

ANALISIS AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA TEH HIJAU KOMBUCHA BERDASARKAN WAKTU FERMENTASI YANG OPTIMAL

Nursyah Putri Hassmy¹⁾, Jemmy Abidjulu¹⁾, dan Adithya Yudistira¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi, FMIPA UNSRAT, Manado, 95115

ABSTRACT

Kombucha tea is a traditional beverage product of fermented tea and sugar solution by using starter kombucha (Acetobacter xylinum and some of yeast species). The low productivity of contamination from harmful microorganisms causing the disease makes kombucha safe for self-prepared at home without pathogenic risks for health. The purpose of this study is to determine the optimal value of antioxidant activity on kombucha green tea basen on fermentation time. To test antioxidant activity, the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical method was used to measure antioxidant activity based on the ability to capture DPPH radicals and statistical test data was using ANOVA and Post Hoc Multiple Comparisons methods. From the results of the study showed that fermentation on day 1 to day 5 kombucha green tea has optimal antioxidant activity.

Keywords : *Kombucha Tea, Antioxidant Activity, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)*

ABSTRAK

Teh kombucha merupakan produk minuman tradisional hasil fermentasi larutan teh dan gula dengan menggunakan *starter* kombucha (*Acetobacter xylinum* dan beberapa jenis khamir). Rendahnya produktivitas kontaminasi dari mikroorganisme berbahaya yang menyebabkan penyakit membuat kombucha aman untuk dipersiapkan sendiri di rumah tanpa risiko patogenik untuk kesehatan. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui nilai aktivitas antioksidan yang optimal pada teh hijau kombucha berdasarkan waktu fermentasinya. Untuk menguji aktivitas antioksidan digunakan metode radikal DPPH (1,1- diphenyl-2-picrylhydrazyl) aktivitas antioksidan diukur berdasarkan kemampuan untuk menangkap radikal DPPH dan uji data statistik menggunakan metode ANOVA dan *Post Hoc Multiple Comparisons*. Dari hasil penelitian menunjukkan fermentasi dihari ke – 1 sampai dengan hari ke – 5 teh hijau kombucha memiliki aktivitas antioksidan yang optimal.

Kata Kunci : *Teh Kombucha, Aktivitas Antioksidan, DPPH (1,1- diphenyl-2-picrylhydrazyl)*

PENDAHULUAN

Ada sejenis minuman kesehatan yang diketahui mengandung banyak sekali manfaat bagi tubuh manusia minuman kesehatan itu merupakan minuman dari air seduhan teh. Minuman seduhan teh tersebut dikenal dengan nama teh Kombucha atau *Kombucha tea*. Minuman ini adalah minuman kesehatan yang sudah dikenal sejak jaman dahulu di berbagai negara seperti China, Rusia, dan Jerman. Teh Kombucha ini juga cukup populer di Indonesia (Aryadnyani, 2012).

Jenis teh kombucha sendiri yang sering dikonsumsi oleh banyak orang salah satunya ialah jenis teh hijau. Teh hijau telah banyak diteliti memiliki banyak kandungan yang bermanfaat seperti air, mineral, vitamin, polifenol, dan antioksidan (Anantaboga, 2012).

Teh kombucha merupakan produk minuman tradisional hasil fermentasi larutan teh dan gula dengan menggunakan *starter* kombucha (*Acetobacter xylinum* dan beberapa jenis khamir) (Wistiana dan Zubaidah, 2015). Rendahnya produktivitas kontaminasi dari mikroorganisme berbahaya yang menyebabkan penyakit membuat kombucha aman untuk dipersiapkan sendiri di rumah tanpa risiko patogenik untuk kesehatan (Talawat *et al.*, 2006).

Teh Kombucha merupakan salah satu minuman yang telah dikenal memiliki aktivitas antioksidan, meningkatnya aktivitas antioksidan pada teh kombucha sendiri disebabkan karena adanya fenolik bebas yang dihasilkan selama proses fermentasi, sehingga semakin tinggi kadar fenolik yang dihasilkan, maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Suhardini dan Zubaidah, 2016).

Menguji aktivitas antioksidan digunakan metode radikal DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), karena metode ini cukup sederhana, mudah dikerjakan, dan tidak membutuhkan banyak waktu. Aktivitas antioksidan diukur berdasarkan kemampuan untuk menangkap radikal DPPH. Keberadaan antioksidan akan menetralkan radikal DPPH dengan menyumbangkan elektron kepada DPPH, menghasilkan perubahan warna dari ungu menjadi kuning. Penghilangan warna akan sebanding dengan jumlah elektron yang diambil oleh DPPH sehingga dapat diukur secara spektrofotometri (Jaya *et al.*, 2012)

METODE PENELITIAN

Alat ukur analitis yang digunakan adalah seperangkat instrumen Spektrofotometer UV-Visible (Shimadzu 00787) dan pH meter (Elmetron CP-505). Alat tambahan untuk penelitian ini seperti cawan petri, gelas ukur, pipet tetes, mikro pipet, aluminium foil, teko listrik *stainless steel*, kain bersih dan gelang karet.

Bahan yang digunakan adalah produk teh hijau lokal yang beredar di pasaran Kota Manado, kultur starter jamur kombucha, larutan *2,2-diphenil-1-picrylhydrazyl* (DPPH), metanol (p.a), aquadest dan gula pasir.

Prosedur Kerja Pengambilan Sampel

Daun teh diperoleh dari produk teh lokal yang beredar di pasar Kota Manado, kemudian kultur starter jamur kombucha diperoleh dari pabrik kultur kombucha lokal yang ada dan beredar di Indonesia.

Teh dibuat dengan memasukkan 5 kantong teh seduhan celup (8 gram) dan ditambahkan air sebanyak 1500 ml dengan gula 150 gram (15% dari volume air seduhan teh). Selanjutnya sampel dianalisis di Laboratorium Kimia Farmasi Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi.

Pembuatan Larutan Induk

Sejumlah 0,5 mg DPPH ditimbang dan dilarutkan dalam 50 mL metanol p.a didapatkan konsentrasinya 10 mg/L

Pembuatan Larutan Kontrol

Pembuatan larutan kontrol didahului dengan pembuatan larutan induk DPPH 10 mg/L diaduk hingga homogen. Selanjutnya larutan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C

Pengukuran pH

Pengukuran pH sampel teh kombucha dilakukan dengan cara mengambil sekitar 100 mL larutan teh kombucha kemudian dimasukkan ke dalam beker gelas kemudian diukur pH larutan teh kombucha menggunakan pH meter.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH, dilakukan dengan mengambil larutan induk DPPH dengan konsentrasi 10 mg/L, diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 400 sampai 800 nm.

Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH

Untuk pengujian aktivitas antioksidan, sebanyak 1 mL larutan DPPH (10 mg/L) ditambahkan 50 µL larutan sampel lalu ditambahkan metanol p.a hingga 5 mL, kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 513 nm.

Aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{\text{Abs.kontrol} - \text{Abs.Sampel}}{\text{Abs.kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan :

Abs kontrol : Serapan radikal DPPH 10 mg/L pada panjang gelombang 513 nm.

Abs Sampel: Serapan sampel dalam radikal DPPH 10 mg/mL pada panjang gelombang 513 nm

Analisis Data

Semua data kuantitatif untuk mengetahui pengaruh waktu fermentasi terhadap aktivitas antioksidan dan pH dilakukan analisis data secara statistik menggunakan metode *One-Way ANOVA* pada taraf kepercayaan 95% dan untuk menganalisis lebih lanjut tentang pengaruh pH terhadap waktu fermentasi dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Multiple Comparisons*. Analisis statistik dilakukan

dengan menggunakan program aplikasi IBM SPSS Statistics 22 Version.

Tabel. 1 Hasil analisis pengukuran pH Teh Hijau Kombucha berdasarkan waktu fermentasi optimal yang telah ditentukan sebagai berikut :

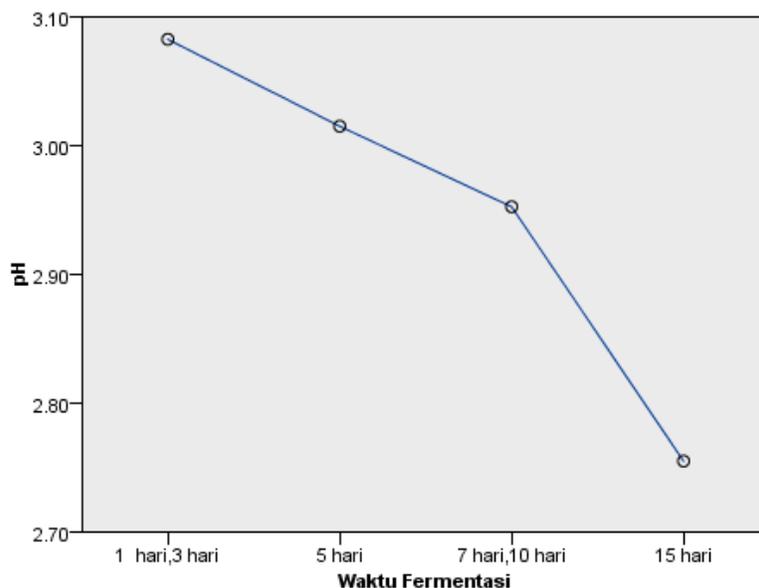
HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis pH

| Waktu Fermentasi | Hasil Pengukuran | |
|------------------|------------------|----------------------|
| | pH | Standar Deviasi (SD) |
| Hari ke – 1 | 3,11 | 0,021 |
| | 3,08 | |
| Hari ke – 3 | 3,08 | 0,014 |
| | 3,06 | |
| Hari ke – 5 | 3,02 | 0,007 |
| | 3,01 | |
| Hari ke – 7 | 3,00 | 0.035 |
| | 2,95 | |
| Hari ke – 10 | 2,95 | 0.028 |
| | 2,91 | |
| Hari ke – 15 | 2,76 | 0.007 |
| | 2,75 | |

Pada hasil penelitian ini teh hijau kombucha mengalami penurunan pH yang cukup besar

akibat bertambahnya waktu fermentasi (Gambar 1):



Gambar 1 Kurva pengaruh waktu fermentasi terhadap nilai pH Teh Hijau Kombucha (Menggunakan program aplikasi SPSS)

Nilai asam pada seduhan Teh Hijau Kombucha semakin meningkat dan pH pada larutan Teh Hijau Kombucha menurun, hal ini dikarenakan menurut (Jasman dan Widiyanto, atau gula yang terdapat dalam larutan seduhan teh hijau dan menghasilkan sejumlah asam-asam organik, tingginya kadar gula dalam larutan teh menyebabkan peningkatan aktivitas mikroorganisme dan asam organik. Semakin tinggi asam organik yang terdapat dalam kombucha maka total asam yang dihasilkan semakin tinggi sehingga menurunkan pH pada larutan teh. Penurunan nilai pH dalam fermentasi menurut (Fardiaz, 1988) akan mendukung kehidupan bakteri *Acetobacter Xylinum* dalam kultur kombucha

2012) selama proses fermentasi khamir dan bakteri *Acetobacter Xylinum* yang terdapat di *starter* atau jamur kombucha melakukan metabolisme terhadap sukrosa untuk melangsungkan aktivitas metabolismenya. Asam yang terlarut akan terdisosiasi untuk melepaskan proton-proton bebas yang menurunkan pH larutan pada Teh Hijau Kombucha

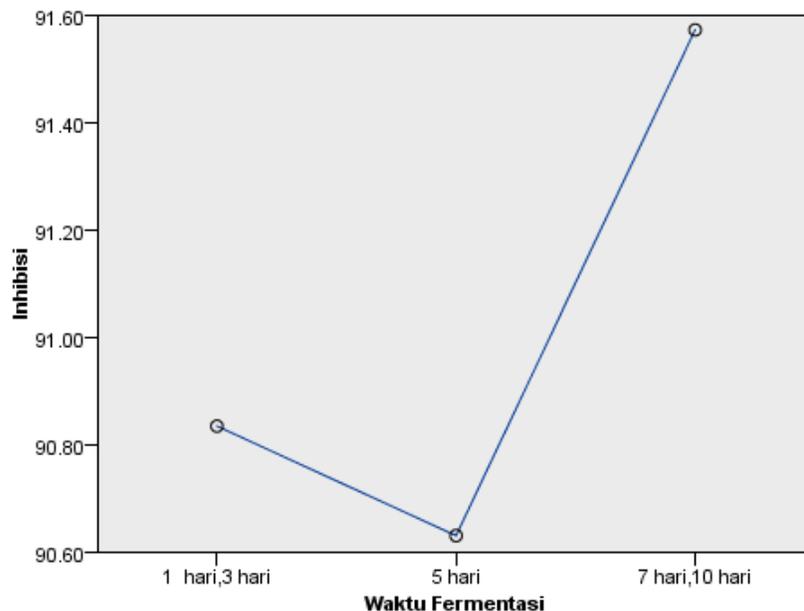
Analisis Antioksidan

Tabel. 2 Hasil analisis aktivitas antioksidan Teh Hijau Kombucha berdasarkan waktu fermentasi optimal yang telah ditentukan sebagai berikut :

| Waktu Fermentasi | Hasil Pengukuran | |
|------------------|------------------|----------------------|
| | %P | Standar Deviasi (SD) |
| Hari ke – 1 | 90,835 | 0.000 |
| | 90,835 | |
| Hari ke – 3 | 90,631 | 0.000 |
| | 90,631 | |
| Hari ke – 5 | 91,853 | 0.000 |
| | 91,853 | |
| Hari ke – 7 | 91,853 | 1,008 |
| | 90,427 | |
| Hari ke – 10 | 91,649 | 0,286 |
| | 92,057 | |
| Hari ke – 15 | 91,649 | 0,286 |
| | 91,242 | |

Keterangan : %P merupakan nilai penangkapan radikal bebas DPPH diukur berdasarkan waktu fermentasi optimal yang telah ditentukan.

Pada hasil penelitian ini teh hijau kombucha mengalami peningkatan aktivitas antioksidan dengan dilihat dari nilai persentase penangkapan radikal DPPH (%P) akibat bertambahnya waktu fermentasi (Gambar 2):



Gambar 2 Kurva pengaruh waktu fermentasi terhadap aktivitas antioksidan Teh Hijau Kombucha (Menggunakan program aplikasi SPSS).

Peningkatan aktivitas antioksidan pada teh hijau kombucha diakibatkan oleh hasil metabolisme mikroorganisme pada kombucha selama proses fermentasi (Goh *et al.*, 2012). Menurut (Jayabalan *et al.*, 2008) metabolisme mikroorganisme pada kombucha meningkatkan senyawa fenol karena adanya proses biotransformasi yang memanfaatkan enzim suatu sel tanaman untuk meningkatkan aktivitas biologis tertentu. Selain itu daun teh yang digunakan sebagai bahan baku teh Kombucha mengandung golongan senyawa fenol yang dapat meningkat seiring lamanya fermentasi. Meningkatnya aktivitas antioksidan disebabkan karena adanya fenolik bebas yang dihasilkan selama proses fermentasi, sehingga semakin tinggi kadar fenolik yang dihasilkan semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Penurunan aktivitas antioksidan yang terjadi di hari ke – 15 menurut (Sukmawati *et al.*, 2013) selama

proses fermentasi terjadi juga peningkatan jumlah asam-asam organik karena aktivitas khamir dan bakteri yang berada dalam kombucha. Suasana asam menyebabkan senyawa fenolik menjadi semakin stabil dan sulit melepaskan proton yang dapat berikatan dengan DPPH sehingga aktivitas antioksidannya menurun.

Berdasarkan hasil analisis yang ditunjukkan pada Tabel. 3 terjadi peningkatan aktivitas antioksidan pada teh hijau kombucha walaupun diiringi dengan penurunan pH yang terjadi selama proses fermentasi. Untuk melihat aktivitas antioksidan yang optimal pada teh hijau kombucha dilihat berdasarkan pH aman untuk dikonsumsi pada Tabel.3 menunjukkan bahwa di hari ke – 1 sampai dengan hari ke – 5 teh hijau kombucha memiliki aktivitas antioksidan yang optimal karena memiliki pH yang masih

aman dikonsumsi. Waktu fermentasi tidak menunjukkan adanya pengaruh terhadap persentase penangkapan radikal DPPH justru

nilai persentasenya stabil walaupun pada hari ke – 15 menunjukkan penurunan aktivitasnya.

Tabel. 3 Hasil analisis nilai rata-rata pH dan Persentase Penangkapan Radikal DPPH (%P) Teh Hijau Kombucha berdasarkan variasi waktu fermentasi yang optimal

| Waktu Fermentasi | Hasil Pengukuran | |
|------------------|-------------------------|-------------------------|
| | pH ($\bar{x} \pm SD$) | %P ($\bar{x} \pm SD$) |
| Hari ke – 1 | 3,09 ± 0,021 | 90,835 ± 0,000 |
| Hari ke – 3 | 3,07 ± 0,014 | 90,631 ± 0,000 |
| Hari ke – 5 | 3,01 ± 0,007 | 91,853 ± 0,000 |
| Hari ke – 7 | 2,97 ± 0,035 | 91,140 ± 1,008 |
| Hari ke – 10 | 2,93 ± 0,028 | 91,853 ± 0,286 |
| Hari ke – 15 | 2,75 ± 0,007 | 91,445 ± 0,286 |

Keterangan : \bar{x} = nilai rata – rata, %P = Persentase Penangkapan Radikal DPPH, SD = Standar Deviasi.

KESIMPULAN

Aktivitas antioksidan yang optimal pada teh hijau kombucha dilihat berdasarkan pH aman untuk dikonsumsi, pada hasil penelitian menunjukkan bahwa dihari ke – 1 sampai dengan hari ke – 5 teh hijau kombucha memiliki aktivitas antioksidan yang optimal dengan persentase nilai rata-rata penangkapan radikal DPPH sebesar 90,835 dihari ke - 1, 90,631 dihari ke – 3 dan 91,853 dihari ke – 5 dengan nilai pH rata-rata > 3,00

DAFTAR PUSTAKA

Anantaboga, J. 2012. *Tangkal Seabrek Penyakit dengan Teh Hijau*. Jogjakarta : Diva Press

Aryadnyani, N.P. 2012. *Peningkatan Waktu Fermentasi Kombucha Tea Meningkatkan Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri Escherichia Coli Penghasil Extended Spectrum Beta Lactamases (Esbl) Secara In Vitro*. Denpasar : Universitas Udayana.

Cahyani, D.I., 2015. *Pengaruh Penambahan Teh Hijau terhadap Aktivitas Antioksidan dan Kadar Protein Minuman Fungsional Susu Kedelai dan Madu*. Semarang : Universitas Diponegoro

Fardiaz. 1988. Fisiologi Fermentasi. PAU IPB bekerja sama dengan lembaga Sumberdaya Informasi IPB. (23) : 15-16

- Goh, W.N., Rosma, A., Kaur, B., Fazilah, A., Karim, A.A and Bhat, R. 2012. Fermentation of Black Tea Broth (Kombucha): I. Effects of Sucrose Concentration and Fermentation Time on Yield of Microbial Cellulose. *International Food Reaserch Journal*. 19 (1): 109-117.
- Jasman, I D and Widiyanto, D. 2012. Selection of Yeast Strains for Ethanol Fermentation of Glucose-Fructose-Sucrose Mixture. *Journal of Biotechnology* 17(2) : 114-120.
- Jaya, I. G. N. I. P., Leliqia, N. P. E., dan Widjaja, I. N. K. Uji Aktivitas Penangkapan Radikal Dpph Ekstrak Produk Teh Hitam (Camellia Sinensis (L.) O.K.) Dan Gambir (Uncaria Gambir (Hunter) Roxb) Serta Profil Klt-Densitometernya. *Jurnal Farmasi Udayana*. 1 (1) : 86-101.
- Jayabalan, R., Subathradevi, P., Marimuthu, S., Sathishkumar, M and Swaminathan, K. 2008. Changes in Free-Radical Scavenging Ability of Kombucha Tea during Fermentation. *Food Chem.* (109) : 227-234.
- Suhardini, P.N., dan Zubaidah, E. 2016. Studi Aktivitas Antioksidan Kombucha Dari Berbagai Jenis Daun Selama Fermentasi. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 4 (1) : 221-229.
- Sukmawati, P.P.A., Ramona, Y., dan Leliqia, N.P.E. 2013. Penetapan Aktivitas Antioksidan Yang Optimal Pada Teh Hitam Kombucha Lokal Di Bali Dengan Variasi Waktu Fermentasi. *Jurnal Farmasi Udayana*. 2 (1) : 25-29.
- Talawat, S., Ahantharik, P., Laohawiwattanukul, S., Premsuk, A., and Ratanapo, S. 2006. *Efficacy of Fermented Teas in Antibacterial Activity. Departement of Biochemistry.* Bangkok : Faculty of Science Kasetsart University.
- Wistiana, D., Dan Zubaidah, E. 2015. Karakteristik Kimiawi Dan Mikrobiologis Kombucha Dari Berbagai Daun Tinggi Fenol Selama Fermentasi. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3(4) : 1446-1457.