

Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Pada Variasi The Kombucha Dengan Metode ABTS (2,2 Azinobis (3-Ethylbenzotiazolin) 6 Sulphonic Acid)

¹Aprie Lusiana*, ²Yuyun Darma Ayu Ningrum, ³Chintiana Nindya Putri

^{1,2,3}Prodi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Islam Sultan Agung

*Corresponding Author:
aprielusiana58@unissula.ac.id

Abstrak

Flavonoid dan fenol merupakan senyawa antioksidan yang terdapat pada teh kombucha yang telah dikombinasikan dengan teh hitam maupun teh hijau. Namun, adanya senyawa tersebut dipengaruhi oleh lama fermentasi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh lama fermentasi terhadap aktivitas antioksidan pada variasi teh kombucha dengan metode ABTS (2,2- Azinobis (3-Ethylbenzotiazolin) 6 Sulphonic Acid).

Penelitian ini dilakukan secara experimental laboratory. Teh fermentasi kombucha didapat dengan memfermentasikan teh hijau maupun teh hitam dengan kultur kombucha selama 14 hari. Penetapan kadar flavonoid dilakukan dengan metode kolorimetri menggunakan $AlCl_3$ dan fenolik dengan reagen Follin ciocalteau menggunakan spektrofotometri. Uji aktivitas antioksidan dilakukan pada hasil fermentasi teh kombucha 8 dan 14 hari menggunakan metode ABTS secara spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 743 nm. Teh kombucha dibuat lima seri konsentrasi 10, 30, 50, 70, dan 90 ppm. Hasil pengujian dianalisis untuk diperoleh nilai IC_{50} , kemudian dianalisis statistik dengan SPSS menggunakan uji One Way Anova yang dilanjutkan dengan uji BNT untuk mengetahui adanya perbedaan yang signifikan antar sampel ($p \leq 0.05$).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara pengaruh lama fermentasi dengan aktivitas antioksidan terhadap kombucha teh hijau maupun kombucha teh hitam pada hari ke-8 dan ke-14. Nilai IC_{50} ($\mu g/mL$) pada masing-masing sampel baik teh hitam maupun teh hijau pada hari ke-8 dan ke-14 secara berturut-turut yaitu 28.597; 137.872; 30.975; 40.083.

Based on the results of the study, it was concluded that from green tea and black tea kombucha, the longer the fermentation, the flavonoid and phenol content increased, but the antioxidant activity decreased.

Kata Kunci: Teh kombucha, Antioksidan, Lama Fermentasi, ABTS, IC_{50}

Abstract

Flavonoids and phenols are antioxidant compounds found in kombucha tea that has been combined with black tea and green tea. However, the presence of these compounds is influenced by the length of fermentation. The purpose of this study was to determine the effect of fermentation time on antioxidant activity in variations of kombucha tea by ABTS (2,2- Azinobis (3-Ethylbenzotiazolin) 6 Sulphonic Acid) method.

This research was conducted in an experimental laboratory. Fermented kombucha tea was obtained by fermenting green tea and black tea with kombucha culture for 14 days. Flavonoid content was determined by colorimetric method using $AlCl_3$ and phenolic with Follin ciocalteau reagent using spectrophotometry. Antioxidant activity test was conducted on the results of 8 and 14 days of kombucha tea fermentation using the ABTS method in UV-Vis spectrophotometry at a wavelength of 743 nm. Kombucha tea was made into five concentration series of 10, 30, 50, 70, and 90 ppm. The test results were analyzed to obtain the IC_{50} value, then statistically analyzed with SPSS using the One Way Anova test followed by the BNT test to determine the existence of significant differences between samples ($p \leq 0.05$).

The results showed that there was a significant difference between the effect of fermentation duration and antioxidant activity of green tea kombucha and black tea kombucha on days 8 and 14. The IC_{50} value ($\mu g/mL$) in each sample of both black tea and green tea on the 8th and 14th day respectively were 28.597; 137.872; 30.975; 40.083.

Keywords: Kombucha tea, Antioxidant, Fermentation Duration, ABTS, IC_{50}

1. PENDAHULUAN

Saat ini, ada banyak pembahasan tentang antioksidan dan radikal bebas di bidang kesehatan. Hal ini karena penyebab awal dari beberapa penyakit serius sering terjadi akibat reaksi oksidasi yang lebih agresif di dalam tubuh. Reaksi ini menghasilkan radikal bebas yang sangat aktif sehingga mampu mengubah struktur dan fungsi sel. Pembentukan radikal bebas dapat terjadi melalui metabolisme sel normal, peradangan, kekurangan gizi, dan sebagai hasil dari respon tubuh terhadap pemicu serta adanya kerusakan eksternal, seperti radiasi UV dan asap rokok (Indrawati dkk., 2022).

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif karena mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya, untuk mencapai kestabilan atom atau molekul, radikal bebas akan bereaksi dengan molekul disekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron. Reaksi ini akan berlangsung terus menerus dalam tubuh dan bila tidak dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, arteriosklerosis, jantung, katarak penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya yang disebabkan oleh kerusakan jaringan karena oksidasi (Nurwijayanto dkk., 2020).

Berdasarkan data dari Riskesdas tahun 2018 memberikan presentase penyakit degeneratif di Indonesia, diantaranya hipertensi (25,8% menjadi 34,1%); obesitas (14,8% menjadi 21,8%); stroke (7% menjadi 10,9%); diabetes (3% menjadi 5,37%); gagal ginjal kronis (2% menjadi 3,8%); kanker (1,4% menjadi 1,8%); penyakit jantung 1,5%. Penyakit degeneratif juga memberikan angka mortalitas yang cukup tinggi, data dari Kemenkes menyebutkan jumlah kasus hipertensi tahun 2019 di Indonesia 63 juta sedangkan angka kematian mencapai 427 ribu kematian. Pada tahun 2020 prevalensi penderita diabetes naik menjadi 6,2% (10,8 juta penduduk) sedangkan di tahun 2021 Indonesia menjadi

negara ke-5 terbesar di dunia dengan jumlah penderita 19,47 juta (10,6%). Selain itu penyakit degeneratif lainnya seperti kanker di Indonesia memiliki angka kejadian 136.2/100.000 penduduk dan Indonesia menempati posisi ke-8 di Asia Tenggara dan ke-23 di Asia. Adapun WHO mencatat total kasus kanker di Indonesia pada tahun 2020 mencapai 396.914 kasus dengan angka kematian 234.511 kasus. Oleh karena itu diperlukan suatu antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas sehingga tidak dapat menginduksi penyakit-penyakit tersebut. (Nurwijayanto dkk., 2020). Salah satu senyawa yang dapat menangkal atom radikal bebas yang ada di dalam tubuh adalah antioksidan (Indrawati dkk., 2022).

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron atau reduktan. Senyawa ini memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif akibatnya kerusakan sel akan dihambat (Joseph dkk., 2021). Sumber-sumber antioksidan diantaranya teh, kopi, sayur-sayuran, dan buah-buahan. Oleh sebab itu, penelitian terhadap antioksidan dari bahan alami telah menjadi fokus perhatian beberapa tahun belakangan ini (Suhardini & Zubaidah, 2016).

Indonesia merupakan salah satu negara dengan tingkat keanekaragaman hayati yang tinggi. Tanaman yang memiliki manfaat besar salah satunya adalah teh. Saat ini, Indonesia adalah produsen teh terbesar ke-7 di dunia (Irma & Miladiarsi, 2023). Anjarsari (2016) menjelaskan teh merupakan minuman yang sudah lama dikenal dan menjadi bagian tak terpisahkan dari masyarakat Indonesia karena teh mempunyai kandungan katekin (antioksidan alami) yang tinggi, sehingga Indonesia menjadi salah satu standar kualitas teh terbaik di dunia.

Salah satu minuman kesehatan yang menggunakan teh sebagai bahan utama adalah kombucha. Teh kombucha adalah jenis produk fermentasi alami yang mengandung vitamin, enzim, mineral, dan asam organik. Teh kombucha adalah produk tradisional yang terbuat dari fermentasi teh dan gula dengan bantuan awal kombucha (*Acetobacter xylinum* dan beberapa jenis khamir) (Aini dkk., 2022). Bakteri dan khamir bersaing merombak gula untuk menghasilkan asam asetat dan alkohol. Asam asetat, etanol, dan asam glukoronat merupakan komponen utama yang ditemukan selama fermentasi, sedangkan asam laktat, asam fenolat, vitamin C, vitamin B, dan enzim merupakan komponen minor (Suhardini & Zubaidah, 2016).

Secara tradisional, kombucha dibuat dengan larutan teh yang disajikan dengan gula pasir, namun sekarang banyak penelitian menggunakan bahan alam yang mengandung antioksidan dan tanin yang kuat seperti daun salam, daun jambu, daun sirih, daun sirsak, daun kopi, dan daun teh (Ita Purnami dkk., 2018). Berdasarkan penelitian Suhardini & Zubaidah, (2016) bahwa teh terbaik untuk kombucha dibuat dari daun teh karena kandungan tanin pada teh ini sangat tinggi sehingga meningkatkan kadar antioksidan pada kombucha. Adapun jenis teh yang banyak dikenal yaitu teh hitam dan teh hijau. Teh Hijau telah banyak diteliti dan dikonsumsi secara luas karena memiliki berbagai kandungan yang bermanfaat seperti air, vitamin, mineral polifenol, dan antioksidan (Hassmy dkk., 2017), begitupun dengan teh hitam memiliki komponen yang bermanfaat bagi kesehatan, yaitu zat yang disebut katekin (turunan polifenol), yang digunakan sebagai agen antiinflamasi dan pencegah penyakit (Firdaus dkk., 2020).

Peningkatan aktivitas antioksidan pada teh kombucha bergantung pada keberadaan senyawa antioksidan seperti polifenol, vitamin C dan vitamin B. Teh kombucha diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan teh tanpa fermentasi karena pada kombucha dihasilkan komponen dengan berat molekul yang rendah dan modifikasi struktur polifenol oleh enzim yang dihasilkan oleh *yeast* dan bakteri selama proses fermentasi. Selain merombak gula menjadi alkohol dan senyawa yang lebih sederhana *yeast* juga menghasilkan enzim-enzim diantaranya invertase, zimase, karboksilase, heksokinase, dehidrogenase, sedangkan bakteri asam asetat menghasilkan dehidrogenase (Koh dkk., 2022).

Aktivitas antioksidan kombucha dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah lama fermentasi. Lama fermentasi memiliki peranan penting terhadap aktivitas antioksidan dari kombucha karena hal ini dapat berdampak negatif pada keefektifan minuman tersebut dalam memberikan manfaat kesehatan. Selama proses fermentasi, lama fermentasi dapat meningkatkan laju konversi senyawa-senyawa, yang mempengaruhi profil nutrisi dan kandungan antioksidan teh kombucha (Leal dkk., 2018). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Hapsari dkk., (2021) bahwa lama fermentasi berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan minuman kombucha di hari ke-2 sampai hari ke-6 meningkat dari $83,67 \pm 0,55$ % menjadi $87,21 \pm 0,06$ %. Aktivitas antioksidan yang optimal diperoleh pada waktu lama fermentasi 8 hari sebesar $89,75 \pm 0,06$ % dan mengalami penurunan pada hari ke-10 menjadi $79,46 \pm 0,34$ %.

Penelitian lain yang dilakukan oleh (Suhardini & Zubaidah, 2016) aktivitas antioksidan kombucha tertinggi terdapat pada daun teh dan lamanya fermentasi 8 hari dan mengalami penurunan aktivitas antioksidan di hari ke-14. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Sintya Hunandar (2016), bahwa konsentrasi sampel teh kombucha yang digunakan untuk dilakukan uji aktivitas antioksidan yaitu 25,0 μ L; 50 μ L; 75,0 μ L; 100,0 μ L; 125 μ L dan ditambahkan etanol hingga 10,0 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 21,3 bpj; 42,7 bpj; 64,0 bpj; 85,3 bpj; 106,7 bpj. Penelitiannya di uji di hari ke- 3, 7, 10, dan 15 dengan hasil fermentasi pada hari ke 10 menunjukkan peningkatan daya antioksidan yang paling baik.

Adapun metode uji aktivitas antioksidan yang sering digunakan adalah metode ABTS dimana metode ini senyawa dapat langsung berinteraksi dengan larutan ABTS (Arthawani, 2021). Metode peredaman radikal bebas 2,2-azinobis-3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic Acid (ABTS) merupakan metode pengujian untuk mengukur jumlah radikal bebas yang memiliki sensitivitas yang cukup tinggi, kelebihan ABTS dibandingkan dengan metode lain yaitu pengujiannya yang sederhana, efektif, cepat, dan mudah diulang. Alasan penggunaan metode ABTS dalam penelitian ini karena ABTS dapat digunakan pada sampel yang bersifat hidrofilik maupun lipofilik sehingga sesuai dalam penelitian ini yang menggunakan sampel teh kombucha bersifat hidrofilik sehingga reaksinya akan lebih optimal. Berbeda dengan metode DPPH karena metode DPPH lebih baik digunakan pada sampel yang bersifat lipofilik (Serlahwaty & Seviaan, 2016).

Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian yang komprehensif untuk memahami bagaimana lama fermentasi dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan dari teh kombucha yang dihasilkan dari berbagai varian teh menggunakan metode ABTS.

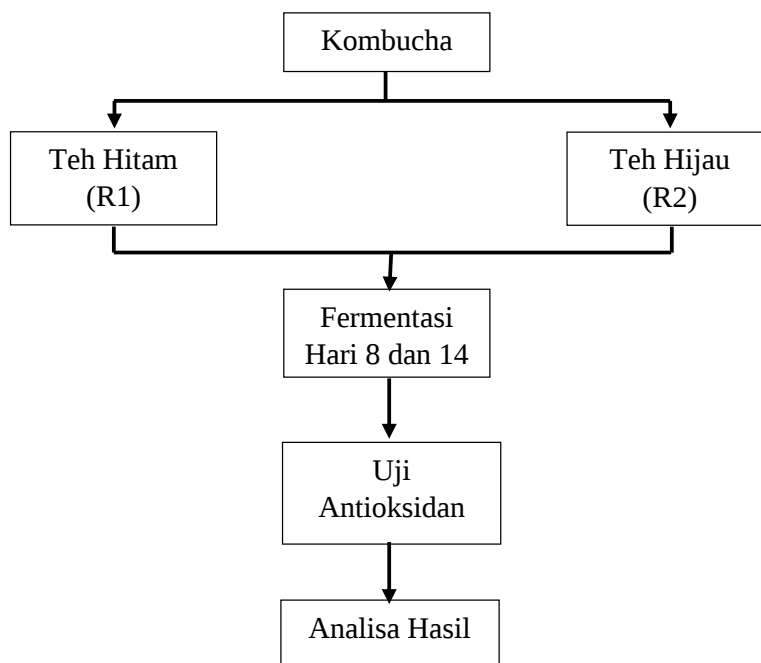
2. METODE

Penelitian ini dilakukan dengan jenis penelitian *experimental laboratory* secara analitik dengan metode rancangan acak lengkap (RAL) dengan pola dua faktorial. Faktor I : variasi daun teh. Faktor II : lama fermentasi.

Penelitian ini melibatkan penggunaan berbagai instrumen dan bahan yang diperlukan. Instrumen yang digunakan meliputi Kompor gas *Quantum*, panci, beaker glass *Iwaki*, labu ukur *Iwaki*, erlenmeyer *Iwaki*, pipet ukur *Iwaki*, mikro pipet, spektrofotometer Uv-Vis *Shimadzu*, saringan, pengaduk, kain, gelas ukur *Iwaki*, timbangan analitik *Fujitsu FS-AR*, karet gelang, kertas label, alat tulis, dan toples kaca.

Bahan penelitian yang digunakan meliputi Aquades, gula (Gulaku), starter kombucha, teh hitam (Sariwangi), teh hijau (Kepala Djenggot), etanol p.a, kalium persulfat, ABTS, dan asam askorbat.

Bagian penelitian ini berfokus pada pengukuran aktivitas antioksidan dalam kombucha teh hijau dan teh hitam pada lama fermentasi hari ke-8 dan ke-14. Tahap awal melakukan proses fermentasi teh kombucha. Selanjutnya dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan konsentrasi 10 ppm, 30 ppm, 50 ppm, 70 ppm dan 90 ppm. Selanjutnya dihomogenkan lalu diukur serapan dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 743 nm.



Gambar 1. Alur Penelitian

Hasil yang diperoleh dari uji aktivitas antioksidan diuji normalitas menggunakan uji *Shapiro wilk* dan uji homogenitas *Levene Test*. Setelah data berdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan ke uji Anova. Hasil uji Anova menunjukkan hasil signifikan $\leq \alpha(0.05)$, maka dilanjutkan dengan uji lanjutan berupa Uji BNT. Hasil diasumsikan berbeda nyata ketika $\text{sig} \leq \alpha(0.05)$. Apabila $\text{sig} \geq \alpha(0.05)$, maka diasumsikan tidak berbeda nyata.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret 2024 – April 2024 di Laboratorium Farmasi Fakultas Farmasi Unissula Semarang. Tujuan riset ini untuk mengetahui pengaruh lama fermentasi terhadap aktivitas antioksidan pada variasi teh kombucha dengan metode ABTS (2,2-Azinobis (3-Ethylbenzothiazoline) 6 Sulphonic Acid) pada hari ke-8 dan ke-14.

Pembuatan teh kombucha dilakukan dengan memfermentasikan larutan teh hijau atau teh hitam yang telah diberi gula menggunakan starter mikroba berupa SCOBY (*Symbiotic Culture of Bactery and Yeast*). Hasil pembuatan kombucha teh hijau dan teh hitam tersaji pada Gambar 2.



(a1)



(a2)



(b1)



(b2)

Gambar 2 Kombucha teh hijau hari 8 (a1), kombucha teh hijau hari 14 (a2), kombucha teh hitam hari 8 (b1), dan kombucha teh hitam hari 14 (b2).

Uji aktivitas antioksidan dilakukan pada 4 sampel teh kombucha dengan lama fermentasi 14 hari untuk mengetahui pengaruh lama fermentasi terhadap aktivitas antioksidan teh kombucha. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode ABTS dan aktivitas antioksidan dinyatakan dengan nilai IC_{50} . Hasil aktivitas antioksidan dari vitamin C dan 4 sampel teh kombucha tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1 Aktivitas Antioksidan Vitamin C dan Sampel Teh Kombucha

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Rerata Abs	% Inhibisi	Rerata % Inhibisi	IC ₅₀ (µg/mL)
Vitamin C	3	0.641	15.912	80.368	4.245
	4	0.572	29.895		
	5	0.448	65.848		
	6	0.344	115.988		
	7	0.271	174.169		
Teh Hijau Kombucha (Hari 8)	10	0.603	23.051	105.291	28.597
	30	0.505	46.930		
	50	0.413	79.661		
	70	0.304	144.078		
	90	0.223	232.735		
Teh Hijau Kombucha (Hari 14)	10	0.652	13.803	72.904	37.872
	30	0.575	29.043		
	50	0.474	56.54		
	70	0.378	96.296		
	90	0.276	168.84		
Teh Hitam Kombucha (Hari 8)	10	0.631	17.432	93.613	30.975
	30	0.516	43.604		
	50	0.426	73.943		
	70	0.323	129.411		
	90	0.244	203.688		
Teh Hitam Kombucha (Hari 14)	10	0.674	10.385	67.633	40.083
	30	0.587	26.746		
	50	0.490	51.836		
	70	0.381	95.275		
	90	0.293	153.924		

Pembuatan teh kombucha dibuat melalui proses fermentasi teh hijau atau teh hitam yang telah diberi gula menggunakan starter mikroba berupa SCOBY (*Symbiotic Culture of Bactery and Yeast*) selama 14 hari.

Penambahan gula digunakan sebagai sumber karbon karena Gustishio dkk (2023) menjelaskan bahwa gula merupakan sumber makanan bagi pertumbuhan

mikroorganisme. Starter yang digunakan dalam penelitian ini adalah SCOBY dan cairan dari fermentasi sebelumnya. Penambahan starter berfungsi untuk mengaktifasi bakteri asetat dalam fermentasi teh kombucha. Hal ini sejalan dengan penelitian Kamelia dkk (2023), menjelaskan bahwa SCOBY berupa khamir (*Saccharomyces cerevisiae*) akan memetabolisme gula serta bahan anorganik lain pada larutan teh sehingga menghasilkan alkohol. *Acetobacter xylinum* akan mengubah alkohol menjadi berbagai asam organik seperti asam sitrat, asam glukonat, asam malat, dan asam laktat serta komponen lain seperti vitamin C, mineral, dan senyawa fenolik yang mempunyai efek terhadap kesehatan salah satunya sebagai antioksidan.

Berdasarkan hasil penelitian terdapat perbedaan warna pada kombucha teh hijau dan kombucha teh hitam. Kombucha yang dihasilkan dari teh hijau menunjukkan warna hijau gelap sedangkan pada teh hitam menunjukkan warna merah gelap. Hal ini sejalan dengan penelitian Putri dkk (2023), bahwa perbedaan warna pada kombucha bergantung pada substrat yang digunakan seperti jenis teh yang digunakan. Hal ini terjadi karena terdapat perbedaan kandungan pada kedua teh yaitu pada teh hitam memiliki senyawa *theaflavin* dan *thearubigin* merupakan hasil oksidasi polifenol yang mempengaruhi warna dan kecerahan air seduhan. *Theaflavin* memiliki warna merah kekuningan dan bersifat agak asam. Sedangkan pada teh hijau tidak terdapat senyawa tersebut, sehingga warna teh hijau lebih jernih dan terang.

Warna teh kombucha baik teh hitam maupun teh hijau semakin cerah akibat lamanya waktu fermentasi. Pada fermentasi hari ke 14 warna teh kombucha tidak gelap seperti pada fermentasi hari ke 8. Hal ini disebabkan karena dalam proses fermentasi mikroba akan mendegradasi warna pada teh kombucha. Hal ini sejalan dengan penelitian Sintyadewi & Widnyani (2021), bahwa terjadi perubahan warna dari gelap menjadi semakin terang akibat kemampuan mikroba yang dapat mendegradasi warna pada kombucha.

Uji aktivitas antioksidan pada penelitian ini yaitu pengaruh lama fermentasi terhadap aktivitas antioksidan dari dua teh kombucha yang berbeda dibagi menjadi 4 yaitu teh hijau fermentasi 8 hari, teh hijau fermentasi 14 hari, teh hitam fermentasi 8 hari dan teh hitam fermentasi 14 hari serta Vitamin C sebagai kontrol positif. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode kuantitatif metode ABTS (2,2 Azinobis (3-Ethylbenzoatiazolin) 6 Sulfonat), dimana metode ini senyawa dapat langsung berinteraksi dengan larutan ABTS. Pengujian metode ABTS didasarkan pada kemampuan senyawa dalam membentuk kation radikal (ABTS⁺). Kation radikal (ABTS⁺) dibuat dengan mereaksikan larutan ABTS dengan kalium persulfat. ABTS ini berfungsi untuk mengukur antioksidan yang mengalami reaksi dengan radikal kation ABTS. Larutan ABTS akan mengalami reduksi ditandai dengan warna biru-hijau menjadi tidak berwarna (Kurniawati & Sutoyo, 2021).

Uji aktivitas antioksidan dilakukan terlebih dahulu penentuan panjang gelombang maksimum yang dihasilkan adalah 743 nm. Pengukuran panjang gelombang untuk mengetahui serapan optimum larutan sampel dari larutan sampel baku (Oktaviantari dkk., 2019). Kemudian dilakukan *operating time* dengan hasil yang didapatkan adalah 30 menit. *Operating time* dilakukan untuk melihat kapan waktu antara sampel dengan senyawa radikal akan bereaksi secara optimal (Pratita dkk., 2022).

Sampel dilakukan 3 kali replikasi pada setiap konsentrasi agar mendapatkan absorbansi dan mengoptimalkan terjadi kesalahan dalam analisa sampel. Metode ABTS mengalami reduksi dari senyawa radikal bebas karena ABTS merupakan radikal dengan pusat

nitrogen dengan karakteristik warna biru-hijau, ketika tereduksi oleh antioksidan menjadi bentuk nonradikal yang tidak berwarna (Saputri dkk., 2020).

Tabel 1 menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi sampel maka akan semakin kecil nilai absorbansi yang didapat. Semakin tinggi konsentrasi sampel yang ditambahkan berdampak pada persen penghambatan yang semakin meningkat. Dalam hal ini absorbansi yang diperoleh semakin rendah yang menunjukkan semakin banyak radikal bebas yang dihambat. (Moniung dkk., 2022).

Dari hasil pengukuran, diperoleh absorbansi yang kemudian digunakan untuk perhitungan aktivitas antioksidan yang dinyatakan dengan persentase penghambatan dan nilai IC_{50} . Berdasarkan hasil perhitungan persen penghambatan, dapat diketahui bahwa konsentrasi sampel yang ditambahkan mempengaruhi kemampuan sampel dalam meredam radikal bebas, dapat dikatakan bahwa aktivitas antioksidan tersebut semakin besar yang ditandai dengan persen penghambatan yang semakin tinggi. Hasil ini didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Hanani dkk, (2015) yang menyatakan persentase penghambatan terhadap aktivitas radikal bebas akan meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi sampel (Anggarani & Amalia, 2022).

Berdasarkan Tabel 1, diketahui bahwa aktivitas antioksidan kombucha teh hijau lebih tinggi dibandingkan dengan kombucha teh hitam. Kombucha teh hijau lebih tinggi aktivitas antioksidan dibanding kombucha teh hitam karena berdasarkan hasil pengukuran kadar fenol dan flavonoid teh hijau memiliki kadar fenol dan flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan dengan teh hitam. Hal ini terjadi karena pada teh hijau mengandung senyawa EGCG (*epigallocatechin gallate*) yang lebih banyak (Leslie & Gunawan, 2019). Namun, pada masing-masing teh kombucha yang dianalisis, kemampuannya dalam menghambat radikal bebas menurun seiring dengan bertambahnya waktu fermentasi. Pada hasil rata rata persen penghambatan kombucha teh hijau hari 8 (105.291%) menurun di hari ke 14 menjadi (72.904%) begitupun dengan kombucha teh hitam hari 8 (93.615%) turun di hari ke 14 menjadi (67.633%). Hasil penelitian ini sejalan dengan Jakubczyk dkk (2020) yang melaporkan bahwa aktivitas antioksidan kombucha pada daun teh hijau maupun teh hitam tertinggi ada pada fermentasi 7 hari dan mengalami penurunan aktivitas antioksidan di hari ke 14. Hal ini dipengaruhi oleh kadar fenolik dan flavonoid yang, semakin meningkat seiring lamanya fermentasi namun dalam kondisi larutan asam lemah. Larutan sampel yang semakin asam karena terdapat aktivitas dari bakteri yang mengubah alkohol menjadi berbagai kandungan asam seperti asam sitrat, asam glukonat, asam malat, dan asam laktat. Senyawa fenolik dan flavonoid dalam suasana asam lemah akan menjadi lebih stabil sehingga proton yang dapat berikatan dengan ABTS sulit dilepaskan. Hal inilah yang mengakibatkan penurunan aktivitas antioksidannya.

Tinggi rendahnya aktivitas antioksidan yang dihasilkan oleh kombucha juga dipengaruhi oleh jenis teh yang digunakan. Jenis teh memberikan pengaruh terhadap kadar antioksidan. Penelitian ini menunjukkan bahwa kombucha teh hitam memiliki aktivitas antioksidan yang lebih rendah dibandingkan kombucha teh hijau. Hal ini karena teh hitam memiliki senyawa *theastavin* dan *thearubigin* yang bersifat antimikroba, sehingga pembentukan karbondioksida dan air oleh *yeast* tidak maksimal. Sedangkan pada teh hijau tidak terdapat senyawa tersebut sehingga pembentukan karbondioksida dan air oleh *yeast* tetap maksimal. Pada teh hijau juga terdapat kandungan senyawa EGCG

(*epigallocatechin gallate*) yang lebih banyak sehingga memberikan hasil aktivitas antioksidan yang lebih tinggi (Leslie & Gunawan, 2019).

Sebagaimana penelitian pada umumnya, penelitian ini juga tidak lepas dari keterbatasan. Beberapa keterbatasan dalam penelitian ini yaitu, belum dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai komponen mikroorganisme yang paling aktif didalam kultur kombucha, hanya menggunakan dua bahan herbal yaitu teh hitam dan teh hijau, lama hari fermentasi tidak begitu lama sehingga kurang mendapatkan kandungan yang lebih detail, belum dilakukan analisa kandungan dan aktivitas antioksidan pada SCOBY tersendiri, serta hanya menggunakan satu metode saja yaitu ABTS sehingga belum mengetahui apakah masih terdapat metode lain yang lebih efektif.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan terdapat pengaruh lama fermentasi terhadap aktivitas antioksidan pada variasi teh kombucha dengan hasil IC₅₀ kombucha teh hijau fermentasi 8 hari (28,597 µg/mL) dan 14 hari (37,872 µg/mL) serta kombucha teh hitam fermentasi hari 8 (30,975 µg/mL) dan 14 hari (40,083 µg/mL), semakin lama waktu fermentasi menyebabkan meningkatnya kadar fenol dan flavonoid, namun aktivitas antioksidan mengalami penurunan pada hari ke-14.

DAFTAR PUSTAKA

- Aini, Q., Suhendra, T., & Ramadhani, A. (2022). Pelatihan Teknik Pembuatan Teh Kombucha Untuk Siswa SMA Insan Qur'ani Aceh Besar. *Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*, 28(2), 185-190.
- Anggarani, M. A., & Amalia, R. (2022). Analisis Kadar Fenolik, Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan Umbi Bawang Bombai (*Allium cepa* L.). *Unesa Journal of Chemistry*, 11(1), 34-45.
- Anjarsari, I. R. D. 2016. Katekin Teh Indonesia : Prospek dan Manfaatnya. *Indonesia tea catechin : prospect and benefits*, 15 (2).
- Arthawani, G. (2021). Isolasi Protein Double function (Antioksidan dan Antidiabetes Tipe-2) dari Biji Melinjo (*Gnetum gnemon*) secara Invitro. In *Digital Repository Universitas Jember* (Issue September 2019).
- Firdaus, S., Indah, A., Isnaini, L., & Aminah, S. (2020). "Review" Teh Kombucha Sebagai Minuman Fungsional dengan Berbagai Bahan Dasar Teh. *Prosiding Seminar Nasional Unimus*.
- Gustishio, A., Monica Sahidu, A., & Saputra, E. (2023). Effect of Sugar Concentration on Physical and Chemical Characteristics of Kombucha Seaweed (*Gracilaria verrucosa*). *Journal of Marine and Coastal Science*, 12(1), 26–33.

- Hapsari, M., Rizkiprilisa, W., & Sari, A. (2021). Pengaruh lama fermentasi terhadap aktivitas antioksidan minuman fermentasi kombucha lengkuas merah (*Alpinia purpurata*). *AGROMIX Jurnal Ilmiah Fakultas Pertanian*, 12(2), 146-149.
- Hassmy, N. P., Abidjulu, J., & Yudistira, A. (2017). Analisis Aktivitas Antioksidan Pada Teh Hijau Kombucha Berdasarkan Waktu Fermentasi Yang Optimal. *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT*, 6(4), 67-74.
- Indrawati, A., Baharuddin, S., & Kahar, H. (2022). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Batang Tanaman Ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) Kabupaten Takalar Menggunakan Pereaksi DPPH Secara Spektrofotometri Visibel. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 3(1), 69-77.
- Irma, A., & Miladiarsi. (2023). Penyuluhan Manfaat Teh Kombucha sebagai Minuman Probiotik di Desa Moncongloe Bulu, Kecamatan Moncongloe, Kabupaten Maro. *Jurnal Pengabdian Masyarakat Bhinneka (JPMB)*. 1(3), 165-170.
- Ita Purnami, K., Anom Jambe, A., & Wayan Wisaniyasa, N. (2018). Pengaruh Jenis Teh Terhadap Karakteristik Teh Kombucha. *Jurnal ITEPA*, 7(2), 1-10.
- Joseph, H., Kunnaryo, B., Prima, D., & Wikandari, R. (2021). Antosianin dalam Produksi Fermentasi dan Perannya sebagai Antioksidan. Dalam *UNESA Journal of Chemistry*, 10(1), 24-36.
- Kamelia, M., dkk. (2023). Analisis Kualitas Teh Kombucha Berdasarkan Jenis Teh Yang Digunakan. *Organisms*, 3(1), 17-26.
- Koh, S. P., Sew, Y. S., Sabidi, S., Maarof, S., Sharifudin, S. A., & Abdullah, R. (2022). SCOPY Papaya Beverages Induce Gut Microbiome Interaction As Potential Antiobesity In Weight Management Control Supplement-Siftdesk. *SDRP Journal of Food Science & Technology*, 6(3), 391-405.
- Kurniawati, I.F., & Sutoyo, S. (2021). Review Artikel: Potensi Bunga Tanaman Sukun (*Artocarpus Altilis* [Park.] Fosberg) Sebagai Bahan Antioksidan Alami. *UNESA Journal of Chemistry*, 10(1), 1-11.
- Leal, J. M., Suárez, L. V., Jayabalan, R., Oros, J. H., & Escalante-Aburto, A. (2018). A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. *CYTA - Journal of Food*, 16(1), 390-399.
- Leslie, P. J., & Gunawan, S. (2019). Uji Fitokimia Dan Perbandingan Efek Antioksidan Pada Daun Teh Hijau, Teh Hitam, dan Teh Putih (*Camellia sinesis*) Dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Tarumanagara Medical Journal*, 1(2), 383-388.
- Nurwijayanto, A., Na, M., Syahbudin, A., & Wahyuono, S. (2020). Eksplorasi Potensi Antioksidan Tumbuhan Obat Dari Taman Nasional Gunung Merapi Yogyakarta. *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*. 13(1), 25-31.

- Oktaviantari, D. E., dkk. (2019). Identifikasi Hidrokuinon Dalam Sabun Pemutih Pembersih Wajah Pada Tiga Klinik Kecantikan Di Bandar Lampung Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis Dan Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Analisis Farmasi*. 4(2), 91-97.
- Pratita, A. T. K., dkk. (2022). Isolasi dan Aktivitas Antioksidan dengan Mnenggunakan Metode ABTS (2,2 Azinobis (3-Ethylbenzotiazolin) 6 Sulfonat) Senyawa Superoksida Dismutase pada Mikroalga *Clorrela vulgaris*. *Prosiding Seminar Nasional Diseminasi*, Vol 2.
- Putri, D. A., dkk. (2023). Produksi Kombucha The Hitam Menggunakan Jenis Pemanis dan Lama Fermentasi Berbeda. *Jurnal Kolaboratif Sains*, 6(7), 640-656.
- Saputri, A. P., dkk. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Kulit Pisang Kepok (*Musa acuminata* x *Musa balbisiana* (ABB cv)) Dengan Metode ABTS (2,2 azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat) Pada Berbagai Tingkat Kematangan. *Jurnal Kedokteran*, 8(1), 973-980.
- Sintyadewi, P. R., dkk. 2021. Analysis Of Chemical Characteristics And Antioxidant Activity Test Of Kombucha Black Tea And Butterfly Pea Flower (*Clitoria ternatea* L.) Based On Fermentation Time. *International Journal of Chemical & Material Sciences*, 4(1), 27-32.
- Sintya Hunandar, V. (2016). Penetapan Daya Antioksidan Dan Kadar Total Fenol Kombucha Dibandingkan Teh Hijau Secara Spektrofotometri. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*, 5(2), 435-445.
- Suhardini, P. N., & Zubaidah, E. (2016). Studi Aktivitas Antioksidan Kombucha Dari Berbagai Jenis Daun Selama Fermentasi. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 4(1), 221-229.