

Antioxidant Activity Test of Avocado Leaf Kombucha (*Persea americana* Mill.) Based on Fermentation Duration Using the ABTS Method

Uji Aktivitas Antioksidan Kombucha Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) Berdasarkan Lama Fermentasi dengan Metode ABTS

Muhammad Andry ^{a*}, Sry Ulina Karo-Karo ^b, Indah Pertiwi Lubis ^b, Ervina Syahfitri Lubis ^b, Meiva Amalia Lubis ^b, Halimnah Raina Nasution ^b

^aDepartment of Pharmacy, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Sriwijaya, Indralaya, Ogan Ilir, Sumatra Selatan, Indonesia

^bDepartment of Pharmacy, Faculty of Pharmacy and Health, Institut Kesehatan Helvetia, Sumatra Utara, Indonesia.

*Corresponding Authors: andry@unsri.ac.id

Abstract

Kombucha tea is a widely consumed herbal beverage. Avocado leaves (*Persea americana* Mill.) are known to contain various bioactive compounds such as flavonoids, quercetin, and polyphenols, which play an important role in providing health benefits, particularly as antioxidants. Objective: This study aimed to evaluate the antioxidant activity of avocado leaf kombucha using the Azinobis Ethylbenzothiazoline Sulfonic Acid (ABTS) method. Methods: This research employed an experimental design with quantitative antioxidant activity testing using the ABTS method. The IC₅₀ values were determined through linear regression analysis based on the relationship between sample concentration and percentage inhibition of the ABTS radical. Results: The IC₅₀ value of non-fermented avocado leaf kombucha was 106.40 ppm, which falls within the moderate antioxidant category (IC₅₀: 100–150 ppm). Fermentation for 9 days produced an IC₅₀ of 67.99 ppm (strong), 12 days resulted in 49.91 ppm (very strong), and 14 days resulted in 40.18 ppm (very strong). Vitamin C, used as a positive control, showed an IC₅₀ of 9.160 ppm (very strong). Conclusion: The antioxidant activity of avocado leaf kombucha increased with the duration of fermentation. Non-fermented kombucha exhibited moderate antioxidant activity, while fermentation for 9, 12, and 14 days resulted in strong to very strong antioxidant capacity. Keywords: Kombucha Tea, Avocado Leaves, Antioxidant, ABTS, IC₅₀.

Keywords: Kombucha Tea, Avocado Leaves, Antioxidant, ABTS, IC₅₀.

Abstrak

Teh kombucha merupakan minuman herbal yang banyak dikonsumsi di masyarakat. Tanaman alpukat (*Persea americana* Mill.) merupakan salah satu tanaman obat penting yang sering dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional untuk mengatasi berbagai penyakit. Kandungan bioaktif dalam daun alpukat, seperti flavonoid, quercetin, dan polifenol, memiliki peran penting dalam memberikan manfaat kesehatan, salah satunya sebagai antioksidan. Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antioksidan teh kombucha daun alpukat (*Persea americana* Mill.) menggunakan metode Azinobis Ethylbenzothiazoline Sulfonic Acid (ABTS). Metode: Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan uji kuantitatif aktivitas antioksidan menggunakan metode ABTS. Nilai IC₅₀ ditentukan melalui analisis regresi linier berdasarkan hubungan antara konsentrasi sampel dan persentase inhibisi radikal bebas. Hasil: Nilai IC₅₀ yang diperoleh pada teh kombucha daun alpukat tanpa fermentasi adalah 106,40 ppm, yang berdasarkan literatur termasuk kategori aktivitas antioksidan sedang (IC₅₀ 100–150 ppm). Fermentasi selama 9 hari menghasilkan nilai IC₅₀ sebesar 67,99 ppm (kuat), fermentasi hari ke-12 sebesar 49,91 ppm (sangat kuat), dan fermentasi hari ke-14 sebesar 40,18 ppm (sangat kuat). Vitamin C digunakan sebagai kontrol positif dengan nilai IC₅₀ sebesar 9,160 ppm (sangat kuat). Kesimpulan: Aktivitas antioksidan teh kombucha daun alpukat meningkat seiring

lamanya waktu fermentasi. Teh kombucha tanpa fermentasi memiliki aktivitas antioksidan sedang, sedangkan pada fermentasi 9, 12, dan 14 hari menunjukkan aktivitas antioksidan kuat hingga sangat kuat.

Kata Kunci: Teh Kombucha, Daun Alpukat, Antioksidan, ABTS, IC₅₀



Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **Adapt** (remix, transform, and build upon the material) under the following terms: **Attribution** — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; **NonCommercial** — You may not use the material for commercial purposes; **ShareAlike** — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. Content from this work may be used under the terms of the [Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International \(CC BY-NC-SA 4.0\) License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Article History:

Received: 20/09/2025,
Revised: 12/11/2025,
Accepted: 12/11/2025,
Available Online: 13/11/2025.

QR access this Article



<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v8i4.1171>

Pendahuluan

Kombucha merupakan minuman fermentasi yang dihasilkan melalui interaksi simbiotik antara bakteri asam asetat dan ragi yang dikenal sebagai *Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast* (SCOBY). Fermentasi ini menghasilkan berbagai senyawa bioaktif seperti asam organik, polifenol, vitamin, dan enzim yang berkontribusi pada manfaat biologis kombucha, termasuk aktivitas antioksidan. Meskipun awalnya dibuat dari teh hitam atau teh hijau, penelitian terbaru menunjukkan bahwa berbagai tanaman herbal non-teh dapat digunakan sebagai substrat fermentasi untuk menghasilkan kombucha dengan karakteristik fitokimia yang berbeda. Kombucha daun kersen, misalnya, dilaporkan mengandung flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, dan fenolik dengan kadar flavonoid yang meningkat setelah fermentasi, menunjukkan bahwa bahan non-teh memiliki potensi besar dalam menghasilkan minuman fermentasi dengan aktivitas antioksidan tinggi [1].

Daun alpukat (*Persea americana* Mill.) merupakan bagian tanaman yang telah lama dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional untuk menangani berbagai penyakit seperti hipertensi, batu ginjal, peradangan, dan gangguan metabolik. Secara fitokimia, daun alpukat kaya akan metabolit sekunder termasuk flavonoid, quercetin, polifenol, tanin, dan saponin. Kandungan quercetin yang cukup tinggi menjadikan daun alpukat memiliki aktivitas antioksidan, antiinflamasi, dan antihipertensi yang signifikan. Penelitian terdahulu juga menunjukkan bahwa teh daun alpukat memiliki kadar flavonoid dan quercetin yang tinggi, sehingga sangat berpotensi digunakan sebagai bahan dasar pembuatan minuman fungsional, termasuk kombucha [2].

Fermentasi diketahui mampu meningkatkan aktivitas antioksidan melalui berbagai mekanisme biokimia. Proses fermentasi memungkinkan terjadinya biotransformasi polifenol kompleks menjadi aglikon flavonoid yang lebih aktif, pemecahan senyawa besar menjadi molekul yang lebih sederhana, serta pembentukan metabolit baru seperti asam glukonat dan glukuronat yang memiliki sifat reduktif. Meskipun potensi ini sangat besar, hingga kini belum banyak penelitian yang secara sistematis mengevaluasi bagaimana fermentasi mempengaruhi aktivitas antioksidan daun alpukat ketika diolah menjadi kombucha. Penelitian mengenai kombucha daun alpukat masih terbatas pada aspek organoleptik, komposisi fitokimia dasar, atau aktivitas antioksidan yang diukur dengan metode DPPH, yang memiliki sensitivitas lebih rendah dibandingkan dengan metode ABTS [3].

Metode ABTS memiliki sejumlah keunggulan karena mampu mengukur kapasitas antioksidan terhadap radikal hidrofilik maupun lipofilik dengan sensitivitas tinggi. Pengukuran dilakukan dengan menilai kemampuan sampel dalam menetralkan radikal ABTS, yang ditandai dengan penurunan intensitas absorbansi pada panjang gelombang 734 nm. Penggunaan metode ini memungkinkan perhitungan IC₅₀ yang lebih akurat, sehingga memberikan gambaran kuantitatif mengenai kekuatan aktivitas antioksidan suatu sampel. Meskipun metode ABTS sangat relevan untuk analisis antioksidan kombucha, belum ada penelitian yang menerapkannya secara khusus pada kombucha daun alpukat [4].

Kurangnya penelitian yang membahas secara komprehensif pengaruh fermentasi terhadap aktivitas antioksidan kombucha daun alpukat menunjukkan adanya celah penelitian yang jelas. Belum pernah

dilaporkan evaluasi kuantitatif mengenai perubahan aktivitas antioksidan kombucha daun alpukat pada berbagai waktu fermentasi menggunakan metode ABTS dan parameter IC_{50} . Selain itu, belum ada kajian yang mengaitkan perubahan pH, pembentukan asam organik, dan biotransformasi polifenol dengan peningkatan aktivitas antioksidan pada kombucha daun alpukat [5].

Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini memiliki kebaruan berupa analisis pertama yang mengkuantifikasi aktivitas antioksidan kombucha daun alpukat menggunakan metode ABTS dan nilai IC_{50} pada berbagai lama fermentasi, yaitu 0, 9, 12, dan 14 hari [6]. Penelitian ini diharapkan mampu memberikan pemahaman baru mengenai dinamika perubahan aktivitas antioksidan selama fermentasi dan potensi daun alpukat sebagai bahan dasar minuman fungsional yang kaya senyawa bioaktif. Dengan demikian, penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antioksidan teh kombucha daun alpukat (*Persea americana* Mill.) menggunakan metode ABTS serta mengevaluasi pengaruh variasi waktu fermentasi terhadap nilai IC_{50} yang dihasilkan [7].

Metode

Penelitian ini dilakukan di laboratorium dengan menggunakan desain penelitian eksperimental dan pendekatan kuantitatif. Fokus penelitian adalah mengukur aktivitas antioksidan dari minuman kombucha yang difermentasi menggunakan daun alpukat (*Persea americana* Mill.). Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)). Seluruh rangkaian penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fakultas Farmasi dan Kesehatan, Institut Kesehatan Helvetia Medan, pada periode Maret hingga Mei 2025.

Untuk meningkatkan reliabilitas dan validitas hasil penelitian, digunakan desain replikasi yang terstandarisasi. Setiap perlakuan variasi lama fermentasi (hari ke-0, 9, 12, dan 14) diformulasikan dalam tiga batch fermentasi independen ($n = 3$) menggunakan komposisi bahan dan kondisi fermentasi yang sama. Setiap batch kemudian diuji aktivitas antioksidannya melalui pengukuran absorbansi secara triplikate (tiga kali pengukuran untuk setiap sampel). Dengan demikian, setiap perlakuan menghasilkan total sembilan data pengukuran ($3 \text{ batch} \times 3 \text{ ulangan}$), dan nilai akhir yang dianalisis merupakan nilai rerata dari keseluruhan pengulangan tersebut.

Desain replikasi ini dipilih untuk memperkuat ketelitian data, meminimalkan variasi teknis antar-pengukuran, serta memastikan validitas perhitungan nilai IC_{50} yang diperoleh dari analisis regresi linier antara konsentrasi sampel dan persentase inhibisi radikal ABTS.

Alat an Bahan

Peralatan yang digunakan meliputi toples kaca fermentasi, gelas beaker 250 dan 500 mL, gelas ukur 100 mL, labu takar, termometer (Omron), water bath (Memmert WNB14), timbangan analitik (Ohaus PA214), hotplate stirrer (IKA C-MAG HS7), vortex mixer (Thermo Scientific), pH meter (Mettler Toledo SevenCompact), mikropipet (Eppendorf 100–1000 μL), pipet tetes dan pipet volume, tabung reaksi, kuvet (1 cm path length), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1800), batang pengaduk, kain putih steril, serta sarung tangan dan aluminium foil sebagai pelindung selama proses fermentasi.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain simplisia daun alpukat (*Persea americana* Mill.), air suling (aquadest), sukrosa (Merck, pro analysis), kultur kombucha (SCOBY), etanol 96% (Merck), serbuk ABTS (Sigma-Aldrich), kalium persulfat (Merck), kertas saring (Whatman No.1), dan aluminium foil. Seluruh bahan kimia yang digunakan merupakan grade analitik untuk menjamin keakuratan hasil uji.

Prosedur

Prosedur penelitian dimulai dengan pengambilan sampel daun alpukat menggunakan teknik purposive sampling berdasarkan kriteria tertentu, seperti warna hijau muda, tingkat fotosintesis maksimal, dan usia pohon yang seragam. Sampel sebanyak 5 kg diambil dari Jalan Sei Simare-Mare, Kota Medan. Setelah itu, daun dikeringkan menggunakan dua metode: teknik basket-fried di atas arang panas dan pengeringan dalam lemari pengering bersuhu 50°C selama 3 jam. Daun yang telah kering dihaluskan dan dikemas dalam kantong teh seberat 50 gram [8,9].

Selanjutnya dilakukan serangkaian uji fitokimia untuk mendeteksi kandungan senyawa aktif. Uji alkaloid menggunakan metode Culvernor-Fitzgerald dengan reagen kloroform dan pereaksi Mayer, ditandai dengan terbentuknya kabut atau endapan putih. Uji steroid, terpenoid, dan fenolik dilakukan dengan metode

Simen et al., melibatkan pemanasan dengan etanol dan pengamatan busa serta perubahan warna. Uji fenolik menggunakan FeCl_3 dan identifikasi warna biru, merah, atau hijau sebagai indikator keberadaan senyawa fenolik, steroid, dan terpenoid [10,11].

Identifikasi flavonoid dilakukan dengan mengekstraksi sampel menggunakan etanol panas, lalu ditetesi HCl pekat dan bubuk magnesium. Jika senyawa flavonoid ada, larutan akan berubah menjadi kemerahan. Pengujian tanin memakai larutan FeCl_3 , yang menghasilkan warna hijau hingga biru gelap apabila tanin terdeteksi. Saponin diuji dengan melihat kemampuan sampel membentuk busa stabil setelah dikocok dalam larutan air atau deterjen. Sementara itu, aktivitas antioksidan dianalisis menggunakan reagen ABTS. Ketika reagen ini bereaksi dengan senyawa antioksidan, warna larutan yang awalnya ungu akan memudar menjadi kuning pucat. Waktu perubahan warna yang lebih cepat menunjukkan tingginya kemampuan antioksidan sampel dalam menangkap radikal bebas [10,11].

Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

Karakteristik simplisia daun alpukat dievaluasi melalui beberapa parameter mutu, meliputi kadar air, kadar sari larut dalam air dan etanol, kadar abu total, serta abu tidak larut dalam asam. Penetapan kadar air dilakukan menggunakan metode gravimetri. Sebanyak kurang lebih 3 gram serbuk daun dikeringkan pada suhu 105°C hingga mencapai massa konstan, dengan toleransi penurunan bobot tidak melebihi 0,25%. Sementara itu, kadar sari larut air dan sari larut etanol dianalisis dengan merendam masing-masing 5 gram serbuk simplisia dalam pelarut air dan etanol selama 24 jam. Tahapan ini bertujuan untuk mengetahui jumlah komponen kimia yang dapat terekstraksi oleh masing-masing pelarut, yang mencerminkan kandungan metabolit polar dan nonpolar dalam simplisia. Setelah itu, hasil maserasi diuapkan dan dipanaskan kembali pada suhu 105°C hingga bobotnya tetap, kemudian dihitung persentasenya terhadap berat ekstrak awal. Kadar abu total diperoleh melalui proses pengabuan 3 gram simplisia pada suhu 400°C selama kurang lebih 3 jam. Sementara itu, kadar abu tidak larut asam ditetapkan dari abu total yang direaksikan dengan larutan HCl encer, kemudian disaring, dicuci, dan dipijarkan kembali pada suhu sekitar 400°C selama ± 15 menit hingga mencapai bobot konstan. [12].

Pembuatan Kombucha Daun Alpukat Fermentasi dan Pemeriksaan Kandungan Kimia

Proses pembuatan kombucha daun alpukat dimulai dengan menyeduh 10 gram simplisia daun alpukat dalam 1 liter air mendidih selama kurang lebih 15 menit. Setelah itu, seduhan disaring selagi masih panas untuk memisahkan ampas. Setelah filtrat diperoleh, ditambahkan 200 gram gula, lalu diaduk hingga seluruhnya larut. Larutan kemudian didinginkan sampai mencapai suhu ruang (sekitar $25\text{--}27^\circ\text{C}$). Tahap berikutnya, larutan dimasukkan ke dalam toples kaca steril dan diinokulasi dengan 100 ml starter kultur kombucha (SCOBY). Wadah fermentasi ditutup menggunakan kain bersih dan diikat dengan karet agar tetap terlindungi namun tetap memungkinkan pertukaran udara. Fermentasi dibiarkan berlangsung pada suhu ruang selama 14 hari. Pengujian kandungan kimia dilakukan pada tiga formula (F1, F2, F3), masing-masing menggunakan komposisi yang sama, yaitu 10 gram daun alpukat, 200 gram gula, 100 ml starter kombucha, dan 1000 ml air [13–16].

Uji Aktivitas Antioksidan Secara Spektrofotometer UV-Via Dengan Metode ABTS

Uji aktivitas antioksidan kombucha daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dilakukan menggunakan metode ABTS (2,2'-Azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) dengan bantuan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1800). Tahapan pengujian diawali dengan pembuatan larutan stok ABTS dengan mencampurkan 7 mM ABTS dan 2,45 mM kalium persulfat ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) dalam pelarut etanol. Campuran diinkubasi dalam kondisi gelap pada suhu ruang selama 12 jam untuk menghasilkan radikal kation ABTS yang stabil secara kimiawi.

Larutan hasil inkubasi kemudian diencerkan menggunakan etanol hingga mencapai absorbansi $0,700 \pm 0,02$ pada panjang gelombang 734 nm, yang merupakan panjang gelombang maksimum serapan ABTS (λ_{maks}). Penentuan panjang gelombang dilakukan terlebih dahulu untuk memastikan kestabilan dan sensitivitas maksimum reagen terhadap aktivitas pereduksi sampel. Selanjutnya, larutan kontrol dan larutan sampel diuji pada panjang gelombang tersebut. Sampel kombucha daun alpukat dibuat dalam beberapa konsentrasi, yaitu 50, 100, 200, 300, dan 400 ppm. Masing-masing 1 mL larutan sampel dicampurkan dengan 1 mL larutan ABTS, kemudian diinkubasi dalam ruang gelap pada suhu kamar selama 6 menit untuk mencegah degradasi fotokimia.

Setelah inkubasi, absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 734 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Larutan vitamin C (asam askorbat) digunakan sebagai kontrol positif karena merupakan antioksidan murni dengan daya reduksi tinggi. Untuk memastikan kestabilan reagen, dilakukan juga pengamatan terhadap waktu kerja ABTS selama 60 menit, guna menentukan lamanya reagen tetap stabil sebelum terjadi penurunan absorbansi signifikan. Reagen dianggap stabil bila penurunan absorbansi kurang dari 10% selama periode tersebut [17].

Persentase inhibisi aktivitas antioksidan dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$$

dengan:

A_0 = absorbansi kontrol (larutan ABTS tanpa sampel), dan

A_1 = absorbansi larutan sampel setelah reaksi.

Nilai inhibisi menunjukkan kemampuan senyawa dalam sampel untuk mereduksi radikal ABTS menjadi bentuk non-radikal ABTS, yang ditandai dengan perubahan warna dari hijau kebiruan pekat menjadi kuning muda. Semakin besar nilai persentase inhibisi, semakin tinggi kemampuan antioksidan sampel.

Penentuan Nilai IC₅₀

Nilai IC₅₀ (Inhibition Concentration 50%) diperoleh melalui analisis hubungan linier antara konsentrasi sampel yang digunakan dan persentase kemampuan sampel dalam menghambat radikal bebas. Nilai ini menunjukkan berapa besar konsentrasi ekstrak atau senyawa yang dibutuhkan untuk menurunkan aktivitas radikal ABTS sebesar 50%. Oleh sebab itu, IC₅₀ menjadi salah satu indikator kuantitatif yang paling sering digunakan untuk menentukan seberapa kuat aktivitas antioksidan suatu bahan.

Semakin rendah nilai IC₅₀ yang diperoleh dari hasil pengujian, semakin tinggi kemampuan antioksidan sampel, karena hanya dibutuhkan konsentrasi kecil untuk menetralkan setengah jumlah radikal bebas yang ada. Sebaliknya, semakin besar nilai IC₅₀, semakin lemah kemampuan antioksidan senyawa tersebut. Berdasarkan rentang nilai IC₅₀, aktivitas antioksidan biasanya dikategorikan menjadi beberapa tingkatan, yaitu sangat kuat jika berada di bawah 50 ppm, kuat apabila berada pada rentang 50 hingga 100 ppm, sedang jika nilainya berkisar antara 101 hingga 150 ppm, lemah pada kisaran 151 hingga 200 ppm, dan dikategorikan sangat lemah apabila melebihi 200 ppm. Dengan demikian, nilai IC₅₀ tidak hanya menggambarkan efektivitas antioksidan suatu sampel, tetapi juga memudahkan dalam membandingkan potensi antioksidan antar berbagai ekstrak atau senyawa yang diuji [18].

Analisi Data

Analisis data dalam penelitian ini dilakukan dengan menentukan nilai IC₅₀ (Inhibitory Concentration 50%), yaitu konsentrasi sampel yang diperlukan untuk menghambat 50% radikal bebas. Penentuan nilai ini diawali dengan pengukuran persen inhibisi pada berbagai konsentrasi larutan uji. Data persen penghambatan tersebut kemudian dipetakan dalam grafik menggunakan persamaan regresi linier, dengan konsentrasi ekstrak (µg/mL) sebagai variabel pada sumbu X dan nilai inhibisi sebagai variabel pada sumbu Y. Melalui persamaan regresi linier tersebut, ditentukan titik potong ketika nilai inhibisi mencapai 50%. Nilai konsentrasi yang diperoleh dari titik tersebut digunakan sebagai IC₅₀. Semakin kecil nilai IC₅₀ yang dihasilkan, semakin tinggi kemampuan antioksidan dari sampel yang diuji [19].

Hasil dan Pembahasan

Hasil Pemeriksaan Karakteristik Simplisia Daun Alpukat (*Persea americana* Mill)

Hasil pemeriksaan karakteristik simplisia daun alpukat (*Persea americana* Mill) menunjukkan bahwa seluruh parameter yang diuji telah memenuhi standar Farmakope Herbal Indonesia. Kadar air sebesar 8,4% berada di bawah batas maksimal 19,5%, dan kadar sari larut etanol sebesar 14,3% mendekati batas minimal >14,5%. Selain itu, kadar abu total sebesar 6,7% dan kadar abu tidak larut asam sebesar 0,3% juga berada dalam rentang yang diizinkan, masing-masing.

Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa simplisia daun alpukat (*Persea americana* Mill.) memiliki kandungan berbagai senyawa metabolit sekunder yang diduga berkontribusi terhadap aktivitas biologis atau

farmakologisnya. Pada pengujian alkaloid menggunakan pereaksi Mayer, Bouchardat, dan Dragendorff, sampel menunjukkan respons positif berupa munculnya endapan berwarna putih, coklat gelap, hingga jingga. Keberadaan flavonoid terkonfirmasi setelah penambahan serbuk magnesium dan HCl pekat, yang memicu perubahan warna larutan menjadi kuning atau jingga. Saponin terdeteksi melalui terbentuknya busa stabil setinggi kurang lebih 10 cm, yang tetap bertahan sekitar 10 menit setelah pemanasan serta penambahan HCl. Uji tannin memberikan hasil positif ketika sampel direaksikan dengan larutan FeCl₃, ditandai dengan timbulnya warna hijau kehitaman atau biru tua pada larutan.

Table 1. Hasil Pemeriksaan Karakteristik Simplisia Daun Alpukat (*Persea americana* Mill)

No.	Karakteristik Serbuk Simplisia	Hasil Penetapan	Farmakope Herbal Indonesia
1.	Penetapan kadar air	8,4%	<10%
2.	Penetapan kadar sari larut air	29%	>19,5%
3.	Penetapan kadar sari larut etanol	14,3%	>14,5%
4.	Penetapan kadar abu total	6,7%	<10%
5.	Penetapan kadar abu tidak larut asam	0,3%	<0,7%

Hasil Skrining Fitokimia

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Daun Alpukat (*Persea americana* Mill)

No.	Senyawa	Pereaksi	Warna yang terbentuk	Hasil
1.	Alkaloid	Mayer	Endapan putih	+
		Bouchardat	Endapan coklat kehitaman	+
		Dragendrof	Jingga	+
2.	Flavonoid	Mg + HCL (p)	Kuning atau jingga	+
3.	Saponin	Aquadest (I) (dipanaskan)+ HCL (aq) 2N	Terdapat busa selama 10 menit setinggi 10 cm	+
4.	Tanin	FeCl 3%	Hitam kehijauan atau hitam kebiruan	+
5.	Steroid	Asam asetat anhidrat- H ₂ SO ₄ (P)	Hijau	+
6.	Triterpenoid	Asam asetat anhidrat- H ₂ SO ₄ (P)	Cincin kecoklatan	+

Selain itu, senyawa golongan steroid dan triterpenoid juga terdeteksi melalui uji Liebermann–Burchard, ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi hijau untuk steroid dan munculnya cincin kecokelatan untuk triterpenoid. Secara keseluruhan, temuan ini memperlihatkan bahwa daun alpukat mengandung komponen fitokimia yang beragam, sehingga berpotensi dimanfaatkan sebagai bahan dasar dalam pengembangan sediaan herbal atau fitofarmaka.

Hasil Evaluasi Sediaan Teh Kombucha Daun Alpukat (*Persea americana* Mill)

Hasil Uji Organoleptis

Tabel 3. Hasil Uji Organoleptis Sediaan Teh Kombucha Dari Daun Alpukat (*Persea americana* Mill)

Hari	Hasil Organoleptis		
	Warna	Aroma	Rasa
9	Kuning Kecoklatan	Khas Kombucha	Tidak Terlalu asam
12	Kuning Kecoklatan	Khas Kombucha	Asam
14	Kuning Kecoklatan	Khas Kombucha	Sangat asam

Hasil uji organoleptis terhadap sediaan teh kombucha dari daun alpukat (*Persea americana* Mill) menunjukkan bahwa selama proses fermentasi dari hari ke-9 hingga hari ke-14, warna tetap konsisten yaitu kuning kecoklatan dan aroma khas kombucha tetap terjaga. Perubahan paling signifikan terjadi pada rasa, di mana hari ke-9 memiliki rasa yang tidak terlalu asam, hari ke-12 mulai terasa asam, dan pada hari ke-14

menjadi sangat asam. Hal ini mencerminkan peningkatan intensitas fermentasi yang memengaruhi karakteristik rasa tanpa mengubah warna dan aroma secara signifikan.

Uji pH

Tabel 4. Hasil Uji pH Sediaan Teh Kombucha Dari Daun Alpukat (*Persea americana* Mill)

Hari	pH Sediaan			
	P1	P2	P3	Rata-rata
9	3,39	3,38	3,38	3,38
12	3,15	3,14	3,14	3,14
14	3,07	3,03	3,03	3,03

Hasil uji pH terhadap sediaan teh kombucha dari daun alpukat (*Persea americana* Mill) menunjukkan penurunan nilai pH seiring bertambahnya waktu fermentasi. Pada hari ke-9, rata-rata pH tercatat sebesar 3,38, kemudian menurun menjadi 3,14 pada hari ke-12, dan mencapai 3,03 pada hari ke-14. Penurunan pH ini mencerminkan peningkatan keasaman yang merupakan indikator berlangsungnya proses fermentasi secara optimal, serta berkontribusi terhadap karakteristik rasa dan potensi aktivitas antioksidan dalam produk kombucha.

Hasil Pengukuran Absorbansi

Tabel 5. Nilai Absorbansi ABTS

Pengukuran Absorbansi	Panjang gelombang 734 nm			
	Abs I	Abs II	Abs III	Rata-rata
	0,753	0,744	0,743	0,747

Hasil pengukuran absorbansi ABTS pada panjang gelombang 734 nm menunjukkan nilai yang konsisten, yaitu Abs I sebesar 0,753, Abs II sebesar 0,744, dan Abs III sebesar 0,743, dengan rata-rata absorbansi sebesar 0,747. Nilai ini mencerminkan kestabilan reagen ABTS dalam pengujian aktivitas antioksidan dan menjadi acuan dasar untuk membandingkan penurunan absorbansi setelah penambahan sampel uji.

Hasil pengukuran absorbansi teh kombucha daun alpukat pada panjang gelombang 734 nm menunjukkan adanya penurunan nilai absorbansi seiring meningkatnya konsentrasi dan lamanya fermentasi. Pada sampel tanpa fermentasi, absorbansi rata-rata pada 50 ppm sebesar 0,558 dan menurun menjadi 0,527 pada 400 ppm. Pada fermentasi hari ke-9, nilai absorbansi turun dari 0,561 (50 ppm) menjadi 0,461 (400 ppm). Penurunan ini berlanjut pada fermentasi hari ke-12 dan hari ke-14, masing-masing mencapai 0,527 dan 0,511 pada 400 ppm. Pola ini menunjukkan peningkatan aktivitas antioksidan, karena semakin rendah absorbansi berarti semakin besar kemampuan sampel mereduksi radikal ABTS.

Vitamin C, sebagai kontrol positif, menunjukkan penurunan absorbansi yang jauh lebih signifikan, yaitu dari 0,422 pada 50 ppm hingga 0,282 pada 500 ppm, menegaskan aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Pola penurunan absorbansi yang konsisten pada sampel kombucha maupun vitamin C menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi dan semakin lama fermentasi, semakin besar kemampuan sampel dalam menurunkan absorbansi radikal ABTS, yang berarti semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Secara keseluruhan, kombucha daun alpukat memperlihatkan peningkatan aktivitas antioksidan yang signifikan terutama pada fermentasi hari ke-12 dan hari ke-14.

Peningkatan aktivitas antioksidan yang diamati selama proses fermentasi berkaitan erat dengan perubahan biokimia yang terjadi pada medium kombucha. Selama fermentasi, ragi terlebih dahulu memecah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa, kemudian menghasilkan etanol. Bakteri asam asetat dalam SCOBY selanjutnya mengoksidasi etanol dan glukosa menjadi berbagai asam organik, seperti asam asetat, asam glukonat, dan asam glukuronat. Asam-asam organik ini bersifat reduktif sehingga dapat berkontribusi langsung terhadap peningkatan aktivitas antioksidan. Hal tersebut tercermin dari penurunan nilai pH (Tabel 4), di mana pH semakin rendah seiring lamanya fermentasi, menunjukkan peningkatan pembentukan asam organik. Dengan demikian, penurunan pH tidak hanya menjadi indikator fermentasi yang optimal, tetapi juga berkaitan dengan peningkatan kapasitas antioksidan dari kombucha daun alpukat.

Selain itu, fermentasi juga memicu hidrolisis enzimatis terhadap polifenol kompleks yang terdapat dalam daun alpukat. Enzim hasil metabolisme mikroba, seperti β -glukosidase, mampu memecah polifenol berukuran besar menjadi bentuk yang lebih sederhana dan lebih aktif secara antioksidan, seperti aglikon flavonoid. Transformasi ini meningkatkan ketersediaan senyawa antioksidan yang dapat mendonorkan elektron untuk menetralkan radikal ABTS. Aktivitas ini menjelaskan mengapa kombucha dengan lama fermentasi lebih panjang (hari ke-12 dan ke-14) menunjukkan nilai IC_{50} yang lebih rendah dibandingkan sampel tanpa fermentasi. Dengan demikian, peningkatan aktivitas antioksidan selama fermentasi merupakan hasil sinergi antara pembentukan asam organik, biotransformasi polifenol kompleks, dan peningkatan stabilitas senyawa bioaktif akibat aktivitas mikroba.

Tabel 6. Nilai Absorbansi Teh Kombucha

Hari ke	Sampel (ppm)	Abs I	Abs II	Abs III	Rata-rata	SD
Tanpa Fermentasi	50	0.565	0.550	0.565	0.558	0.00866
	100	0.555	0.541	0.555	0.548	0.00808
	200	0.548	0.548	0.539	0.545	0.00520
	300	0.539	0.528	0.539	0.535	0.00635
	400	0.528	0.525	0.528	0.527	0.00173
Hari ke-9	50	0.558	0.560	0.564	0.561	0.00306
	100	0.550	0.559	0.550	0.553	0.00520
	200	0.546	0.548	0.546	0.547	0.00116
	300	0.537	0.537	0.537	0.537	0.00000
	400	0.524	0.335	0.524	0.461	0.10912
Hari ke-12	50	0.545	0.545	0.545	0.545	0.00000
	100	0.537	0.530	0.537	0.535	0.00404
	200	0.529	0.515	0.529	0.524	0.00808
	300	0.525	0.440	0.525	0.497	0.04908
	400	0.515	0.550	0.515	0.527	0.02021
Hari ke-14	50	0.543	0.536	0.543	0.541	0.00404
	100	0.530	0.525	0.530	0.528	0.00289
	200	0.528	0.520	0.528	0.525	0.00462
	300	0.524	0.521	0.524	0.523	0.00173
	400	0.511	0.510	0.511	0.511	0.00058
Vitamin C	50	0.523	0.220	0.523	0.422	0.17494
	200	0.435	0.425	0.435	0.432	0.00577
	300	0.329	0.350	0.329	0.336	0.01212
	400	0.326	0.330	0.326	0.327	0.00231
	500	0.298	0.250	0.298	0.282	0.02771

Pengujian aktivitas antioksidan pada kombucha daun alpukat dilakukan menggunakan reagen ABTS karena senyawa ini memiliki kemampuan tinggi dalam menangkap radikal bebas. Metode ABTS dipilih sebab prosesnya sederhana, cepat, membutuhkan jumlah sampel yang sedikit, dan telah banyak digunakan dalam analisis senyawa antioksidan dari bahan alam. Prinsip dasar metode ini adalah adanya penurunan intensitas warna ungu larutan ABTS setelah bereaksi dengan senyawa yang bersifat antioksidan. Semakin besar penurunan warna yang terjadi, semakin tinggi kemampuan senyawa tersebut dalam mereduksi radikal bebas.

ABTS dalam bentuk radikal memiliki elektron tidak berpasangan sehingga berwarna ungu kehijauan. Ketika elektron tersebut dinetralkan oleh donor hidrogen dari senyawa antioksidan, warna larutan akan memudar hingga berubah menjadi kuning pucat. Proses pengukuran dilakukan dengan mereaksikan larutan sampel dengan ABTS, kemudian absorbansinya diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 734 nm, yaitu panjang gelombang serapan maksimum ABTS. Pengurangan nilai absorbansi mencerminkan berkurangnya konsentrasi radikal bebas ABTS, yang berarti menunjukkan aktivitas antioksidan sampel.

Dalam penelitian ini, larutan uji yang digunakan berupa kombucha daun alpukat hasil fermentasi pada hari ke-9, ke-12, dan ke-14, serta teh daun alpukat tanpa fermentasi dan larutan vitamin C sebagai

pembandingan. Setiap sampel dibuat dalam variasi konsentrasi 50, 100, 200, dan 400 ppm. Perbedaan konsentrasi ini digunakan untuk melihat seberapa besar kemampuan sampel dalam meredam radikal bebas, yang ditandai dengan perubahan warna larutan ABTS dari ungu menjadi semakin pucat.

Setelah dicampurkan dengan ABTS, semua larutan uji dan pembandingan diinkubasi selama 30 menit di tempat gelap. Inkubasi pada kondisi tanpa cahaya ini dilakukan untuk menjaga kestabilan ABTS, mencegah oksidasi oleh cahaya atau panas, dan memastikan campuran menjadi homogen. Selanjutnya dilakukan pembacaan absorbansi pada panjang gelombang 734 nm. Data absorbansi yang diperoleh digunakan untuk menghitung persen inhibisi (% penghambatan), kemudian dimasukkan ke dalam persamaan regresi linier untuk mendapatkan nilai IC_{50} (Inhibition Concentration 50%), yaitu konsentrasi sampel yang mampu mereduksi radikal bebas sebesar 50% [20].

Tabel 7. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Teh Kombucha Daun Alpukat

Perlakuan	F0 (ppm)	Absorbansi (Mean)	% Inhibisi	Persamaan Regresi	IC_{50} (ppm)
Tanpa Fermentasi	50	0,560	25,7	$y = 0,0047x + 21,4$	$106,4 \pm 10.44$
	100	0,548	27,2		
	200	0,540	28,3		
	300	0,532	29,4		
	400	0,525	30,3		
Hari ke-9	50	0,555	26,3	$y = 0,0079x + 22,9$	$67,99 \pm 8.05$
	100	0,540	28,3		
	200	0,530	29,6		
	300	0,520	30,9		
	400	0,508	32,6		
Hari ke-12	50	0,545	27,7	$y = 0,0124x + 24,8$	$49,91 \pm 6.15$
	100	0,530	29,6		
	200	0,518	31,2		
	300	0,510	32,3		
	400	0,498	33,9		
Hari ke-14	50	0,541	28,0	$y = 0,0146x + 25,0$	$40,18 \pm 5.24$
	100	0,528	29,6		
	200	0,513	31,9		
	300	0,503	33,2		
	400	0,490	34,9		
Vitamin C	50	0,420	44,2	$y = 0,0712x + 41,5$	$9,16 \pm 0.90$
	200	0,330	56,2		
	300	0,295	60,8		
	400	0,260	65,5		
	500	0,220	70,8		

Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa fermentasi meningkatkan kemampuan teh kombucha daun alpukat dalam mereduksi radikal ABTS. Nilai IC_{50} tanpa fermentasi sebesar 106,40 ppm, menurun menjadi 67,99 ppm pada fermentasi hari ke-9, 49,91 ppm pada hari ke-12, dan 40,18 ppm pada hari ke-14. Penurunan IC_{50} ini menandakan peningkatan aktivitas antioksidan seiring proses fermentasi.

Vitamin C, sebagai kontrol positif, menunjukkan IC_{50} jauh lebih rendah yaitu 9,16 ppm, sesuai karakteristiknya sebagai antioksidan kuat. Tren kenaikan persen inhibisi yang konsisten pada semua perlakuan mendukung hasil ini, menunjukkan bahwa variasi fermentasi memengaruhi secara signifikan kapasitas antioksidan teh kombucha daun alpukat.

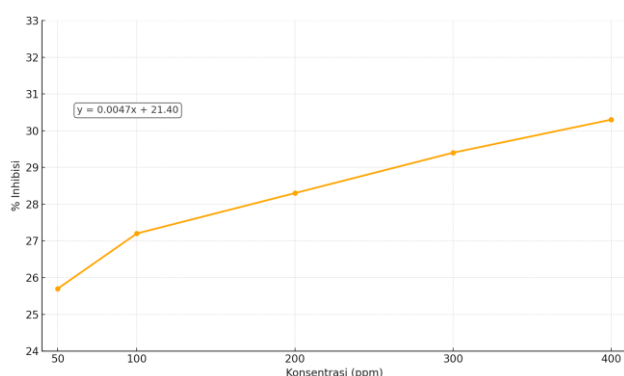
Peningkatan aktivitas antioksidan selama fermentasi berkaitan erat dengan perubahan biokimia dalam SCOBY. Ragi terlebih dahulu memecah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa, yang selanjutnya difermentasi menjadi etanol. Bakteri asam asetat mengoksidasi etanol dan glukosa menjadi berbagai asam organik, termasuk asam asetat, glukonat, dan glukuronat. Pembentukan asam organik ini menyebabkan penurunan pH, sebagaimana terlihat pada Tabel pH, dan berkontribusi langsung terhadap peningkatan aktivitas antioksidan karena asam organik memiliki sifat reduktif.

Selain itu, fermentasi memicu biotransformasi polifenol kompleks menjadi aglikon flavonoid yang lebih aktif secara antioksidan. Enzim seperti β -glukosidase membantu memecah senyawa fenolik berukuran besar, meningkatkan ketersediaan donor elektron untuk menetralkan radikal ABTS. Oleh karena itu, fermentasi hari ke-12 dan hari ke-14 memperlihatkan IC_{50} yang lebih rendah, sejalan dengan meningkatnya aktivitas mikroba dan produksi metabolit bioaktif.

Penentuan IC_{50} dilakukan melalui serangkaian analisis data. Tahap awal melibatkan penyusunan kurva hubungan antara konsentrasi sampel dan persentase penghambatan radikal bebas. Kurva ini dibuat untuk seluruh perlakuan, yaitu teh daun alpukat tanpa fermentasi, kombucha daun alpukat hasil fermentasi hari ke-9, hari ke-12, hari ke-14, serta vitamin C yang digunakan sebagai standar kontrol positif.

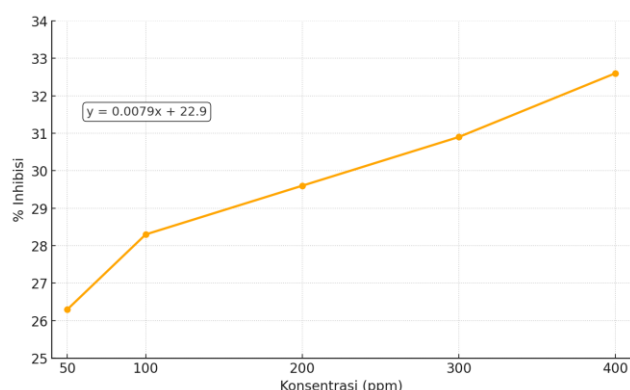
Data persen inhibisi tersebut kemudian dimasukkan ke dalam persamaan regresi linier. Pada grafik, konsentrasi sampel diposisikan sebagai sumbu X, sedangkan nilai persen inhibisi ditempatkan pada sumbu Y. Dari persamaan regresi yang dihasilkan, nilai konsentrasi yang bersesuaian dengan 50% inhibisi ditentukan sebagai nilai IC_{50} .

Nilai IC_{50} digunakan sebagai indikator kekuatan antioksidan. Semakin kecil angka IC_{50} yang diperoleh, semakin besar kemampuan sampel dalam menetralkan radikal bebas, karena hanya dibutuhkan konsentrasi yang rendah untuk mencapai efek penghambatan sebesar 50% [21]. Semakin kecil nilai IC_{50} , semakin tinggi aktivitas antioksidan suatu sampel, karena konsentrasi yang diperlukan untuk meredam 50% radikal bebas semakin rendah.



Gambar 1. Grafik Hubungan Aktivitas Antioksidan Dan Konsentrasi Sampel Teh Kombucha Daun Alpukat Tanpa Fermentasi

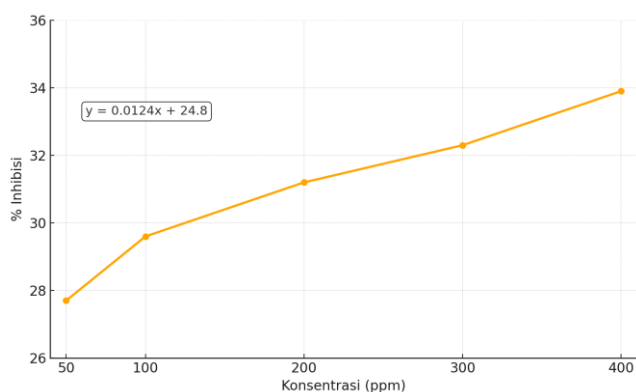
Gambar 1 menggambarkan hubungan antara aktivitas antioksidan dan konsentrasi, yang menghasilkan persamaan regresi linear yaitu $y = 0,0047x + 21,40$ dengan nilai $R^2 = 0,9876$. Berdasarkan persamaan tersebut diperoleh nilai IC_{50} sebesar 106,40 ppm. Mengacu pada literatur, nilai IC_{50} antara 100–150 ppm dikategorikan sebagai aktivitas antioksidan sedang.



Gambar 2. Grafik Hubungan Aktivitas Antioksidan Dan Konsentrasi Sampel Teh Kombucha Daun Alpukat Yang Di Fermentasikan Selama 9 Hari.

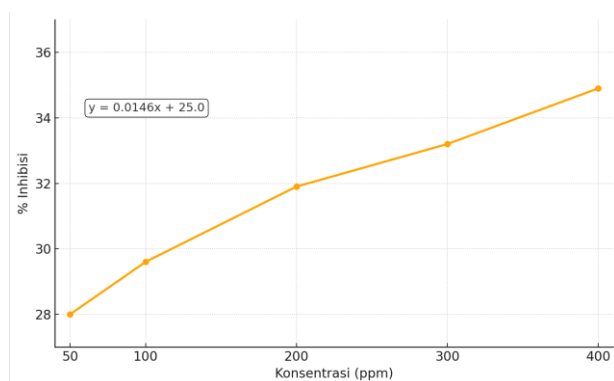
Gambar 2 menggambarkan hubungan antara aktivitas antioksidan dan konsentrasi pada fermentasi hari ke-9, yang menghasilkan persamaan regresi linear $y = 0,0079x + 22,90$ dengan nilai $R^2 = 0,9912$.

Berdasarkan persamaan tersebut diperoleh nilai IC_{50} sebesar 67,99 ppm. Menurut literatur, nilai $IC_{50} < 100$ ppm menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan berada dalam kategori kuat.



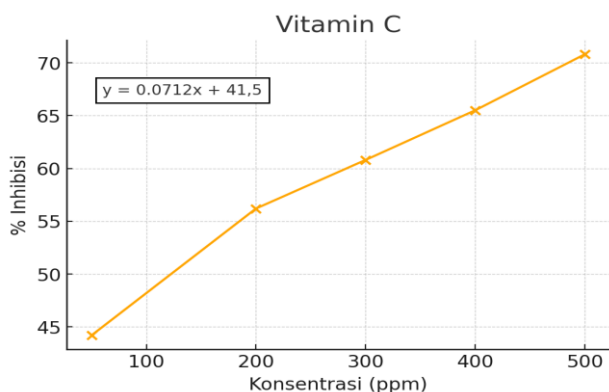
Gambar 3. Grafik Hubungan Aktivitas Antioksidan Dan Konsentrasi Sampel Teh Kombucha Daun Alpukat Yang Di Fermentasikan Selama 12 Hari.

Gambar 4 menggambarkan hubungan antara aktivitas antioksidan dan konsentrasi yang memberikan nilai persamaan regresi linear yaitu $y = 0.0124x + 24.80$ dengan nilai $R^2 = 0,999$ sehingga diperoleh nilai IC_{50} sebesar 49,76 ppm. Berdasarkan literatur, nilai $IC_{50} < 100$ ppm menunjukkan aktivitas antioksidan yang tergolong sangat kuat.



Gambar 4. Grafik Hubungan Aktivitas Antioksidan Dan Konsentrasi Sampel Teh Kombucha Daun Alpukat Yang Di Fermentasikan Selama 14 Hari.

Gambar 4 menggambarkan hubungan antara aktivitas antioksidan dan konsentrasi yang memberikan nilai persamaan regresi linear yaitu $y = 0.0146x + 25.0$ dengan nilai $R^2 = 0,999$ sehingga diperoleh nilai IC_{50} sebesar 40,18 ppm. Berdasarkan literatur, nilai $IC_{50} < 50$ ppm menunjukkan aktivitas antioksidan yang tergolong sangat kuat.



Gambar 5. Grafik Hubungan Aktivitas Antioksidan Dan Konsentrasi Vitamin C Sebagai Pembanding.

Gambar 5 menggambarkan hubungan antara aktivitas antioksidan dan konsentrasi vitamin C yang menghasilkan persamaan regresi linear $y = 0.0712x + 41.5$ dengan nilai $R^2 = 0.972$, serta nilai IC_{50} sebesar 9,16 ppm. Berdasarkan literatur, nilai $IC_{50} < 50$ ppm menunjukkan aktivitas antioksidan sangat kuat, sehingga vitamin C berfungsi sebagai kontrol positif yang memiliki kemampuan penangkal radikal bebas yang sangat tinggi.

Selain menentukan persamaan regresi linear, perhitungan juga menghasilkan nilai koefisien determinasi (R^2) yang digunakan untuk melihat tingkat linearitas antara konsentrasi dan aktivitas antioksidan. Nilai R^2 yang mendekati 1 menunjukkan hubungan linear yang sangat kuat. Pada penelitian ini, nilai R^2 pada seluruh perlakuan—baik tanpa fermentasi, fermentasi hari ke-9, hari ke-12, hari ke-14, maupun vitamin C berada pada kisaran 0,96–0,99, yang menunjukkan bahwa data memiliki akurasi dan konsistensi yang sangat baik.

Berdasarkan hasil IC_{50} , fermentasi hari ke-14 menunjukkan aktivitas antioksidan paling kuat dibandingkan fermentasi hari ke-9 dan hari ke-12. Semakin kecil nilai IC_{50} , semakin tinggi kemampuan sampel dalam meredam radikal bebas. Sampel dengan nilai $IC_{50} < 50$ ppm dikategorikan sebagai sangat kuat, sedangkan nilai 50–100 ppm dikategorikan sebagai kuat. Peningkatan aktivitas antioksidan antar lama fermentasi disebabkan oleh proses biokimia yang terjadi selama fermentasi. Mikroorganisme dalam SCOBY menghasilkan berbagai senyawa bioaktif seperti vitamin, asam-asam organik, dan metabolit sekunder lainnya. Pada fermentasi hari ke-14, produksi senyawa bioaktif mencapai kondisi optimal sehingga meningkatkan aktivitas antioksidan. Selama proses fermentasi, terjadi pula biokonversi polifenol kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana seperti flavonoid aglikon, yang lebih aktif dalam mendonorkan atom hidrogen atau elektron untuk menetralkan radikal bebas.

Vitamin C yang digunakan sebagai pembanding memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi. Meskipun bukan termasuk polifenol, vitamin C merupakan antioksidan hidrofilik yang sangat kuat karena mampu dengan mudah mendonorkan elektron untuk menstabilkan radikal bebas. Hal ini menjelaskan mengapa nilai persen inhibisi dan IC_{50} vitamin C jauh lebih baik dibandingkan seluruh sampel kombucha daun alpukat pada berbagai waktu fermentasi.

Secara keseluruhan, nilai IC_{50} pada teh daun alpukat tanpa fermentasi adalah 106,40 ppm (kategori sedang). Setelah difermentasi selama 9 hari, nilainya turun menjadi 67,99 ppm (kategori kuat), kemudian menjadi 49,91 ppm pada fermentasi hari ke-12 (kuat mendekati sangat kuat), dan mencapai nilai terendah yaitu 40,18 ppm pada hari ke-14 (kategori sangat kuat). Temuan ini menunjukkan bahwa fermentasi berperan signifikan dalam meningkatkan kemampuan antioksidan kombucha daun alpukat.

Peningkatan ini sejalan dengan proses metabolisme mikroorganisme, khususnya ragi yang memfermentasi sukrosa menjadi etanol, dan bakteri *Acetobacter* yang mengoksidasi etanol atau glukosa menjadi asam glukonat serta berbagai senyawa bioaktif lainnya yang berperan dalam aktivitas antioksidasi.

Temuan ini sejalan dengan laporan Rindiani dan Suryani (2023), yang menjelaskan bahwa kultur kombucha merupakan simbiosis antara ragi dan bakteri. Ragi berfungsi memecah gula menjadi alkohol, sedangkan bakteri mengkonversi alkohol tersebut menjadi beragam senyawa bioaktif, seperti asam organik, vitamin, dan enzim, yang berperan dalam aktivitas antioksidan [22].

Faktor lain yang mempengaruhi aktivitas antioksidan kombucha daun alpukat adalah kandungan antioksidan di dalam daun alpukat. Menurut penelitian Suwardi et al (2024) menyatakan bahwa aktivitas antioksidan daun alpukat adalah 101,504 ppm yang dimana antioksidannya tergolong sedang. Daun alpukat memiliki 120 zat bioaktif yang terkandung yaitu flavonoid, terpenoid, saponin, tannin, kumarin, minyak atsiri, asam organik polifenol, dan lain-lain. Senyawa-senyawa ini memiliki efektivitas sangat anti kanker, anti trombotik, antioksidan, antihipertensi, hipoglikemik, hipolipidemik, anti depresi, neuroprotektif, dan lainnya [23]. Hasil penelitian menunjukkan perbandingan yang jelas antara aktivitas antioksidan vitamin C sebagai kontrol positif dengan sampel kombucha daun alpukat pada berbagai waktu fermentasi, yaitu tanpa fermentasi, hari ke-9, hari ke-12, dan hari ke-14. Evaluasi dilakukan berdasarkan persen inhibisi atau kemampuan masing-masing sampel dalam menghambat radikal bebas.

Berdasarkan data yang diperoleh, vitamin C memiliki persen inhibisi yang paling tinggi dibandingkan dengan seluruh sampel kombucha. Hal ini disebabkan vitamin C (asam askorbat) merupakan senyawa antioksidan alami yang termasuk dalam golongan polifenol dan memiliki aktivitas penangkap radikal bebas yang sangat kuat. Struktur kimianya mengandung gugus hidroksil (-OH) yang dapat dengan mudah mendonorkan atom hidrogen kepada radikal bebas, sehingga radikal tersebut menjadi lebih stabil dan tidak bersifat reaktif [24–28]. Kemampuan vitamin C yang lebih tinggi dibandingkan kombucha pada berbagai lama fermentasi menunjukkan bahwa semakin banyak gugus fenolik atau flavonoid yang tersedia untuk

mendonasikan elektronnya, semakin kuat pula aktivitas antioksidannya. Dengan demikian, meskipun fermentasi meningkatkan aktivitas antioksidan kombucha, vitamin C tetap menunjukkan potensi antioksidan yang paling dominan di antara semua sampel yang diuji [29] [30].

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa kombucha daun alpukat (*Persea americana* Mill) layak dijadikan sebagai teh herbal sesuai standar SNI 7632:2011, dengan menunjukkan peningkatan aktivitas antioksidan selama proses fermentasi. Lama fermentasi berpengaruh terhadap tingkat aktivitas antioksidan, di mana pada hari ke-9 tercatat sebesar 67,99 ppm (kuat), hari ke-12 sebesar 49,91 ppm (sangat kuat), dan hari ke-14 sebesar 40,18 ppm (sangat kuat), menunjukkan efektivitas fermentasi dalam menghasilkan minuman fungsional yang kaya antioksidan.

Pernyataan Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan bahwa tidak ada konflik kepentingan yang terkait dengan publikasi artikel penelitian ini.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Sriwijaya dan Institut Kesehatan Helvetia atas penyediaan fasilitas penelitian dan dukungan laboratorium dalam penelitian mandiri ini.

Referensi

- [1] Elfariyanti, Zarwinda I, Hardiana, Dewi Safrida Y. Sosialisasi dan Pelatihan Pembuatan Minuman Herbal Dari Rempah Bumbu Dapur di Desa Naga Uambang Aceh Besar. E-Proceeding 2 Nd SENRIABDI 2022 2022;2:17–23.
- [2] Priyono, Riswanto D. Studi Kritis Minuman Teh Kombucha: Manfaat Bagi Kesehatan, Kadar Alkohol Dan Sertifikasi Halal 2021;15:181–2.
- [3] Dwi Rantisari AM, Sulfiani S, Rosmayanti V, Saleh A. Pemanfaatan teh kombucha untuk kesehatan dan kecantikan kulit pada masyarakat di Kabupaten Maros. Indonesia Berdaya 2023;4:1277–86. <https://doi.org/10.47679/ib.2023553>.
- [4] Nintiasari J, Ramadhani MA. Uji Kuantitatif flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Teh Kombucha Daun Kersen (*Muntingia calabura*). Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product 2022;5:174–83. <https://doi.org/10.35473/ijpnp.v5i2.1887>.
- [5] Setyowati R. Aktivitas Antioksidan Teh Herbal Kombinasi Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.), Daun Teh (*Camelia sinensis*) dan Bunga Melati (*Jasminum sambac* L.) dengan Metode DPPH 2022;9:132–47.
- [6] Anggorowati D, Priandini G, Thufail. Potensi daun alpukat (*persea americana miller*) sebagai minuman teh herbal yang kaya antioksidan. Industri Inovatif 2016;6:1–7.
- [7] Tri A, Pratita K, Aisy NR, Wardani A, Fathurohman M. Isolasi dan Aktivitas Antioksidan dengan Menggunakan Metode ABTS (2,2 Azinobis (3-Ethylbenzotiazolin) 6 Sulfonat) Senyawa Superoksida Dismutase pada Mikroalga *Chlorrela vulgaris*. Prosiding Seminar Nasional Diseminasi 2022;2:177–84.
- [8] Anggun D, Gunarti NS, Fikayuniar L. Perbedaan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Alpukat (*Persea Americanae* Mill.) Berdasarkan Perbedaan Ketinggian Tempat Tumbuh. Pharma Xplore: Jurnal Sains Dan Ilmu Farmasi 2022;7:1–12.
- [9] Artati A, Widarti W, Hasan ZA, Askar M. Aktivitas Antioksidan Dari Tiga Fraksi Pelarut Ekstrak Daun Dandang Gendis (EDDG). Jurnal Media Analisis Kesehatan 2024;15:132–9.
- [10] Ferdian A, Arifa N, Bakhtiar A. Pelatihan Identifikasi Cepat Fitokimia pada Mahasiswa STIFI BP Palembang. ABDIKAN: Jurnal Pengabdian Masyarakat Bidang Sains Dan Teknologi 2023;2:495–500.

- [11] Roviati E. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder (Alkaloid, Flavonoid, Terpenoid/Steroid, Fenolik Dan Saponin) Dari Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga* Linn.), Rimpang Kunyit Putih (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe) Dan Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni* L n.d).
- [12] Narsa AC, Salman AA, Prabowo WC. Identifikasi Metabolit Sekunder dan Profil Farmakognosi Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L) Sebagai Bahan Baku Farmasi Terbaru. Jurnal Sains Dan Kesehatan 2022;4:645–53. <https://doi.org/10.25026/jsk.v4i6.1551>.
- [13] Kolompoy EE, Singkoh M, Tangapo AM. Aktivitas Antioksidan Kombucha Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & LM Perry) dan Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). Jurnal Ilmu Alam Dan Lingkungan 2024;15.
- [14] Pawestriningtyas HK. Pengaruh lama fermentasi terhadap karakteristik kimia dan aktivitas antioksidan kombucha daun pandan (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) 2024.
- [15] KHUSFATUN N. Uji Antibakteri Kombucha Daun Sirsak (*Annona Muricata* L.) Terhadap Bakteri *Propionibacterium Acnes* 2022.
- [16] Widyasari A, Asngad A. Aktivitas Antioksidan dan Organoleptik Kombucha Daun Kelor Dengan Lama Fermentasi Dan Konsentrasi Daun Kelor Yang Berbeda 2016.
- [17] Theafelicia Z, Narsito Wulan S. Perbandingan Berbagai Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan (DPPH, ABTS Dan FRAP) Pada Teh Hitam (*Camellia sinensis*). Jurnal Teknologi Pertanian 2023;24:35–44. <https://doi.org/10.21776/ub.jtp.2023.024.01.4>.
- [18] Molyneux P. The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. Songklanakarin Journal of Science and Technology 2004;26:211–9. <https://doi.org/10.1287/isre.6.2.144>.
- [19] Devahimer Harsep Rosi DHR, Afriani T, Alysa Putri H. Uji Aktivitas Antioksidan Lotion Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya* L.). SITAWA : Jurnal Farmasi Sains Dan Obat Tradisional 2023;2:180–93. <https://doi.org/10.62018/sitawa.v2i2.66>.
- [20] Wahyuningtyas F, Arifin I, Anwar K. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Sukun (*Artocarpus altilis* (Park .) Fosberg) Serta Penentuan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total 2025;25:1–12.
- [21] Karundeng G, Simbala HEI, Jayanto I. Identifikasi Fitokimia, Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode 1.1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), dan Toksisitas Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) dari Ekstrak Etanol Tangkai Buah Pinang Yaki (*Areca vestiaria* Giseke). Pharmacon 2020;8:619. <https://doi.org/10.35799/pha.8.2019.29385>.
- [22] Rindiani SD. Aktivitas Antioksidan dan Kualitas Organoleptik Kombucha Daun Ciplukan Pada Variasi Jenis Gula dan Lama Permentasi 2023;6:516–30.
- [23] Hastuti R, Endah SRN, Nofriyaldi A. Formulasi Dan Uji Stabilitas Fisik Sediaan Gel Ekstrak Daun Alpukat (*Persea americana*. Mill). Pharmacoscript 2020;3:150–61. <https://doi.org/10.36423/pharmacoscript.v3i2.390>.
- [24] Adawiah A, Sukandar D, Muawanah A. Aktivitas antioksidan dan kandungan komponen bioaktif sari buah namnam. Jurnal Kimia VALENSI 2015;1:130–6.
- [25] Ingrid HM, Santoso H. Ekstraksi antioksidan dan senyawa aktif dari buah kiwi (*Actinidia deliciosa*). Research Report-Engineering Science 2014;2.
- [26] Rahman AP. Pengaruh Penambahan Vitamin C Terhadap Kadar (-)-Epigallocatechin Gallate (EGCG) dan Aktivitas Antioksidan Pada Seduhan Teh Hijau 2020.
- [27] Yuslianti ER. Pengantar radikal bebas dan antioksidan. Deepublish; 2018.
- [28] Ingrid M, Santoso H. Aktivitas antioksidan dan senyawa bioaktif dalam buah stroberi. Research Report-Engineering Science 2015;2.
- [29] Ramadhana AS. Pengaruh lama fermentasi terhadap karakteristik kimia dan aktivitas antioksidan pada kombucha daun lampes (*Ocimum sanctum* L.) 2024.
- [30] Artati, Widarti, Hasan ZA, M.Askar. Aktivitas Antioksidan Dari Tiga Fraksi Pelarut Ekstrak Daun Dandang Gendis (EDDG). Jurnal Media Analisis Kesehatan 2021;12:56–65.