

## Comparison of Phenolic and Antioxidant Contents in Tea Brewing and Kombucha Tea Variants by Visible Spectrophotometry

### Perbandingan Kandungan Fenolik dan Aktivitas Antioksidan pada Varian Seduhan Teh dan Varian Teh Kombucha Secara Spektrofotometri Visibel

Dini Maghfirah <sup>a</sup>, Ainil Fithri Pulungan <sup>a\*</sup>, Ridwanto <sup>a</sup>, Rafita Yuniarti <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah, Medan, Sumatera Utara, Indonesia.

\*Corresponding Authors: [ainilfithri@umnaw.ac.id](mailto:ainilfithri@umnaw.ac.id)

#### Abstract

**Background:** Tea is one of the world's most popular aromatic beverages, rich in polyphenolic compounds with antioxidant activity. Fermentation of tea using a symbiotic culture of bacteria and yeast (SCOBY) produces kombucha, a functional beverage with health benefits including anti-carcinogenic, anti-diabetic, and detoxification properties. However, comparative studies on phenolic content and antioxidant activity between conventional tea infusions and kombucha remain limited. **Objective:** This study aimed to analyze total phenolic content and antioxidant activity while comparing these parameters between tea infusions (black, green, oolong) and their kombucha counterparts. **Methods:** Total phenolic content was measured using the Folin-Ciocalteu method, while antioxidant activity was assessed via DPPH assay through visible spectrophotometry. Samples included both tea infusions and kombucha from three tea varieties (black, green, oolong) fermented for 10 days. **Results:** Analysis revealed significant increases in total phenolic content across all tea varieties following kombucha fermentation. Conventional tea infusions showed highest phenolic content in oolong (38.427 mgGAE/g), followed by green (26.538 mgGAE/g) and black tea (24.480 mgGAE/g). Fermentation substantially enhanced phenolic levels, with oolong kombucha demonstrating the greatest increase (64.299 mgGAE/g), followed by green (58.581 mgGAE/g) and black tea kombucha (39.264 mgGAE/g). A similar pattern emerged in antioxidant activity, where oolong kombucha exhibited the strongest performance (IC<sub>50</sub> 39.69 ppm; very strong category), followed by green (55.82 ppm; strong) and black tea kombucha (101.60 ppm; moderate). Vitamin C, as reference standard, showed the highest antioxidant activity (IC<sub>50</sub> 3.22 ppm; very strong). **Conclusion:** Kombucha fermentation significantly enhances both total phenolic content and antioxidant activity compared to conventional tea infusions, with oolong tea emerging as the optimal substrate. Both fermentation process and tea variety significantly influence the improvement of antioxidant properties.

**Keywords:** Kombucha tea, Total phenolics, Antioxidant activity, DPPH method.

#### Abstrak

**Latar Belakang:** Teh merupakan salah satu minuman aromatik paling populer di dunia yang kaya akan senyawa polifenol dengan aktivitas antioksidan. Fermentasi teh menggunakan kultur simbiosis bakteri dan khamir (SCOBY) menghasilkan kombucha, minuman fungsional yang memiliki manfaat kesehatan seperti anti-karsinogenik, anti-diabetes, dan detoksifikasi. Namun, penelitian tentang perbandingan kandungan fenolik dan aktivitas antioksidan antara seduhan teh biasa dan teh kombucha masih terbatas. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kandungan fenolik total dan aktivitas antioksidan serta membandingkannya antara seduhan teh (hitam, hijau, oolong) dan kombucha berbasis teh tersebut. **Metode:** Kandungan fenolik total diukur menggunakan metode Folin-Ciocalteu, sedangkan aktivitas antioksidan diuji dengan metode DPPH melalui spektrofotometri visible. Sampel meliputi seduhan teh dan kombucha dari tiga

jenis teh (hitam, hijau, oolong) yang difermentasi selama 10 hari. **Hasil Penelitian:** Analisis kandungan fenolik total menunjukkan peningkatan yang signifikan pada semua variasi teh setelah proses fermentasi menjadi kombucha. Pada seduhan teh biasa, kandungan fenolik tertinggi ditemukan pada teh oolong (38,427 mgGAE/g), diikuti teh hijau (26,538 mgGAE/g) dan teh hitam (24,480 mgGAE/g). Fermentasi meningkatkan kandungan fenolik secara nyata, dengan peningkatan tertinggi pada kombucha teh oolong (64,299 mgGAE/g), kemudian teh hijau (58,581 mgGAE/g) dan teh hitam (39,264 mgGAE/g). Pola serupa terlihat pada uji aktivitas antioksidan, dimana teh oolong kombucha menunjukkan aktivitas terbaik dengan IC<sub>50</sub> 39,69 ppm (kategori sangat kuat), menyusul teh hijau kombucha (55,82 ppm; kuat) dan teh hitam kombucha (101,60 ppm; sedang). Sebagai pembanding, vitamin C mencatat aktivitas antioksidan tertinggi dengan IC<sub>50</sub> 3,22 ppm (sangat kuat). **Kesimpulan:** Fermentasi kombucha meningkatkan kandungan fenolik total dan aktivitas antioksidan dibandingkan seduhan teh biasa, dengan teh oolong kombucha sebagai varian terbaik. Proses fermentasi dan jenis teh berpengaruh signifikan terhadap peningkatan sifat antioksidan.

**Kata Kunci:** Teh kombucha, Fenolik Total, Aktivitas Antioksidan, Metode DPPH.



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: 08/04/2025,  
Revised: 05/05/2025  
Accepted: 05/07/2025,  
Available Online: 07/07/2025.

#### QR access this Article



<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v8i3.952>

## Pendahuluan

Salah satu minuman aromatik yang paling banyak dikonsumsi di dunia adalah teh dengan banyak manfaat untuk kesehatan. Pucuk teh segar kaya akan senyawa polifenol yang berfungsi sebagai antioksidan [1]. Teh, terbuat dari *Camelia sinensis* yang menghasilkan lebih dari 3,8 juta ton teh setiap tahunnya di 30 negara. Teh terbagi menjadi tiga golongan menurut tingkat fermentasinya yaitu teh hitam (fermentasi), teh oolong (semi-fermentasi), dan teh hijau yang tidak difermentasi. Sekitar 78% teh yang diproduksi di seluruh dunia adalah teh hitam, yang merupakan salah satu varietas teh yang paling populer di Barat. Teh hijau, yang sebagian besar dikonsumsi di Cina dan Jepang, menyumbang 20% produksi teh. Teh oolong, yang sebagian besar diproduksi di Tiongkok selatan, menyumbang 2% dari total produksi teh [2].

Teh banyak dijual dalam bentuk paket, *tea bag* atau dalam bentuk bubuk instan. Sebagian orang mengonsumsi teh sebagai minuman ringan yang diseduh dengan air panas dan ditambahkan gula sebagai pemanis. Namun belum banyak yang mengetahui bahwa teh yang fermentasi dengan sejenis kultur campuran bakteri dan khamir dapat dikonsumsi sebagai minuman untuk kesehatan. Jenis teh ini dikenal dengan nama teh kombucha (*kombucha tea*). Kombucha merupakan salah satu produk minuman fermentasi rendah alkohol yang dibuat secara tradisional di Asia. Kombucha diproduksi dengan memfermentasi teh menggunakan biofilm selulosa alami yang dikenal sebagai SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*) dan gula sebagai nutrisi bagi mikroba. Setiap proses fermentasinya membentuk lapisan biofilm baru yang mengambang di permukaan media pertumbuhan dan dapat digunakan kembali sebagai starter untuk fermentasi selanjutnya [3]. Lama waktu fermentasi dari teh kombucha berkisar antara 7-10 hari hingga menghasilkan minuman berkarbonasi yang ringan, dengan sedikit rasa asam, dan menyegarkan yang mengandung beberapa asam organik, sejumlah etanol dan CO<sub>2</sub> [4].

Manfaat kesehatan dari mengonsumsi teh kombucha sebagai anti-karsinogenik, anti-diabetes, detoksifikasi, dan peningkatan respon imun, serta mengobati sakit maag dan menurunkan kadar kolesterol juga darah tinggi [3]. Minuman kombucha mengandung banyak senyawa kimia, meliputi beberapa jenis asam organik (seperti sitrat, asetat, glukonat, asam glukuronat, sitrat, L-laktat, malat, tartarat, malonat, oksalat, suksinat, piruvat, dan usnik); gula (seperti sukrosa, glukosa, dan fruktosa); vitamin yang larut dalam

air; asam amino; amina biogenik; Purina; Pigmen; Lipid; Protein; enzim hidrolitik; etanol, karbon dioksida, polifenol dan mineral [5]

Menurut penelitian, proses fermentasi meningkatkan aktivitas antioksidan dengan memproduksi lebih banyak fenolik bebas. Akibatnya, semakin besar jumlah fenolik yang dihasilkan selama proses fermentasi, semakin besar aktivitas antioksidan [6]. Antioksidan merupakan molekul yang dapat mencegah atau memperlambat kerusakan sel akibat radikal bebas dengan cara mengkompensasi kekurangan elektron akibat radikal bebas. Antioksidan alami terdapat pada tanaman yang mengandung senyawa polifenol tingkat tinggi seperti daun teh [7].

Pembuatan teh kombucha yang dibuat dari berbagai variasi daun yaitu daun salam, daun jambu, daun sirih, daun sirsak, daun kopi, dan daun teh, menyatakan bahwa teh kombucha terbaik adalah yang terbuat dari daun teh, karena memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi [8]. Penelitian ini menggunakan teh hitam, teh hijau dan olong karena termasuk jenis teh yang paling banyak dikonsumsi. Ketiga jenis teh tersebut memiliki perbedaan dalam proses pembuatan teh meliputi teh hitam (fermentasi) teh hijau (non-fermentasi) dan teh oolong (semi-fermentasi) [2]. Aktivitas antioksidan dapat diukur dengan metode radikal DPPH. Cara ini banyak digunakan karena sederhana, mudah dilakukan, dan tidak memakan banyak waktu. Aktivitas antioksidan diukur dari kemampuan senyawa dalam teh untuk menangkap radikal bebas dalam bentuk DPPH, dan aktivitas antioksidan dapat diukur secara spektrofotometri [9]. Penelitian dari Hunandar, 2016, menyatakan bahwa pada fermentasi kombucha hari ke-10 memiliki daya antioksidan yang paling baik diikuti dengan peningkatan kadar fenol. Hal ini disebabkan karena aktivitas mikroorganisme pada kombucha di hari ke-10 membentuk senyawa fenolik paling banyak yang dimungkinkan dapat menghambat radikal bebas DPPH [10].

Berdasarkan uraian diatas, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai kandungan fenolik dan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH pada varian seduhan teh dan teh kombucha berbahan dasar teh hitam, teh hijau, dan teh oolong menggunakan spektrofotometri Visible.

## Metode Penelitian

### Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental. Sampel yang digunakan adalah seduhan teh hitam, teh hijau dan teh oolong serta kombucha teh hitam, kombucha teh hijau, dan kombucha teh oolong. Rancangan penelitian ini meliputi pembuatan seduhan teh, fermentasi teh kombucha, penetapan kadar fenolik total, dan pengujian aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode 1,1- *diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH).

### Peralatan dan Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan meliputi kultur kombucha/SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*), air, gula pasir, teh hijau, teh hitam, teh oolong, air mineral, aquades, etanol 70%, aquadest, serta berbagai pereaksi kimia seperti pereaksi Bouchardat, Dragendorff, kloroform, toluena, pereaksi besi (III) klorida 1%, pereaksi natrium hidroksida 2N, asam klorida pekat, benzena, larutan DPPH, Folin-Ciocalteu, asam galat,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , metanol, etanol 96%, dan  $\text{FeCl}_3$  5%. Sementara itu, peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi kompor, panci, wadah kaca, timbangan analitik, saringan, karet gelang, kertas label, perkamen, batang pengaduk, kain, gelas ukur, gelas beaker, tabung reaksi, labu tentukur, erlenmeyer, pipet ukur, bola hisap, rak tabung reaksi, tisu lensa, serta spektrofotometer visible untuk analisis kandungan senyawa bioaktif.

### Pembuatan Teh Seduh

Masing-masing teh (teh hitam, teh hijau, dan teh oolong) sebanyak 1,25 gram diseduh menggunakan air panas sebanyak 250 mL selama 5 menit dan gerakan kantong teh celup dengan gerakan naik turun. Selanjutnya kantong teh dikeluarkan dan larutan didinginkan sampai suhu kamar.

### Pembuatan Teh Kombucha

Pembuatan teh kombucha diawali dengan mendidihkan 2 liter air mineral. Setelah api dimatikan dilanjutkan dengan penambahan 10% gula tebu dan 5g/L sampel teh (teh hitam, teh hijau, dan teh oolong). Lalu disaring dan dimasukkan ke dalam toples, setelah itu di dinginkan. Kemudian ditambahkan starter

kombucha 10% dan 1 keping SCOBY. Tutup dengan kain dan ikat dengan karet, kemudian dilakukan fermentasi selama 10 hari pada suhu ruang dan tidak boleh terkena cahaya matahari [11].

### Pembuatan Larutan Pereaksi

Pembuatan berbagai larutan pereaksi dilakukan sesuai dengan prosedur dari Depkes RI (1995). Untuk pereaksi Bouchardat, sebanyak 4 gram kalium iodida pekat ditimbang dan dimasukkan ke dalam gelas beaker, lalu ditambahkan 2 gram iodium pekat dan aquadest hingga mencapai volume 100 mL. Larutan pereaksi Mayer dibuat dengan melarutkan 1,4 gram raksa (II) klorida dalam 60 mL air suling, kemudian dicampur dengan larutan 5 gram kalium iodida dalam 10 mL air suling, dan diencerkan hingga 100 mL. Untuk pereaksi Dragendorff, 0,8 gram bismut (III) nitrat dilarutkan dalam 20 mL asam nitrat pekat dan dicampur dengan larutan 27,2 gram kalium iodida dalam 50 mL air suling. Setelah didiamkan hingga terjadi pemisahan sempurna, larutan jernih diambil dan diencerkan dengan air suling hingga 100 mL. Pereaksi Molish dibuat dengan melarutkan 3 gram alfa-naftol pekat dalam asam nitrat 0,5 N hingga volume 100 mL. Larutan asam klorida 2 N disiapkan dengan cara menambahkan 17 mL asam klorida pekat ke dalam aquadest hingga 100 mL, sedangkan larutan asam sulfat 2 N dibuat dari 9,8 mL asam sulfat pekat yang diencerkan dengan air suling hingga 100 mL. Untuk pereaksi asam nitrat 0,5 N, 3,4 mL asam nitrat pekat diencerkan dengan air suling hingga volume 100 mL. Pereaksi timbal (II) asetat 0,4 M dibuat dengan melarutkan 15,17 gram timbal (II) asetat pekat dalam air suling bebas CO<sub>2</sub> hingga 100 mL. Larutan besi (III) klorida 1% disiapkan dengan melarutkan 1 gram FeCl<sub>3</sub> dalam aquadest hingga 100 mL. Pereaksi Lieberman-Burchard dibuat dengan mencampurkan 20 mL asam asetat anhidrat dan 1 mL asam sulfat pekat. Terakhir, larutan kloralhidrat disiapkan dengan melarutkan 50 gram kristal kloralhidrat ke dalam 20 mL air suling [12].

### Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi golongan senyawa metabolit sekunder pada sampel teh. Pemeriksaan alkaloid dilakukan dengan mengekstrak 0,5 g serbuk teh menggunakan asam klorida 2N dan air suling, lalu diuji menggunakan pereaksi Mayer, Bouchardat, dan Dragendorff; hasil positif ditunjukkan oleh terbentuknya endapan pada dua dari tiga tabung. Untuk flavonoid, 10 g serbuk teh direbus dan difiltrasi, kemudian diuji dengan magnesium, asam klorida pekat, dan amil alkohol; terbentuknya warna merah, kuning, atau jingga menandakan hasil positif. Tanin diuji dengan mendidihkan 1 g serbuk teh dalam air dan menambahkan pereaksi FeCl<sub>3</sub> 1%; warna biru atau hijau kehitaman menunjukkan keberadaan tanin. Saponin diuji dengan menambahkan air panas ke 0,5 g serbuk teh dan mengocoknya; terbentuknya busa stabil selama ≥10 menit menandakan positif. Steroid dan triterpenoid diperiksa dengan maserasi 1 g serbuk teh dalam n-heksan, lalu diberi pereaksi Liebermann-Burchard; warna biru menunjukkan steroid, sedangkan merah atau ungu menunjukkan triterpenoid. Glikosida diuji melalui reflus serbuk teh dalam campuran etanol-aquadest dan HCl, diikuti pemurnian dengan Pb asetat dan pelarut organik; pembentukan cincin ungu setelah penambahan pereaksi Molish dan asam sulfat menunjukkan hasil positif. Untuk fenol, serbuk teh ditetesi FeCl<sub>3</sub> dan perubahan warna menjadi hitam kebiruan atau hitam pekat menunjukkan adanya senyawa fenolik [13,14].

### Uji Aktivitas antioksidan Metode DPPH

Larutan induk DPPH 200 µg/mL dibuat dengan melarutkan 10 mg DPPH dalam metanol menggunakan labu takar 50 mL, kemudian disimpan dalam botol coklat pada 4°C. Blanko dibuat dengan mengencerkan 1 mL larutan DPPH 200 µg/mL menjadi 40 µg/mL dalam labu takar 5 mL. Panjang gelombang maksimum ditentukan dengan mengukur absorbansi pada rentang 400-800 nm, sedangkan operating time ditetapkan dengan memantau stabilitas absorbansi selama 60 menit [15].

Untuk pengujian sampel, dibuat seri konsentrasi 20-100 µg/mL dengan mencampurkan berbagai volume sampel (0,5-2,5 mL) dengan 1 mL DPPH 200 µg/mL dalam labu takar 5 mL. Vitamin C sebagai pembanding dibuat dalam konsentrasi 1-5 µg/mL. Campuran diinkubasi dalam gelap selama 30 menit, kemudian absorbansi diukur pada λ 517 nm dengan tiga kali pengulangan [15].

Aktivitas antioksidan dihitung berdasarkan persen inhibisi:  $[(\text{Abs kontrol} - \text{Abs sampel}) / \text{Abs kontrol}] \times 100\%$ . Nilai IC<sub>50</sub> ditentukan dari persamaan regresi linier antara konsentrasi sampel (sumbu X) dan persen inhibisi (sumbu Y), yang menunjukkan konsentrasi sampel yang dapat menghambat 50% radikal DPPH [15].

## Metode Pengolahan Data

Metode pengolahan data yang digunakan dalam penelitian ini meliputi penggunaan kurva standar. Selanjutnya, regresi linier digunakan untuk menentukan hubungan antara konsentrasi sampel dan absorbansi yang dihasilkan.

## Hasil Dan Pembahasan

### Hasil Pengolahan Sampel

Sampel teh yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari teh yang beredar di pasaran yaitu serbuk teh hitam (Sosro), serbuk teh hijau (Sari Wangi) dan daun teh oolong (Heizl). Masing-masing teh ditimbang sebanyak 1,25 gram diseduh menggunakan air panas sebanyak 250 mL selama 5 menit lalu air seduhannya didinginkan sampai suhu kamar dan disimpan dalam botol tertutup. Kemudian dilakukan pembuatan teh kombucha dengan mendidihkan air mineral dilanjutkan dengan penambahan 10% gula tebu dan 5g/L sampel teh (teh hitam, teh hijau, dan teh oolong). Lalu disaring dan dimasukkan ke dalam toples, setelah itu di dinginkan. Kemudian ditambahkan starter kombucha 10% dan 1 keping SCOBY. Ditutup dengan kain dan diikat dengan karet, lalu dilakukan fermentasi selama 10 hari pada suhu ruang dan tidak boleh terkena cahaya matahari agar proses fermentasi tidak terganggu sehingga setelah hari panen dihasilkan teh kombucha dengan rasa asam sedikit bersoda dan berbau khas fermentasi.

### Hasil Skrinning Fitokimia

Skrinning fitokimia dilakukan untuk menguji ada tidaknya senyawa metabolit sekunder diantaranya seperti alkaloid, flavonoid, glikosida, saponin, tannin steroid/triterpenoid dan fenol. Hasil skrinning fitokimia serbuk teh hitam, teh hijau, dan teh oolong dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil Skrinning Fitokimia Teh Hitam, Teh Hijau Dan Teh Oolong

| No. | Pemeriksaan          | Teh hitam | Teh Hijau | Teh Oolong |
|-----|----------------------|-----------|-----------|------------|
| 1   | Alkaloid             | -         | -         | -          |
| 2   | Flavonoid            | +         | +         | +          |
| 3   | Tanin                | +         | +         | +          |
| 4   | Saponin              | +         | +         | +          |
| 5   | Steroid/triterpenoid | + steroid | + steroid | + steroid  |
| 6   | Glikosida            | +         | +         | +          |
| 7   | Fenol                | +         | +         | +          |

Keterangan :

(-) : tidak mengandung metabolit sekunder

(+) : mengandung metabolit sekunder

Berdasarkan tabel 1, hasil skrinning fitokimia serbuk teh hitam, teh hijau, dan teh oolong menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, tanin, saponin, steroid, glikosida, dan fenol. Dimana pada uji flavonoid, terbentuknya warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan hasil positif flavonoid. Dari uji flavonoid pada serbuk teh hitam, teh hijau, dan teh oolong diperoleh hasil yang positif karena terbentuknya warna kuning hal ini disebabkan karena senyawa flavonoid dapat menghasilkan warna merah, kuning atau jingga ketika tereduksi dengan Mg dan HCl [15].

Pada uji saponin serbuk teh hitam, teh hijau, dan teh oolong menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya busa dan dapat bertahan selama tidak kurang 10 menit serta tidak hilang setelah penambahan HCl. Timbulnya busa pada uji saponin menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan untuk membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya [15].

Pada pemeriksaan tanin menunjukkan hasil yang positif terhadap serbuk teh hitam, teh hijau, dan teh oolong dimana terjadinya perubahan warna menjadi hijau kehitaman dengan penambahan  $\text{FeCl}_3$ . Hal ini terjadi dikarenakan terdapat gugus hidroksil yang ada pada senyawa tanin didalam teh hitam, teh hijau, dan teh oolong sehingga terjadi reaksi dengan  $\text{FeCl}_3$  yang mana membentuk senyawa kompleks [15].

Warna biru sampai hijau pada sampel menyatakan hasil positif senyawa steroid, sedangkan untuk warna merah kecoklatan sampai ungu menyatakan hasil positif uji terpenoid [16]. Serbuk teh hitam, teh hijau,

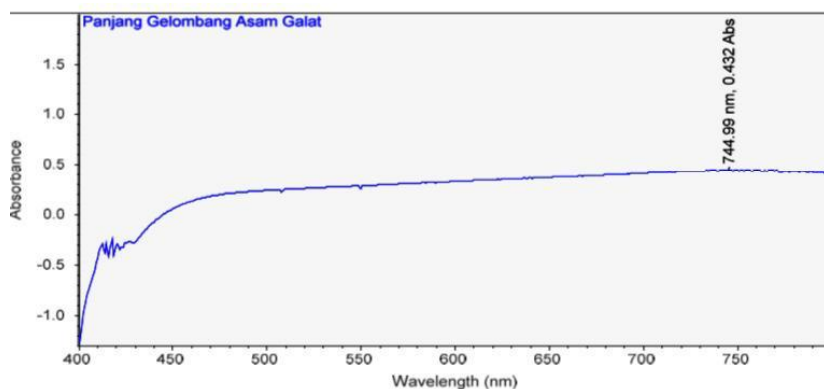
dan teh oolong menunjukkan warna hijau yang berarti positif steroid. Hal ini terjadi karena senyawa steroid bereaksi dengan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  sehingga menghasilkan warna hijau hingga biru.

Pada pemeriksaan glikosida serbuk teh hitam, teh hijau, dan teh oolong menunjukkan hasil yang positif karena terbentuknya cincin berwarna ungu pada batas cairan larutan sisa setelah penambahan pereaksi molisch dan asam sulfat pekat. Mekanisme terbentuknya cincin ungu berasal dari karbohidrat yang terhidrolisis oleh asam sulfat menjadi monosakarida kemudian keduanya terkondensasi membentuk furfural yang bereaksi sehingga membentuk cincin ungu [17].

Pada uji polifenol serbuk teh hitam, teh hijau, dan teh oolong diperoleh hasil yang positif yaitu terbentuknya warna hijau kehitaman. Senyawa fenolik dinyatakan positif apabila terdapat perubahan warna hitam kebiruan hingga hitam pekat pada saat penambahan  $\text{FeCl}_3$  1%.  $\text{FeCl}_3$  dapat bereaksi dengan gugus -OH aromatis [16].

### Hasil Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat

Penetapan kadar fenolik total diawali dengan mengukur panjang gelombang maksimum dari larutan baku asam galat menggunakan metode *Folin-Ciocalteu* dengan bantuan instrumen spektrofotometer Visible dengan konsentrasi 8  $\mu\text{g/mL}$  dan diperoleh panjang gelombang maksimum 744 nm dengan absorbansi 0,432 Abs. Menurut Ganjar dan Roman (2007) warna komplementer untuk pengujian fenolik yaitu berwarna hijau kebiruan dengan rentang panjang gelombang yaitu 610-750 nm. Hasil pengukuran panjang gelombang dapat dilihat pada gambar 1.



**Gambar 1.** Panjang Gelombang Asam Galat

### Hasil Pengukuran Operating Time

*Operating Time* bertujuan untuk mengetahui waktu paling stabil dari pengukuran suatu senyawa yang diperoleh saat absorbansi. *Operating time* dilakukan dengan mengukur antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan. Penetapan *operating time* perlu dilakukan untuk meminimalisir terjadinya kesalahan pada saat pengukuran [18]. Larutan baku yang akan diukur absorbansinya dalam penelitian ini merupakan suatu senyawa kompleks yang membutuhkan waktu agar reaksi yang terbentuk stabil. Penentuan *operating time* dilakukan dengan menggunakan larutan baku dengan penambahan reagen *Folin-Ciocalteu* yang diukur pada panjang gelombang 744 nm. Hasil pengukuran *operating time* menunjukkan absorbansi stabil (perubahan <0,01) pada menit ke-13 hingga 18.

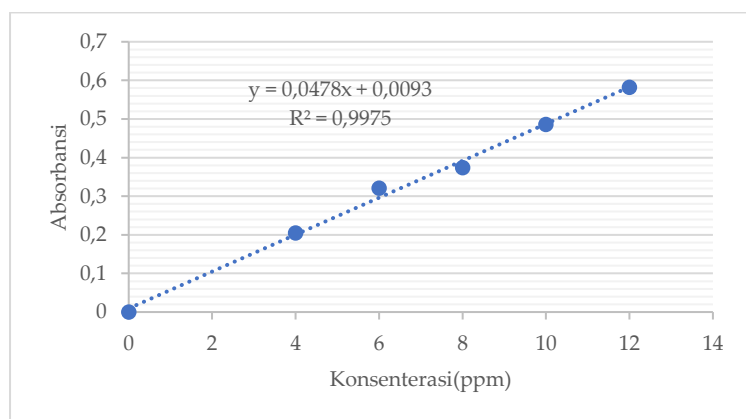
### Hasil Penetapan Kurva Kalibrasi Asam Galat Dengan Reagen *Folin Ciocalteu*

Kurva kalibrasi dibuat menggunakan larutan standar asam galat dengan seri konsentrasi 4, 6, 8, 10, dan 12  $\mu\text{g/mL}$ . Setiap larutan standar direaksikan dengan reagen *Folin-Ciocalteu* dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 744 nm. Hasil pengukuran menunjukkan hubungan linear yang baik antara konsentrasi asam galat ( $\mu\text{g/mL}$ ) dengan nilai absorbansi dalam rentang 0,2-0,5.

Seperti terlihat pada Tabel 2, nilai absorbansi meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi asam galat. Kurva kalibrasi yang dihasilkan (Gambar 2) menunjukkan linieritas yang sangat baik, dimana nilai absorbansi meningkat secara konsisten sesuai dengan peningkatan konsentrasi. Hasil ini membuktikan bahwa metode yang digunakan valid dan reliabel untuk analisis kuantitatif senyawa fenolik pada sampel.

**Tabel 2.** Nilai Absorbansi Larutan Baku Asam Galat

| Konsentrasi | Absorbansi | Persamaan Regresi      |
|-------------|------------|------------------------|
| 0           | 0          | $y = 0,0478x + 0,0093$ |
| 4           | 0,205      |                        |
| 6           | 0,321      |                        |
| 8           | 0,374      |                        |
| 10          | 0,486      |                        |
| 12          | 0,582      |                        |

**Gambar 2.** Kurva Kalibrasi asam Galat

Persamaan regresi yang diperoleh dari larutan larutan baku asam galat yaitu  $y = 0,0478x + 0,0093$  dengan koefisien korelasi sebesar 0,9975. Nilai linieritas menunjukkan korelasi antara konsentrasi dan hasil absorbansinya.

### Hasil Penetapan Kadar Fenolik Total Varian Seduhan Teh dan Varian Teh Kombucha (Teh Hitam, Teh Hijau, dan Teh Oolong)

Penetapan kadar fenolik total menggunakan metode *Folin-Ciocalteu* dengan bantuan instrumen spektrofotometer Visible. Reagen Folin Ciocalteu digunakan karena senyawa fenolik dapat bereaksi dengan Folin membentuk larutan berwarna yang dapat diukur absorbansinya. Reaksi antara asam galat dengan reagen Folin-Ciocalteu menghasilkan warna biru, yang menandakan adanya kandungan senyawa fenolik. Asam galat merupakan senyawa fenolik yang stabil dan alami dari tumbuhan. Selanjutnya, ditambahkan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  sebagai pemberi suasana basa. Gugus hidroksil yang berasal dari senyawa fenolik bereaksi dengan pereaksi Folin-Ciocalteu membentuk kompleks molibdenum-tungsten yang berwarna biru. Seiring dengan meningkatnya konsentrasi ion fenolat warna biru akan semakin pekat karena semakin banyak ion fenolat yang mereduksi asam heteropoli (fosfomolibdat-fosfotungstat) membentuk kompleks molybdenum-tungsten [19].

Penetapan kadar fenolik total dihitung dengan menggunakan persamaan garis regresi linier  $y = ax + b$  yang diperoleh dari hasil kurva kalibrasi larutan baku asam galat sehingga didapat nilai konsentrasi (x). Nilai x kemudian akan disubstitusikan dalam rumus perhitungan kadar fenolik total. Penetapan kadar fenolik total dilakukan dengan replikasi sebanyak 6 kali pengulangan dan diambil nilai rata-ratanya. Maka setelah dilakukan perhitungan didapatkan hasil kadar fenolik total sebagai berikut:

**Tabel 3.** Nilai Fenolik Total Seduhan Teh Hitam, Teh Hijau, dan Teh Oolong

| Sampel             | KTF <sub>e</sub> (mgGAE/g) |
|--------------------|----------------------------|
| Seduhan teh hitam  | 24,480                     |
| Seduhan teh hijau  | 26,538                     |
| Seduhan teh oolong | 38,427                     |

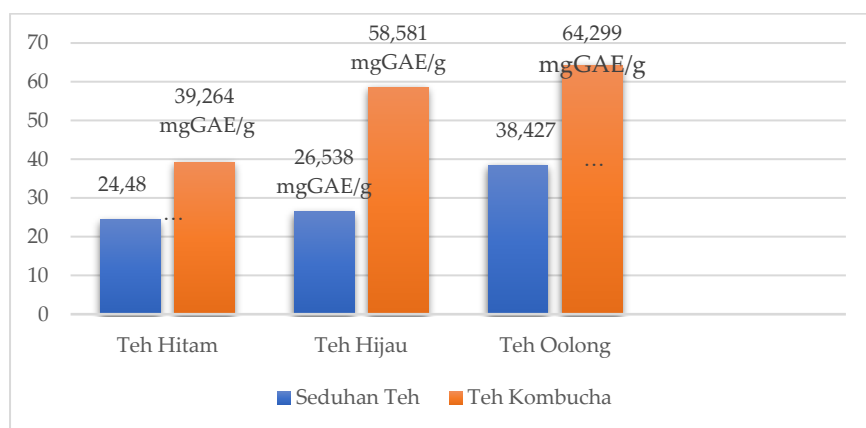
**Tabel 4.** Nilai Fenolik Total Kombucha Teh Hitam, Teh Hijau, dan Teh Oolong

| Sampel              | KTF <sub>e</sub> (mgGAE/g) |
|---------------------|----------------------------|
| Kombucha teh hitam  | 39,264                     |
| Kombucha teh hijau  | 58,581                     |
| Kombucha teh oolong | 64,299                     |

Berdasarkan data di atas terdapat diagram perbandingan hasil kadar fenolik total dari seduhan teh hitam, teh hijau, dan teh oolong dengan kombucha teh hitam, kombucha teh hijau, dan kombucha teh oolong pada gambar 3.

Teh kombucha memiliki kandungan polifenol yang lebih tinggi daripada teh nonfermentasi, karena proses fermentasi akan membuat senyawa teh terubigun pada teh mengalami depolimerisasi. Selain itu, mikroorganisme juga akan membuat struktur planar teh terubigin mengalami perubahan struktur planar, menyebabkan perubahan warna pada kombucha menjadi lebih cerah dan menyebabkan peningkatan jumlah total fenol [20].

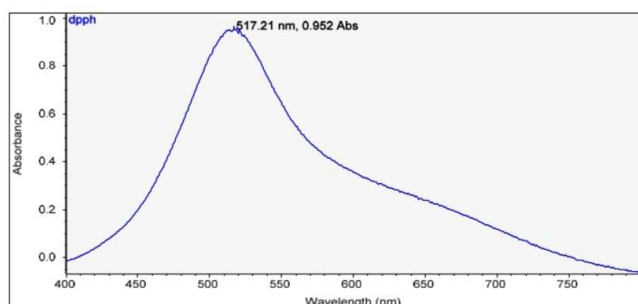
Peningkatan kandungan senyawa polifenol dapat dikaitkan dengan berbagai reaksi yang terjadi selama fermentasi teh, misalnya oksidasi senyawa polifenol oleh beberapa enzim menyebabkan terbentuknya katekin, flavonoid dan antioksidan yang merupakan hasil reaksi hidrolisis mikroba. Katekin yang terkandung dalam teh dapat dipecah melalui aktivitas bakteri dan ragi menjadi partikel yang lebih sederhana, sehingga meningkatkan kekuatan antioksidan. Selain itu, fermentasi menyebabkan kerusakan struktural dinding sel tanaman, yang mengarah pada pembebasan atau sintesis berbagai senyawa antioksidan [21].

**Gambar 3.** Diagram Hasil Penetapan Kadar Fenolik Total Varian Seduhan Teh dengan Varian Teh Kombucha

### Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan

#### Hasil Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Radikal bebas DPPH memiliki warna komplementer ungu dan memberikan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 515 – 520 nm[22]. Pada gambar 4 dapat dilihat pengukuran panjang gelombang maksimum larutan DPPH konsentrasi 40 µg/mL dengan pelarut metanol menghasilkan serapan maksimum (0,952) pada panjang gelombang 517 nm. Pengukuran sampel harus dilakukan pada panjang gelombang maksimum agar kepekaannya lebih maksimal dan meminimalkan kesalahan karena pada panjang gelombang tersebut perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar.

**Gambar 4.** Kurva Serapan Maksimum Larutan 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH)

### Hasil Penentuan *Operating Time*

Penentuan *operating time* dilakukan untuk mengetahui waktu pengukuran paling stabil saat sampel bereaksi sempurna dengan DPPH [23]. *Operating time* dilakukan dengan mengukur antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan. Penetapan *operating time* perlu dilakukan untuk meminimalkan terjadinya kesalahan pengukuran. *Operating time* ditunjukkan dengan nilai absorbansi DPPH yang relatif konstan [18].

Hasil penentuan *operating time* dari larutan DPPH dengan konsentrasi 40 ppm selama 60 menit didapatkan absorbansi yang stabil yaitu 0,905 pada menit ke 10 sampai menit ke 14. Maka pada menit tersebut waktu kerja yang baik untuk dilakukan pengukuran sampel berbagai konsentrasi.

### Hasil Pengukuran Antioksidan Varian Seduhan Teh dan Varian Teh Kombucha (Teh Hitam, Teh Hijau, dan Teh Oolong)

Hasil dari pengukuran aktivitas antioksidan pada varian seduhan teh dan varian teh kombucha dilakukan pada masing-masing konsentrasi yaitu 20, 40, 60, 80 dan 100 µg/mL, kemudian ditambahkan larutan DPPH (200 µg/mL) dan diinkubasi selama 10 menit. Kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum 517 nm.

Tujuan diinkubasi karena reaksi berjalan lambat sehingga sampel membutuhkan waktu untuk dapat bereaksi dengan radikal bebas DPPH. Proses berjalannya reaksi tersebut ditandai dengan perubahan warna sampel seduhan teh dan teh kombucha yang awalnya ungu menjadi warna kuning. Perubahan warna tersebut menandakan pada masing-masing konsentrasi memiliki kemampuan sebagai antioksidan. Radikal bebas DPPH yang memiliki elektron tidak berpasangan akan memberikan warna ungu. Pada saat elektronnya berpasangan warna larutan akan berubah menjadi kuning. Perubahan intensitas warna ungu menjadi kuning karena adanya peredaman radikal bebas yang dihasilkan oleh bereaksinya molekul DPPH dengan atom hidrogen yang dilepas oleh molekul senyawa sampel sehingga terbentuk senyawa *diphenyl picrylhydrazil*. Reaksi ini menyebabkan terjadinya peluruhan warna dari ungu menjadi kuning. Perubahan warna tersebut menyebabkan penurunan nilai absorbansi pada setiap peningkatan konsentrasi [22,24].

### Hasil Analisis Peredaman Radikal Bebas DPPH

Kemampuan aktivitas antioksidan tiap sampel diukur pada menit ke 10-14 sebagai penurunan serapan larutan radikal bebas DPPH (peredaman radikal bebas) akibat adanya penambahan larutan sampel, nilai serapan larutan radikal bebas DPPH sebelum dan sesudah penambahan larutan sampel dihitung sebagai persen peredaman. Hasil analisis yang telah dilakukan, diperoleh nilai persen peredaman pada masing-masing konsentrasi.

**Tabel 5.** Hasil Analisis Peredaman Radikal Bebas Sampel dan Vitamin C

| Larutan Uji        | Konsentrasi Larutan uji (ppm) | % Peredaman |
|--------------------|-------------------------------|-------------|
| Seduhan teh hitam  | 0 (Blanko)                    | 0           |
|                    | 20                            | 16,65       |
|                    | 40                            | 22,34       |
|                    | 60                            | 30,82       |
|                    | 80                            | 40,64       |
|                    | 100                           | 44,64       |
| Seduhan teh hijau  | 0 (Blanko)                    | 0           |
|                    | 20                            | 26,31       |
|                    | 40                            | 32,86       |
|                    | 60                            | 39,42       |
|                    | 80                            | 48,57       |
|                    | 100                           | 56,50       |
| Seduhan teh oolong | 0 (Blanko)                    | 0           |
|                    | 20                            | 37,18       |
|                    | 40                            | 44,52       |
|                    | 60                            | 53,24       |
|                    | 80                            | 67,96       |
|                    | 100                           | 72,32       |

|                     |            |       |
|---------------------|------------|-------|
| Kombucha teh hitam  | 0 (Blanko) | 0     |
|                     | 20         | 25,72 |
|                     | 40         | 27,44 |
|                     | 60         | 36,44 |
|                     | 80         | 41,22 |
|                     | 100        | 45,03 |
| Kombucha teh hijau  | 0 (Blanko) | 0     |
|                     | 20         | 20,77 |
|                     | 40         | 39,54 |
|                     | 60         | 54,42 |
|                     | 80         | 72,56 |
|                     | 100        | 83,43 |
| Kombucha teh oolong | 0 (Blanko) | 0     |
|                     | 20         | 45,86 |
|                     | 40         | 59,32 |
|                     | 60         | 73,77 |
|                     | 80         | 82,18 |
|                     | 100        | 89,16 |
| Vitamin C           | 0 (Blanko) | 0     |
|                     | 1          | 25,99 |
|                     | 2          | 33,18 |
|                     | 3          | 46,72 |
|                     | 4          | 57,36 |
|                     | 5          | 76,33 |

Berdasarkan Tabel 5 dapat disimpulkan bahwa semakin kecil konsentrasi larutan uji maka semakin kecil persen peredaman DPPH. Tinggi rendahnya aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh berbagai faktor diantaranya adalah sifatnya yang mudah rusak bila terpapar oksigen, cahaya, suhu, dan pengeringan.

Proses fermentasi kombucha melibatkan interaksi kompleks antara mikroorganisme dalam *Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast* (SCOBY) dan senyawa polifenol dalam teh. Selama fermentasi, beberapa mekanisme kunci berkontribusi terhadap peningkatan aktivitas antioksidan:

#### 1. Hidrolisis Enzimatis Polifenol Kompleks

Mikroorganisme dalam SCOBY, terutama *Acetobacter* dan *Komagataeibacter*, menghasilkan enzim-enzim seperti  $\beta$ -glukosidase, tannase, dan polifenol oksidase [25]. Enzim-enzim ini memecah polimer polifenol (misalnya, thearubigin dan theaflavin dalam teh hitam) menjadi senyawa fenolik sederhana seperti asam galat, katekin, dan epikatekin, yang memiliki kapasitas antioksidan lebih tinggi [26].

#### 2. Pembentukan Metabolit Sekunder Bioaktif

Fermentasi menghasilkan senyawa-senyawa baru seperti asam organik (asam glukuronat, asam asetat, dan asam D-sakarat) yang bersinergi dengan polifenol untuk meningkatkan aktivitas penangkapan radikal bebas [27]. Selain itu, asam asetat yang dihasilkan oleh *Acetobacter* dapat menstabilkan senyawa fenolik dan mencegah degradasinya [28].

#### 3. Peningkatan Bioavailabilitas Senyawa Fenolik

Proses fermentasi mengurangi ukuran molekul senyawa fenolik melalui glikosilasi atau dekarboksilasi, sehingga meningkatkan kelarutan dan penyerapannya dalam tubuh [26,28,29]. Misalnya, epigallocatechin gallate (EGCG) dalam teh hijau dapat diubah menjadi senyawa turunan yang lebih kecil tetapi lebih aktif, seperti epigallocatechin (EGC) [26].

#### 4. Peran Ragi dalam Modifikasi Struktur

Ragi seperti *Saccharomyces cerevisiae* menghasilkan enzim yang mengubah gula dan polifenol menjadi senyawa volatil dan turunan fenolik dengan aktivitas antioksidan lebih tinggi [25]. Contohnya, konversi katekin menjadi pigmen melanoidin selama fermentasi, yang memiliki sifat antioksidan kuat [27].

### Hasil Analisis Nilai IC<sub>50</sub>

Aktivitas antioksidan pada metode DPPH dinyatakan dengan IC<sub>50</sub> (*Inhibitory Concentration*) dimana IC<sub>50</sub> merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel (ppm) yang mampu meredam radikal bebas

sebesar 50%. Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  menunjukkan semakin tinggi aktivitas peredaman radikal bebasnya. Sebaliknya, jika nilai  $IC_{50}$  semakin besar maka semakin rendah pula aktivitas peredaman radikal bebasnya. Aktivitas antioksidan dapat dibagi menjadi kategori sangat kuat, kuat, sedang, lemah, dan sangat lemah. Antioksidan dikatakan sangat kuat apabila memiliki nilai  $IC_{50}$  kurang dari 50  $\mu\text{g/mL}$ , antioksidan dikategorikan kuat jika memiliki nilai  $IC_{50}$  50-100  $\mu\text{g/mL}$ , antioksidan dikategorikan sedang jika memiliki nilai  $IC_{50}$  100-150  $\mu\text{g/mL}$ , antioksidan dikategorikan lemah jika memiliki nilai  $IC_{50}$  151-200 dan nilai  $IC_{50}$  lebih dari 200  $\mu\text{g/mL}$  merupakan antioksidan berkategori sangat lemah [30].

Nilai  $IC_{50}$  diperoleh persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi sampel uji dengan persen peredaman DPPH sebagai parameter aktivitas antioksidan, dimana konsentrasi larutan uji (ppm) sebagai absis (sumbu x) dan nilai % peredaman sebagai ordinat (sumbu y). Hasil analisis nilai  $IC_{50}$  uji aktivitas antioksidan seduhan teh (teh hitam, teh hijau dan teh oolong), kombucha teh hitam, kombucha teh hijau, dan kombucha teh oolong dan vitamin C dapat dilihat pada Tabel 6.

**Tabel 6.** Hasil Persamaan Regresi Linear, Nilai  $IC_{50}$  Sampel dan Vitamin C

| No. | Larutan Uji         | Persamaan Regresi     | $IC_{50}$  | Kategori    |
|-----|---------------------|-----------------------|------------|-------------|
| 1   | Seduhan teh hitam   | $y = 0,401x + 9,2602$ | 105,68 ppm | Sedang      |
| 2   | Seduhan teh hijau   | $Y = 0,8514x + 3,048$ | 81,59 ppm  | kuat        |
| 3   | Seduhan teh oolong  | $Y = 0,8082x + 4,816$ | 56,25 ppm  | Kuat        |
| 4   | Kombucha teh hitam  | $Y = 0,4339x + 4,131$ | 101,60 ppm | sedang      |
| 5   | Kombucha teh hijau  | $Y = 0,5085x + 8,551$ | 55,82 ppm  | kuat        |
| 6   | Kombucha teh oolong | $Y = 0,6655x + 12,19$ | 39,69 ppm  | Sangat kuat |
| 7   | Vitamin C           | $= 13,979x + 4,9806$  | 3,22 ppm   | Sangat kuat |

Berdasarkan data pada Tabel 6, terlihat perbedaan aktivitas antioksidan antara seduhan teh biasa dan kombucha. Seduhan teh hitam menunjukkan nilai  $IC_{50}$  105,68 ppm (kategori sedang), sedangkan teh hijau dan oolong masing-masing memiliki nilai 81,59 ppm (kuat) dan 56,25 ppm (kuat). Pada produk kombucha, teh hitam mencapai 101,60 ppm (sedang), teh hijau 55,82 ppm (kuat), dan teh oolong mencatat nilai terbaik sebesar 39,69 ppm (sangat kuat). Sebagai pembanding, vitamin C menunjukkan aktivitas antioksidan terkuat dengan nilai  $IC_{50}$  3,22 ppm. Kombucha berbahan dasar teh oolong menonjol dengan nilai  $IC_{50}$  39,69 ppm, yang secara signifikan lebih baik dibandingkan kombucha teh hijau (55,82 ppm) dan teh hitam (101,60 ppm). Dibandingkan dengan seduhan teh oolong biasa (56,25 ppm), proses fermentasi berhasil meningkatkan aktivitas antioksidan sebesar 29,5%. Meski demikian, masih terdapat gap yang cukup besar dengan vitamin C sebagai standar emas antioksidan (3,22 ppm). Temuan ini mengungkap dua hal penting: pertama, teh oolong merupakan bahan baku optimal untuk produksi kombucha berkualitas antioksidan tinggi; kedua, proses fermentasi memegang peranan krusial dalam meningkatkan potensi antioksidan alami dari teh. Hasil ini membuka peluang pengembangan produk kombucha fungsional dengan aktivitas antioksidan unggul [31].

Kombucha teh hitam, teh hijau dan teh oolong mengalami kenaikan nilai  $IC_{50}$  dengan masa fermentasi selama 10 hari. Hal ini dapat terjadi karena selama proses fermentasi, kandungan senyawa metabolit dan asam-asam organik jumlahnya akan meningkat. Aktivitas antioksidan pada kombucha dipengaruhi oleh beberapa faktor, yakni lama fermentasi, varietas substrat teh yang dipakai dan mikroorganisme yang digunakan sebagai kultur pada kombucha [20].

Hasil penelitian ini mengungkapkan bahwa kombucha teh oolong menunjukkan aktivitas antioksidan superior dengan nilai  $IC_{50}$  39,69 ppm, yang secara signifikan lebih baik dibandingkan temuan sebelumnya untuk teh oolong (48,68-51,07  $\mu\text{g/mL}$ ) oleh Khaerah dan Akbar (2019) [32]. Perbedaan ini mungkin disebabkan oleh variasi strain kultur simbiosis bakteri dan ragi (SCOBY) serta durasi fermentasi yang lebih singkat (7 hari) pada penelitian kami dibandingkan penelitian referensi (14 hari) [25]. Pola umum yang konsisten terlihat dimana teh oolong menghasilkan kombucha dengan aktivitas antioksidan lebih baik daripada teh hitam pada berbagai penelitian [28]. Ketika dibandingkan dengan jenis kombucha lain, kombucha teh oolong dalam penelitian ini menunjukkan performa lebih baik daripada kombucha berbasis kopi (134,48-172,61  $\mu\text{g/mL}$ ) [33], namun masih kalah dibandingkan kombucha yang diperkaya roselle (7,60-10,01 mg/L) [34]. Temuan menarik menunjukkan bahwa seduhan teh oolong tanpa fermentasi (56,25 ppm) sudah memiliki aktivitas lebih baik daripada kombucha teh hitam (101,60 ppm), menguatkan bukti bahwa teh oolong alami kaya akan senyawa antioksidan seperti theasinensin [26]. Proses fermentasi berhasil meningkatkan aktivitas antioksidan teh

oolong sebesar 29,5%, meskipun masih terdapat gap yang signifikan dibandingkan vitamin C sebagai standar (3,22 ppm) [29]. Hasil ini menyoroti pentingnya pemilihan bahan baku dan optimasi proses fermentasi untuk menghasilkan kombucha dengan aktivitas antioksidan optimal [27], serta potensi pengembangan formula kombucha hybrid dengan penambahan bahan fungsional seperti roselle untuk meningkatkan khasiat antioksidannya [35].

## Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa proses fermentasi kombucha secara umum meningkatkan kadar fenolik total dan aktivitas antioksidan dibandingkan seduhan teh biasa. Kadar fenolik total tertinggi ditemukan pada kombucha teh oolong (64,299 mgGAE/g), diikuti kombucha teh hijau (58,581 mgGAE/g), dan kombucha teh hitam (39,264 mgGAE/g). Pola serupa terlihat pada aktivitas antioksidan, dimana kombucha teh oolong menunjukkan aktivitas sangat kuat ( $IC_{50}$  39,69 ppm), diikuti kombucha teh hijau ( $IC_{50}$  55,82 ppm). Namun, terdapat pengecualian penting dimana seduhan teh oolong tanpa fermentasi ( $IC_{50}$  56,25 ppm) ternyata lebih aktif secara antioksidan dibandingkan kombucha teh hitam ( $IC_{50}$  101,60 ppm). Temuan ini mengindikasikan bahwa selain proses fermentasi, jenis teh dasar (oolong, hijau, atau hitam) juga berperan signifikan dalam menentukan aktivitas antioksidan. Vitamin C sebagai pembanding tetap menunjukkan aktivitas antioksidan terkuat ( $IC_{50}$  3,22 ppm). Peningkatan aktivitas antioksidan pada kombucha diduga berasal dari metabolit hasil fermentasi, namun keunggulan seduhan teh oolong menunjukkan bahwa kandungan alami senyawa bioaktif dalam teh tertentu dapat memberikan pengaruh yang lebih besar dibanding efek fermentasi pada jenis teh lainnya.

## Conflict of Interest

Penelitian ini dilakukan secara mandiri dan objektif tanpa konflik kepentingan atau pengaruh eksternal.

## Acknowledgment

Keberhasilan penelitian ini didukung oleh berbagai pihak. Kami mengucapkan terima kasih khusus kepada Universitas Muslim Nusantara atas bantuan dan fasilitas yang diberikan.

## Supplementary Materials

## Referensi

- [1] Roy S, Roy L, Das N. Peeping into The Kettle: A Review on the Microbiology of "Made Tea." International Journal of Pharmacy and Biological Sciences-IJPBS TM 2019;9.
- [2] Huang H, Han GY, Jing LP, Chen ZY, Chen YM, Xiao SM. Tea consumption is associated with increased bone strength in middle-aged and elderly Chinese women. Journal of Nutrition, Health and Aging 2018;22:216–21. <https://doi.org/10.1007/s12603-017-0898-z>.
- [3] Venegas CA, Saona LA, Urbina K, Quintrel P, Peña TA, Mardones W, et al. Addition of *Saccharomyces eubayanus* to SCOBY fermentations modulates the chemical and volatile compound profiles in kombucha. Food Microbiol 2023;116:104357. <https://doi.org/10.1016/J.FM.2023.104357>.
- [4] Villarreal-Soto SA, Beaufort S, Bouajila J, Souchard JP, Taillandier P. Understanding Kombucha Tea Fermentation: A Review. J Food Sci 2018;83:580–8. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14068>.
- [5] Ivanišová E, Meňhartová K, Terentjeva M, Harangozo L, Kántor A, Kačániová M. The evaluation of chemical, antioxidant, antimicrobial and sensory properties of kombucha tea beverage. J Food Sci Technol 2020;57:1840–6. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04217-3>.
- [6] Fibrianto K, Zubaidah E, Muliandari NA, Wahibah LY, Putri SD, Legowo AM, et al. Antioxidant activity optimisation of young Robusta coffee leaf kombucha by modifying fermentation time and withering pre-treatment. IOP Conf Ser Earth Environ Sci 2020;475. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/475/1/012029>.

- [7] Sawiji RT, Elisabeth Oriana Jawa La. Formulasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Sediaan Body Butter Ekstrak Etanol Umbi Bit (*Beta vulgaris* L.) Dengan Metode DPPH. *Jurnal Ilmiah Manuntung* 2022;8:173–80. <https://doi.org/10.51352/jim.v8i1.533>.
- [8] Purnami KI, Jambe AA, Wisaniyasa NW. Pengaruh jenis teh terhadap karakteristik teh kombucha. *Jurnal Itepa* 2018;7.
- [9] Khaerah A, Akbar F. Aktivitas Antioksidan Teh Kombucha dari Beberapa Varian Teh yang Berbeda. *Prosiding Seminar Nasional LP2M UNM* 2019:472–6.
- [10] Hunandra VS. Penetapan daya antioksidan dan kadar total fenol kombucha dibandingkan teh hijau secara spektrofotometri. *CALYPTRA* 2017;5:435–45.
- [11] Zubaidah E, Afgani CA, Kalsum U, Sriantha I, Blanc PJ. Comparison of in vivo antidiabetes activity of snake fruit Kombucha, black tea Kombucha and metformin. *Biocatal Agric Biotechnol* 2019;17:465–9. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.12.026>.
- [12] Dirjen POM. *Farmakope Indonesia Edisi. IV*. Jakarta: Depkes RI; 1995.
- [13] Depkes RI. *Material Medika Indonesia. Jilid VI*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI; 1995.
- [14] Depkes RI. *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat: Jakarta Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Edisi IV* 2000.
- [15] Wahid AR, Safwan S. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Terhadap Ekstrak Tanaman Ranting Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.). *Lambung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian* 2020;1:24. <https://doi.org/10.31764/lf.v1i1.1208>.
- [16] Septia Ningsih D, Henri H, Roanisca O, Gus Mahardika R. Skrining Fitokimia dan Penetapan Kandungan Total Fenolik Ekstrak Daun Tumbuhan Sapu-Sapu (*Baeckea frutescens* L.). *Biotropika: Journal of Tropical Biology* 2020;8:178–85. <https://doi.org/10.21776/ub.biotropika.2020.008.03.06>.
- [17] Rubianti I, Azmin N, Nasir M. Analisis Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Golka (*Ageratum conyzoides*) Sebagai Tumbuhan Obat Tradisional Masyarakat Bima. *JUSTER: Jurnal Sains Dan Terapan* 2022;1:7–12.
- [18] Suharyanto S, Prima DAN. Penetapan kadar flavonoid total pada juice daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L.) yang berpotensi sebagai hepatoprotektor dengan metode spektrofotometri uv-vis. *Cendekia Journal of Pharmacy* 2020;4:110–9.
- [19] Tahir M, Muflihunna A, Syafrianti S. Penentuan kadar fenolik total ekstrak etanol daun nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) dengan metode spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia* 2017;4:215–8.
- [20] Nisak YK. *Studi Aktivitas Antioksidan Minuman Fermentasi Kombucha: Kajian Pustaka : Study Of Antioxidant Activity of Kombucha Beverage: Literature Review* n.d.
- [21] Jakubczyk K, Kałduńska J, Kochman J, Janda K. Chemical profile and antioxidant activity of the kombucha beverage derived from white, green, black and red tea. *Antioxidants* 2020;9:447.
- [22] Widy Susanti Abdulkadir. Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Jantung Pisang Goroho (*Musa acuminata* L.) Dengan metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education* 2021;1:136–41. <https://doi.org/10.37311/ijpe.v1i3.11371>.
- [23] Rachmani EPN, Pramono S, Nugroho AE. Aktivitas antioksidan fraksi flavonoid bebas andrografolid dari herba sambiloto (*andropogon paniculata*). *Jurnal Farmasi Medica/Pharmacy Medical Journal (PMJ)* 2018;1.
- [24] Salman S, Indriana M. Phytochemical Screening And Efficacy As An Antioxidant From Guava Leaves. *Journal of Pharmaceutical And Sciences* 2021;4:41–7. <https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v4i1.87>.
- [25] Jayabalan R, Malbaša R V, Lončar ES, Vitas JS, Sathishkumar M. A review on kombucha tea — microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2014;13:538–50.
- [26] Wang Y, Shao S, Xu P, Chen H, Lin-Shiau S-Y, Deng Y-T, et al. Fermentation process enhanced production and bioactivities of oolong tea polysaccharides. *Food Research International* 2012;46:158–66.
- [27] Chakravorty S, Bhattacharya S, Chatzinotas A, Chakraborty W, Bhattacharya D, Gachhui R. Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. *International Journal of Food Microbiology* 2016;220:63–72.
- [28] Wang S, Zeng T, Zhao S, Zhu Y, Feng C, Zhan J, et al. Multifunctional health-promoting effects of oolong tea and its products. *Food Science and Human Wellness* 2022;11:512–23. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fshw.2021.12.009>.

- [29] Ivanišová E, Meňhartová K, Terentjeva M, Harangozo L, Kántor A, Kačániová M. The evaluation of chemical, antioxidant, antimicrobial and sensory properties of kombucha tea beverage. *Journal of Food Science and Technology* 2020;57:1840–6.
- [30] Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J Sci Technol* 2004;26:211–9.
- [31] Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal Science Technology* 2004;26:212–9.
- [32] Khaerah A, Akbar F. Aktivitas antioksidan teh kombucha dari beberapa varian teh yang berbeda. *Prosiding Seminar Nasional LP2M UNM*, 2019, p. 472–6.
- [33] Nasution LR, Permata YM, Keliat JM, Pelawi MAT, Ciunardy VK, Seruni TR. Fermentation Effects on Caffeine Content and Chemical Parameters of Kombucha Coffee Cascara. *International Journal of Applied Pharmaceutics* 2024;16:11–6. <https://doi.org/10.22159/ijap.2024v16s4.52252>.
- [34] Setyaningsih W, Warni WORS, Larasati ID, Yanti R, Utami T. Bioprocess strategies for maximizing SCOBY growth and evaluating fermentation dynamics on phenolic content and antioxidant activity in Roselle-based Kombucha. *Phytomedicine Plus* 2025;5. <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2025.100791>.
- [35] Sutthiphatkul T, Mangmool S, Rungjindamai N, Ochaikul D. Characteristics and Antioxidant Activities of Kombucha from Black Tea and Roselle by a Mixed Starter Culture. *Current Applied Science and Technology* 2023;23. <https://doi.org/10.55003/cast.2022.04.23.002>.