

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN TEH KOMBUCHA DAUN COKLAT (*Theobroma cacao. L*) BERDASARKAN LAMA FERMENTASI

Vina Hidayana¹, Ariya Eka Kusuma¹

¹Akademi Farmasi Imam Bonjol^{1,2}
vinahidayana@yahoo.co.id

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang aktivitas antioksidan teh kombucha daun coklat (*Theobroma cacao. L*) berdasarkan lama fermentasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah aktivitas antioksidan yang terdapat di dalam kombucha teh daun coklat mengalami peningkatan atau penurunan. Metoda yang digunakan dalam pembuatan teh adalah dengan metoda teh hijau. Lama fermentasi 14 hari dengan 2x pengamatan, yaitu pada hari ke-7 dan pada hari ke-14. Untuk uji antioksidan dilakukan dengan perendaman radikal bebas menggunakan DPPH. Dari hasil pengujian antioksidan diperoleh hasil, bahwa fermentasi pada hari ke-14 menunjukkan persentase inhibisi paling tinggi yaitu 87,745%.

Katakunci : antioksidan, kombucha, daun coklat, fermentasi

ABSTRACT

A study was conducted on the antioxidant activity of kombucha leaf tea (*Theobroma cacao L*) based on fermentation time. The purpose of this study was to determine whether the antioxidant activity contained in kombucha brown leaf tea increased or decreased. The method used in making tea is by green tea method. Length of fermentation 14 days with 2x observation, that is on day 7 and at day 14. For the antioxidant test is done by free radical immersion using DPPH. From the results of antioxidant testing results obtained, that the fermentation on day-14 showed the highest percentage inhibition that is 87.745%.

Keywords : antioxidants, kombucha, brown leaf, fermentation

PENDAHULUAN

Obat tradisional adalah media pengobatan yang menggunakan tanaman dengan kandungan bahan-bahan alamiah sebagai bahan bakunya. Berbagai jenis tanaman yang berkhasiat obat sebenarnya banyak diperoleh di lingkungan sekitar, seperti di halaman rumah, pinggir jalan, atau di dapur sebagai bahan atau bumbu masakan. Kebanyakan orang tidak menyadari bahwa tanaman-tanaman di sekitar kita yang dianggap remeh, ternyata juga dapat menjadi media penyembuhan berbagai penyakit (Suparni & A. Wulandari, 2012)

Dalam era yang serba modern saat ini, lingkungan telah mengalami banyak perubahan, sebagai contoh adalah air yang telah tercemar oleh logam-logam berat, sedangkan yang ada di udara telah dipenuhi oleh asap rokok, asap kendaraan bermotor, dan asap dari industri. Polutan-polutan tersebut dapat menyebabkan

terbentuknya suatu radikal bebas (Kumalaningsih, 2006). Sifat radikal bebas adalah sangat mudah bereaksi dengan molekul lain. Namun reaktivitas radikal bebas dapat di hambat oleh senyawa yang bersifat antioksidan (Olivia *et al*, 2005). Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif (Winarsi, 2007).

Minuman yang berbahan dasar teh yang juga mempunyai aktivitas antioksidan adalah kombucha. Kultur kombucha merupakan kumpulan dari bakteri yang membentuk substansi gelatinoids yang tumbuh mengikuti wadahnya. Mikroba dalam kombucha menghasilkan enzim yang dapat mengubah kandungan gula menjadi berbagai jenis asam, vitamin dan senyawa alkohol yang berkhasiat (Naland, 2004).

Seiring perkembangan IPTEK, variasi minuman saat ini terus berkembang,

seperti minuman herbal berbahan baku daun coklat yang dikemas dalam bentuk teh. Minuman ini mulai banyak diminati oleh masyarakat untuk kebugaran tubuh dan mengatasi keluhan penyakit. Jenis teh bervariasi tergantung dari teknik pengolahan yaitu teh hijau, teh oolong, dan teh hitam (Ajisaka, 2012).

Dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Osman dkk diketahui daun kakao memiliki aktivitas antioksidan yang hampir sama dengan teh hijau. Ekstrak metanol daun kakao memiliki kandungan katekin-polifenol seperti epikatekin, epigalokatekin galat, epigalokatekin, epikatekin galat (Osman et al, 2003). Senyawa-senyawa flavonoid katekin diketahui merupakan senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi (Soraya, 2007).

Dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Sari, N., diketahui aktivitas antioksidan kombucha paling tinggi terdapat pada kombucha teh daun manga fermentasi 12 hari dengan nilai 89,29% (Sari, N., 2014). Dari penelitian yang dilakukan oleh Suprijono et al diketahui aktivitas antioksidan pada fermentasi 7 hari menunjukkan rerata % aktivitas antioksidan paling besar. Aktivitas antioksidan pada kombucha disebabkan oleh senyawa-senyawa fenolik dan flavonoid dari infus daun teh hitam yang tidak mengalami perubahan selama proses fermentasi (Suprijono et al, 2006).

Berdasarkan uraian diatas, maka akan dilakukan penelitian tentang aktivitas antioksidan teh kombucha daun coklat berdasarkan lama fermentasi. Uji antioksidan dilakukan dengan metoda penangkapan radikal bebas menggunakan DPPH. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah aktivitas antioksidan yang terdapat di dalam kombucha teh daun coklat mengalami peningkatan atau penurunan. Manfaat penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi dan pengetahuan tentang kandungan antioksidan teh kombucha daun coklat dan untuk mengaplikasikan ilmu yang telah

didapatkan di Akademi Farmasi Imam Bonjol Bukittinggi.

Cara Kerja

Pengambilan Sampel

Sampel segar daun coklat muda diambil 1 kg dari perkebunan coklat. Sampel daun coklat muda dikerjakan dengan metoda pengerjaan teh hijau. Sampel sebanyak 1 kg dipanaskan dengan uap selama 5 menit (Soraya, 2007). Sampel kemudian dirajang dan digulung dengan cara yang sederhana, yaitu daun sedikit demi sedikit di taruh di atas meja, kemudian digulung dengan telapak tangan selama 20 menit. Selanjutnya proses pengeringan dilakukan disangrai dengan api sedang, kemudian hasil pengeringan ditimbang (Pratama et al, 2013).

Pembuatan Teh Kombucha

Sampel 50 g diseduh terlebih dahulu dengan air 1 liter, selama 15 menit. Kemudian air seduhan disaring untuk memisahkan daun dengan air teh. Selanjutnya ditambahkan gula 10% (b/v) dan dilarutkan. Disaring agar air teh bersih. Kemudian air teh dimasukkan ke dalam toples, setelah itu dinginkan. Kemudian air teh sudah dingin dimasukkan kombucha. Tutup dengan kain katun putih dan ikat dengan karet. Kemudian fermentasi selama 7 dan 14 hari dengan suhu ruang dan tidak boleh langsung terkena sinar matahari.

Pemeriksaan Kandungan Kimia

Pemeriksaan alkaloid dilakukan dengan metoda *Culvernor-Fitzgerald*, yaitu sampel sebanyak 2 gram dirajang halus gerus dalam lumpang dengan bantuan pasir bersih, tambahkan 10 ml kloroform. Tambahkan 10 ml larutan kloroform-amoniak 0,05 N, lalu gerus dan saring ke dalam tabung reaksi, tambahkan 0,5 ml asam sulfat 2 N, kocok selama 2 menit dan biarkan sampai terjadi pemisahan. Ambil lapisan asam, pindahkan kedalam tabung reaksi lain, kemudian tambahkan beberapa tetes

pereaksi mayer. Reaksi positif ditandai dengan adanya kabut putih hingga gumpalan putih atau endapan putih yang tidak dapat dituang.

Pemeriksaan steroid, terpenoid, dan senyawa fenolik dilakukan berdasarkan metoda simen *et., al* yaitu sampel sebanyak 2 gram yang telah di rajang didihkan dengan 25 ml etanol selama 15 menit, saring selagi panas dan filtratnya dikeringkan diatas penangas. Ekstrak yang didapat ditambahkan air suling dan kloroform masing-masing 5 ml, kocok dan biarkan sampai terbentuk lapisan. Lapisan air diambil 3 ml kemudian dikocok dalam tabung reaksi lain. Jika terbentuk busa yang bertahan selama 15 menit berarti positif saponin.

Uji fenolik dilakukan dengan cara menambahkan beberapa tetes FeCl₃ pada 0,5 ml larutan air, reaksi akan positif jika terbentuk warna biru. Lapisan kloroform disaring dengan norit dalam plat tetes. Larutanya ditetaskan pada plat tetes dan biarkan mongering, setelah mengering tambahkan asetat anhidrat dan asam sulfat pekat. Jika terbentuk warna merah berarti positif steroid, sedangkan warna biru atau hijau berarti positif terpenoid.

Pemeriksaan flavonoid, sampel sebanyak 2 gram dirajang halus, dimasukkan dalam tabung reaksi, didihkan dengan 5 ml etanol, dan saring selagi panas. Filtratnya diuapkan sampai kering kemudian larutkan dengan aquadest, lalu tambahkan HCl pekat dan serbuk magnesium. Jika terbentuk warna merah menunjukkan adanya flavonoid.

Pemeriksaan Susut Pengerinan

Penetapan susut pengerinan dilakukan dengan cara 1-2 gram sampel ditimbang dan dimasukkan kedalam scall yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105⁰C selama 30 menit yang telah ditara. Simplisia ditarakan dalam scall dengan menggoyangkan scall hingga merata. Masukkan kedalam oven, panaskan pada temperatur 105⁰C, timbang dan

ulangi pemanasan sampai didapat berat konstan (Depkes, 1979).

Pengujian aktivitas antioksidan Pembuatan Larutan DPPH

Sebanyak 5 mg DPPH Kristal dilarutkan dengan etanol dalam labu ukur 100 ml sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 50µg/ml, selanjutnya dibuat 2 kali pengenceran, pengenceran pertama dibuat 40µg/ml dengan cara memipet 80 ml larutan DPPH 50 µg/ml di ad kan dengan etanol p.a ad 100 ml, lalu dibuat pengenceran kedua dengan konsentrasi 30µg/ml dengan cara memipet 75 ml larutan DPPH 40µg/ml di ad kan dengan etanol p.a ad 100 ml (Molyneux, 2004 & Pratama *et al*, 2013).

Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH

Sebanyak 3,8 ml larutan DPPH 30µg/ml dan ditambahkan dengan 0,2 ml etanol dalam test tube. Setelah itu dibiarkan selama 30 menit ditempat yang gelap. Serapan larutan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-600 (Molyneux, 2004 & Pratama *et al*, 2013). Tentukan panjang gelombang maksimum.

Penentuan Aktivitas Antioksidan

Sampel dipipet sebanyak 0,2 ml ditambahkan 3,8 ml larutan DPPH 30µg/ml didalam test tube. Campuran didiamkan selama 30 menit di tempat yang gelap. Larutan ini kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Sebagai pembanding teh hijau dilakukan dengan pengerjaan yang sama, dilakukan 3 kali pengerjaan (Pratama *et al*, 2013). Teh hijau diseduh selama 15 menit tanpa fermentasi, gula, dan kombuha.

Penentuan persentase Inhibisi

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A1-A2}{A1} \times 100\%$$

A1 = absorbansi kontrol

A2 = absorbansi sampel

Nilai 0% berarti tidak mempunyai aktivitas antiradikal bebas atau antioksidan, sedangkan nilai 100% berarti dilanjutkan dengan pengenceran larutan uji untuk melihat batas konsentrasi aktivitasnya (Rastuti, 2012 & Pratama *et al.*, 2013).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini digunakan sampel berupa daun coklat muda segar yang diambil di daerah Kampung Bonjol Kabupaten Pasaman. Daun diolah berdasarkan teknik pengolahan teh hijau. Pada proses pengolahan teh hijau sampel daun coklat muda dilayukan dengan cara dipanaskan dengan uap panas selama 5 menit untuk mematikan aktivitas enzim yang akan menghambat timbulnya proses fermentasi (oksidasi).

Proses penggulungan dilakukan dengan cara sederhana yaitu dengan cara daun sedikit-sedikit ditaruh diatas meja lalu digulung dengan tangan selama 20 menit. Proses pengulungan ini bertujuan untuk memecah sel-sel daun. Proses pengeringan dengan sangrai menggunakan api sedang untuk mengurangi kadar air (Setyamidjaja, 2000). Tujuan dalam memproduksi teh hijau adalah mempertahankan manfaat kemurnian dari senyawa aktif daun teh segar sehingga semuanya itu dapat dirasakan pada penyajian teh (Soraya, 2007). Pada proses pengolahan teh hijau diperoleh hasil pengeringan sebesar 200 gram daun coklat muda.

Skrining fitokimia adalah pemeriksaan kimia secara kualitatif terhadap senyawa-senyawa aktif biologis yang terdapat dalam simplisia tumbuhan (Djamal, 2010). Dari skrining fitokimia didapatkan

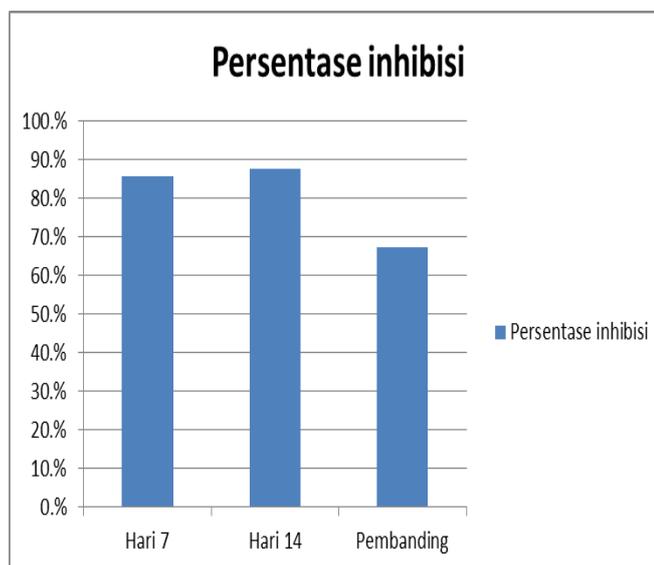
hasil positif flavonoid dan fenolik. Susut pengeringan merupakan suatu standarisasi simplisia yang menyatakan parameter mutu bahwa simplisia yang digunakan untuk obat telah memenuhi persyaratan. Dari hasil perhitungan didapatkan persentase susut pengeringan teh daun coklat muda sebesar 12,23%.

Proses pembuatan teh kombucha daun coklat adalah 50 g teh daun coklat dibuat dengan metoda infusa. Kemudian dilakukan penyaringan untuk memisahkan daun dengan air teh. Lalu di tambahkan gula sebanyak 10% dan dilakukan pengadukan sehingga gula terlarut sempurna. Penambahan gula berguna sebagai sumber energi bakteri pada kombucha (Kusnadi, 2001). Kemudian air teh dimasukkan ke dalam toples kaca bertujuan untuk mempercepat proses pendinginan teh serta mempermudah proses pengembangbiakkan kombucha karena toples kaca merupakan wadah bermulut lebar. Toples kaca dipilih sebagai wadah kombucha untuk menghindari reaksi yang mungkin terjadi antara kombucha dengan wadah. Kemudian teh dibiarkan hingga dingin, hal ini bertujuan untuk menghindari rusaknya kombucha oleh suhu panas. Kombucha merupakan hasil fermentasi dari bakteri yaitu *Acetobacter xylinum*. Sebagian besar bakteri terdiri dari protein yang mudah rusak oleh pemanasan. Air teh yang sudah dingin dimasukkan kombucha, tutup toples untuk mengurangi kontak dengan udara luar, lalu fermentasi selama 7 dan 14 hari.

Teh kombucha daun coklat yang diperoleh dilakukan uji antioksidan teh kombucha daun coklat dengan metoda DPPH. Metoda DPPH merupakan suatu uji kuantitatif untuk mengetahui seberapa besar aktivitas dari teh kombucha daun coklat sebagai antioksidan serta prosedur pengukuran antioksidan yang mudah dan dapat dilakukan dalam waktu yang singkat. Uji perendaman warna radikal bebas DPPH merupakan uji untuk menentukan aktivitas antioksidan dalam sampel yang

akan diujikan dengan melihat kemampuan dalam menangkal radikal bebas DPPH. Perubahan warna yang diamati adalah perubahan warna dari larutan berwarna ungu menjadi warna kuning (Hartanto, 2012). Pengukuran panjang gelombang serapan maksimal dari larutan DPPH 30 ppm menggunakan spektrofotometer UV-Vis diperoleh panjang gelombang 514 nm dengan absorbansi 0,612 nm.

Absorbansi yang diperoleh dihitung persentase inhibisinya. Nilai 0% berarti tidak mempunyai aktivitas antiradikal bebas atau antioksidan, sedangkan nilai 100% berarti dilanjutkan dengan pengenceran larutan uji untuk melihat batas konsentrasi aktivitasnya (Rastuti, 2012 & Pratama *et al*, 2013).



Gambar 1. Diagram Batang Persentase Inhibisi Teh Kombucha Daun Coklat terhadap DPPH

Dari hasil persentase inhibisi didapatkan aktivitas antioksidan teh kombucha daun coklat berdasarkan lama fermentasi mengalami peningkatan dari hari ke-7 sampai hari ke-14. Dan aktivitas antioksidan teh kombucha daun coklat juga lebih tinggi dari pada teh pemanding.

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil penelitian yang dilakukan didapatkan kesimpulan bahwa aktivitas antioksidan tertinggi dari teh kombucha daun coklat didapatkan pada fermentasi hari ke-14

DAFTAR PUSTAKA

- Depkes, 1979, *Farmakope Indonesia*, Edisi III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Depkes, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta
- Ajisaka, 2012. *Teh Dasyat Khasiatnya*, Stomata, Surabaya.
- Djamal, R., 2010, *Kimia Bahan Alam Prinsip-Prinsip Dasar Isolasi dan Identifikasi*, Penerbit Universitas Baiturrahmah, Padang.

- Hartanto, H., 2012, Identifikasi Potensi Antioksidan Minuman Coklat dari Kakao Lindak (*Theobroma cacao*. L) dengan Berbagai Cara Preparasi: Metode Radikal Bebas DPPH, Skripsi Fakultas Teknologi Pertanian, Surabaya.
- Kumalaningsih, 2006. Antioksidan Alami Penangkal Radikal Bebas Sumber, Manfaat, Cara Penyediaan dan Pengolahan. Trubus Agrisarana : Surabaya.
- Kusnadi. 2001. Kultur Campuran dan Faktor Lingkungan Mikroorganisme yang Berperan dalam Fermentasi Teh Cider Bidang khusus mikrobiologi, Program studi biologi, Program Pasc Sarjana, ITB. Bandung.
- Molyneux, P., 2004, The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, Songklanakarin Journal Science. Technology Volume 26 Nomor 2 : 211- 219.
- Naland, H. 2008. Kombucha Teh Ajaib Pencegah dan Penyembuh Aneka Penyakit. Agromedia Pustaka : Jakarta.
- Olivia, F dan Tim Redvitahealth.2005. Seluk Beluk Food Supplement.Gramedia : Jakarta.
- Osman, H.,R. Nasarudin & S.L. Lee, 2003, Extracts of cocoa (*Theobroma cacao*.L) leaves and their antioxidation potential, Journal Food Chemistry 86 : 41- 46.
- Pratama, B.Y., Y Alen & A. Bakhtiar, 2013, Uji Antioksidan dan Penelitian Olganoleptik Empat Varietas The Daun Gambir (*Uncaria gambir* [Hunter] Roxb), Proseding Paper, Semnas, TOI.XLIV, Fakultas Farmasi, Universitas Andalas Padang
- Rastuti, U., Purwati, 2012, Uji aktivitas antioksidan ekstrak daun kalba (*Albizia falcataria*) dengan metode DPPH (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil) dan identifikasi senyawa metabolit sekundernya, Molekul, Volume 7. Nomor 1 : 33-42.
- Sari, N., 2014. Perbandingan Aktivitas Antioksidan Kombucha Teh hijau (*Camelia sinensis*) dengan Teh Daun Mangga (*Mangifera indica*) Dipengaruhi Lama Fermentasi, Program Studi Pendidikan Biologi, Skripsi, Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah, Surakarta.
- Setymidjaja, D., 2000, Teh Budi Daya dan Pengolahan Pasca Panen, Kanisius, Yogyakarta.
- Soraya, N., 2007, Sehat dan Cantik Berkat Teh Hijau. Penebar Swadaya : Jakarta.
- Suparni & A. Wulandari, 2012, *Herbal Nusantara 1001 Ramuan Tradisional Asli Indonesia*, Rapha Publishing, Yogyakarta
- Suprijono, A., Putri, G.K. & Susanti, E., 2006.Pengaruh Fermentasi Kultur Kombucha terhadap Aktivitas Infus Daun Teh Hitam (*Camellia sinensis* O.K. var.assamica (mast)) dengan Metode DPPH, Media Farmasi Indonesia Vol 6 No 2.
- Winarsi, H., 2007, Antioksidan Alami dan Radikal Bebas, Kanisius, Yogyakarta.