

Antioxidant Activity Test of Kelakai Leaf Kombucha (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd) Using The DPPH Method

Uji Aktivitas Antioksidan Kombucha Daun Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd) Dengan Metode DPPH

Muhammad Hidayatullah ^{a*}, Abdurrahman ^a, Lisa Andina ^a, Rini Astiati ^a, Rina ^a.

^aFaculty of Pharmacy, Borneo Lestari University, South Kalimantan, Indonesia.

*Corresponding Authors: m.hidayatullah@unbl.ac.id

Abstract

Degenerative diseases are often caused by exposure to free radicals, and antioxidants play an important role in maintaining body stability by counteracting them. Kelakai (*Stenochlaena palustris*), a typical plant of Kalimantan, contains bioactive compounds such as phenolics and flavonoids, making it a potential source of natural antioxidants. This study aims to determine the results of antioxidant activity tests on kelakai leaf kombucha. Kombucha was chosen because its antioxidant activity is influenced by the phenolic content formed during fermentation, potentially becoming an antioxidant-rich probiotic drink. The antioxidant activity test of kelakai leaf kombucha used the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method. The results of determining the maximum absorption wavelength of 0.1 mM DPPH were at 515 nm with the highest absorption of 0.602. The antioxidant activity test using quercetin as a comparison resulted in an IC₅₀ value of 3.0892 ppm. This quercetin IC₅₀ value is included in the very strong category (<50 ppm). Meanwhile, the antioxidant activity test on kelakai leaf kombucha yielded an IC₅₀ value of 0.5845 ppm. This value also indicates that kelakai leaf kombucha has very strong antioxidant activity. Increasing sample concentration is directly proportional to the increase in antioxidant activity, as indicated by a decrease in the absorption value. Therefore, the development of kelakai leaf kombucha and testing its antioxidant activity are expected to produce innovative functional food products.

Keywords: Antioxidants, Kombucha, Kelakai, DPPH, IC₅₀.

Abstrak

Penyakit degeneratif sering disebabkan oleh paparan radikal bebas, dan antioksidan berperan penting dalam menjaga kestabilan tubuh dengan menangkalnya. Kelakai (*Stenochlaena palustris*), tumbuhan khas Kalimantan, mengandung senyawa bioaktif seperti fenolik dan flavonoid, menjadikannya potensi sumber antioksidan alami. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil uji aktivitas antioksidan pada kombucha daun kelakai. Kombucha dipilih karena aktivitas antioksidannya dipengaruhi oleh kandungan fenolik yang terbentuk selama fermentasi, berpotensi menjadi minuman probiotik kaya antioksidan. Uji aktivitas antioksidan kombucha daun kelakai menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Hasil penentuan panjang gelombang serapan maksimum DPPH 0,1 mM adalah pada 515 nm dengan absorbansi tertinggi 0,602. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan kuersetin sebagai pembanding menghasilkan nilai IC₅₀ sebesar 3,0892 ppm. Nilai IC₅₀ kuersetin ini termasuk dalam kategori sangat kuat (<50 ppm). Sementara itu, uji aktivitas antioksidan pada kombucha daun kelakai menghasilkan nilai IC₅₀ sebesar 0,5845 ppm. Nilai ini juga mengindikasikan bahwa kombucha daun kelakai memiliki aktivitas antioksidan kategori sangat kuat. Peningkatan konsentrasi sampel berbanding lurus dengan peningkatan aktivitas antioksidan, yang ditunjukkan oleh penurunan nilai absorbansi. Dengan demikian, pengembangan kombucha daun kelakai dan pengujian aktivitas antioksidannya diharapkan mampu menghasilkan produk pangan fungsional inovatif.

Kata Kunci: Antioksidan, Kombucha, Kelakai, DPPH, 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 a [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: 04/09/2025,
Revised: 15/12/2025,
Accepted: 15/12/2025,
Available Online: 25/02/2026.

QR access this Article



<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v9i1.1256>

Pendahuluan

Penyakit degeneratif banyak terjadi akibat paparan radikal bebas yang bersifat reaktif dan dapat merusak molekul penting tubuh [1-2]. Ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan menyebabkan stres oksidatif yang dapat memicu kerusakan sel serta berbagai penyakit, sehingga peran antioksidan menjadi sangat penting dalam menjaga kestabilan tubuh [3].

Kelakai (*Stenochlaena palustris*) merupakan tumbuhan khas Kalimantan yang mengandung senyawa bioaktif seperti fenolik dan flavonoid, sehingga memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Penelitian menunjukkan bahwa daun kelakai memiliki nilai IC_{50} sangat rendah, menandakan potensinya sebagai sumber antioksidan alami [4-5].

Kombucha dipilih sebagai bentuk sediaan fungsional karena aktivitas antioksidannya dipengaruhi oleh kandungan fenolik yang terbentuk selama fermentasi, sehingga berpotensi menjadi minuman probiotik kaya antioksidan untuk membantu mencegah penyakit degeneratif [6].

Untuk menguji aktivitas antioksidan pada sediaan tersebut digunakan metode DPPH yang sederhana, cepat, sensitif, dan hanya memerlukan sampel kecil [7]. Dan pembanding digunakan kuersetin yang merupakan salah satu flavonoid alami yang dikenal memiliki aktivitas antioksidan kuat, yang berkaitan erat dengan struktur kimianya. Keberadaan gugus hidroksil (-OH) pada posisi 3', 4', 3, 5, dan 7 memungkinkan kuersetin mendonorkan atom hidrogen maupun elektron untuk menstabilkan radikal bebas [4].

Dengan demikian, pengembangan kombucha daun kelakai diharapkan dapat meningkatkan aktivitas antioksidan. Dan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH diharapkan mampu menunjukkan potensi produk ini sebagai pangan fungsional inovatif yang bermanfaat bagi kesehatan, sekaligus memperkaya data ilmiah mengenai kelakai sebagai sumber antioksidan alami.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan studi eksperimental yang bertujuan untuk mengetahui hasil uji dari aktivitas antioksidan pada kombucha daun kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd) dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) menggunakan pembanding kuersetin sebagai kontrol positif.

Materials and Apparatus

Simplisia daun kelakai, air mineral (Cleo®), bibit scoby serta stater kombucha (Borneo Kombucha®), asam sitrat (PT. Eralika Mitra Buana), Essence buah melon (PT. Eralika Mitra Buana), Gelatin (PT. Eralika Mitra Buana), stevia (PT. Eralika Mitra Buana), sukrosa (PT. Eralika Mitra Buana), DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) (Himedia®), kuersetin (Sigma®), dan etanol p.a (Smart Lab®), ayakan mesh 40, blender (miyako®), kompor listrik, alat-alat gelas (Pyrex®), kuvet, stopwatch, timbangan analitik (Ohaus®), mikropipet (Dragon Lab®), termometer, dan spektrofotometer UV-Vis (PG Instrument®).

Pembuatan Simplisia Daun Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd)

Daun kelakai terlebih dahulu dipilih dalam kondisi segar untuk memisahkan kotoran maupun bagian lain yang tidak diperlukan dari batang atau tumbuhan utamanya (disortasi basah). Selanjutnya, daun dicuci menggunakan air mengalir guna menghilangkan kotoran, getah, maupun kontaminan yang menempel di

permukaannya. Setelah tahap pencucian, daun yang telah bersih dirajang menjadi ukuran kecil dan kemudian dijemur agar kandungan air sisa pencucian dapat berkurang [8]. Proses pengeringan dilakukan dengan cara penjemuran di bawah sinar matahari langsung, namun tetap ditutup menggunakan kain hitam [9]. Setelah benar-benar kering, daun disortasi kering terlebih dahulu, kemudian sampel daun dihaluskan menggunakan blender, lalu disaring dengan ayakan mesh 40 [10]. Kemudian dihitung % rendemen simplisia dengan rumus berikut [11]:

$$\text{Rendemen Simplisia} = \frac{\text{Bobot sampel kering (gram)}}{\text{Bobot sampel basah (gram)}} \times 100\% \quad [11]$$

Pembuatan Kombucha Daun Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd)

Air dipanaskan pada suhu 70°C sebanyak 1000 mL. Setelah itu, disiapkan 15 gram simplisia daun kelakai untuk dimasukkan ke panci berisi air, Setelah 15 menit, ditambahkan 100 gram gula dan diaduk hingga seluruh gula benar-benar larut. Seduhan yang dihasilkan kemudian didinginkan sampai mencapai suhu 25°C. Setelah dingin, larutan daun kelakai disaring untuk memisahkan ampas, lalu hasil saringan dituangkan ke dalam toples kaca Selanjutnya, ditambahkan scoby 3% (b/v) dan starter kombucha sebanyak 10% (v/v). Kemudian difermentasi dalam suhu ruang selama 15 hari dalam wadah tertutup dan terhindar matahari [12] Setelah itu sampel larutan kombucha di saring menggunakan kertas filter untuk menjernihkan cairan.

Uji aktivitas antioksidan kombucha daun kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd)

Kuersetin digunakan sebagai kontrol positif dalam pengujian aktivitas antioksidan karena merupakan flavonoid alami dengan aktivitas antioksidan yang telah banyak digunakan sebagai standar pembanding pada metode DPPH. Pemilihan kuersetin sebagai kontrol positif didasarkan pada kesesuaian mekanisme kerjanya sebagai donor atom hidrogen maupun elektron terhadap radikal DPPH, sehingga memungkinkan perbandingan yang representatif dengan senyawa antioksidan yang terkandung dalam kombucha daun kelakai [4, 17, dan 18]

Rentang konsentrasi pada larutan kombucha daun kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd) didasarkan pada penelitian [12] dengan tujuan memastikan bahwa respon inhibisi yang dihasilkan mencakup nilai di bawah dan di atas 50%. Pendekatan ini dilakukan untuk memperoleh hubungan dose-response yang linear sehingga penentuan nilai IC₅₀ dapat dilakukan secara lebih akurat melalui analisis regresi linier.

Pembuatan larutan DPPH 0,1 mM

DPPH seberat 0,9858 mg dilarutkan menggunakan pelarut etanol p.a kedalam labu ukur 25 mL hingga tanda batas, kemudian di gojok hingga homogen dan larutan tersebut ditempatkan ke dalam botol gelap [13]

Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH

Larutan DPPH 0.1 mM sebanyak 1 mL dimasukkan kedalam vial, ditambahkan etanol p.a sebanyak 1 mL, digojok hingga homogen, diinkubasi dalam kondisi gelap selama 30 menit [14], lalu dituang ke dalam kuvet dan diukur pada panjang gelombang 400-800 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk menentukan panjang gelombang yang sesuai [15].

Pengujian Larutan Blanko DPPH 0,1 Mm

Larutan DPPH 0.1 mM sebanyak 1 ml dimasukkan kedalam vial, kemudian ditambahkan etanol p.a sebanyak 1 ml, digojok hingga homogen, diinkubasi dalam ruangan tertutup atau gelap selama 30 menit [14], larutan ini kemudian diukur dengan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang yang telah ditentukan [16].

Pembuatan dan Pengujian Larutan Pembanding Kuersetin

Kuersetin sebanyak 25 mg ditimbang dengan timbangan analitik, kemudian dilarutkan ke dalam etanol p.a serta dicukupkan pada labu ukur 25 mL sesuai tanda batas, hingga dihasilkan konsentrasi larutan baku kuersetin 1000 ppm [17]. Kuersetin yang dibuat dengan konsentrasi 1000 ppm, kemudian di encerkan lagi hingga 100 ppm. Dari larutan kuersetin 100 ppm tersebut, dibuat beberapa variasi konsentrasi yang telah dioptimasi, yaitu 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, dan 5 ppm sebanyak 10 mL [18].

Larutan kuersetin diukur absorbansinya, sebanyak 1 mL larutan kuersetin dimasukkan ke dalam vial gelap. Kemudian masing-masing vial ditambahkan 1 mL larutan etanol p.a dan 1 mL larutan DPPH. Lalu,

dihomogenkan dan diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit. Lalu, diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis [18].

Pembuatan dan Pengujian Konsentrasi Larutan Uji Kombucha Daun Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd)

Sampel kombucha daun kelakai yang telah terfilter dan jernih, diambil masing-masing dengan volume 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; dan 1 mL menggunakan mikro pipet, lalu diencerkan dengan etanol p.a. di dalam labu ukur 10 mL hingga mencapai tanda batas. Dari pengenceran tersebut diperoleh lima konsentrasi yaitu 300 ppm, 600 ppm, 800 ppm, 1.200 ppm dan 1.500 ppm. Selanjutnya dari setiap konsentrasi diambil 1 mL larutan kombucha daun kelakai, kemudian dimasukkan ke dalam vial dan ditambahkan 1 mL larutan DPPH 0,1 mM [12]. Absorbansi diukur spektrofotometer menggunakan UV-Vis pada panjang gelombang yang telah ditentukan sebelumnya [19]

Analisis Data

Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH parameter utama yang digunakan untuk menginterpretasikan antioksidan suatu senyawa adalah dengan nilai IC_{50} . Semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas peredaman radikal bebas semakin tinggi. Aktivitas penangkal radikal dinyatakan sebagai persen inhibisi yang dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut [20]:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\% \quad [20]$$

Persentase inhibisi yang diperoleh pada masing-masing konsentrasi dianalisis secara statistik untuk mengetahui pengaruh peningkatan konsentrasi terhadap aktivitas antioksidan. Sebelum dilakukan analisis statistik, data diuji normalitasnya menggunakan uji Shapiro-Wilk dan homogenitas varians dan analisis varians satu arah (One-Way ANOVA) menggunakan SPSS dengan $\alpha = 0,05$. Jika hasil ANOVA signifikan, uji lanjut Tukey HSD dilakukan untuk membandingkan kelompok konsentrasi.

Penentuan nilai IC_{50} dilakukan melalui analisis regresi linier antara konsentrasi sampel (x) dan persentase inhibisi (y), sehingga diperoleh persamaan regresi:

$$y = bx + a$$

Penentuan Nilai IC_{50} (Inhibitory Concentration) dari % peredaman yang diperoleh. IC_{50} yaitu konsentrasi yang mampu menghambat 50% radikal bebas. Nilai IC_{50} ditentukan dengan rumus [14]:

$$IC_{50} = \frac{(50-a)}{b} \quad [14]$$

Keterangan :

a: nilai x pada kurva linear

b: nilai y pada kurva linear

Nilai IC_{50} selanjutnya disajikan sebagai nilai estimasi beserta 95% confidence interval untuk membandingkan potensi antioksidan sampel dan pembanding menggunakan perangkat lunak *graphpad*

Hasil Dan Pembahasan

Hasil Rendemen Simplisia Daun Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd)

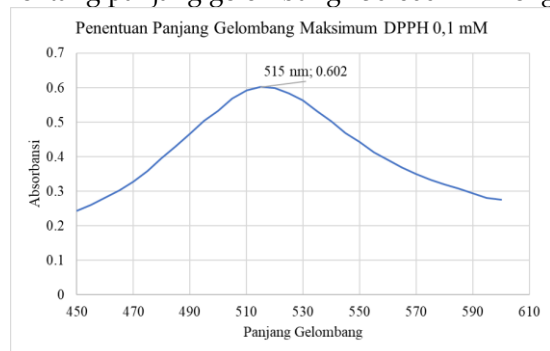
Sampel daun kelakai yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh sebanyak 6.425 gram setelah dilakukan sortasi basah. Selanjutnya, sampel dikeringkan di bawah sinar matahari dengan penutup kain hitam untuk menghindari paparan cahaya langsung. Setelah proses pengeringan selesai, diperoleh simplisia daun kelakai dengan berat 466 gram. Simplisia tersebut kemudian dihaluskan dan diayak menggunakan ayakan mesh 40 hingga diperoleh serbuk simplisia daun kelakai dengan berat total sebesar 402,058 gram. Berdasarkan hasil perhitungan, rendemen simplisia yang diperoleh adalah sebesar 7,252%, yang menunjukkan perbandingan antara berat simplisia kering terhadap berat bahan segar awal.

Tabel 1. Rendemen Daun Kelakai

No	Jenis Bahan	Berat Basah	Berat Kering	% Rendemen
1.	Daun kelakai segar	6.425 gram	466 gram	7.252 %

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH 0,1 mM

Larutan DPPH 0,1 mM digunakan sebagai blanko dalam penelitian ini, Absorbansi diukur pada rentang panjang gelombang 450-600 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis [18].



Gambar 1. Kurva panjang gelombang maksimum DPPH

Penentuan panjang gelombang maksimum (λ maksimum) dari larutan DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dilakukan dengan mengukur serapan larutan DPPH 0,1 mM dengan pada panjang gelombang antara 450 nm hingga 600 nm menggunakan instrumen analisa berupa Spektrofotometer UV-Vis. Berdasarkan hasil pengukuran yang diperoleh diketahui bahwa panjang gelombang maksimum DPPH 0,1 mM adalah pada panjang gelombang 515 nm dan absorbansi tertinggi 0,602 dengan waktu inkubasi 30 menit pada suhu kamar ditempat yang gelap [18]. Sehingga pada pengujian aktivitas antioksidan kombucha daun kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd) ini dilakukan pada panjang gelombang 515 nm.

Pengujian Aktivitas Antioksidan Larutan Pembanding Kuersetin

Uji aktivitas antioksidan terhadap senyawa pembanding kuersetin dengan metode DPPH menghasilkan data kuantitatif yang dinyatakan sebagai nilai IC_{50} . Nilai tersebut diperoleh melalui analisis regresi linier yang menggambarkan hubungan antara konsentrasi kuersetin dan persentase penghambatan radikal bebas. Data hasil pengujian aktivitas antioksidan disajikan pada tabel berikut.

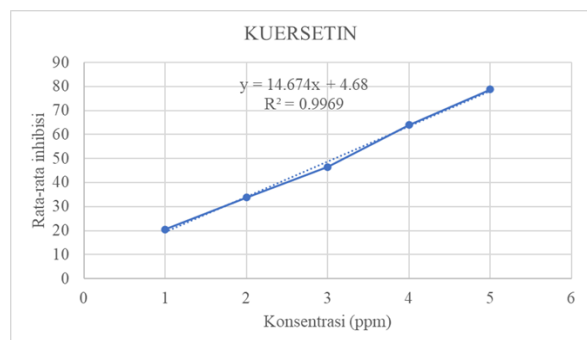
Tabel 2. Data hasil pengujian aktivitas antioksidan kuersetin

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi Blanko	Absorbansi sampel	% Inhibisi	Rata-rata Inhibisi $\pm$ SD	IC_{50} (ppm)
1	0.537	0.436	18.99441341	20.48417132 $\pm$ 1.48	3.089297887 (Sangat Kuat)
	0.537	0.419	21.97392924		
	0.537	0.427	20.48417132		
2	0.537	0.354	34.07821229	33.76784606 $\pm$ 0.28	
	0.537	0.356	33.70577281		
	0.537	0.357	33.51955307		
3	0.537	0.286	46.74115456	46.55493482 $\pm$ 0.18	
	0.537	0.288	46.36871508		
	0.537	0.287	46.55493482		
4	0.537	0.195	63.68715084	63.93544382 $\pm$ 2.24	
	0.537	0.205	61.82495345		
	0.537	0.181	66.29422719		
5	0.537	0.115	78.58472998	78.77094972 $\pm$ 0.49	
	0.537	0.111	79.32960894		
	0.537	0.116	78.39851024		

Senyawa yang digunakan sebagai standar pada pengujian aktivitas antioksidan kombucha daun kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd) adalah kuersetin, karena kuersetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang memiliki gugus keto pada atom C-4 dan juga gugus hidroksil pada atom C-3 dan C-5 yang bertetangga [21]. Pada pengujian ini didapatkan nilai IC_{50} dari senyawa pembanding kuersetin sebesar 3.0892 ppm (tabel 1.1) hasil tersebut menyatakan bahwa nilai antioksidan dari kuersetin dimana <50 ppm termasuk kategori sangat kuat [22].

Berdasarkan uji normalitas Shapiro-Wilk, data antara konsentrasi vs %inhibisi menunjukkan nilai signifikansi (Sig.) $P > 0.05$, yang mengindikasikan bahwa data berdistribusi normal. Selanjutnya, hasil uji One-

Way ANOVA, Diketahui pada uji homogenitas varian nilai (sig.) based on mean >0.05 hal ini menunjukkan varians data homogen, untuk uji anova menunjukkan bahwa variasi konsentrasi kuersetin berpengaruh sangat signifikan terhadap nilai persen inhibisi ($F = 1063,375$; $p < 0,001$). Peningkatan persen inhibisi yang signifikan seiring dengan bertambahnya konsentrasi kuersetin menunjukkan adanya hubungan dose-dependent response (respon bergantung dosis).



Gambar 2. Kurva hubungan antara konsentrasi dan rata-rata inhibisi

Kuersetin memiliki gugus hidroksil (-OH) yang terletak pada posisi 3', 4', 3, 5, dan 7. Gugus hidroksil tersebut berperan penting dalam aktivitas antioksidan karena mampu menstabilkan radikal bebas melalui mekanisme transfer atom hidrogen maupun transfer elektron. Kehadiran gugus -OH inilah yang membuat kuersetin memiliki aktivitas yang sangat kuat dalam menangkal radikal bebas [4].

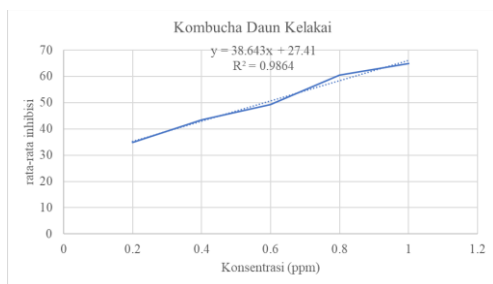
Hasil analisis menggunakan regresi nonlinier menunjukkan bahwa nilai IC_{50} Kuersetin sebesar 2,987 dengan interval kepercayaan 95% sebesar 2.789–3.182. Rentang interval kepercayaan yang relatif sempit menunjukkan bahwa estimasi nilai IC_{50} memiliki tingkat presisi yang baik. Hal ini didukung oleh nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,9665, yang mengindikasikan adanya hubungan dosis–respon yang kuat antara konsentrasi sampel dan persen inhibisi radikal DPPH. Sehingga pada pengujian sampel pembanding kuersetin termasuk kategori antioksidan sangat kuat karena nilai $IC_{50} < 50$ ppm [22].

Pengujian aktivitas antioksidan kombucha daun kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd)

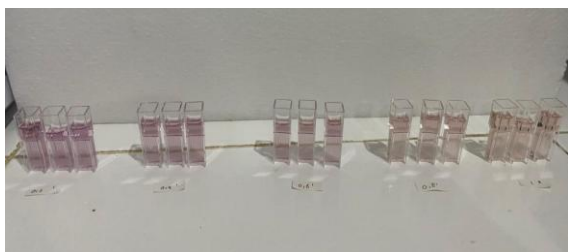
Aktivitas antioksidan kombucha daun kelakai diuji menggunakan metode DPPH, dengan nilai IC_{50} sebagai parameter kuantitatif yang menunjukkan konsentrasi sampel yang mampu menghambat 50% radikal bebas. Nilai IC_{50} tersebut diperoleh melalui analisis regresi linier yang memodelkan hubungan antara variasi konsentrasi sampel dan persentase penghambatan radikal bebas. Data hasil uji aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Tabel berikut.

Tabel 3. Data hasil pengujian aktivitas antioksidan kombucha daun kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd).

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi Blanko	Absorbansi sampel	% Inhibisi	Rata-rata Inhibisi ± SD	IC_{50} (ppm)
0.2	0.565	0.363	35.75221239	34.80825959 ± 0.83	0.5845819423957767 (Sangat Kuat)
	0.565	0.372	34.15929204		
	0.565	0.370	34.51327434		
0.4	0.565	0.302	46.54867257	43.42182891 ± 2.7	
	0.565	0.328	41.94690265		
	0.565	0.329	41.7699115		
0.6	0.565	0.281	50.26548673	49.32153392 ± 0.81	
	0.565	0.289	48.84955752		
	0.565	0.289	48.84955752		
0.8	0.565	0.222	60.7079646	60.53097345 ± 0.63	
	0.565	0.227	59.82300885		
	0.565	0.220	61.0619469		
1	0.565	0.186	67.07964602	64.89675516 ± 1.89	
	0.565	0.205	63.71681416		
	0.565	0.204	63.89380531		



Gambar 3. Kurva hubungan antara konsentrasi dan rata-rata inhibisi



Gambar 4. Hasil pengujian aktivitas antioksidan Kombucha Daun Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd)

Tabel 4. Nilai IC₅₀ kuersetin (kontrol positif) VS Kombucha Daun Kelakai Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd)

Sampel	Nilai IC ₅₀	Kategori antioksidan
Kuersetin (Kontrol Positif)	2.789–3.182	Sangat Kuat
Kombucha Daun Kelakai	0.5052 to 0.6014	Sangat Kuat

Berdasarkan penelitian [23] hasil skrining fitokimia menunjukkan hasil bahwa sampel daun kelakai mengandung senyawa aktif yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin sebagai penangkal anti radikal bebas. Selama proses fermentasi, kombucha mengalami pembentukan berbagai senyawa bioaktif seperti polifenol, asam organik (misalnya asam asetat dan asam glukuronat), vitamin, asam folat, asam amino esensial, senyawa antimikroba, serta enzim. Aktivitas SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast) dalam proses ini berperan penting dalam meningkatkan kandungan senyawa tersebut, yang pada akhirnya turut meningkatkan aktivitas antioksidan, total fenol, dan total asam pada minuman kombucha [24]. Menurut penelitian [25], aktivitas antioksidan pada kombucha dipengaruhi oleh konsentrasi komponen fenolik yang terkandung dalam kombucha tersebut. Konsentrasi fenolik yang tinggi berhubungan dengan aktivitas antioksidan yang kuat. Waktu fermentasi pada penelitian ini ditetapkan selama 15 hari. Dengan menggunakan bantuan SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast), yaitu konsorsium mikroorganisme yang terdiri atas bakteri dan khamir. Aktivitas metabolik SCOBY selama proses fermentasi berperan dalam meningkatkan aktivitas antioksidan pada minuman kombucha. Selain itu, proses tersebut juga menyebabkan peningkatan kandungan total fenol dan total asam pada kombucha [24].

Menurut penelitian [26] selama proses fermentasi, gula mengalami biotransformasi menjadi berbagai asam organik dan senyawa metabolit lain yang berkontribusi terhadap peningkatan manfaat kesehatan. Kombucha mengandung beragam senyawa bioaktif, antara lain polifenol, D-saccharic acid-1,4-lactone (DSL), etanol, serta asam-asam organik seperti asam asetat dan asam glukuronat, yang diketahui berperan dalam detoksifikasi, perlindungan sel terhadap stres oksidatif akibat radikal bebas, serta peningkatan respons imun. Selain itu, proses fermentasi terbukti mampu meningkatkan kapasitas antioksidan kombucha, sehingga memperkuat sifat fungsionalnya sebagai pangan yang berpotensi mendukung kesehatan tubuh.

Pengujian aktivitas antioksidan kombucha daun kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd) direaksikan dengan senyawa radikal bebas DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Metode DPPH dipilih karena Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh [22] metode DPPH menunjukkan hasil yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode FRAP dan ABTS, sehingga menandakan efektivitas yang lebih besar dalam menangkap radikal bebas. Mekanisme yang terjadi antara senyawa antioksidan dan DPPH ini menghasilkan suatu perubahan warna. Dimana warna DPPH yang awalnya berwarna ungu (violet) bereaksi dengan senyawa antioksidan sehingga terjadi perubahan warna menjadi kuning. Mekanisme perubahan warna ini

terjadi karena donasi hidrogen atau elektron dari senyawa antioksidan yang ada pada sampel kombucha daun kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd) kepada DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) [27] [sinala]. hal ini terlihat pada gambar 4.

Pada penelitian ini dilakukan uji dari berbagai konsentrasi dari 0.2-0.5 ppm, dari konsentrasi tersebut didapatkan nilai IC_{50} 0.5845 ppm, dimana menurut [22] kategori antioksidan didasarkan pada nilai IC_{50} jika < 50 ppm maka kategori antioksidan sangat kuat, rentang 50-100 ppm memiliki kategori antioksidan kuat, kisaran 101-250 ppm dengan kategori sedang, kemudian jika 250-500 ppm memiliki kategori lemah dan > 500 ppm memiliki kategori yang tidak memiliki aktivitas antioksidan. Dari rentang tersebut didapatkan bahwa kategori aktivitas antioksidan pada sampel kombucha daun kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd) termasuk aktivitas antioksidan dengan kategori sangat kuat. Hasil analisis statistik menggunakan graphpad pada confidence interval dengan taraf 95% menunjukkan bahwa nilai IC_{50} kombucha daun kelakai berada pada rentang 0.5052 to 0.6014 Nilai IC_{50} yang rendah menunjukkan bahwa kombucha daun kelakai memiliki kemampuan antioksidan yang tinggi, karena hanya diperlukan konsentrasi yang relatif kecil untuk menghambat 50% radikal DPPH. Aktivitas antioksidan yang kuat ini dindikasikan berkaitan dengan peningkatan ketersediaan senyawa fenolik selama proses fermentasi, yang berperan sebagai donor atom hidrogen atau elektron dalam menetralkan radikal bebas.

Hasil penelitian dengan inovasi pembuatan kombucha daun kelakai ini menunjukkan nilai yang lebih kuat jika dibandingkan dengan penelitian [5] yang menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan infusa daun kelakai diperoleh nilai IC_{50} sebesar 6,4035 ppm dan memiliki aktivitas antioksidan yang juga sangat kuat, sedangkan pada penelitian [4] diidentifikasi bahwa aktivitas antioksidan ekstrak etanol akar kelakai dengan nilai IC_{50} 19.06 ppm pada tanah gambut dan 24.40 ppm pada tanah berpasir dengan kategori sangat kuat, Perbedaan nilai IC_{50} tersebut menunjukkan bahwa proses fermentasi kombucha berperan penting dalam meningkatkan aktivitas antioksidan daun kelakai. Pada proses fermentasi memungkinkan terjadinya interaksi antara senyawa- senyawa yang ada pada daun kelakai dan proses fermentasi kombucha oleh SCOBY sehingga terjadinya reaksi sinergis yang akhirnya dapat meningkatkan kemampuan dalam meredam radikal bebas, sehingga aktivitas antioksidan total menjadi lebih rendah dari pada yang hanya di buat dengan infusa daun kelakai. Hal ini yang mengindikasikan bahwa proses fermentasi mampu meningkatkan aktivitas antioksidan.

Jika dibandingkan dengan kombucha dari bahan tanaman lain, aktivitas antioksidan kombucha daun kelakai dalam penelitian ini juga menunjukkan potensi yang kompetitif. Pada penelitian [12] bahwa aktivitas antioksidan kombucha bunga telang dipengaruhi oleh waktu fermentasi dan kandungan fenoliknya. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian ini, di mana fermentasi selama 15 hari menghasilkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat, yang mengindikasikan bahwa daun kelakai merupakan bahan lokal yang potensial untuk dikembangkan sebagai bahan baku kombucha yang fungsional.

Pada hasil pengukuran gambar 3. menunjukkan kurva hubungan antara rata-rata inhibisi sampel kombucha daun kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd) dengan konsentrasi sampel dalam ppm, diketahui bahwa hasil regresi tersebut memiliki persamaan $y = 38.643x + 27.41$ dengan $R^2 = 0.9864$. Menurut [25] Peningkatan konsentrasi sampel berbanding lurus dengan peningkatan aktivitas antioksidan. Fenomena ini ditunjukkan oleh penurunan intensitas warna larutan (gambar 4), yang merefleksikan berkurangnya konsentrasi DPPH akibat reaksi peredaman radikal oleh sampel kombucha daun kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd). Semakin tinggi kapasitas sampel kombucha daun kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd) dalam menetralkan radikal DPPH, semakin sedikit DPPH tersisa, sehingga nilai absorbansi yang terukur menunjukkan penurunan yang semakin signifikan. Setiap konsentrasi mengalami perubahan absorbansi dimana semakin tinggi konsentrasi larutan uji semakin menurun nilai absorbansinya, hal ini dapat diartikan bahwa DPPH yang berperan sebagai radikal bebas telah dapat diredam radikal bebasnya oleh antioksidan yang terdapat pada larutan sampel kombucha daun kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd) dimana hal ini terlihat pada tabel 2 [26].

Berdasarkan hasil uji One-Way ANOVA, menunjukkan bahwa variasi konsentrasi kombucha daun kelakai berpengaruh sangat signifikan terhadap nilai persen inhibisi ($F = 178.884$; $p < 0,001$). Hasil uji statistik menunjukkan bahwa Rata-rata inhibisi terendah ditemukan pada konsentrasi 0.2 ppm dan mencapai puncaknya pada 1 ppm Hal ini menunjukkan adanya korelasi positif antara konsentrasi dan aktivitas antioksidan. Persentase inhibisi meningkat linear dari 34,81% (0.2 ppm) hingga 64,90% (1 ppm), dibuktikan post-hoc Tukey yang memisahkan kelompok secara homogen. Hal ini menegaskan bahwa konsentrasi lebih tinggi menghasilkan inhibisi lebih kuat, konsisten dengan pola dose-response pada senyawa bioaktif fermentasi.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, Kombucha daun kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. F) Bedd) menunjukkan potensi yang sangat baik sebagai sumber antioksidan alami. Aktivitas antioksidan yang tinggi mengindikasikan bahwa proses fermentasi berperan penting dalam meningkatkan nilai fungsional daun kelakai melalui pembentukan dan peningkatan berbagai senyawa bioaktif. Hal ini ditunjukkan oleh nilai IC₅₀ kombucha daun kelakai sebesar 0.5845 ppm, yang termasuk kategori sangat kuat, secara signifikan lebih tinggi dibandingkan standar kuersetin dengan nilai IC₅₀ 3.0892 ppm maupun nilai IC₅₀ tanpa proses fermentasi, yang menunjukkan kapasitas kuat untuk menetralkan radikal bebas. Serta peningkatan konsentrasi sampel yang berbanding lurus dengan peningkatan aktivitas antioksidan sebagaimana terlihat dari penurunan nilai absorbansi dan hasil regresi linier dengan persamaan $y = 0,0257x + 28,001$ dan $R^2 = 0,9885$.

Selama proses fermentasi, kombucha daun kelakai menghasilkan berbagai senyawa bioaktif seperti polifenol, asam organik, vitamin, asam folat, asam amino esensial, senyawa antimikroba, dan enzim yang berperan dalam meningkatkan aktivitas antioksidan. Meskipun demikian, penelitian lanjutan masih diperlukan untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif dominan yang berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan, mengevaluasi keamanan melalui uji toksisitas, serta mengkaji stabilitas produk selama penyimpanan. Kajian lebih lanjut tersebut diharapkan dapat memperkuat dasar ilmiah pengembangan kombucha daun kelakai sebagai produk pangan fungsional yang aman dan berkhasiat. Hasil penelitian ini diharapkan memiliki implikasi praktis dalam pengembangan produk pangan fungsional berbasis bahan lokal.

Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan bahwa tidak terdapat konflik kepentingan dalam penelitian ini. Tidak ada hubungan keuangan, kepentingan pribadi, afiliasi institusional, maupun kondisi lain yang dapat secara tidak wajar memengaruhi perancangan penelitian, pengumpulan dan analisis data, interpretasi hasil, maupun penulisan dan publikasi artikel ini.

Referensi

- [1] Widiarsiani, I. A. P., Udayani, N. N. W., Putri Triansyah, G. A., Mahita Kumari Dewi, N. P. E., Eva Wulandari, N. L. W., & Sri Prabandari, A. A. S. Artikel Review: Peran Antioksidan Flavonoid dalam Menghambat Radikal Bebas. 2024. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 6(2). 188-197. <https://doi.org/10.37311/jsscr.v6i2.27055>
- [2] Pratama, A. N., & Busman, H. Potential of Soybean Antioxidant (*Glycine Max L*) on Capturing Free Radicals. 2020. *Jurnal Ilmu Kesehatan Sandi Husada*. 11(1), 497–504. <https://doi.org/10.35816/jiskh.v10i2.333>
- [3] Mareta, C. A. Efektifitas Pegagan (*Centella Asiatica*) Sebagai Antioksidan. 2020. *Jurnal medika hutama*. 01(02), 390-394.
- [4] Adawiyah, R., & Rizki, M. I. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Akar Kalakai (*Stenochlaena palustris* Bedd) Asal Kalimantan Tengah. 2018. *Jurnal Pharmascience*, 05(01), 71–77.
- [5] Savitri, S. A., Hakim, A. R., & Saputri, R. Aktivitas Antioksidan Dari Infusa Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd). 2021. In *Journal of Pharmaceutical Care and Sciences*. 2(1).133-138.
- [6] Sihite, N. W., & Hutasoit, M. S. Potensi Bahan Pangan Lokal Indonesia Sebagai Pangan Fungsional Dan Manfaatnya Bagi Kesehatan: Review. 2023. *Jurnal Riset Gizi*. 11(2). 133–138. <https://doi.org/10.31983/jrg.v11i2.9488>
- [7] Julizan, N., Maemunah, S., Dwiyantri, D., & Al Anshori, J. Validasi Penentuan Aktifitas Antioksidan Dengan Metode DPPH. 2019. *Kandaga*. 1(1). 41-48.
- [8] Sopiah, B., Muliastari, H., & Yuanita, E. Skrining Fitokimia dan Potensi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Hijau dan Daun Merah Kastuba. 2019. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 17(1), 27–33.
- [9] Lady, D., Handoyo, Y., Eko, M., Program, P., Farmasi, S., & Kesehatan, I. Pengaruh Variasi Suhu Pengeringan Terhadap Pembuatan Simplisia Daun Mimba (*Azadirachta Indica*). 2020. In *Jurnal Farmasi Tinctura*. 1(2). 45-54.
- [10] Riansyah, K., Hakim, A., & Hidayati, A. R. Teh herbal terstandar simplisia bunga gemitir (*Tagetes erecta* Linn.) sebagai kandidat antioksidan baru. 2023. *Sasambo Journal of Pharmacy*, 4(1), 45–52. <https://doi.org/10.29303/sjp.v4i1.194>

- [11] Maisyah, A., Jafar, G., & Khiong, T. K. Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Tiga Jenis Simplisia Jahe (Gajah, Emprit, Merah) untuk Pengobatan Tradisional Chinese Medicine (TCM). 2024. *Majalah Farmasetika*, 9(3), 293–300. <https://doi.org/10.24198/mfarmasetika.v9i3.54494>
- [12] Wahyuningtias, D. S., Fitriana, A. S., & Nawangsari, D. Pengaruh Suhu dan Lamaaktu Fermentasi Terhadap Sifat Organoleptik dan Aktivitas Antioksidan Teh Kombucha Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.). 2023. *Pharmacy Genius*. 02(03), 198–207.
- [13] Muthia, R., Hidayatullah, M., & Hidayati, R. Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of Ethanolic Extract of Cawat Hanoman Stem (*Bauhinia aculeata* L.) using DPPH Method. 2020. *Borneo Journal of Pharmacy*. 3(1). 15–21. <https://doi.org/10.33084/bjop.v3i1.1245>
- [14] Nathania, E. K., Maarisit, W., Potalangi, N. O., & Tapehe, Y. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kecubung Hutan (*Brugmansia Suaveolens* Bercht. & amp; J. Presl) Dengan Menggunakan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). 2020. *Biofarmasetikal Tropis*. 3(2).40–47. <https://doi.org/10.55724/j.biofar.trop.v3i2.283>
- [15] Juwita, D. A., Muchtar, H., & Putri, R. K. Uji Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah dan Daging Buah Menteng (*Baccaurea racemosa* (Blume) Mull. Arg.) dengan Metode DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl). 2020. *SCIENZA Jurnal Farmasi Dan Kesehatan*. 10(1). 56–62.
- [16] Sami, F. J., Nur, S., Ramli, N., Sutrisno, B., Tinggi, S., Farmasi Makassar, I., Farmasi, A., & Makassar, K. Uji Aktivitas Antioksidan Daun Kersen (*Muntingia Calabura* L.) Dengan Metode Dpph (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) Dan Frap (*Ferric Reducing Antioxidan Power*). 2017. *As-Syifaa*. 09(02). 106–111.
- [17] Oktaria, D., & Marpaung, M. P. Penetapan Kadar Flavonoid Total Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Akar Nipah (*Nypa Fruticans* Wurmb) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. 2023. *In Lantanida Journal*. 11(1). 36–50.
- [18] Muthia, R., Saputri, R., Verawati, A. 2019. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Mundar (*Garcinia forbesii* King.) Menggunakan Metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazil). 2019. *Jurnal Pharmascience*. 06(01). 74–82.
- [19] Aini, A. N., Aisha, A., Ginting, D., Aminulloh, G., Putri, O., & Rahmandah, S. Karakteristik dan Aktivitas Antioksidan Permen Jeli Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.).2024. *Warta Akab*. 48(1), 68-73.
- [20] Susiani, E. F., Saputri, R., Wati, H., Mahmudah, F., & Vebruati. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Tandui (*Mangifera rufocostata* K.) Menggunakan Metode DPPH. 2024. *Borneo Journal of Pharmascientech*. 08(01). 90-97. <https://doi.org/10.51817/bjp.v7i1.477>
- [21] Ariani, N., Musiam, S., Niah, R., & Dwi, R. F. Pengaruh Metode Pengeringan Terhadap Kadar Flavonoid Ekstrak Etanolik Kulit Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan Spektrofotometri UV-Vis. 2022. *Jurnal Pharmascience*, 9(1), 40–47.
- [22] Zulfa, A. N., Hidayah, H., Nurjanah, A., Septanti, R., & Nadeak, Z. T. Literature Review Article : Perbandingan Kadar Antioksidan Pada Tumbuhan Jamblang Dengan Metode DPPH, FRAP, dan ABTS. 2024. *Innovative: Journal Of Social Science Research*, 4(1), 3359–3373.
- [23] Oktari, I. ayu, Wijayanti, K., & Anwar, M. C. Skrining Senyawa Fitokimia Daun Kelakai (*Stenochlaena palustris*) Asal Kalimantan Tengah Sebagai Alternatif Penyembuhan Luka. 2025. *Jurnal Kesehatan*, 18(1), 73–78. <https://doi.org/10.32763/k1z88f50>
- [24] Nasution, I. W., & Nasution, N. H. Peluang Minuman Teh Kombucha Dan Potensinya Sebagai Minuman Kesehatan Pencegah Dan Penyembuh Aneka Penyakit. 2022. *Journal Of Comprehensive Science*, 1(1). 9-16. <https://doi.org/https://doi.org/10.36418/jcs.v1i1.2>
- [25] Putri, K. A., & Sabrina. Potensi Kombucha Sebagai Minuman Probiotik dan Sumber Antioksidan. 2024. *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*, 10(5), 37–44.
- [26] Faizah, Khairunnisa, A., Latifasari, N., & Kurniawati, A. D. Kombucha Dan Sifat Fungsionalnya: Studi Pustaka. 2024. *Jurnal Sains dan Teknologi Pangan*. (9)5. 7729-7741. <https://doi.org/10.63071/42pr8595>
- [27] Sinala, S., & Dewi, S. T. R. Penentuan Aktivitas Antioksidan Secara In Vitro Dari Ekstrak Etanol Propolis Dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). 2019. *Media Farmasi*, 15(1), 91. <https://doi.org/10.32382/mf.v15i1.820>
- [28] Cahyaningsih, E., Era Sandhi, P. K., & Santoso, P. Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L.) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. 2019. *In Ilmiah Medicamento*. 5(1). 51-57.