

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KOMBUCHA BUNGA CHAMOMILE (*Matricaria chamomilla* L.) BERDASARKAN LAMA FERMENTASI DENGAN METODE DPPH

Muhammad Andry¹, Indah², Nurfitriyana³, Muhammad Amin Nasution⁴, Dwi Melati Sukma⁵

^{1,2,3}Department of Pharmacy, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Sriwijaya, Indralaya, Sumatera Selatan, Indonesia

⁴Department of Pharmacy, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh, Indonesia

⁵Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy and Health, Institut Kesehatan Helvetia, Medan, Sumatera Utara, Indonesia

Article Info

Article history:

Received Sep 21, 2026

Revised Sep 22, 2026

Accepted Sep 28, 2026

Keywords:

DPPH

Fermentation duration

Kombucha

Matricaria chamomilla

Radical scavenging

ABSTRACT

Oxidative stress arising from excess reactive species underlies many chronic disorders, driving interest in natural antioxidant beverages such as kombucha; however, chamomile flower (*Matricaria chamomilla* L.) has rarely been explored as a kombucha substrate. This study aimed to evaluate chamomile flower as a kombucha substrate and to determine the effect of fermentation duration on the antioxidant activity of the resulting beverage. Authenticated and standardised chamomile *simplicia* was infused (10 g/L), sweetened with sucrose (10% w/v), inoculated with SCOBY starter (10% v/v) and fermented at room temperature as a single batch sampled on days 7, 9, 12 and 14. The *simplicia* was screened phytochemically, and the beverages were assessed for organoleptic properties, hedonic acceptance and pH. DPPH radical scavenging was measured at 516 nm over 10–80 ppm, and IC₅₀ values were compared by one-way ANOVA. All *simplicia* quality parameters met the Indonesian Herbal Pharmacopoeia requirements, and pH decreased from 4.3 to 3.3. The IC₅₀ fell from 118.73 ppm in the unfermented infusion to 84.26, 67.99, 58.95 and 32.74 ppm on days 7, 9, 12 and 14, respectively ($p < 0.05$), while quercetin gave 15.87 ppm; the values for the unfermented infusion and day 7 were extrapolated beyond the tested range. Only the 14-day product reached the very strong category (IC₅₀ < 50 ppm), although panellists liked it least. In conclusion, longer fermentation progressively enhanced the antioxidant activity of chamomile kombucha at the expense of sensory acceptance, whereas its consumption safety still requires alcohol, microbiological and storage-stability testing.

This is an open access article under the [CC BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.



Corresponding Author:

Muhammad Andry,
Department of Pharmacy, Faculty of Mathematics and Natural Sciences,
Universitas Sriwijaya,
Indralaya, Sumatera Selatan, Indonesia.
Email: andry@unsri.ac.id

1. INTRODUCTION

Metabolisme aerob, paparan polutan, dan radiasi terus membangkitkan spesies oksigen reaktif di dalam sel. Dalam jumlah yang masih dapat diredam oleh enzim dan molekul pelindung endogen, spesies tersebut berperan sebagai pembawa sinyal fisiologis; tetapi begitu produksinya melampaui daya redam tubuh, timbullah stres oksidatif yang merusak lipid, protein, maupun DNA. Keadaan ini berkaitan dengan perkembangan kanker, diabetes melitus, aterosklerosis, serta penuaan dini (Kusmiyati et al., 2022; Leyane et al., 2022). Antioksidan memutus rantai kerusakan itu dengan menyumbangkan atom hidrogen atau elektron sehingga radikal berubah menjadi spesies yang lebih stabil (Gulcin & Alwasel, 2023; Molyneux, 2004).

Kebutuhan akan antioksidan dari luar tubuh membuka peluang bagi minuman fungsional, dan kombucha termasuk yang paling banyak diteliti. Minuman ini lahir dari aktivitas SCOBY (*symbiotic culture of bacteria and yeast*), yakni konsorsium khamir dan bakteri asam asetat yang tumbuh pada larutan teh manis (Jayabalan et al., 2014). Khamir memecah sukrosa menjadi monosakarida lalu memfermentasikannya menjadi etanol, sementara bakteri seperti *Acetobacter xylinum* menjadikan etanol sebagai bahan baku asam asetat sekaligus mengubah glukosa menjadi glukonat (Ojo & de Smidt, 2023; Villarreal-Soto et al., 2018). Pada tingkat genus, konsorsium tersebut lazimnya dikuasai *Acetobacter* dan *Komagataeibacter* dari kelompok bakteri serta *Zygosaccharomyces* dan *Brettanomyces* dari kelompok khamir (Wang et al., 2022). Kerja sama keduanya mengakumulasi vitamin, enzim, fenolik, dan beragam asam organik yang menentukan khasiat kombucha (Ojo & de Smidt, 2023).

Di samping membentuk cita rasa, fermentasi turut memperkuat daya antioksidan minuman. Enzim mikroba memecah polifenol berukuran besar menjadi fenolik sederhana yang lebih reaktif terhadap radikal, sehingga kapasitas peredaman kombucha cenderung naik dari hari ke hari (Jayabalan et al., 2008). Karena itu, durasi fermentasi menjadi variabel penentu: bila terlalu pendek, metabolit aktif belum terbentuk sempurna, sedangkan bila terlalu panjang, asam organik menumpuk hingga rasanya terlalu tajam dan berpotensi mengganggu kesehatan bila langsung diminum (Mfopa et al., 2024). Titik optimumnya pun tidak seragam, melainkan bergeser mengikuti jenis substrat (Andry et al., 2025; Hassmy et al., 2017; Nisak, 2023), dan lamanya fermentasi diketahui ikut mengubah profil kimia serta kandungan mikronutrien produk (Jakubczyk et al., 2022).

Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.), anggota famili Asteraceae, sudah lama diseduh sebagai teh herbal penenang. Bunganya kaya flavonoid (apigenin, luteolin, kuersetin), terpenoid (α -bisabolol, kamazulen), kumarin, tanin, dan polifenol, sehingga dilaporkan bersifat antioksidan, antiinflamasi, antimikroba, serta sedatif (Singh et al., 2011; Srivastava et al., 2010). Seduhannya telah diulas sebagai minuman herbal yang bermanfaat bagi kesehatan (McKay & Blumberg, 2006), sementara kajian yang lebih baru menilai chamomile menjanjikan sebagai bahan dasar sediaan kesehatan (Sah et al., 2022). Kemampuan fraksi fenolik tanaman ini meredam radikal DPPH juga telah dibuktikan (Chauhan et al., 2022; Mailänder et al., 2022).

Selama ini riset kombucha masih berpusat pada daun, contohnya teh (Hassmy et al., 2017), ciplukan (Rindiani & Suryani, 2023), dan alpukat (Andry et al., 2025). Upaya mengganti substrat baru merambah bunga telang (Hariadi et al., 2023) dan buah-buahan (Do et al., 2024; Morales et al., 2023), padahal setiap substrat membawa profil fenolik, warna, dan aroma tersendiri. Bunga chamomile sendiri baru sesekali diuji sebagai substrat kombucha. Studi perbandingan aneka herba melaporkan bahwa kombucha chamomile yang difermentasi 7–10 hari memiliki aktivitas peredaman DPPH yang tinggi ($\geq 80\%$), tetapi kajian tersebut berfokus pada komposisi kimia serta sifat antioksidan dan antibakteri, dengan aktivitas antioksidan dinyatakan sebagai persen peredaman (Drozd-Afelt et al., 2024). Sejauh penelusuran kami, data IC₅₀ kombucha bunga chamomile pada beberapa lama fermentasi yang dipadukan dengan standarisasi simplisia dan uji penerimaan sensoris belum tersedia; celah inilah yang hendak diisi oleh penelitian ini.

Kebaruan penelitian ini terletak pada tiga hal. Pertama, substrat yang digunakan berupa simplisia bunga chamomile yang telah dideterminasi dan memenuhi parameter mutu Farmakope Herbal Indonesia, sehingga mutu bahan baku terdokumentasi. Kedua, aktivitas antioksidan

dinyatakan sebagai IC_{50} dari kurva empat konsentrasi pada empat lama fermentasi (7, 9, 12, dan 14 hari), dengan seduhan tanpa fermentasi sebagai titik awal dan kuersetin sebagai pembanding, sehingga besarnya peningkatan aktivitas dapat dikuantifikasi dan digolongkan. Ketiga, perubahan aktivitas tersebut dibaca bersama pH dan tingkat kesukaan panelis untuk memperlihatkan tarik-ulur antara daya antioksidan dan penerimaan sensoris. Kapasitas antioksidan diukur melalui peredaman radikal DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), metode yang praktis, cepat, peka, dan hemat sampel (Baliyan et al., 2022; Gulcin & Alwasel, 2023). Penelitian ini bertujuan menguji kelayakan seduhan bunga chamomile sebagai substrat kombucha dan menentukan pengaruh lama fermentasi (7, 9, 12, dan 14 hari) terhadap aktivitas antioksidan kombucha chamomile berdasarkan nilai IC_{50} metode DPPH, disertai evaluasi karakter organoleptis, pH, dan tingkat kesukaan panelis.

2. RESEARCH METHOD

Rancangan dan Tempat Penelitian

Studi eksperimental laboratorium ini mencakup pembuatan kombucha chamomile dan pengujian aktivitas antioksidannya. Pekerjaan laboratorium berlangsung dari April hingga Agustus 2024 di Laboratorium Biomedik Institut Kesehatan Helvetia Medan serta laboratorium milik Universitas Haji Sumatera Utara.

Instrumen dan Bahan

Pengukuran memakai spektrofotometer UV-Vis, pH meter, timbangan analitik, oven, dan tanur, ditunjang desikator, ayakan mesh 40, krus dan cawan porselen, serta peralatan gelas volumetrik. Bunga chamomile (*Matricaria chamomilla* L.), sukrosa, dan starter SCOBY menjadi bahan pembuatan kombucha. Pengujian antioksidan memerlukan DPPH, kuersetin sebagai standar, dan etanol p.a., sedangkan karakterisasi dan penapisan fitokimia menggunakan etanol 70%, akuades, n-heksan, kloroform, amil alkohol, asam asetat anhidrat, H_2SO_4 pekat, HCl (pekat dan 2 N), $FeCl_3$ 5%, serbuk magnesium, serta pereaksi Dragendorff, Mayer, dan Bouchardat.

Penyiapan dan Standardisasi Simplisia

Identitas tanaman dipastikan melalui determinasi di Herbarium Medanense (MEDA), FMIPA Universitas Sumatera Utara. Bunga yang dipakai dipilih yang segar, mekar sempurna, berkelopak putih utuh, bertangkai hijau, dan bebas hama. Setelah sortasi basah, pencucian, penirisan, dan pengeringan, bunga disortasi kembali, digiling, lalu diloloskan melalui ayakan mesh 40.

Mutu serbuk dinilai secara gravimetri berdasarkan lima parameter Farmakope Herbal Indonesia (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017), masing-masing dalam tiga replikasi. Kadar air ditentukan dari susut bobot 3 g serbuk yang dipanaskan pada 105 °C sampai bobotnya konstan, dengan pendinginan dalam desikator sebelum setiap penimbangan. Kadar sari larut air dan larut etanol diperoleh dari maserasi 5 g serbuk dalam 100 mL pelarut (air-kloroform atau etanol 70%) selama 24 jam, diaduk berkala pada enam jam pertama, kemudian 20 mL filtratnya diuapkan dan residunya dikeringkan pada 105 °C. Kadar abu total dihitung dari sisa pemijaran 3 g serbuk pada 600 °C, sedangkan abu tidak larut asam diperoleh setelah abu tersebut dididihkan dua menit dalam 25 mL HCl encer, disaring melalui kertas bebas abu, lalu dipijarkan kembali.

Penapisan Fitokimia

Keberadaan tanin, polifenol, flavonoid, alkaloid, saponin, dan terpenoid ditelusuri dengan uji warna serta uji pengendapan; pereaksi dan pengamatan setiap uji dicantumkan pada Tabel 2. Saponin dianggap ada bila busa bertahan 10 menit dan tidak lenyap setelah penetesan HCl 2 N, sedangkan terpenoid diuji pada residu ekstrak n-heksan yang direaksikan dengan pereaksi Liebermann-Burchard (asam asetat anhidrat- H_2SO_4 pekat).

Produksi Kombucha Chamomile

Seduhan dibuat dengan menuangkan 1.000 mL air mendidih ke atas 10 g serbuk simplisia, lalu ampasnya dipisahkan. Sukrosa 100 g (10% b/v) dilarutkan ke dalam seduhan

hangat, mengikuti takaran protokol kombucha terdahulu (Andry et al., 2025), dan campuran dibiarkan mendingin hingga suhu kamar sebelum diinokulasi dengan 100 mL starter (10% v/v). Fermentasi berlangsung di dalam toples kaca steril berpenutup kain bersih yang dikencangkan dengan karet, pada suhu kamar selama 7, 9, 12, dan 14 hari. Kaca dipilih karena, berbeda dengan logam, tidak bereaksi dengan asam hasil fermentasi, dan tidak berisiko mengganggu kultur seperti halnya plastik. Seduhan tanpa fermentasi berperan sebagai kontrol negatif, adapun kuersetin sebagai kontrol positif.

Fermentasi dilakukan dalam satu batch, yaitu satu toples kaca berisi seluruh media yang telah diinokulasi. Pada hari ke-7, 9, 12, dan 14, sebanyak 250 mL kombucha diambil dari toples yang sama dan ditampung dalam wadah terpisah sebagai sampel perlakuan. Tidak dibuat toples atau batch ulangan untuk setiap lama fermentasi dan tidak dilakukan penggabungan (*pooling*) sampel, sehingga setiap perlakuan diwakili oleh satu sampel. Ulangan pada pengujian sediaan bersifat analitik: pH diukur tiga kali pada setiap sampel dan absorbansi DPPH dibaca tiga kali pada setiap konsentrasi. Secara keseluruhan, uji DPPH mencakup lima sampel (seduhan tanpa fermentasi dan kombucha hari ke-7, 9, 12, dan 14) serta kuersetin sebagai pembanding, masing-masing pada empat konsentrasi, atau 72 pembacaan absorbansi di luar blanko; uji pH mencakup empat sampel kombucha (12 pengukuran), sedangkan uji hedonik melibatkan empat sampel yang masing-masing dinilai oleh 15 panelis.

Pengamatan Sensoris dan Keasaman

Warna, aroma, dan rasa setiap sediaan diamati secara langsung. Tingkat kesukaan dinilai oleh 15 panelis dewasa sehat pada skala lima poin, mulai dari 1 (tidak suka) hingga 5 (sangat suka) dengan kategori antara kurang suka, cukup suka, dan suka. Sebelum mencicipi, panelis meminum air mineral agar indra pengecap kembali netral. Keasaman diukur dengan pH meter pada 50 mL sampel sampai pembacaan stabil, dalam tiga ulangan.

Penentuan Aktivitas Peredaman Radikal DPPH

Larutan stok DPPH 1.000 ppm disiapkan dari 10 mg DPPH dalam 10 mL etanol p.a., lalu diencerkan menjadi 100 ppm dan disimpan dalam vial gelap berbalut aluminium foil. Untuk larutan uji, 25 mg sampel dibawa ke volume 50 mL dengan etanol p.a. (500 ppm); alikot 0,2; 0,4; 0,8; dan 1,6 mL masing-masing diencerkan hingga 10 mL sehingga terbentuk seri 10, 20, 40, dan 80 ppm. Seri yang sama diturunkan dari larutan kuersetin 500 ppm (5 mg dalam 10 mL). Setiap campuran reaksi tersusun dari 2 mL etanol p.a., 1,1 mL larutan DPPH, dan 4 mL larutan uji, yang dibiarkan 30 menit dalam gelap sebelum dibaca pada 516 nm, yakni panjang gelombang serapan maksimum DPPH yang ditetapkan dalam penelitian ini. Blanko berisi DPPH dan etanol dengan volume total setara tanpa sampel. Semua pembacaan dilakukan triplo, dan daya inhibisi dihitung sebagai berikut:

$$\text{Inhibisi (\%)} = (A_0 - A_s) / A_0 \times 100$$

A_0 dan A_s berturut-turut menyatakan serapan blanko dan serapan campuran uji. Garis regresi linear $y = ax + b$ antara konsentrasi (x , ppm) dan daya inhibisi (y , %) dipakai untuk menghitung $IC_{50} = (50 - b)/a$, dengan a sebagai *slope* dan b sebagai *intercept*. Daya antioksidan digolongkan sangat kuat bila IC_{50} kurang dari 50 ppm, kuat pada 50–100 ppm, sedang pada 101–150 ppm, dan lemah di atas 150 ppm (Gulcin & Alwasel, 2023; Molyneux, 2004).

Seluruh prosedur penelitian, termasuk uji sensoris yang melibatkan panelis, telah memperoleh kelaikan etik dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Keperawatan Universitas Sumatera Utara (Nomor 3070/V/SP/2024, 13 Mei 2024), dan keikutsertaan setiap panelis bersifat sukarela.

Pengolahan Statistik

Rentang konsentrasi uji terbatas pada 10–80 ppm, dan pengujian pada konsentrasi yang lebih tinggi tidak dilakukan. Karena itu, IC_{50} dinyatakan sebagai hasil interpolasi bila daya

inhibisi di dalam rentang uji mencakup nilai di bawah dan di atas 50%, dan sebagai hasil ekstrapolasi (nilai perkiraan) bila daya inhibisi pada 80 ppm belum mencapai 50%. Tiga nilai IC_{50} per sampel, yang berasal dari pembacaan absorbansi triplo (ulangan analitik), diolah dengan SPSS. Sebaran data diperiksa menggunakan uji Shapiro-Wilk dan kesamaan varians menggunakan uji Levene, kemudian perbedaan antarperlakuan diuji dengan ANOVA satu arah dan ditelusuri lebih lanjut melalui uji Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

3. RESULTS AND ANALYSIS

Identitas dan Mutu Simplisia

Hasil determinasi mengonfirmasi identitas bahan sebagai *Matricaria chamomilla* L. Parameter mutu serbuk simplisia, yang menjamin keseragaman bahan baku, tercantum pada Tabel 1.

Tabel 1. Parameter Mutu Serbuk Simplisia Chamomile Terhadap Persyaratan FHI (n = 3)

No	Parameter	Hasil	Syarat FHI	Status
1	Kadar air	8,4%	< 10%	Sesuai
2	Kadar sari larut air	29,0%	> 15%	Sesuai
3	Kadar sari larut etanol	14,3%	> 8,5%	Sesuai
4	Kadar abu total	6,7%	< 14,12%	Sesuai
5	Kadar abu tidak larut asam	0,3%	< 1%	Sesuai

Kadar air 8,4% masih di bawah ambang 10%, sehingga peluang tumbuhnya kapang dan bakteri maupun reaksi enzimatis yang mendegradasi komponen aktif selama penyimpanan dapat ditekan. Temuan yang lebih informatif muncul dari perbandingan kedua kadar sari: fraksi yang larut dalam air (29,0%) sekitar dua kali fraksi yang larut dalam etanol (14,3%). Dominasi komponen polar ini mendukung pilihan penyeduhan dengan air panas sebagai langkah awal pembuatan kombucha, karena air mampu menarik sebagian besar zat aktif bunga chamomile. Abu total 6,7% mencerminkan muatan mineral simplisia, sementara abu tidak larut asam yang hanya 0,3% menandakan cemaran silikat seperti pasir atau tanah sangat kecil. Kelima parameter berada dalam batas Farmakope Herbal Indonesia (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017).

Profil Metabolit Sekunder

Tabel 2 merangkum golongan metabolit sekunder yang terdeteksi.

Tabel 2. Golongan Metabolit Sekunder Yang Terdeteksi Pada Serbuk Simplisia Chamomile

No	Golongan	Pereaksi	Pengamatan	Hasil
1	Alkaloid	Bouchardat	Endapan coklat	+
		Dragendorff	Endapan coklat	+
		Mayer	Endapan putih	+
2	Flavonoid	Serbuk Mg + HCl(p) + amil alkohol	Lapisan bawah kuning	+
3	Saponin	Air panas, dikocok kuat + HCl 2 N	Busa stabil	+
4	Tanin	FeCl ₃ 5%	Hijau kehitaman	+
5	Terpenoid	n-heksan + asam asetat anhidrat + H ₂ SO ₄ (p)	Merah	+
6	Polifenol	Air panas + FeCl ₃	Hijau kehitaman	+

(+) = terdeteksi.

Polifenol, tanin, flavonoid, alkaloid, saponin, maupun terpenoid seluruhnya terdeteksi. Dari sudut tujuan penelitian, tiga golongan fenolik, yaitu flavonoid, tanin, dan polifenol, paling menentukan, sebab gugus hidroksil pada cincin aromatiknya dapat melepaskan atom hidrogen untuk menetralkan radikal. Radikal fenoksil yang terbentuk kemudian distabilkan melalui delokalisasi elektron di sepanjang cincin, dan mekanisme inilah yang menopang aktivitas antioksidan chamomile. Profil tersebut selaras dengan kandungan apigenin, luteolin, dan kuersetin yang telah dilaporkan pada bunga chamomile (Singh et al., 2011; Srivastava et al., 2010).

Karakter Sensoris dan Keasaman Sediaan

Tabel 3 memperlihatkan perubahan warna, aroma, rasa, dan pH selama fermentasi.

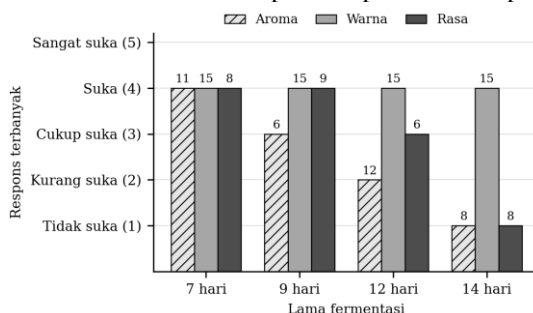
Tabel 3. Karakter Organoleptis dan pH Kombucha Chamomile Menurut Lama Fermentasi

Lama fermentasi	Warna	Aroma	Rasa	pH (rerata 3 ulangan)
7 hari	Kuning	Khas kombucha	Tidak terlalu asam	4,3
9 hari	Kuning	Khas kombucha	Asam	3,9
12 hari	Kuning	Khas kombucha	Sangat asam	3,6
14 hari	Kuning	Khas kombucha	Sangat asam	3,3

Keasaman meningkat mantap sepanjang fermentasi: pH turun dari 4,3 pada hari ketujuh hingga 3,3 pada hari keempat belas, disertai rasa yang makin masam dan aroma khas kombucha yang makin tajam. Perubahan organoleptis tersebut sejalan dengan pemantauan kombucha teh hijau selama 14 hari: pH turun seiring lama fermentasi, sementara aroma cuka dan asam serta rasa masam sudah menguat sejak hari keempat (Dartora et al., 2023). Pola ini bersumber dari kerja berantai mikroba. Khamir mengubah sukrosa menjadi monosakarida dan etanol, lalu bakteri asam asetat mengoksidasi etanol serta glukosa sehingga terbentuk asam asetat dan glukonat yang melepaskan proton ke medium (Mfopa et al., 2024; Ojo & de Smidt, 2023). Penurunan pH sejenis tercatat pada kombucha teh hitam dengan variasi gula (Hafsari & Farida, 2021) dan pada fermentasi teh manis yang pH-nya merosot dari kisaran 5 hingga 2,5 (Sreeramulu et al., 2000). Suasana asam juga menguntungkan karena hanya mikroba tahan asam yang bertahan, sehingga kontaminan tertekan (Wang et al., 2022).

Panduan keamanan pengolahan kombucha menetapkan $\text{pH} \leq 4,2$ untuk mencegah pertumbuhan patogen dan tidak menganjurkan konsumsi produk dengan pH di bawah 2,5 (Nummer, 2013; Ojo & de Smidt, 2023). Rentang pH 2,5–4,2 yang sama juga ditetapkan sebagai persyaratan mutu dalam standar identitas dan mutu kombucha Brasil (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2019). Kajian integratif atas kombucha bersubstrat alternatif, termasuk chamomile, juga mencatat bahwa fermentasi yang lebih lama menghasilkan minuman yang lebih asam dan bahwa pH di bawah 4,2 diperlukan agar minuman aman dikonsumsi (Barros et al., 2024). Sediaan hari ke-9 hingga ke-14 (pH 3,9–3,3) memenuhi persyaratan tersebut, sedangkan sediaan hari ke-7 (pH 4,3) masih sedikit di atas batas 4,2; artinya, dari sisi pH, persyaratan mutu baru terpenuhi setelah fermentasi berlangsung sedikitnya 9 hari. Namun, kesesuaian pH hanyalah satu indikator dan tidak cukup untuk menyatakan produk aman dikonsumsi. Kadar etanol, cemaran mikrobiologis, dan kestabilan selama penyimpanan tidak dievaluasi dalam penelitian ini, padahal khamir yang masih aktif dapat terus menghasilkan etanol dan kapang dapat tumbuh selama penyimpanan (Nummer, 2013). Oleh sebab itu, keamanan konsumsi kombucha chamomile belum dapat disimpulkan dari data ini.

Gambar 1 memperlihatkan respons kesukaan yang paling sering dipilih panelis. Aroma paling disukai pada sediaan hari ketujuh, lalu penerimaannya merosot setiap kali fermentasi diperpanjang hingga tidak disukai pada hari keempat belas. Rasa masih disukai sampai hari kesembilan, kemudian turun menjadi cukup suka pada hari kedua belas dan tidak suka pada hari keempat belas, sementara warna disukai seluruh panelis pada semua perlakuan.



Gambar 1. Respons Kesukaan Terbanyak Panelis Terhadap Aroma, Warna, Dan Rasa Kombucha Chamomile Pada Empat Lama Fermentasi (n = 15)

Angka di atas batang = jumlah panelis yang memilih respons tersebut.

Merosotnya penerimaan pada fermentasi panjang dapat dirunut ke akumulasi asam organik. Sukrosa pemberi rasa manis terus dikonsumsi mikroba dan digantikan asam, sehingga rasa masam serta bau asam asetat makin menonjol. Akibatnya muncul tarik-ulur yang perlu diperhitungkan saat merancang produk: formula dengan daya antioksidan terkuat justru paling kurang diminati panelis. Kecenderungan serupa dijumpai pada kombucha berbahan daun alpukat maupun pepaya, yang makin tidak disukai ketika fermentasi diperpanjang walaupun bioaktivitasnya naik (Andry et al., 2025; Do et al., 2024).

Kapasitas Peredaman Radikal DPPH

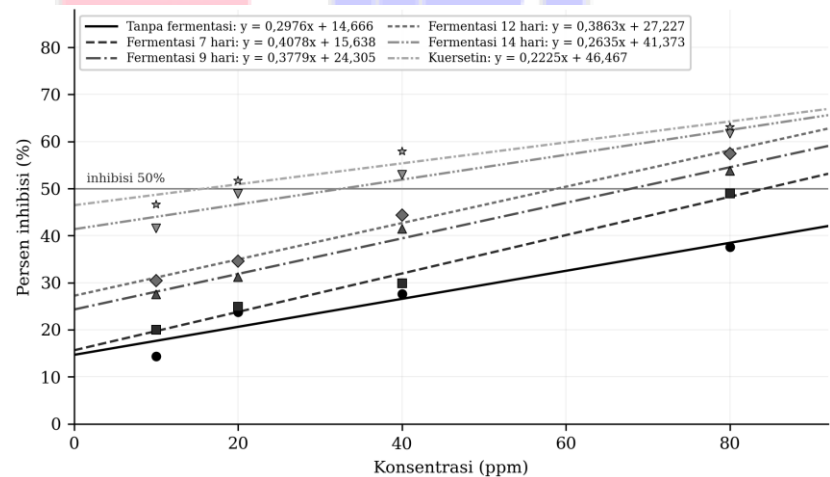
Serapan blanko DPPH pada 516 nm tercatat 0,7886. Tabel 4 merekam daya inhibisi seluruh sampel pada keempat konsentrasi uji.

Tabel 4. Daya Inhibisi Radikal DPPH (%) Pada Empat Tingkat Konsentrasi

Sampel	10 ppm	20 ppm	40 ppm	80 ppm
Seduhan tanpa fermentasi	14,37	23,76	27,58	37,59
Kombucha 7 hari	19,97	24,91	29,83	49,01
Kombucha 9 hari	27,52	31,16	41,46	53,76
Kombucha 12 hari	30,42	34,60	44,38	57,45
Kombucha 14 hari	41,51	48,87	52,94	61,69
Kuersetin (standar)	46,61	51,67	57,88	63,08

Nilai adalah rerata tiga pembacaan.

Pada setiap sampel, daya inhibisi naik ketika konsentrasi dinaikkan, yaitu pola dosis–respons yang lazim bagi senyawa penangkap radikal. Pada konsentrasi yang sama, sampel yang difermentasi lebih lama selalu menghasilkan inhibisi yang lebih besar. Gambar 2 memvisualisasikan kedua kecenderungan tersebut berikut persamaan regresi tiap sampel.



Gambar 2. Kurva Konsentrasi–Inhibisi DPPH untuk Seduhan Chamomile Tanpa Fermentasi, Kombucha Chamomile Pada Empat Lama Fermentasi, Dan Kuersetin

Tabel 5 menghimpun persamaan regresi, koefisien determinasi, dan IC₅₀ setiap sampel berikut golongan daya antioksidannya.

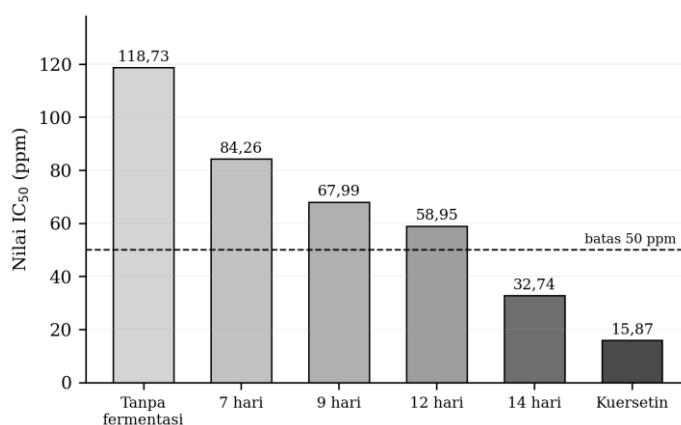
Tabel 5. Persamaan Regresi, R², dan IC₅₀ Tiap Sampel Beserta Golongan Daya Antioksidannya

Sampel	Persamaan regresi	R ²	IC ₅₀ (ppm)	Golongan
Seduhan tanpa fermentasi	y = 0,2976x + 14,666	0,9192	118,73 ^a	Sedang
Kombucha 7 hari	y = 0,4078x + 15,638	0,9869	84,26 ^a	Kuat
Kombucha 9 hari	y = 0,3779x + 24,305	0,9866	67,99	Kuat
Kombucha 12 hari	y = 0,3863x + 27,227	0,9909	58,95	Kuat
Kombucha 14 hari	y = 0,2635x + 41,373	0,9396	32,74	Sangat kuat
Kuersetin (standar)	y = 0,2225x + 46,467	0,9185	15,87	Sangat kuat

Penggolongan kategori mengikuti kriteria pada bagian metode.

^aNilai ekstrapolasi di luar rentang konsentrasi uji (10–80 ppm) karena daya inhibisi tertinggi belum mencapai 50%; nilai dan golongannya bersifat perkiraan.

Koefisien determinasi seluruh kurva berkisar 0,9185–0,9909. Kedekatan nilai tersebut dengan satu menandakan hubungan linear yang kuat antara konsentrasi dan daya inhibisi di dalam rentang 10–80 ppm. IC_{50} kombucha hari ke-9, ke-12, ke-14, dan kuersetin diperoleh secara interpolasi karena daya inhibisinya melintasi 50% di dalam rentang tersebut. Sebaliknya, daya inhibisi tertinggi seduhan tanpa fermentasi (37,59%) dan kombucha hari ke-7 (49,01%) pada 80 ppm belum mencapai 50%, sehingga IC_{50} keduanya (118,73 dan 84,26 ppm) merupakan hasil ekstrapolasi garis regresi di luar rentang data. Karena kelinearan hubungan di atas 80 ppm tidak teramati, kedua nilai tersebut beserta golongan sedang dan kuat yang menyertainya perlu dibaca sebagai perkiraan. Perbandingan IC_{50} antarsampel divisualisasikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Nilai IC_{50} Seduhan Chamomile Tanpa Fermentasi, Kombucha Chamomile Pada Empat Lama Fermentasi, Dan Kuersetin

Seduhan chamomile yang belum difermentasi hanya mencapai kategori sedang dengan IC_{50} perkiraan 118,73 ppm. Fermentasi menurunkan angka tersebut secara bertahap menjadi 84,26; 67,99; 58,95; dan 32,74 ppm berturut-turut pada hari ketujuh, kesembilan, kedua belas, dan keempat belas. Pola ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan berubah seiring lama fermentasi, sejalan dengan laporan bahwa aktivitas antioksidan kombucha bersifat bergantung waktu: setelah 15 hari fermentasi, potensi antioksidan pada uji DPPH meningkat hingga sekitar 70%, disertai kenaikan kadar fenol total hingga 98% (Chu & Chen, 2006). Kajian integratif atas kombucha bersubstrat alternatif juga mencatat peningkatan aktivitas antioksidan berbagai substrat herba dan buah setelah fermentasi dibandingkan kondisi awalnya, dan menyebut chamomile sebagai salah satu substrat yang memperkaya kandungan senyawa bioaktif serta aktivitas antioksidan minuman (Barros et al., 2024). Artinya, fermentasi 14 hari melipatgandakan aktivitas antioksidan sekitar 3,6 kali (relatif terhadap nilai perkiraan seduhan tanpa fermentasi), dan hanya produk hari keempat belas yang menembus kategori sangat kuat ($IC_{50} < 50$ ppm). Sebagai pembandingan, kuersetin mencatat IC_{50} 15,87 ppm.

Kenaikan aktivitas selama fermentasi berakar pada metabolisme konsorsium kombucha. Enzim ekstraseluler bakteri asam asetat dan khamir memotong polifenol besar menjadi fenolik bermolekul kecil dengan lebih banyak gugus hidroksil bebas, yang lebih mudah menyerahkan atom hidrogen kepada radikal DPPH (Jayabalan et al., 2008). Fermentasi juga membangkitkan vitamin, metabolit baru, serta asam organik yang menambah kapasitas antioksidan (Mfopa et al., 2024; Ojo & de Smidt, 2023), sejalan dengan bergesernya parameter kimia minuman selama proses berlangsung (Nasution et al., 2024). Laporan senada datang dari kombucha berbahan buah (Morales et al., 2023), teh hijau (Hassmy et al., 2017), daun alpukat (Andry et al., 2025), dan aneka teh yang difermentasi dengan lama berbeda (Jakubczyk et al., 2022; Mfopa et al., 2024). Studi kombucha daun alpukat bahkan memperlihatkan alur yang sejajar: IC_{50} turun bertahap dari seduhan tanpa fermentasi hingga hari keempat belas, dan golongan sangat kuat baru diraih setelah fermentasi berjalan lama (Andry et al., 2025).

Seluruh sediaan kombucha masih kalah kuat dibanding kuersetin. Sebagai flavonol murni, kuersetin membawa lima gugus OH, salah satunya membentuk katekol di cincin B, ditambah ikatan rangkap terkonjugasi di cincin C yang memudahkan stabilisasi radikal. Kombucha, sebaliknya, adalah matriks kompleks yang kadar zat aktifnya jauh lebih encer. Meski demikian, tercapainya kategori sangat kuat pada hari keempat belas menunjukkan bahwa kombucha chamomile prospektif dikembangkan menjadi minuman fungsional sumber antioksidan alami.

Satu hal lain patut dicermati: penurunan IC_{50} tidak diiringi kenaikan kemiringan kurva. *Slope* tertinggi justru milik sediaan hari ketujuh ($a = 0,4078$), sedangkan sediaan hari keempat belas memiliki *slope* terendah ($a = 0,2635$) tetapi intersep tertinggi ($b = 41,373$). Dengan kata lain, pada fermentasi lanjut peredaman radikal sudah besar sejak konsentrasi rendah, sehingga tambahan konsentrasi hanya menambah sedikit inhibisi. Kuersetin memperlihatkan gejala serupa ($a = 0,2225$; $b = 46,467$), yang mengisyaratkan bahwa sistem mulai mendekati titik jenuh peredaman DPPH.

Uji Statistik

Data IC_{50} terdistribusi normal menurut uji Shapiro-Wilk ($p = 0,112$), dan uji Levene berbasis median ($p = 0,131$) menyatakan varians antarkelompok homogen. ANOVA satu arah mengungkap perbedaan antarperlakuan yang sangat bermakna ($p < 0,001$), yang menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan berbeda nyata antarlama fermentasi. Uji Tukey HSD memisahkan setiap perlakuan ke dalam subset tersendiri ($p < 0,05$ untuk semua pasangan), yang berarti setiap penambahan durasi fermentasi diikuti peningkatan aktivitas yang nyata secara statistik. Simpangan baku IC_{50} antarreplikasi hanya 0,01–0,05 ppm, menandakan pembacaan yang sangat presisi. Namun, karena ketiga replikasi merupakan ulangan analitik dari satu batch fermentasi, uji ini membandingkan perbedaan antarsampel terhadap variasi pengukuran, bukan terhadap variasi antar-batch, sehingga besarnya perbedaan antarlama fermentasi perlu dikonfirmasi dengan batch fermentasi independen.

4. CONCLUSION

Bunga chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) layak dijadikan substrat kombucha. Serbuk simplisianya memenuhi seluruh parameter mutu Farmakope Herbal Indonesia dan mengandung flavonoid, polifenol, tanin, alkaloid, saponin, dan terpenoid. Makin lama fermentasi, makin kuat aktivitas antioksidannya, dan perbedaan ini bermakna secara statistik ($p < 0,001$): IC_{50} seduhan yang semula 118,73 ppm (sedang) berangsur turun ke 84,26; 67,99; 58,95; dan 32,74 ppm setelah 7, 9, 12, dan 14 hari, sementara kuersetin mencapai 15,87 ppm. IC_{50} seduhan tanpa fermentasi dan kombucha hari ke-7 merupakan nilai ekstrapolasi sehingga bersifat perkiraan. Dari sisi aktivitas antioksidan, fermentasi 14 hari memberikan hasil terbaik karena satu-satunya yang menghasilkan aktivitas sangat kuat ($IC_{50} < 50$ ppm), walaupun penerimaan sensorisnya paling rendah. Keamanan konsumsi produk belum dapat disimpulkan karena kadar etanol, cemaran mikrobiologis, dan kestabilan simpan belum dievaluasi. Studi berikutnya disarankan menggunakan rentang konsentrasi DPPH yang mencakup daya inhibisi di bawah dan di atas 50%, membuat batch fermentasi independen, mengukur kadar fenolik total, kadar etanol, cemaran mikrobiologis, dan stabilitas simpan, serta mencari cara memperbaiki rasa agar sediaan beraktivitas tinggi tetap diterima konsumen.

REFERENCES

- Andry, M., Azzahra, R., Ramadaini, T., Marseli, C., Nurfitriyana, Pertiwi, N. N., & Nasution, M. A. (2025). Antioxidant potential of avocado leaf kombucha (*Persea americana* Mill.) at different fermentation times using the DPPH method. *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry*, 9(1), 116–122. <https://doi.org/10.30872/jtpc.v9i1.293>
- Baliyan, S., Mukherjee, R., Priyadarshini, A., Vibhuti, A., Gupta, A., Pandey, R. P., & Chang, C. M. (2022). Determination of antioxidants by DPPH radical scavenging activity and quantitative phytochemical analysis of *Ficus religiosa*. *Molecules*, 27(4), 1326. <https://doi.org/10.3390/molecules27041326>

- Barros, V. C., Botelho, V. A., & Chisté, R. C. (2024). Alternative substrates for the development of fermented beverages analogous to kombucha: An integrative review. *Foods*, 13(11), 1768. <https://doi.org/10.3390/foods13111768>
- Chauhan, R., Singh, S., Kumar, V., Kumar, A., Kumari, A., Rathore, S., Kumar, R., & Singh, S. (2022). A comprehensive review on biology, genetic improvement, agro and process technology of German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Plants*, 11(1), 29. <https://doi.org/10.3390/plants11010029>
- Chu, S.-C., & Chen, C. (2006). Effects of origins and fermentation time on the antioxidant activities of kombucha. *Food Chemistry*, 98(3), 502–507. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.05.080>
- Dartora, B., Hickert, L. R., Fabricio, M. F., Ayub, M. A. Z., Furlan, J. M., Wagner, R., Perez, K. J., & Sant'Anna, V. (2023). Understanding the effect of fermentation time on physicochemical characteristics, sensory attributes, and volatile compounds in green tea kombucha. *Food Research International*, 174, 113569. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113569>
- Do, A. D., Nguyen, L. B. X., Pham, D. Q., Le, T. T., Leya, M., & Phan Van, T. (2024). Kombucha tea derived from papaya (*Carica papaya* L.) as a potential functional food: Physicochemical parameters, biological activities, and sensory evaluation. *International Journal of Food Science and Technology*, 59(10), 7786–7794. <https://doi.org/10.1111/ijfs.16994>
- Drozd-Afelt, J. M., Koim-Puchowska, B. B., Malecka-Adamowicz, M., & Mikulski, D. (2024). *Herbal kombucha – composition, antioxidant and antibiotic properties* [Preprint]. Authorea. <https://doi.org/10.22541/au.172115242.27524663/v1>
- Gulcin, İ., & Alwasel, S. H. (2023). DPPH radical scavenging assay. *Processes*, 11(8), 2248. <https://doi.org/10.3390/pr11082248>
- Hafsari, A. R., & Farida, W. N. (2021). Karakteristik pH kultur kombucha teh hitam dengan jenis gula berbeda pada fermentasi batch-culture. *Gunung Djati Conference Series*, 6, 228–232.
- Hariadi, H., Andry, M., Nasution, M. A., Sumiardi, A., Rezaldi, F., Amien, S., & Ikrawan, Y. (2023). Growth inhibition test of gram and negative bacteria in pharmaceutical biotechnology products in the form of hand sanitizer formulations based fermented telang flower kombucha. *Jurnal Biologi Tropis*, 23(3), 316–325. <https://doi.org/10.29303/jbt.v23i3.5219>
- Hassmy, N. P., Abidjulu, J., & Yudistira, A. (2017). Analisis aktivitas antioksidan pada teh hijau kombucha berdasarkan waktu fermentasi yang optimal. *Pharmacon*, 6(4), 67–74. <https://doi.org/10.35799/pha.6.2017.17719>
- Jakubczyk, K., Kupnicka, P., Melkis, K., Mielczarek, O., Walczyńska, J., Chlubek, D., & Janda-Milczarek, K. (2022). Effects of fermentation time and type of tea on the content of micronutrients in kombucha fermented tea. *Nutrients*, 14(22), 4828. <https://doi.org/10.3390/nu14224828>
- 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. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4), 538–550. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12073>
- Jayabalan, R., Subathradevi, P., Marimuthu, S., Sathishkumar, M., & Swaminathan, K. (2008). Changes in free-radical scavenging ability of kombucha tea during fermentation. *Food Chemistry*, 109(1), 227–234. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.037>
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2017). *Farmakope herbal Indonesia* (Edisi II).
- Kusmiyati, K., Kambuno, N. T., Selasa, P., & Waangsir, F. W. F. (2022). Pengaruh paparan pencemar udara terhadap stres oksidatif: Sistematis review. *Jurnal Ilmu Lingkungan*, 20(3), 628–636. <https://doi.org/10.14710/jil.20.3.628-636>
- Leyane, T. S., Jere, S. W., & Houreld, N. N. (2022). Oxidative stress in ageing and chronic degenerative pathologies: Molecular mechanisms involved in counteracting oxidative stress and chronic inflammation. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(13), 7273.

- <https://doi.org/10.3390/ijms23137273>
- Mailänder, L. K., Lorenz, P., Bitterling, H., Stintzing, F. C., Daniels, R., & Kammerer, D. R. (2022). Phytochemical characterization of chamomile (*Matricaria recutita* L.) roots and evaluation of their antioxidant and antibacterial potential. *Molecules*, 27(23), 8508. <https://doi.org/10.3390/molecules27238508>
- McKay, D. L., & Blumberg, J. B. (2006). A review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (*Matricaria recutita* L.). *Phytotherapy Research*, 20(7), 519–530. <https://doi.org/10.1002/ptr.1900>
- Mfopa, A. N., Kemzeu, R., Fokom, R., Yamthe, L. R. T., Dize, D., & Boyom, F. F. (2024). Phenolic compounds, antioxidant and antileishmanial activities of kombucha as affected by fermentation time. *Heliyon*, 10(22), e40463. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e40463>
- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2019). Instrução Normativa nº 41, de 17 de setembro de 2019: Estabelece o padrão de identidade e qualidade da kombucha em todo o território nacional. *Diário Oficial da União*, Seção 1, No. 181, 13.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(2), 211–219.
- Morales, D., Gutiérrez-Pensado, R., Bravo, F. I., & Muguerza, B. (2023). Novel kombucha beverages with antioxidant activity based on fruits as alternative substrates. *LWT*, 189, 115482. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115482>
- Nasution, L. R., Permata, Y. M., Keliat, J. M., Pelawi, M. A. T., Ciunardy, V. K., & Seruni, T. R. (2024). Fermentation effects on caffeine content and chemical parameters of kombucha coffee cascara. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 16(Special Issue 4), 11–16. <https://doi.org/10.22159/ijap.2024v16s4.52252>
- Nisak, Y. K. (2023). Studi aktivitas antioksidan minuman fermentasi kombucha: Kajian pustaka. *AGRITEPA: Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pertanian*, 10(1), 23–34. <https://doi.org/10.37676/agritepa.v10i1.3311>
- Nummer, B. A. (2013). Kombucha brewing under the Food and Drug Administration model Food Code: Risk analysis and processing guidance. *Journal of Environmental Health*, 76(4), 8–11.
- Ojo, A. O., & de Smidt, O. (2023). Microbial composition, bioactive compounds, potential benefits and risks associated with kombucha: A concise review. *Fermentation*, 9(5), 472. <https://doi.org/10.3390/fermentation9050472>
- Rindiani, S. D., & Suryani, T. (2023). Aktivitas antioksidan dan kualitas organoleptik kombucha daun ciplukan pada variasi jenis gula dan lama fermentasi. *BIOEDUSAINS: Jurnal Pendidikan Biologi Dan Sains*, 6(2), 516–530.
- Sah, A., Naseef, P. P., Kuruniyan, M. S., Jain, G. K., Zakir, F., & Aggarwal, G. (2022). A comprehensive study of therapeutic applications of chamomile. *Pharmaceutics*, 15(10), 1284. <https://doi.org/10.3390/ph15101284>
- Singh, O., Khanam, Z., Misra, N., & Srivastava, M. K. (2011). Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): An overview. *Pharmacognosy Reviews*, 5(9), 82–95. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.79103>
- Sreeramulu, G., Zhu, Y., & Knol, W. (2000). Kombucha fermentation and its antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6), 2589–2594. <https://doi.org/10.1021/jf991333m>
- Srivastava, J. K., Shankar, E., & Gupta, S. (2010). Chamomile: A herbal medicine of the past with a bright future. *Molecular Medicine Reports*, 3(6), 895–901. <https://doi.org/10.3892/mmr.2010.377>
- Villarreal-Soto, S. A., Beaufort, S., Bouajila, J., Souchard, J. P., & Taillandier, P. (2018). Understanding kombucha tea fermentation: A review. *Journal of Food Science*, 83(3), 580–588. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14068>
- Wang, B., Rutherford-Markwick, K., Zhang, X. X., & Mutukumira, A. N. (2022). Kombucha: Production and microbiological research. *Foods*, 11(21), 3456. <https://doi.org/10.3390/foods11213456>