

Penetapan Kadar Flavonoid Total dan Uji Aktivitas Antioksidan Kombucha Daun Kitolod (*Isotoma longiflora* L.) Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Elvi Trinovani^{1*}, Mimin Kusmiyati¹, Yayat Sudaryat¹, Raden Minda Kusumah²
Muhamad Iqbal Rhamadianto¹, Ardi Rustamsyah³

¹Jurusan Farmasi, Poltekkes Kemenkes Bandung, Jawa Barat, Indonesia

² Politeknik Bandung, Jawa Barat, Indonesia.

³Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Garut, Jawa Barat, Indonesia.

*Email korespondensi: elvi_nova@yahoo.co.id

DOI: 10.30867/jifs.v5i1.840

ABSTRAK

Penyakit degeneratif menjadi penyebab kematian terbesar di dunia karena penurunan aktivitas fisik dan pola hidup yang disebabkan oleh kerusakan sel akibat reaktivitas senyawa radikal bebas. Radikal bebas dapat dihambat dengan senyawa antioksidan. Salah satu tumbuhan yang memiliki potensi sebagai antioksidan alami yaitu daun kitolod (*Isotoma longiflora* L.) terbukti mengandung senyawa flavonoid yang dapat menghambat radikal bebas. Untuk meningkatkan ketertarikan masyarakat dalam mengonsumsi daun kitolod dibuat minuman tradisional yang difermentasi disebut dengan kombucha. Kadar flavonoid total menggunakan metode kolorimetri, dan aktivitas antioksidan diukur menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) yang selanjutnya dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kadar flavonoid total pada tiga sampel kombucha daun kitolod adalah: sampel A sebesar 1,6481 mg QE/g, sampel B sebesar 1,4056 mgQE/g, sampel C sebesar 1,5380 mg QE/g. Aktivitas antioksidan yang diukur berdasarkan nilai IC₅₀ pada ketiga sampel yaitu 540 ppm (sampel A), 535 ppm (sampel B), dan 539 ppm (sampel C). Penelitian ini membuktikan bahwa kombucha daun kitolod mengandung senyawa flavonoid dan memiliki aktivitas antioksidan.

Kata kunci: antioksidan · daun kitolod · flavonoid total · kombucha · spektrofotometer UV-Vis

ABSTRACT

Degenerative diseases are the leading cause of death worldwide, primarily due to reduced physical activity and unhealthy lifestyle patterns, which lead to cellular damage caused by the reactivity of free radical compounds. Free radicals can be inhibited by antioxidant compounds. One plant that has potential as a natural antioxidant is kitolod leaf (*Isotoma longiflora* L.), which has been proven to contain flavonoid compounds capable of inhibiting free radicals. To increase public interest in consuming kitolod leaves, a traditional fermented beverage called kombucha was developed. The total flavonoid content was measured using the colorimetric method, and the antioxidant activity was evaluated using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method. Both analyses were carried out using a UV-Vis spectrophotometer. The total flavonoid content in three samples of kitolod leaf kombucha was as follows: sample A – 1.6481 mg QE/g, sample B – 1.4056 mg QE/g, and sample C – 1.5380 mg QE/g. The antioxidant activity, expressed as IC₅₀ values, for the three samples was 540 ppm (sample A), 535 ppm (sample B), and 539 ppm (sample C), respectively. This study demonstrates that kitolod leaf kombucha contains flavonoid compounds and exhibits antioxidant activity.

Keywords: antioxidants · kitolod leaves · kombucha · spectrophotometer UV-Vis · total flavonoids

PENDAHULUAN

World Health Organization (WHO) menyatakan jika penyakit degeneratif penyebab kematian terbesar di dunia. Penyakit ini telah menjadi epidemik global dan diperkirakan tahun 2020 Penyakit degeneratif menyebabkan 73% kematian di dunia. Berdasarkan hasil penelitian dari *Global Burden of Disease dan Institute for Health Metric and Evaluation* (IHME) di Indonesia, penyebab utama kematian pada tahun 2019 stroke (19,42%), serangan jantung (14,38%), dan diabetes (6,23%).

Penyakit degeneratif ditandai dengan penurunan fungsi sel secara bertahap dan progresif yang mempengaruhi fungsi normal jaringan atau organ dalam tubuh (Zahir-Jouzdan dkk., 2018). Kejadian ini mengakibatkan adanya perubahan sel tanpa disadari oleh masyarakat. Masyarakat baru memeriksakan diri setelah timbul gejala. Kondisi ini bersifat kronis dan tidak menular (Turana dkk., 2022). Sel secara rutin menghasilkan radikal bebas dan kelompok oksigen reaktif (*reactive oxygen*

species/ROS) yang merupakan bagian dari proses metabolisme (Renaudin, 2021). Mekanisme radikal bebas telah terlibat dalam patologi beberapa penyakit manusia, termasuk kanker, aterosklerosis, malaria, dan artritis rheumatoid serta penyakit *neurodegenerative* (Wilson dkk., 2023).

Radikal bebas dapat dihentikan oleh senyawa antioksidan. Aktivitas antioksidan didefinisikan sebagai pembatasan oksidasi protein, lipid, DNA atau molekul lain yang terjadi dengan menghalangi tahap propagasi dalam reaksi rantai oksidatif dan antioksidan primer secara langsung membersihkan radikal bebas, sedangkan antioksidan sekunder secara tidak langsung mencegah pembentukan radikal bebas (Chaudhary dkk., 2023).

Senyawa antioksidan terbagi menjadi dua jenis, yaitu antioksidan alami dan sintetis. Antioksidan alami diperoleh dari berbagai sumber seperti buah-buahan, sayuran, teh hijau, dan rempah-rempah yang mengandung senyawa seperti vitamin C, vitamin E, flavonoid, serta karotenoid. Antioksidan sintetis diproduksi melalui proses kimia dan banyak dimanfaatkan dalam industri makanan serta farmasi untuk mencegah oksidasi dan memperpanjang masa simpan produk (Böttcher dkk., 2015). Antioksidan alami maupun sintesis berperan dalam melawan radikal bebas, akan tetapi antioksidan alami umumnya lebih aman dikonsumsi dalam jangka panjang dibandingkan dengan antioksidan sintetis, yang penggunaannya harus diawasi agar tidak melebihi batas aman yang telah ditetapkan (Taghvaei & Jafari, 2015).

Salah satu tumbuhan yang memiliki potensi sebagai antioksidan alami yaitu daun Kitolod dengan nama latin *Isotoma longiflora* L. Hasil uji fitokimia ekstrak etanol daun kitolod terbukti mengandung senyawa alkaloid, saponin, flavonoid, dan polifenol (Hariana, 2008). Senyawa antioksidan pada ekstrak etanol daun kitolod terbanyak terdapat pada bagian daun, sedangkan senyawa antioksidan terendah terdapat pada bagian akar (Egarani dkk., 2020). Pada penelitian lainnya membuktikan ekstrak daun kitolod positif mengandung senyawa kimia alkaloid dan flavonoid dengan metode maserasi (Fazil dkk., 2017). Daun, bunga dan buah tumbuhan kitolod memiliki senyawa antioksidan dengan nilai antioksidan tertinggi terdapat pada daun (Lestari dkk., 2024).

Pemanfaatan tanaman kitolod dapat diolah menjadi perasan, seduhan, rebusan (Dewi dkk., 2023). Kurangnya pengetahuan tentang manfaat daun kitolod masih terbatas bahkan tidak memiliki nilai ekonomis. Untuk meningkatkan nilai ekonomis dari daun kitolod maka dibuat teh kombucha daun kitolod. Kombucha merupakan minuman hasil fermentasi cairan teh dan gula (Antolak dkk., 2021). Fermentasi kombucha berlangsung dengan bantuan aktivitas bakteri dan khamir. Kombucha memiliki khasiat yang sangat bermanfaat sebagai antioksidan, antibakteri, meningkatkan ketahanan tubuh dan menurunkan tekanan darah (Zhao dkk., 2019). Selain itu, daun kitolod memiliki rasa yang pahit sedangkan teh kombucha memiliki rasa asam manis yang disukai semua kalangan sehingga jika menggunakan kombucha daun kitolod dapat menutupi rasa pahit dari daun kitolod (Suhardini & Zubaidah, 2016). Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menetapkan kadar flavonoid dan aktivitas antioksidan pada teh kombucha daun kitolod menggunakan spektrofotometer UV-Vis, sehingga hasilnya dapat memberikan informasi ilmiah yang mendukung pemanfaatan daun kitolod sebagai obat herbal bagi masyarakat.

METODE PENELITIAN

Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman kitolod (*Isotoma longiflora* L.) dalam penelitian dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Padjajaran.

Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia tanaman kitolod melalui proses sortasi kering dan basah selanjutnya di simpan dalam suhu kamar selama 4 minggu. Selanjutnya simplisia yang telah kering ditimbang, lalu dihaluskan menggunakan blender dan diayak menggunakan ayakan mesh No.40 (Ramayani et al., 2023).

Pembuatan Kombucha

Air sebanyak tiga liter dimasukkan kedalam beaker glass dan dipanaskan menggunakan *hotplate* hingga mendidih. Setelah itu, gula pasir sebanyak 10% dari volume air ditambahkan dan diaduk hingga larut. Serbuk daun kitolod sebanyak 10 gram kemudian dimasukkan pada suhu 50°C dan diaduk hingga homogen. Filtrat hasil rebusan didinginkan hingga suhu 30°C, lalu disaring menggunakan kertas saring hingga diperoleh tiga kelompok filtrat. Masing-masing kelompok filtrat kemudian ditambahkan SCOBY sebanyak 500 gram dan starter kultur sebanyak 100 mL. Wadah fermentasi berupa toples kaca ditutup dengan kain penutup yang diikat menggunakan karet agar terhindar dari kontaminasi udara. Proses fermentasi dilakukan selama 7 hari pada suhu ruang, kemudian hasil fermentasi dianalisis sesuai dengan parameter yang telah ditetapkan (Wang dkk., 2022).

Skrining Fitokimia

Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan metode Bate-Smith, HCl pekat ditambahkan ke dalam sampel, lalu campuran dipanaskan di atas penangas air. Perubahan positif ditunjukkan dengan munculnya warna merah pada larutan (Hanani, 2019). Selanjutnya menggunakan metode Wilstätter, sampel ditambahkan HCl pekat sebanyak 2 tetes, ditambahkan 0,1 mg serbuk magnesium dan dikocok. Perubahan positif ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi kuning hingga jingga (Cholidah dkk., 2020)

Uji Alkaloid

Sampel sebanyak 5 mL diambil, kemudian ditambahkan 1 mL HCl 2N dan 10 mL air. Larutan tersebut dipanaskan menggunakan penangas air selama 2 menit, lalu disaring dan dibagi menjadi tiga bagian yang masing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Setiap tabung reaksi ditambahkan pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, dan pereaksi Dragendorff. Hasil positif pada pereaksi Mayer ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna putih, sedangkan pada pereaksi Wagner ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna coklat. Sementara itu, hasil positif pada pereaksi Dragendorff ditandai dengan perubahan warna menjadi merah jingga (Desi Suyono Saputri et al., 2023).

Uji Saponin

Sampel sebanyak 3 mL diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, larutan dikocok dengan kuat selama 10 detik. Setelah itu, HCl 2N ditambahkan ke dalam tabung reaksi. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya busa yang tetap bertahan selama 30 detik (Alfian et al., 2022).

Uji Tanin

Sampel sebanyak 5 mL diambil, kemudian ditetesi dengan FeCl₃ 1% dan gelatin 10%. Hasil positif ditandai dengan perubahan warna menjadi biru kehitaman atau hijau kecokelatan (Yuningtyas dkk., 2021).

Penetapan pH

Sebanyak 5 mL sampel diambil, lalu ditambahkan FeCl₃ 1% dan gelatin 10%. Hasil positif ditunjukkan oleh perubahan warna menjadi biru kehitaman atau hijau kecokelatan.

Validasi Metode Analisis

Validasi metode analisis yang dilakukan meliputi uji linearitas, batas kuantifikasi (LOQ), batas deteksi (LOD), akurasi, dan presisi (Sukmawati, 2018).

Penetapan Kandungan Flavonoid

Penentuan panjang gelombang maksimum kuersetin

Larutan kuersetin 30 ppm sebanyak 0,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1,5 mL etanol p.a, 0,1 mL AlCl_3 10%, dan 0,1 mL natrium asetat 0,1 M. Setelah itu, 1,8 mL aquadest ditambahkan, lalu larutan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang dan absorbansinya diukur pada rentang panjang gelombang 400-800 nm.

Penentuan operating time flavonoid

Larutan induk kuersetin 30 ppm sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian 1 mL metanol p.a, 0,1 mL AlCl_3 10%, dan 0,1 mL natrium asetat 0,1 M ditambahkan. Selanjutnya, 1,8 mL aquadest ditambahkan, lalu absorbansi diukur pada panjang gelombang 438 nm dengan interval waktu 5 menit selama 45 menit hingga nilai absorbansi stabil.

Penetapan flavonoid total pada kombucha daun kitolod

Sebanyak 1 mL sampel kombucha daun kitolod dengan konsentrasi 10.000 ppm dipipet, kemudian ditambahkan 1 mL metanol, 0,1 mL AlCl_3 10%, 0,1 mL natrium asetat 1 M, dan 1,8 mL aquadest. Larutan dikocok hingga homogen dan diinkubasi selama 30 menit. Selanjutnya, absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum, kemudian kadar flavonoid dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\text{Flavonoid} = \frac{c.v.fp}{g} \quad (1)$$

Keterangan:

- c = konsentrasi flavonoid (nilai x)
- v = volume kombucha daun kitolod yang digunakan (mL)
- fp = faktor pengenceran
- g = berat sampel yang digunakan

Uji Aktivitas Antioksidan

Sebanyak 2 mL kombucha daun kitolod dengan konsentrasi 200, 400, 600, 800, dan 1000 ppm ditambahkan ke dalam 2 mL larutan DPPH 1000 ppm, kemudian larutan tersebut dikocok hingga homogen dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar dalam kondisi gelap. Setelah itu, absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang maksimum. Perlakuan yang sama dilakukan pada larutan baku pembanding kuersetin, di mana sebanyak 2 mL larutan DPPH 1000 ppm ditambahkan ke dalam 2 mL larutan kuersetin dengan konsentrasi masing-masing 1, 2, 3, 4, dan 5 ppm (Aulianshah & Handayani, 2024). Selanjutnya, absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang maksimum dan dianalisis menggunakan persen inhibisi serta IC_{50} :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi DPPH} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi DPPH}} \times 100\% \quad (2)$$

$$\text{IC}_{50} = \frac{50 - \text{intercept } (a)}{\text{slope } (b)} \quad (3)$$

Analisis Data

Perhitungan kadar dilakukan berdasarkan absorbansi sampel dan standar yang diperoleh. Data absorbansi hasil pengukuran sampel dan standar digunakan untuk membentuk persamaan regresi. Persamaan regresi tersebut diterapkan untuk menentukan kadar flavonoid dan aktivitas antioksidan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil determinasi menunjukkan bahwa tumbuhan yang digunakan sebagai bahan penelitian adalah *Isotoma longiflora* L. yang berasal dari famili Campanulaceae. Determinasi dilakukan dengan cara mencocokkan ciri-ciri tanaman yang digunakan dengan tanaman yang ada di buku *An Integrated System of Classification of Flowering Plants* dan *Flora of Java* serta berdasarkan *Website Dunia Tumbuhan* (Anderson & Cronquist, 1982; Backer & van den Brink, 1966).

Simplisia yang telah diketahui kebenarannya lalu mengalami proses sortasi basah untuk menghilangkan kotoran, diikuti pencucian, perajangan, dan pengeringan dengan diangin-anginkan selama 4 minggu tanpa paparan matahari langsung. Setelah sortasi kering, daun kering ditimbang (0,4 kg), dihaluskan dengan blender, dan diayak menggunakan mesh No.40 untuk memperkecil ukuran dan meningkatkan luas permukaan.

Hasil skrining fitokimia terdapat pada Tabel 1. Pengujian flavonoid pada kombucha daun kitolod sebelum dan setelah fermentasi 7 hari menunjukkan hasil positif. Pada uji Bate-Smith, penambahan HCl pekat dan pemanasan di penangas air menyebabkan perubahan warna larutan menjadi merah, yang mengindikasikan adanya flavonoid. Reaksi ini terjadi karena HCl mereduksi inti benzopiron dalam struktur flavonoid (Dwitiyanti D dkk., 2019). Uji Wilstater yang melibatkan penambahan HCl dan serbuk magnesium juga menunjukkan hasil positif, ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi kuning jingga akibat reduksi senyawa flavonoid (Arifin dkk., 2018).

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia kombucha daun kitolod

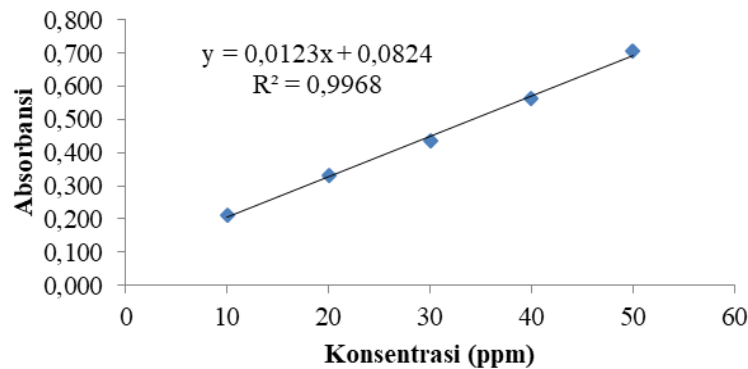
Senyawa	Metode	Waktu Fermentasi	
		Sebelum fermentasi	Fermentasi hari ke 7
Flavonoid	Bate smith metchalf (HCl pekat + dipanaskan)	Positif	Positif
	Wilstater (Mg + HCl pekat)	Positif	Positif
Alkaloid	Mayer ($H_gCl_2 + KI$)	Negatif	Negatif
	Dragendorff ($Bi(NO_3)_3 + KI$)	Positif	Positif
	Wagner ($KI + I_2$)	Positif	Positif
Saponin	Aquadest + HCl 2N	Positif	Positif
Tanin	$FeCl_3$	Positif	Positif

Uji alkaloid dengan pereaksi Mayer menunjukkan hasil negatif, ditandai dengan larutan tetap bening tanpa endapan putih, yang mengindikasikan kandungan alkaloid yang rendah. Namun, uji Dragendorff menunjukkan hasil positif dengan perubahan warna merah jingga, sedangkan uji Wagner menghasilkan endapan coklat muda hingga kuning, yang diduga merupakan kompleks kalium-alkaloid (Marliana dkk., 2005). Pengujian saponin memberikan hasil positif dengan terbentuknya buih stabil setinggi 3 cm dalam waktu sekitar 10 menit. Ini menunjukkan terdapat senyawa glikosida yang bersifat amfifilik (Góral & Wojciechowski, 2020). Sementara itu, uji tanin dengan $FeCl_3$ 10% menunjukkan perubahan warna larutan menjadi hijau kehitaman, yang menandakan adanya senyawa tanin yang mengalami hidrolisis (Sianipar dkk., 2024).

Tabel 2. Nilai pH Kombucha Daun Kitolod

Waktu Fermentasi	Nilai pH		
	A	B	C
Starter kombucha	2,51	2,51	2,51
Sebelum fermentasi	3,02	3,01	3,06
Setelah fermentasi 7 hari	2,22	2,51	2,51

Berdasarkan data pada Tabel 2, nilai pH kombucha dari daun kitolod sebelum fermentasi tercatat masing-masing sebesar 3,02; 3,01 dan 3,06. Setelah proses fermentasi selama 7 hari, nilai pH mengalami penurunan menjadi 2,22; 2,51 dan 2,51, yang masih berada dalam rentang pH sekitar 3. Penurunan pH ini umum terjadi selama fermentasi yang lebih lama, dimana setelah 7 hari fermentasi, nilai pH dapat berada dalam kisaran 2,0 hingga 4,0, bahkan bisa turun di bawah 2,0 (Laureys dkk., 2020). Pada tahap awal fermentasi, penurunan pH terjadi akibat aktivitas bakteri dan ragi yang mengubah sukrosa menjadi asam organik.



Gambar 1. Persamaan regresi linier

Validasi metode analisis dengan parameter linearitas menggunakan spektrofotometer UV-Vis menghasilkan persamaan regresi linier yang terdapat pada Gambar 1 yaitu $y = 0,0123x + 0,084$ dengan koefisien korelasi $r = 0,9984$, yang memenuhi syarat keberterimaan $\geq 0,98$ (Alwi, 2017). Sensitivitas metode diuji melalui LoD dan LoQ yang dihitung dari kurva kalibrasi standar, menghasilkan nilai LoD sebesar $3,17198 \mu\text{g/mL}$ dan LoQ sebesar $10,57325 \mu\text{g/mL}$, yang lebih kecil dari konsentrasi analit terendah, sehingga metode ini dinilai akurat dalam deteksi dan kuantifikasi analit (Harmita, 2004). Akurasi diuji melalui persen perolehan kembali (*recovery*), dengan hasil rata-rata 101,22% yang masih dalam rentang keberterimaan 95-105%. Selain itu, uji presisi yang dilakukan dengan enam kali ulangan menggunakan konsentrasi standar 30 ppm menunjukkan nilai *Relative Standard Deviation* (% RSD) sebesar 0,3515, yang memenuhi batas ketelitian yang baik yaitu 1-2%. Metode spektrofotometer UV-Vis yang digunakan dalam penelitian ini terbukti memiliki tingkat linieritas, sensitivitas, akurasi, dan presisi yang tinggi dalam analisis kombucha daun kitolod.

Penentuan *operating time* bertujuan untuk menentukan waktu inkubasi optimal dalam pengujian flavonoid, dengan mengukur absorbansi larutan pada panjang gelombang maksimum setiap 5 menit hingga 45 menit (Nur Pratiwi dkk., 2022). Hasil pengujian menunjukkan bahwa absorbansi stabil pada menit ke-30, sehingga waktu inkubasi yang digunakan dalam pengujian flavonoid adalah 30 menit.

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk mendapatkan nilai absorbansi tertinggi yang akurat dalam pengukuran flavonoid, dengan hasil 438 nm yang digunakan dalam analisis kombucha daun kitolod. Skrining fitokimia menunjukkan keberadaan flavonoid, sehingga analisis kuantitatif dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis, karena flavonoid memiliki sistem aromatik terkonjugasi yang menyerap kuat pada spektrum ultraviolet dan cahaya tampak. Kadar flavonoid total ditetapkan dengan metode kolorimetri melalui reaksi AlCl_3 dengan gugus keto dan hidroksi dari flavon serta flavonol, membentuk kompleks berwarna kuning. Penambahan natrium asetat berfungsi mempertahankan panjang gelombang pada spektrum cahaya tampak (Suwartini dkk., 2021).

Kuersetin digunakan sebagai standar karena memiliki aktivitas antioksidan tinggi dan dapat membentuk kompleks warna dengan AlCl_3 , menyebabkan pergeseran panjang gelombang ke spektrum cahaya tampak. Standar kuersetin dibuat dalam konsentrasi 1-5 ppm berdasarkan hukum Lambert-Beer, dengan panjang gelombang maksimum 438 nm dan waktu inkubasi stabil pada menit ke-30. Analisis menggunakan metode kolorimetri dengan AlCl_3 menunjukkan kadar flavonoid total kombucha daun kitolod yang terdapat pada Tabel 3. sebesar 1,6481 mgQE/g untuk sampel A, 1,4056 mgQE/g untuk sampel B, dan 1,5380 mgQE/g untuk sampel C.

Tabel 3. Penetapan kadar flavonoid total

Sampel	Berat (g)	Volume (L)	Absorbansi	Kadar Flavonoid Total (mgQE/g)	Kadar Flavonoid Total (%)
A	10	1	0,296	1,6481	0,1648
B	10	1	0,267	1,4056	0,1406
C	10	1	0,283	1,5380	0,1538

Penetapan aktivitas antioksidan dilakukan panjang gelombang maksimum larutan DPPH yaitu 515 nm. Selanjutnya, fermentasi kombucha daun kitolod selama 7 hari dilakukan untuk mengoptimalkan kandungan vitamin C dan senyawa bioaktif yang bermanfaat. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH, yang mengukur penurunan absorbansi akibat reduksi DPPH oleh senyawa antioksidan. Perubahan warna dari ungu menjadi kekuningan menunjukkan keberhasilan reaksi reduksi oleh senyawa antioksidan (Nasir et al., 2024).

Berdasarkan hasil penelitian, nilai IC_{50} kombucha daun kitolod sampel A, B dan C secara berturut - turut sebesar 540, 535, dan 539 ppm sedangkan senyawa standar kuersetin menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 3,70 ppm. Peningkatan aktivitas antioksidan ini disebabkan oleh pengaruh suhu dan waktu fermentasi yang membuat senyawa fenolik lebih stabil dan sulit melepaskan proton untuk berikatan dengan DPPH (Bhat, 2012). Semakin kecil nilai IC_{50} , menunjukkan peningkatan aktivitas antioksidan.

Tabel 4. Penetapan aktivitas antioksidan

Sampel/Pembanding	%Inhibisi	IC_{50} (ppm)
A	53,93	540
B	53,99	535
C	54,19	539
Kuersetin	41,44	3,70

KESIMPULAN

Kadar flavonoid total pada kombucha daun kitolod (*Isotoma longiflora* L.) pada sampel A yaitu 1,6481 mgQE/g, sampel B 1,4056 mgQE/g dan 1,5380 mgQE/g pada sampel C. Aktivitas antioksidan kombucha daun kitolod memiliki nilai IC_{50} yaitu 540 ppm untuk sampel A, 535 ppm untuk sampel B, dan 539 ppm untuk sampel C. Penelitian ini membuktikan bahwa kombucha daun kitolod mengandung senyawa flavonoid dan memiliki aktivitas antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

Alfian, M., Hasanudin, M. N., & Mujib, M. F. (2022). Uji Sifat Fisik Sediaan Gel Ekstrak Etanol Daun Kitolod. In *Jurnal Ilmiah Farmasi Simplisia, Juni* (Vol. 2022, Issue 1).

- Alwi, H. (2017). *Validasi Metode Analisis Flavonoid dari Ekstrak Etanol Kasumba Turate (Carthamus tinctorius L.) secara Spektrofotometri UV-Vis.* <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:103461752>
- Antolak, H., Piechota, D., & Kucharska, A. (2021). Kombucha Tea: A Double Power of Bioactive Compounds from Tea and Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts (SCOBY). *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 10(10). <https://doi.org/10.3390/antiox10101541>
- Anderson, W. R., & Cronquist, A. (1982). An Integrated System of Classification of Flowering Plants. *Brittonia*, 34(2), 268. <https://doi.org/10.2307/2806386>
- Arifin, B., Ibrahim, S., Kimia, J., Matematika, F., Ilmu, D., & Alam, P. (2018). Struktur, bioaktivitas dan antioksidan flavonoid structure, bioactivity and antioxidant of flavonoid. *Jurnal Zarah*, 6(1), 21–29.
- Aulianshah, V., & Handayani, R. (2024). *Pengaruh waktu pemetikan terhadap kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan ekstrak daun kelor (Moringa oleifera).* In *Jurnal Ilmiah Farmasi Simplisia, Desember* (Vol. 4, Issue 2).
- Backer, C. A., & van den Brink, R. C. B. (1966). Flora of Java. *TAXON*, 15(2). <https://doi.org/10.1002/j.1996-8175.1966.tb00230.x>
- Bhat, R. (2012). Fermentation of black tea broth (Kombucha): I. Effects of sucrose concentration and fermentation time on the yield of microbial cellulose. In *International Food Research Journal* (Vol. 19, Issue 1).
- Böttcher, S., Steinhäuser, U., & Drusch, S. (2015). Off-flavour masking of secondary lipid oxidation products by pea dextrin. *Food Chemistry*, 169, 492–498. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.006>
- Chaudhary, P., Janmeda, P., Docea, A. O., Yeskaliyeva, B., Abdull Razis, A. F., Modu, B., Calina, D., & Sharifi-Rad, J. (2023). Oxidative stress, free radicals and antioxidants: potential crosstalk in the pathophysiology of human diseases. *Frontiers in Chemistry*, 11. <https://doi.org/10.3389/fchem.2023.1158198>
- Cholidah, A. I., Danu, D., & Nurrosyidah, I. H. (2020). *Pengaruh lama waktu fermentasi kombucha rosela (hibiscus sabdariffa l.) terhadap aktivitas antibakteri Escherichia coli.* *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 2(3), 186–210. <https://doi.org/10.33759/jrki.v2i3.10>
- Desi Suyono Saputri, A., Septiani Besthari, N., Studi DIII Farmasi, P., & Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta, S. (2023). Penetapan Kadar Alkaloid Total Pada Ekstrak Kasar Dan Ekstrak Terpurifikasi Bunga Cengkeh (Syzigium aromaticum) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Ilmiah Farmasi Simplisia, Juli*, 2023(1), 28–37.
- Dewi, K. L. M., Suryaningsih, N. P. A., & Reganata, G. P. (2023). Persepsi dan perilaku masyarakat desa suwug terhadap tanaman kitolod sebagai obat konjungtivitis (studi kualitatif). *Journal Transformation of Mandalika*, e-ISSN: 2745-5882, p-ISSN: 2962-2956, 4(7), 24–31.
- Dwitiyanti D, D., Harahap, Y., Elya, B., & Bahtiar, A. (2019). Impact of Solvent on the Characteristics of Standardized Binahong Leaf (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis). *Pharmacognosy Journal*, 11(6s), 1463–1470. <https://doi.org/10.5530/pj.2019.11.226>
- Egarani, G. R., Kasmiyati, S., & Kristiani, E. B. E. (2020). The Antioxidant Content and Activity of Various Plant Organs of Kitolod (Isotoma longiflora). *Biosaintifika*, 12(3), 297–303. <https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v12i3.23888>
- Fazil, M., Nara Suci, R., Allfiah, F., Nur Alam, D., Angelia, G., & Situmeang, B. (2017). *Analisis senyawa alkaloid dan flavonoid dari ekstrak kitolod (isotoma longiflora) dan uji aktivitasnya terhadap bakteri penyebab karies gigi (Analisis of Alkaloid and Flavonoid Compounds from Kitolod Extract (Isotoma longiflora) and Activity Test to Dental Bacteria)* (Vol. 2, Issue 1).
- Góral, I., & Wojciechowski, K. (2020). Surface activity and foaming properties of saponin-rich plant extracts. *Advances in Colloid and Interface Science*, 279, 102145. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102145>

- Hanani, E. (2019). *Analisis fitokimia*. Jakarta: EGC. pp.2
- Hariana, H. A. (2008). *Tumbuhan Obat & Khasiatnya 3*. Niaga Swadaya.
- Harmita, H. (2004). Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 1(3), 117–135. <https://doi.org/10.7454/psr.v1i3.337>
- Laureys, D., Britton, S. J., & De Clippeleer, J. (2020). Kombucha Tea Fermentation: A Review. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 78(3), 165–174. <https://doi.org/10.1080/03610470.2020.1734150>
- Lestari, S., Nur Septiyani, B., Proklamasingih, E., Program studi Biologi, H., Biologi, F., Jenderal Soedirman Jalan dr Soeparno Gendeng, U., Utara, P., & Banyumas, K. (2024). *Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Kitolod (Hippobroma longiflora L.) pada Ketinggian Tempat Tumbuh Berbeda Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Kitolod (Hippobroma longiflora L.) at Different Altitude*. 13(2), 212–218. <https://journal.unesa.ac.id/index.php/lenterabio/index212>
- Marliana, S. D., Suryanti, V., & Suyono, S. (2005). The phytochemical screenings and thin layer chromatography analysis of chemical compounds in ethanol extract of labu siam fruit (Sechium edule Jacq. Swartz.). *Biofarmasi Journal of Natural Product Biochemistry*, 3(1), 26–31. <https://doi.org/10.13057/biofar/f030106>
- Nasir, M., Halimatussakdiah, dan, & Keperawatan Politeknik Kesehatan Kemenkes Aceh, J. (2024). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Beberapa Jenis Bunga dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil). In *Jurnal Ilmiah Farmasi Simplisia, Juni* (Vol. 4, Issue 1)
- Nur Pratiwi, D., Utami, N., Pratimasari, D., Studi, P. S., Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional, S., & Tengah, J. (2022). Characterization and determination of total flavonoid content of extract and fraction of papaya jantan flower (Carica papaya L.) using UV-Vis spectrophotometry Karakterisasi dan penetapan kadar flavonoid total ekstrak dan fraksi bunga pepaya jantan (Carica papaya L.) dengan spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Ilmiah Farmasi (Scientific Journal of Pharmacy)*, 18(2), 219–233. <http://journal.uui.ac.id/index.php/JIF>
- Ramayani, S. L., Septiana, V., Anugerah, M., Waris, A., Farmasi, J., & Surakarta, K. (2023). Pengaruh ukuran partikel serbuk daun kitolod (Isotoma longiflora L.) terhadap kadar total fenolik. *Jurnal FarmasiKoe*, 6(1), 28–32. <https://doi.org/10.31965/jfkoe.v6i1.1156>
- Renaudin, X. (2021). *Reactive oxygen species and DNA damage response in cancer* (pp. 139–161). <https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2021.04.001>
- Sianipar, H. F., Widoretno, W., Hakim, L., Amolia, R. R., & Fatchiyah, F. (2024). Phytochemical compounds and antioxidant activities in the food of Pongo tapanuliensis from Batang Toru Forest, North Sumatra, Indonesia. *Biodiversitas*, 25(10), 3454–3463. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d251007>
- Suhardini, P. N., & Zubaidah, E. (2016). *Studi aktivitas antioksidan kombucha dari berbagai jenis daun selama fermentasi* (Vol. 4, Issue 1).
- Sukmawati, S. (2018). *Optimasi dan validasi metode analisis dalam penentuan kandungan total flavonoid pada ekstrak daun gedi hijau (Abelmoscus manihot L.) yang diukur menggunakan spektrofotometer uv-vis*. *PHARMACON*, 7(3). <https://doi.org/10.35799/pha.7.2018.20117>
- Suwartini, L., Yanti, N., & Efrinalia, W. (2021). Optimasi kondisi pengujian senyawa Flavonoid Total di dalam ekstrak tanaman sebagai pengayaan bahan ajar praktikum Makromolekul dan Hasil Alam di Laboratorium Kimia Organik. *Jurnal Penelitian Sains*, 23(1), 28. <https://doi.org/10.56064/jps.v23i1.621>
- Taghvaei, M., & Jafari, S. M. (2015). Application and stability of natural antioxidants in edible oils in order to substitute synthetic additives. *Journal of Food Science and Technology*, 52(3), 1272–1282. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1080-1>
- Turana, Y., Shen, R., Nathaniel, M., Chia, Y.-C., Li, Y., & Kario, K. (2022). Neurodegenerative diseases and blood pressure variability: A comprehensive review from HOPE Asia. *Journal of*

- Clinical Hypertension* (Greenwich, Conn.), 24(9), 1204–1217. <https://doi.org/10.1111/jch.14559>
- Wang, B., Rutherford-Markwick, K., Zhang, X.-X., & Mutukumira, A. N. (2022). Kombucha: Production and Microbiological Research. *Foods* (Basel, Switzerland), 11(21). <https://doi.org/10.3390/foods11213456>
- Wilson, D. M., Cookson, M. R., Van Den Bosch, L., Zetterberg, H., Holtzman, D. M., & Dewachter, I. (2023). Hallmarks of neurodegenerative diseases. *Cell*, 186(4), 693–714. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.12.032>
- Yuningtyas, S., Masaenah, E., & Telaumbanua, M. (2021). Aktivitas antioksidan, total fenol, dan kadar vitamin c dari kombucha daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.). *Jurnal Farmamedika (Pharmamedica Journal)*, 6(1), 10–14. <https://doi.org/10.47219/ath.v6i1.116>
- Zahir-Jouzdani, F., Mottaghitalab, F., Dinarvand, M., & Atyabi, F. (2018). siRNA delivery for treatment of degenerative diseases, new hopes and challenges. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 45, 428–441. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2018.04.001>
- Zhao, C.-N., Tang, G.-Y., Cao, S.-Y., Xu, X.-Y., Gan, R.-Y., Liu, Q., Mao, Q.-Q., Shang, A., & Li, H.-B. (2019). Phenolic Profiles and Antioxidant Activities of 30 Tea Infusions from Green, Black, Oolong, White, Yellow, and Dark Teas. *Antioxidants*, 8(7), 215. <https://doi.org/10.3390/antiox8070215>