

PENENTUAN POTENSI ANTIOKSIDAN DAN KADAR TOTAL FENOL KOMBUCHA DAUN *Annona muricata* Linn

Ridho Sadewo Baragain, Yoni Rina Bintari, Dini Sri Damayanti*
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang (UNISMA)

ABSTRAK

Pendahuluan: Daun sirsak mengandung senyawa fenol yang mempunyai efek sebagai antioksidan. Daun sirsak dapat digunakan dalam bentuk kombucha, namun belum diketahui aktivitasnya. Penelitian bertujuan untuk mengetahui perbedaan kadar total fenol dan aktivitas antioksidan pada kombucha daun sirsak dengan variasi lama perebusan yang dibandingkan dengan rebusan daun sirsak.

Metode: Metode *in vitro* digunakan pada pengujian kombucha daun sirsak dan rebusan daun sirsak. Untuk pengukuran fenolnya menggunakan metode *Folin-Ciocalteu*. Sedangkan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical). Analisa statistik memakai aplikasi SPSS pada uji ANOVA (One Way Analysis Of Varians) dengan $P < 0.05$.

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan tidak terdapat perbedaan kadar total fenol pada semua lama perebusan kombucha daun sirsak dan rebusan daun sirsak. Kandungan total fenol tertinggi terdapat pada kombucha daun sirsak dengan lama perebusan 5 menit sebesar 39,81 GAE/g. Aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada kombucha daun sirsak 10 menit dengan nilai IC_{50} sebesar nilai IC_{50} sebesar $173,09 \pm 14,81$ ppm lebih besar secara signifikan dibandingkan rebusan daun sirsak dan lebih kecil dibandingkan vitamin C.

Simpulan: Variasi lama perebusan tidak menyebabkan perbedaan kadar total fenol dibandingkan rebusan daun sirsak. Aktivitas antioksidan kombucha daun sirsak dengan lama perebusan 10 menit mempunyai potensi paling tinggi dibandingkan rebusan daun sirsak namun lebih rendah dibandingkan vitamin C.

Kata Kunci: Kombucha daun sirsak, lama perebusan, total fenol, aktivitas antioksidan.

*Korespondensi :

Dr. dr. Dini Sri Damayanti, M.Kes

Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

Alamat : Jl. MT Hayono 193, Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65145

e-mail: dinisridamayanti@unisma.ac.id

DETERMINATION OF POTENTIAL ANTIOXIDANTS AND TOTAL LEVELS OF PHENOL KOMBUCHA LEAF *Annona muricata* Linn

Ridho Sadewo Baragain, Yoni Rina Bintari, Dini Sri
Damayanti*Faculty of Medicine, Islamic University of Malang
(UNISMA)

ABSTRACT

Background: Soursop leaves contain phenolic compounds that have an antioxidant effect. Soursop leaves can be used in the form of kombucha, but its activity is not yet known. This study aims to determine differences in phenol levels and antioxidant activity in soursop leaf kombucha with variations in boiling time compared to soursop leaf stew.

Method: *In vitro* method was used to test soursop leaf kombucha and soursop leaf decoction. For the measurement of phenol using the *Folin-Ciocalteu* method. Meanwhile, the DPPH method (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical) was used to test its antioxidant activity. The data were statistically analyzed with SPSS application on the ANOVA (One Way Analysis Of Variance) test with $P < 0.05$.

Results: The results showed that there was no difference in total phenol levels in all the durations of boiling soursop leaf kombucha and soursop leaf stew. The highest total phenol content was found in soursop leaf kombucha with 5 minutes boiling time of 39.81 GAE/g. The highest antioxidant activity was found in soursop leaf kombucha 10 minutes with an IC_{50} value of 173.09 ± 14.81 ppm which was significantly greater than soursop leaf stew and smaller than vitamin C.

Conclusion: Variations in boiling time did not cause differences in total phenol levels compared to soursop leaf stew. The antioxidant activity of soursop leaf kombucha with a boiling time of 10 minutes has the highest potential compared to soursop leaf decoction but lower than vitamin C.

Keywords: Soursop leaf kombucha, boiling time, total phenol, antioxidant activity

*Corresponding author:

Dr. dr. Dini Sri Damayanti, M.Kes

Faculty of Medicine, University of Islam Malang

Address : Jl. MT Haryono 193, Malang City, East Java, Indonesian, 65145

e-mail: dinisridamayanti@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Radikal bebas adalah elektron dalam tubuh yang tidak mempunyai pasangan, oleh karena itu akan berusaha berikatan stabil. Radikal bebas bisa terbentuk secara endogen melalui proses metabolisme sel secara normal yang akan menghasilkan jenis radikal bebas seperti ROS. Radikal bebas juga dapat diperoleh secara eksogen atau berasal dari luar tubuh seperti polusi lingkungan, asap kendaraan, dan asap rokok. Radikal bebas mengakibatkan terjadinya peroksidase lipid yang dapat mengganggu permeabilitas sel, terganggunya fungsi dan struktur protein, & kerusakan DNA. Kondisi ini mengakibatkan kematian sel, penuaan, hingga munculnya penyakit¹.

Secara fisiologis tubuh dapat melawan radikal bebas dengan mensintesis antioksidan endogen intrasel. Antioksidan endogen berupa enzim yaitu katalase seperti *superoxide dismutase* (SOD), dan glutathione peroksidase². Mekanisme antioksidan mengatasi radikal bebas dengan cara memberikan satu elektronnya, sehingga elektron radikal bebas menjadi lengkap³. Ketidakseimbangan antara antioksidan dan radikal bebas disebabkan oleh dua kondisi umum yaitu kelebihan produksi radikal bebas dan kurangnya antioksidan, akan memicu terjadinya stres oksidatif³. Oleh karena itu dibutuhkan antioksidan eksogen seperti senyawa fenol untuk melawan radikal bebas dalam memicu gangguan pada sistem tubuh⁴.

Daun sirsak (*Annona muricata L.*) adalah salah satu jenis tanaman yang memiliki senyawa bioaktif seperti fenol dan senyawa lainnya seperti acetogenin, alkaloid, flavonoid dan minyak atsiri⁵. Bahan aktif seperti kandungan senyawa fenolik dapat ditemukan dalam daun sirsak. Senyawa fenolik umumnya terkandung dalam tumbuhan dengan peran sebagai senyawa yang mempunyai efek antioksidan. Senyawa ini merupakan senyawa pereduksi yang baik karena mengandung gugus hidroksil yang bertindak sebagai pendonor hidrogen terhadap radikal bebas sehingga menghambat terjadinya reaksi oksidasi^{6,7}. Beberapa penelitian sebelumnya menyatakan bahwa daun sirsak mempunyai potensi sebagai antioksidan⁵. Selain itu penelitian dari Damayanti *et al.*, (2019) menyatakan hasil bahwa daun sirsak mampu memperbaiki struktur sel beta pankreas^{8,9}. Ekstrak air daun sirsak juga diketahui mempunyai efek meningkatkan kadar HDL dan menurunkan kadar LDL pada tikus model obesitas¹⁰.

Pemanfaatan daun sirsak dalam bentuk rebusan dapat dilakukan dengan alternatif dalam bentuk kombucha. Kombucha yang dibuat dengan cara memberi gula dan menggunakan *starter symbiotic culture of bacteria and yeast* (SCOBY). Pada saat proses fermentasi, terjadi peningkatan total fenol serta total asam yang terkandung didalamnya sehingga meningkatkan aktivitas antioksidan¹¹. Seduhan dalam bentuk rebusan daun sirsak akan menciptakan rasa yang sangat pahit,

sehingga masyarakat tidak tertarik untuk mengkonsumsinya. Sehubungan dengan hal tersebut teh daun sirsak diproses menjadi kombucha yang memiliki rasa sedikit manis dan sedikit asam akibat terpecahnya tanin saat fermentasi^{12,13}.

Hal ini menjadi dasar untuk melakukan penelitian mengenai potensi antioksidan kombucha daun sirsak dan total fenol yang terdapat didalamnya. Penelitian dilakukan secara *in vitro*. Pengukuran kadar fenol menggunakan metode Folin-Ciocalteu. Potensi antioksidan dilakukan menggunakan hasil pengukuran IC₅₀ terhadap penghambatan DPPH.

METODE PENELITIAN

Desain, Tempat, dan Waktu Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang dilakukan secara *in vitro*, dengan menguji total fenol dan aktivitas antioksidan terhadap DPPH. Penelitian dilakukan di Laboratorium fitokimia UMM dan Materia Medika Batu pada bulan April – Juni tahun 2021.

Sampel Penelitian

Sampel yang diuji adalah daun sirsak yang didapat dari UPT Laboratorium Herbal Materia Medika Batu.

Pembuatan Kombucha Daun Sirsak

Sebelum proses pembuatan kombucha semua alat di sterilkan terlebih dahulu 121°C selama 20 menit pada autoklaf. Simplisia daun sirsak dimasukkan kedalam kantung teh sebanyak 5 gram. Air sebanyak 1000 mL dan 100 gram gula direbus hingga mendidih. Kantung yang telah terisi simplisia daun sirsak dimasukan ke dalam air yang sudah mendidih dengan lama perebusan 5, 10, dan 15 menit pada suhu 100°C dengan kondisi panci ditutup. Infusa dimasukan kedalam jar kaca dan dinginkan hingga mencapai suhu ruangan (20°C) kemudian tambahkan 24 g SCOBY. Jar kaca ditutup dengan tissue kertas dan di ikat dengan karet. Fermentasi dilakukan dalam 7 hari dengan suhu ruang dan hindari langsung terkena sinar matahari. Untuk rebusan daun sirsak dibuat dengan cara memasukan simplisia daun sirsak sebanyak 5 gram ke dalam 1000 mL air yang direbus selama 15 menit¹⁴.

Penentuan Kadar Total Fenol Kombucha Daun Sirsak

Pembuatan Larutan Induk Asam Galat

Preparasi larutan standart dengan menimbang 10 mg asam galat kemudian dilarutkan dalam etanol p.a 10 ml dan dilakukan pengkonsentrasian menjadi 500ppm, 250ppm, 125ppm, 62,5 ppm, 3,25 ppm¹⁵.

Pembuatan Kurva Kalibrasi Asam Galat

Larutan asam galat dengan berbagai konsentrasi diambil 100µL dalam botol vial dan ditambahkan 0,75 ml 7% Na₂CO₃ lalu diinkubasi selama 5 menit dalam suhu ruang. Setelah inkubasi ditambahkan

reagen *Folin-Ciocalteu* 0,75 ml lalu diinkubasi selama 15 menit dalam suhu 45° C. Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 735 nm digunakan untuk mengukur absorbansi. Hasil berupa kurva asam galat dan persamaan linier $y = ax + b$ ¹⁵.

Penentuan Kadar Total Fenol Sampel

10 mg sampel dicampur dalam etanol 10 ml. Setiap larutan diambil 100µL dalam botol vial dan ditambahkan 0,75 ml 7% Na₂CO₃ lalu diinkubasi selama 5 menit dalam suhu ruang. Setelah inkubasi ditambahkan reagen *Folin-Ciocalteu* 0,75 ml lalu diinkubasi selama 15 menit dalam suhu 45° C. Pada gelombang 735 nm spektrofotometri UV-Vis diukur absorbansinya. Pengujian sampel dilakukan pengulangan 2 kali. Kadar total fenol kombucha daun sirih dan rebusan daun sirih didapatkan dengan mensubstitusikan nilai absorbansi sampel kedalam persamaan regresi linier asam galat lalu didapatkan kadar total (mg/GAE/g)¹⁵.

Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Penentuan aktivitas antioksidan kombucha dilakukan dengan cara menggunakan sampel lama perebusan kombucha yaitu selama 5, 10, dan 15 menit. Pembuatan larutan stok DPPH dengan menggunakan 5 mg DPPH yang dilarutkan dalam 100 ml metanol PA, sehingga didapatkan DPPH 50 ppm. Larutan pembanding dibuat 2 ml metanol PA dicampurkan dengan 1 ml larutan DPPH 50 ppm. Pengukuran larutan sampel dilakukan dengan cara mengambil 2 ml DPPH dan 2 ml larutan sampel, setelah itu diinkubasi selama pada suhu 27°C selama

30 menit sampai terjadi perubahan warna. Semua sampel yang sudah diinkubasi diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm¹⁶.

Nilai %Inhibisi ditentukan menggunakan rumus:

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

Nilai yang didapatkan, dibuat kurva regresi linier dengan persamaan $y = ax + b$ menggunakan *microsoft excel*. Nilai $y = 50$ sehingga didapatkan nilai x sebagai nilai IC₅₀¹⁶

Analisis data

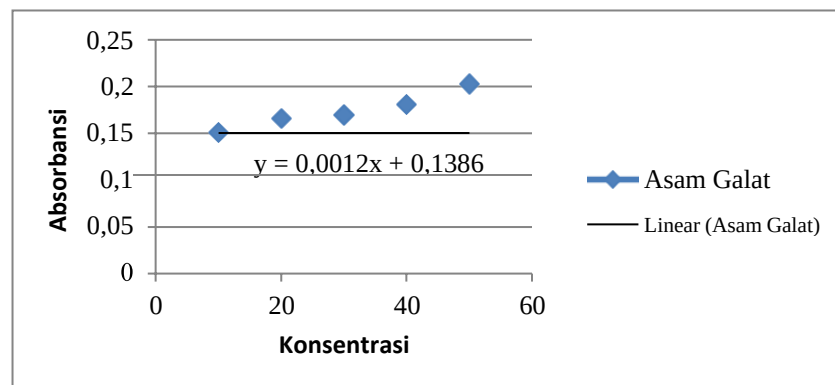
Analisa data menggunakan SPSS versi 22 dengan uji normalitas dan homogenitas lalu dilanjutkan uji parametrik menggunakan uji statistik ANOVA (*One Way Analysis of Varians*). Data dinyatakan signifikan dengan $p < 0,05$ maka dilanjutkan dengan uji *Post Hock Tukey*.

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

Perbedaan Kadar Total Fenol Kombucha daun Sirih 5 Menit, 10 Menit, 15 Menit dan Rebusan Daun Sirih

Kurva Kalibrasi Larutan Induk Asam Galat

Larutan asam induk galat yang dibuat beberapa konsentrasi yang diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis akan didapatkan nilai absorbansinya lalu dibuat kurva kalibrasi asam galat seperti yang digambarkan pada (**Grafik 1**).



Grafik 1 . Hasil Regresi Linier pada Asam Galat pada Panjang Gelombang 735 nm

Keterangan: Persamaan regresi linier dari larutan asam galat dengan nilai $y = 0,0012x + 0,1386$

Dari **grafik 1** didapatkan persamaan regresi linier $y = 0,0012x + 0,1386$. Kurva kalibrasi bertujuan untuk mengetahui korelasi nilai absorbansi dengan konsentrasi sampel. Persamaan regresi linier ini selanjutnya digunakan menetapkan kadar kombucha dan rebusan daun sirih.

Hasil Pengukuran Kadar Total Fenol

Hasil pengukuran kadar total fenol dari ketiga jenis tempe yaitu ekstrak tempe kacang merah, kacang tanah dan kacang kedelai dapat dilihat pada (**Tabel 1**).

Tabel 1 Hasil Pengukuran Kadar Fenolik Total Kombucha Daun Sirsak 5 Menit, Kombucha Daun Sirsak 10 Menit, Kombucha Daun Sirsak 15 Menit, dan Rebusan Daun Sirsak.

Sampel	$\bar{X} \pm SD$ (GAE/g)
Kombucha Daun Sirsak 5 Menit	39,81 $\pm$ 15,67
Kombucha Daun Sirsak 10 Menit	16,97 $\pm$ 10,47
Kombucha Daun Sirsak 15 Menit	21,86 $\pm$ 11,51
Rebusan Daun Sirsak	21,87 $\pm$ 2,96

Keterangan: Hasil pengukuran kadar total fenol kombucha daun sirsak 5 menit, kombucha daun sirsak 10 menit, kombucha daun sirsak 15 menit, dan rebusan daun sirsak dengan menggunakan analisa statistik menggunakan uji *One Way ANOVA* didapatkan hasil tidak signifikan $p > 0.05$. Pengulangan dilakukan sebanyak 3 kali.

Berdasarkan hasil yang pengukuran yang diperoleh, bahwa kadar total fenol dari kombucha daun sirsak 5 menit sebesar 39,81 GAE/g, kombucha daun sirsak 10 menit sebesar 16,97 GAE/g, dan kombucha daun sirsak 15 menit sebesar 21,86 GAE/g, dan rebusan daun sirsak sebesar 21,87 GAE/g. Namun demikian secara uji statistik kadar total fenol ketiga jenis lama

perebusan kombucha dan rebusan daun sirsak tidak berbeda secara signifikan.

Hasil Pengukuran Potensi Antioksidan

Hasil pengukuran uji antioksidan menggunakan metode DPPH dapat dilihat pada (Tabel 2)

Tabel 2 Aktivitas antioksidan Kombucha Daun Sirsak dan Rebusan Daun Sirsak

Sampel	$\bar{X} \pm SD$ IC ₅₀ (ppm)
Kombucha Daun Sirsak 5 menit	589,96 $\pm$ 10,47 ^a
Kombucha Daun Sirsak 10 menit	181,42 $\pm$ 1,66 ^b
Kombucha Daun Sirsak 15 menit	333,10 $\pm$ 44,37 ^c
Rebusan Daun Sirsak	262,03 $\pm$ 7,18 ^d
Vitamin C	132,83 $\pm$ 2,72 ^e

Keterangan: Hasil pengukuran aktivitas antioksidan yang berupa nilai IC₅₀ pada kombucha daun sirsak 5 menit, kombucha 10 menit, kombucha 15 menit, dan rebusan daun sirsak dilakukan analisa statistik uji *One Way ANOVA* didapatkan hasil signifikan $p < 0.05$. Pengulangan dilakukan sebanyak 3 kali.

Dari **Tabel 2** Berdasarkan hasil yang pengukuran yang diperoleh, bahwa kadar potensi antioksidan dari nilai IC 50 kombucha daun sirsak pada semua lama perebusan berbeda signifikan lebih kecil dibandingkan vitamin C. Lama perebusan kombucha daun sirsak 5 menit dan 15 menit mempunyai IC 50 lebih besar secara signifikan dibandingkan dengan rebusan daun sirsak. Lama perebusan kombucha daun sirsak 10 menit mempunyai IC 50 lebih rendah dibandingkan dengan rebusan daun sirsak.

PEMBAHASAN

Variasi Waktu Perebusan Kombucha Daun Sirsak Terhadap Kadar Total Fenol.

Hasil pengukuran kadar fenol tidak didapatkan perbedaan pada kombucha dengan berbagai lama perebusan. Hal ini menunjukkan bahwa proses perebusan 5 menit sudah optimal untuk menarik semua senyawa fenol yg terkandung dalam daun sirsak. Hal ini sesuai dengan pernyataan Ikhsan et al., (2018) yang menyatakan bahwa fermentasi dengan lama perebusan tidak berpengaruh nyata terhadap kadar fenol. Dalam pemecahan kandungan serat yang terikat pada kombucha daun sirsak dilakukan oleh

mikroba. Mikroba untuk tumbuh memerlukan makanan, oleh karena itu adanya peningkatan jumlah mikroba dan lama proses fermentasi tidak akan mempengaruhi kadar total fenol karena kandungan nutrisi pada kombucha menurun²⁵.

Pada kadar total fenol kombucha daun sirsak dengan lama perebusan 15 menit terjadi penurunan kadar total fenol. Proses lama pemanasan dapat mengakibatkan kerusakan komponen yang termolabil termasuk didalamnya fenol. Proses perebusan dapat mengakibatkan senyawa kandungan fenolik di dalam kombucha terdegradasi²⁴.

Total fenol adalah senyawa fenolik merupakan golongan fitokimia terbesar pada tumbuhan. Fungsi senyawa fenol bagi tanaman adalah respons terhadap stres lingkungan adapun fungsi senyawa fenol bagi manusia adalah sebagai antioksidan dalam melawan beberapa penyakit. Senyawa fenolik memiliki cincin aromatik yang mengandung satu atau lebih gugus hidroksil dan strukturnya dapat bervariasi¹⁷.

Pengukuran kadar fenol menggunakan metode Folin-Ciocalteu. Prinsip dasar Folin-Ciocalteu ialah oksidasi gugus fenolik-hidroksil. Pada saat fermentasi, Folin-Ciocalteu akan bereaksi dengan gugus fenolik-hidroksil sehingga terjadi perubahan menjadi berwarna biru.

Peningkatan kepekatan warna menunjukkan kenaikan konsentrasi senyawa fenol¹⁸

Lama proses perebusan dan pengolahan dapat menyebabkan adanya perbedaan kandungan kadar senyawa fenol dalam suatu produk makanan.¹⁹ Untuk membuktikannya maka dilakukan pengukuran kadar senyawa fenol pada kombucha dengan berbagai lama perebusan yang dibandingkan dengan rebusan daun sirsak. Namun dari hasil pengukuran kadar total fenol tidak ada perbedaan secara signifikan, hal ini disebabkan karena proses pengolahan menjadi produk kombucha tidak merubah merubah kadar senyawa fenol, namun merubah senyawa fenol lebih aktif. Pernyataan tersebut sesuai dengan pernyataan Primordia dan Kusnadi (2014) yang menyatakan bahwa fermentasi akan meningkatkan efektifitas senyawa aktif tanpa merubah kadarnya, karena fermentasi akan menghilangkan glukosa yang terikat pada senyawa fenol untuk membentuk senyawa fenol bentuk aglikon oleh bakteri yang terkandung dalam SCOBY seperti bakteri *Lactobacillus*. Senyawa ini lebih aktif dibandingkan bentuk glikosida karena bentuk aglikon mudah diserap oleh intestinal^{20,21}.

Saat proses fermentasi, *yeast* memproduksi enzim invertase yang membantu proses hidrolisis sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa. Kemudian, glukosa dan fruktosa akan mengalami glikolisis. Glikolisis adalah rangkaian reaksi kimia penguraian glukosa menjadi asam piruvat. Kemudian asam piruvat akan diubah oleh enzim dekarboxilase piruvat menjadi asetaldehid. Kemudian, asetaldehid diubah menjadi etanol oleh enzim alkohol dehidrogenase²². Bakteri dan *yeast* akan mendegradasi flavonoid dengan melepaskan rantai C dari flavonoid dan melepaskan asam phenolic yaitu *phlorenic acid* dan *phenylacetic acid*. Serta pelepasan flavonoid dari sel mikroorganisme yang sensitif terhadap asam. Sehingga aktivitas dari flavonoid akan meningkat²³.

Variasi Waktu Perebusan Kombucha Daun Sirsak Terhadap Potensi Aktivitas Antioksidan.

Antioksidan adalah senyawa yang dapat melindungi tubuh dari efek radikal bebas. Mekanisme antioksidan mereduksi radikal bebas dengan berikatan pada elektron yang tidak berpasangan dan menghambat reaksi berantai dalam sintesis radikal bebas. Berdasarkan sumbernya dapat diperoleh dari dalam tubuh seperti Superoksida Dismutase (SOD), Glutathione Peroksidase (GPx), dan Katalase (CAT). Antioksidan yang diperoleh dari alam antara lain yang terdapat pada buah dan sayur yaitu fenolik, flavonoid, dan tokoferol²⁶.

Untuk pengukuran potensi antioksidan dilakukan dengan metode DPPH karena cukup sederhana hanya memerlukan sedikit sampel. Mekanisme metode ini adalah sampel yang memiliki atom hidrogen akan berikatan dengan elektron tidak berpasangan. Perubahan warna ungu menjadi kuning karena dari radikal bebas (*diphenylpicrylhydrazyl*) menjadi senyawa non-radikal (*diphenylpicrylhydrazine*).

Pengukuran kuantitatif dilihat dari IC_{50} yang didapatkan dari proses penangkapan radikal DPPH oleh antioksidan yang dimiliki sampel. Proses ini dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis.²⁷

Pada sampel kombucha daun sirsak dengan lama perebusan 5, 10, dan 15 menit terjadi perbedaan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} menunjukkan kemampuan sampel menghambat proses oksidasi sebesar 50%. Semakin besar nilai IC_{50} berarti semakin rendah aktivitas antioksidan. Lama perebusan 5 menit dan 15 menit lebih rendah potensinya dibandingkan 10 menit. Pemanasan 5 menit belum mampu menarik senyawa aktif yang optimal, sedangkan 15 menit menyebabkan kerusakan dari senyawa aktifnya. Hal ini disebabkan pemanasan dengan suhu di atas 50°C akan menyebabkan perubahan senyawa aktif. Senyawa aktif dalam kombucha daun sirsak yang bersifat termolabil akan mengalami kerusakan dengan adanya pemanasan²⁸.

Perebusan 10 menit efektif untuk menarik senyawa aktif terutama fenol yang larut dalam air. Fenol memiliki aktivitas antioksidan dengan menangkap ROS, mencegah regenerasi ROS dan secara tidak langsung dapat meningkatkan aktivitas. Fenol dapat mencegah pembentukan ROS dengan inhibisi kerja enzim xantin oksidase dan NADPH oksidase, serta mencegah reaksi reduksi oksidasi yang dapat menghasilkan radikal bebas²⁹.

Kadar aktivitas antioksidan kombucha daun sirsak dengan lama perebusan 5, 10, dan 15 menit lebih rendah daripada vitamin C. Hal ini karena kombucha daun sirsak merupakan sampel yang masih berbentuk kompleks yang bukan senyawa murni, sedangkan vitamin C merupakan senyawa isolat yang murni³⁰.

KESIMPULAN

1. Lama fermentasi tidak mempengaruhi perbedaan nilai total fenol dari kombucha daun sirsak 5 menit, kombucha daun sirsak 10 menit, kombucha daun sirsak 15 menit, dan rebusan daun sirsak.
2. Kombucha daun sirsak lama perebusan 10 menit mempunyai aktifitas antioksidan tertinggi dibandingkan rebusan daun sirsak.
3. Kombucha dengan lama perebusan 10 menit dan rebusan daun sirsak memiliki potensi antioksidan lebih kecil dibandingkan vitamin C.

SARAN

Untuk membuktikan hasil penelitian in vitro ini maka kedepannya perlu dilakukan uji potensi antioksidan kombucha daun sirsak secara in vivo pada hewan coba.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis sampaikan kepada IOM dan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang yang telah mendanai penelitian ini serta tim kelompok penelitian yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Suryadinata RV. Pengaruh Radikal Bebas Terhadap Proses Inflamasi pada Penyakit Paru Obstruktif Kronis (PPOK). *Amerta Nutr.* 2018;2(4):317.
2. Sanmugapriya E VS. Studies on hepatoprotective and antioxidant actions of *Strychnos potatorum* Linn. seeds on CCl₄-induced acute hepatic injury in experimental rats. *J Ethnopharmacol.* 2006;105(1–2):154.
3. Manik Worowerdi Cintakaweni D, Tambunan LFHT. Radikal Bebas dan Peran Antioksidan Dalam Mencegah Penuaan. Vol. 24, *Medicinus.* 2011. 6–11 p.
4. Blanco-rios, A. K., Medina-juarez, L. A., Gonzalez-aguilar GA. Antioxidant Activity of the Phenolic and Oily Fractions of Different Sweet Bell Peppers. *J Med Chem Soc.* 2013;57(2):137–143.
5. Montalvo-go E, Coria-te A V, Obledo-va EN. *Annona muricata*: A comprehensive review on its traditional medicinal uses, phytochemicals, pharmacological activities, mechanisms of action and toxicity. 2016;
6. Suhardini PN, Zubaidah E. SELAMA FERMENTASI Study of Antioxidant Activity on Various Kombucha Leaves During Fermentation. *J Pangan dan Agroindustri.* 2016;4(1):221–9.
7. Moghadamtousi SZ, Fadaeinasab M, Nikzad S, Mohan G, Ali HM, Kadir HA. *Annona muricata* (Annonaceae): A review of its traditional uses, isolated acetogenins and biological activities. *Int J Mol Sci.* 2015;16(7):15625–58.
8. Damayanti DS, Kusuma HMSC, Soeatmadji DW. Soursoop (*Annona Muricata*) Leaf Water Extract (SLWE) Prevent Pancreatic B-Cell Damage in Male Wistar Rats Induced By High Fat and High Fructose (HFHF) Diet. *Int J Diabetes Metab Disord.* 2019;4(6):4–11.
9. Damayanti DS, Kusuma HM. C, Nurdiana, Soeadmadji. Effects of soursoop (*Annona muricata*) leaf water extract (SLWE) on body weight, leptin and TNF α plasma levels of rats with high fat and high fructose (HFHF) Diet. *J Glob Pharma Technol.* 2019;11(4).
10. Maulana A, Lestari RD, Damayanti DS. EFEK INFUSA DAUN SIRSAK (*Annona muricata*) PADA KADAR LDL DAN HDL SERUM TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI DIET TINGGI LEMAK DAN FRUKTOSA. 2019;7(1):117–23.
11. Khaerah A, Akbar F. Aktivitas Antioksidan Teh Kombucha dari Beberapa Varian Teh yang Berbeda. *Pros Semin Nas LP2M UNM.* 2019;472–6.
12. Jayabalan R, Malbaša R V. A review on kombucha tea-microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 2014;13(4):538–50.
13. Jakubczyk K, Kałduńska J, Kochman. Chemical profile and antioxidant activity of the kombucha beverage derived from white, green, black and red tea. *Antioxidants.* 2020;9(5).
14. Jayabalan R, Subathradevi P, Marimuthu. Changes in free-radical scavenging ability of kombucha tea during fermentation. *Food Chem.* 2008;109(1):227–34.
15. RI D. FARMAKOPE HERBAL INDONESIA. Pocket Handb NonhumPrimate *Clin Med.* 2017;213–8.
16. Tristantini D, Ismawati A, Pradana BT, Gabriel J. Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH Pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi* L.). *Univ Indones.* 2016;2.
17. Ozcan T, Akpınar-Bayazit A, Yilmaz-Ersan L, Delikanli B. Phenolics in Human Health. *Int J Chem Eng Appl.* 2014;5(5):393–6.
18. Blainski A, Lopes GC, De Mello JCP. Application and analysis of the folin ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *limonium brasiliense* L. *Molecules.* 2013;18(6):6852–65.
19. Wicaksono GS, Zubaidah E. Pengaruh Waktu Perebusan Karagenan dan Daun Sirsak Terhadap Kualitas dan Karakteristik Minuman Jelly Daun Sirsak. *J Pangan dan Agroindustri.* 2015;3(1):281–91.
20. Primurdia EG, Kusrudi J. Aktivitas Antioksidan Minuman Probiotik Sari Kurma (*Phoenix Dactylifera* L.) Dengan Isolat *L. Plantarum* Dan *L. Casei*. *J Pangan dan Agroindustri.* 2014;2(3):98–109.
21. Kumar S, Pandey AK. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *Sci World J.* 2013;58(4):145–8.
22. Laureys D, Britton SJ, De Clippeleer J. Kombucha Tea Fermentation: A Review. *J Am Soc Brew Chem.* 2020;78(3):165–74.
23. Jayabalan R, Marimuthu S, Swaminathan K. Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation. *Food Chem.* 2007;102(1):392–8.
24. Octavia MD, Stephany J, H R. Pengaruh Cara Pengeringan Oven dan Microwave Terhadap

- Perolehan Kadar Senyawa Fenolat dan Daya Antioksidan Dari Daun Jambu Biji (*Psidium folium*). *J Farm Higea*. 2010;2(1):19–26.
25. Hanum Muhammad Ikhsan; Martunis, Martunis SS. Potensi antioksidan daun johar (*Cassia seamea* Lamk.). *J Ilm Mhs Pertan* . 2018;3(1):401–8.
 26. Arifin B, Ibrahim S. Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid. *J Zarah*. 2018;6(1):21–9.
 27. Setiawan F, Yunita O. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang dan FRAP. 2018;2(2):82–9.
 28. Puspitasri, A., D., dan Prayogo, S. L. Pengaruh Waktu Perebusan terhadap Kadar Flavonoid Total Daun Kersen (*Muntingia calabura*). *Inov Tek Kim*. 2016;1(2):104–8.
 29. Akhlaghi M, Bandy B. Mechanisms of flavonoid protection against myocardial ischemia-reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol* [Internet]. 2009;46(3):309–17.
 30. Astuti Amin, Jeanny Wunas YMAS. Uji AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL KLIKA FALOAK (*Sterculia quadrifida* R.Br). *Fitofarmaka*. 2013;2(2):111–4.

