Schieber, E., McMahon, M., Beard, L., Wilkinson, A., and Carpenter, J. 2017. Adverse Side Effects of Psychotropic Medication and Challenging Behavior: Pilot Work Assessing Impact. *J Dev Phys Disabil*. 29(6), pp. 969-982.
- 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. *Food Science and Technology*, 168, p. 113931.
- World Health Organization (WHO). 2023. Suicide. URL: <https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/suicide>. Diakses tanggal 30 September 2023.