

Media Eksakta

Journal available at: <http://jurnal.fkip.untad.ac.id/index.php/jme>

e-ISSN: [2776-799x](#) p-ISSN: [0216-3144](#)

PENGARUH VARIASI WAKTU FERMENTASI TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA MINUMAN KOMBUCHA PULPA KAKAO (*Theobroma cacao L.*)

*The Effect of Fermentation Variation Time on Antioxidant Activity in Cocoa Pulp
Kombucha Drink (Theobroma cacao L.)*

*Endang Sri Rahayu¹, Paulus Hengky Abram¹

Program Studi Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Tadulako, Indonesia¹

*e-mail: endangsrirahayu1602@gmail.com

Article Info

Article History:

Received: 28 August 2022

Accepted: 6 September 2022

Published: 31 May 2023

Keywords:

Kombucha Fermentation,
Cocoa Pulp,
Antioxidant,
DPPH,
UV-Vis spectrophotometry

Abstract

The purpose of this study is to determine the antioxidant activity based on the effect of fermentation variation time of cocoa pulp kombucha drink (*Theobroma cacao L.*). The sample used in this study is cocoa pulp obtained from yellow cocoa pods the plantation in Sibualong Village, Balaesang District, Donggala Regency. DPPH method is used to see the reduction of free radical occurs caused by antioxidant compounds in fermented cocoa pulp kombucha drink. Antioxidant activity absorbances measured by UV/Vis will be calculated by regrestion equation. The value obtained from the regrestion equation shows the IC_{50} value, if the IC_{50} value is below 50 ppm it indicates a very strong antioxidant activity and if the IC_{50} value is above 200 ppm it indicates a very weak antioxidant activity. The study show, there to effect of fermentation variation time of the antioxidant activity which is identified by the increasing of IC_{50} . The study shows, there to effect of fermentation variation time of the antioxidant activity which is identified by the increasing of IC_{50} , with IC_{50} values 3rd, 10th and 14th days respectively are 29,387 ppm, 322,404 ppm, and 215,298 ppm. So the best fermentation time is 3 days which shows the IC_{50} value less than 50 ppm so that the antioxidant activity is included in the very good category.

DOI: <https://doi.org/10.22487/me.v19i1.2405>

PENDAHULUAN

Kakao (*Theobroma cacao L.*) atau biasa disebut juga buah coklat dikalangan masyarakat merupakan tanaman yang berasal dari hutan tropis Amerika Selatan dan Amerika Utara yang kini telah tumbuh subur di Indonesia dan telah menjadi salah satu sumber pertumbuhan ekonomi masyarakat. Pengolahan kakao menghasilkan cairan yang disebut dengan pulpa yang merupakan bahan yang dipisahkan dari biji kakao. Pulpa kakao merupakan limbah pasca panen kakao, beberapa pandangan masyarakat menganggap bahwa pulpa ini beracun. Beberapa literatur menyatakan bahwa pulpa sebagian besar terdiri dari air dan sebagian kecil berupa senyawa nutrisi yang terlarut diantaranya gula dengan

kandungan yang cukup tinggi, asam-asam karboksilat, protein, vitamin, dan mineral [1] - [3].

Pulpa kakao juga mengandung alkohol, asam malat, asam sitrat, asam asetat dan polifenol [4]. Polifenol sendiri merupakan bahan antioksidan alami yang memiliki manfaat bagi kesehatan manusia [5].

Pulpa kakao dapat dimanfaatkan dan diolah menjadi suatu produk kesehatan karena mengandung senyawa polifenol yang merupakan senyawa antioksidan alami. Kandungan polifenol dalam pulpa ini tentunya dapat memberikan manfaat bagi kesehatan tubuh. Selain gula, protein, vitamin dan mineral, kandungan polifenol dalam pulpa kakao menjadi target penelitian ini dengan

memanfaatkannya menjadi minuman tradisional yang dikenal sebagai kombucha melalui proses fermentasi.

Beberapa manfaat minuman kombucha ini adalah diantaranya dapat mengobati pembengkakan dubur, rematik dan encok pada persendian, memperbaiki fungsi hati, menyembuhkan kanker, mengobati sembelit, menurunkan tekanan darah, dan pusing kepala [6], [7]. Selain itu minuman kombucha juga berkhasiat sebagai antibiotik, melancarkan pencernaan, antioksidan, dan anti bakteri [8], [9], [10].

Salah satu manfaat yang diteliti dalam penelitian ini adalah antioksidan yang diukur melalui aktivitasnya dihubungkan dengan variasi waktu fermentasi. Sehingga tujuan penelitian ini adalah menentukan pengaruh variasi waktu fermentasi terhadap aktivitas antioksidan minuman tradisional kombucha pulpa kakao dengan cara mengukur nilai IC_{50} melalui metode DPPH.

METODE

Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan dan Laboratorium Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tadulako Palu Sulawesi Tengah pada bulan Februari - Mei 2022.

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan selama penelitian adalah wadah, kain, toples kaca, aluminium foil, saringan, gelas kimia, tabung reaksi, pipet tetes, rak tabung reaksi, timbangan digital, timbangan analitik, spatula, shaker, labu ukur, batang pengaduk, penangas listrik, corong kaca, kaca arloji dan spektrofotometer UV-Vis.

Bahan-bahan yang digunakan selama penelitian adalah pulpa kakao, starter SCOBY, gula granulasi, air mineral, larutan HCl pekat, larutan etanol absolut, logam Mg, larutan $FeCl_3$ 1%, kuersetin, dan 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil (DPPH).

Prosedur Kerja

Preparasi Sampel. Buah kakao yang berwarna kuning (yang telah matang) dibelah menggunakan pisau kemudian biji kakao dipisahkan dari kulitnya lalu disimpan di wadah yang telah disterilisasi dengan alkohol. Kemudian biji kakao

yang telah dipisahkan, ditimbang selanjutnya diberi air hangar lalu diaduk kemudian disaring menggunakan saringan, pulpa hasil penyaringan kemudian ditampung.

Ekstraksi Sampel. Ditimbang sebanyak 5 gram pulpa kakao yang telah diblender lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan pelarut etanol sebanyak 50 mL. Lalu dishaker dan dimaserasi selama ± 2 jam. Campuran kemudian didekantasi dan disaring agar diperoleh hasil ekstraksi yang siap digunakan [11].

Uji Kualitatif Ekstrak Pulpa Kakao

1. Uji Flavonoid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak dilarutkan dalam 1 mL etanol absolut. Kemudian ditambahkan 0,1 gram logam Mg dan 10 tetes HCl pekat, apabila terbentuk warna merah ungu menunjukkan flavonoid atau kuning jingga menunjukkan adanya flavon, katekin, dan auron [12].

2. Uji Tanin

Sebanyak 0,5 gram ekstrak dilarutkan dalam 1 mL etanol absolut kemudian ditambahkan 3 tetes $FeCl_3$ 1%. Jika terbentuk warna hitam kebiruan atau hijau maka sampel tersebut positif mengandung tannin [13].

Pembuatan Kombucha Pulpa Kakao. Proses pembuatan minuman kombucha pulpa kakao terdiri dari tahapan penyiapan pulpa kakao yaitu cairan pulpa kakao sebanyak 150 mL dan gula granulsi sebanyak 150 gram dilarutkan dalam 675 mL air mineral yang selanjutnya dipanaskan. Setelah pemanasan, larutan gula dan pulpa kakao dimasukkan ke dalam toples kaca yang telah disterilisasi, kemudian proses pendinginan pada suhu ruang, setelah proses pendinginan selanjutnya penambahan starter SCOBY, lalu toples kaca ditutup dengan kain, setelah itu dilakukan proses fermentasi pada suhu ruang dengan variasi waktu fermentasi yaitu 3 hari, 10 hari dan 14 hari [14].

Pembuatan Larutan Uji dan Pengukuran

1. Larutan DPPH 100 ppm

Kristal DPPH ditimbang sebanyak 0,001 gram lalu dimasukan ke dalam labu ukur 10 mL kemudian dilarutkan dalam etanol absolut hingga tanda batas lalu dihomogenkan [15].

2. Larutan Blanko 7 ppm

Sebanyak 0,7 mL larutan DPPH 100 ppm dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Kemudian ditambahkan etanol absolut hingga tanda batas lalu dihomogenkan dan diinkubasi selama 25 menit pada suhu ruang [15].

3. Larutan Induk 500 ppm

Sampel minuman kombucha pulpa kakao 0,025 gram dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL kemudian dilarutkan dalam etanol absolut hingga tanda batas, sehingga diperoleh larutan induk 500 ppm [16].

4. Larutan Pembanding (Kuarsetin) 500 ppm

Kueretin diambil sebanyak 5 mg dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan dilarutkan dengan etanol sampai tanda batas [17].

5. Larutan Pembanding Seri Konsentrasi 10, 20, 40, dan 80 ppm

Larutan kueretin 500 ppm diambil sebanyak 0,2 mL, 0,4 mL, 0,8 mL dan 1,6 mL masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan 1 mL larutan DPPH 100 ppm lalu ditambahkan etanol absolut sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan pembanding kuarsetin dengan konsentrasi 10, 20, 40, dan 80 ppm [16].

6. Larutan Uji Seri Konsentrasi 10, 20, 40, dan 80 ppm

Larutan induk 500 ppm dipipet masing-masing sebanyak 0,2 mL, 0,4 mL, 0,8 mL, dan 1,6 mL ke dalam labu ukur 10 mL berbeda untuk variasi konsentrasi berturut-turut 10, 20, 40, dan 80 ppm kemudian ditambahkan 1 mL larutan DPPH, kemudian dicukupkan volume larutan dengan etanol absolut hingga tanda batas, lalu dihomogenkan dan didiamkan pada tempat gelap selama 30 menit [16].

7. Pengukuran Serapan Blanko

Larutan DPPH yang telah dibuat kemudian larutan tersebut dibaca absorbansinya pada saat OT (*Operating Time*) dan panjang gelombang maksimum. Larutan ini digunakan sebagai kontrol untuk menguji larutan pembanding dan larutan uji [17].

8. Pengukuran Daya Aktivitas Antioksidan

Masing-masing larutan pembanding dan larutan uji yang telah dibuat seri konsentrasi kemudian divortex selama 30 detik dan didiamkan selama OT (*Operating Time*). Larutan pembanding dan larutan uji dibaca absorbansinya dengan

spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yaitu 517 nm [17]. Nilai absorbansi yang diperoleh digunakan untuk menentukan % inhibisi menggunakan persamaan:

$$\% \text{ Inhibisi} = \left\{ \frac{\text{Abs. blanko} - \text{Abs. sampel}}{\text{Abs. blanko}} \right\} \times 100\%$$

Keterangan:

Abs. Blanko = Absorbansi DPPH

Abs. Sampel = Absorbansi Sampel Uji

Lalu dibuat kurva % inhibisi dan ditentukan IC_{50} berdasarkan persamaan regresi yang diperoleh [18]. Hasil perhitungan dimasukkan ke dalam persamaan regresi linear.

$$Y = aX + b$$

Keterangan :

Y = % inhibisi

X = nilai IC_{50}

a = intercept (perpotongan garis dari sumbu Y)

b = slope (kemiringan) [19].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Pulpa Kakao

Ekstraksi pulpa kakao yang digunakan untuk uji kualitatif dilakukan dengan metode maserasi dengan perbandingan cairan pulpa dengan pelarut etanol yaitu 5 : 50, sehingga diperoleh ekstrak pulpa kakao sebanyak 50 mL. Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode maserasi dengan pengadukan/pengocokan. Metode maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang paling sederhana. Prosedurnya dilakukan dengan merendam sampel dengan pelarut yang sesuai dalam wadah tertutup pada suhu ruang. Metode pemisahan dengan ekstraksi bekerja berdasarkan prinsip kelarutan *like dissolve like*, yaitu pelarut polar akan melarutkan zat polar, dan sebaliknya [20].

Hasil Uji Kualitatif Ekstrak Pulpa Kakao

Hasil uji kualitatif ekstrak pulpa kakao untuk senyawa flavonoid dan tanin disajikan dalam Tabel 1 berikut.

Tabel 1. Hasil uji kualitatif ekstrak pulpa kakao

Uji Kualitatif	Pereaksi	Hasil
Flavonoid	Logam Mg dan HCl pekat	Jingga (+) Positif
Tanin	Larutan $FeCl_3$ 1%	Hijau Kehitaman (+) Positif

Hasil yang diperoleh pada uji kualitatif senyawa flavonoid membentuk warna jingga yang menunjukkan bahwa pulpa kakao positif mengandung senyawa flavonoid yaitu flavon, kalkon dan auron. Sedangkan hasil uji kualitatif senyawa tanin membentuk warna hijau kehitaman yang menunjukkan adanya senyawa tanin dalam pulpa kakao.

Hasil Pengukuran Absorbansi

Hasil pengukuran absorbansi sampel minuman kombucha hari ke-3, hari ke-10, hari ke-14 dan larutan kuarsetin sebagai pembanding yang telah diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Hasil absorbansi larutan sampel dan larutan pembanding

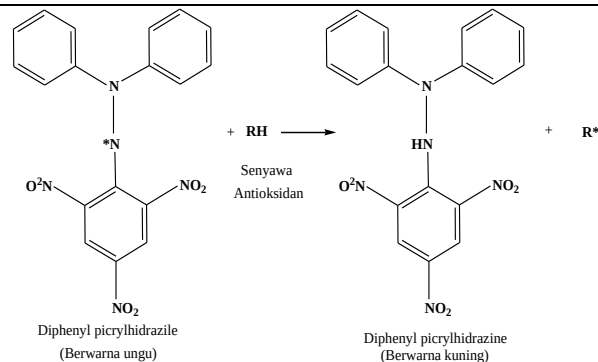
Seri Konsentrasi (ppm)	Absorbansi Sampel dan Pembanding			
	Hari ke-3	Hari ke-10	Hari ke-14	Kuarsetin
10	1,310	1,370	1,472	1,084
20	1,138	1,354	1,451	1,063
40	0,780	1,336	1,412	0,547
80	0,562	1,292	1,321	0,224
Blanko	2,065			

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan pada minuman kombucha pulpa kakao menggunakan DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil) DPPH digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan melalui kemampuannya dalam menangkap radikal bebas. Uji aktivitas antioksidan dengan DPPH dipilih karena merupakan metode uji yang sederhana, mudah, cepat, sensitif, serta hanya memerlukan sedikit sampel untuk pengujian aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam [21].

Uji aktivitas antioksidan dengan pereaksi DPPH diawali dengan pembuatan larutan uji fermentasi minuman kombucha dari hari ke-3, hari ke-10, dan hari ke-14 serta larutan kuarsetin sebagai larutan pembanding atau sebagai antioksidan alami dengan masing-masing variasi konsentrasi yaitu 10 ppm, 20 ppm, 40 ppm, dan 80 ppm yang direaksikan dengan DPPH. konsentrasi larutan uji divariasikan, untuk mengetahui tingkat peredaman radikal bebas dengan perubahan warna yang ungu menjadi kuning sebagai akibat adanya senyawa antioksidan yang mampu mengurangi intensitas warna ungu dari DPPH [22].

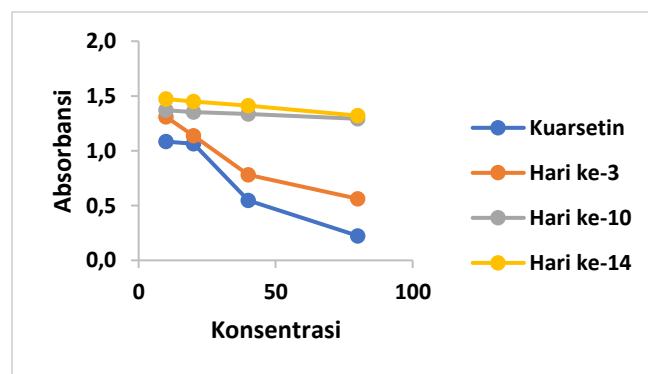
Reaksi yang terjadi antara senyawa antioksidan dan DPPH dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Reaksi antara DPPH dengan senyawa antioksidan

Prinsip pengukuran aktivitas antoksidan secara kuantitatif menggunakan metode DPPH adalah adanya perubahan intensitas warna ungu DPPH yang sebanding dengan konsentrasi larutan DPPH tersebut. Radikal bebas DPPH yang memiliki elektron yang tidak berpasangan akan memberikan warna ungu, warna akan berubah menjadi kuning saat elektronnya berpasangan. Pemeriksaan aktivitas antaradikal bebas DPPH secara spektrofotometri dilakukan dengan mereaksikan sampel dengan larutan DPPH dan kemudian diperiksa pada panjang gelombang 517 nm [21].

Hasil pengukuran absorbansi sampel minuman fermentasi kombucha hari ke-3, hari ke-10, hari ke-14 dan larutan kuarsetin (larutan pembanding) dapat dilihat pada Gambar 2.

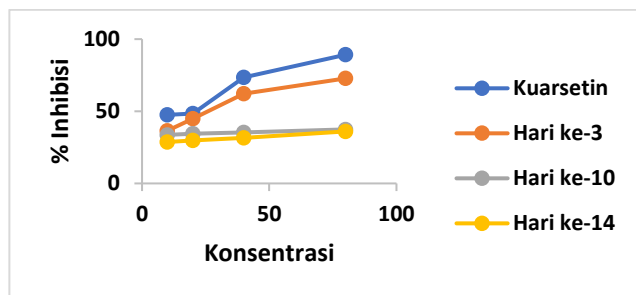


Gambar 2. Grafik hubungan nilai absorbansi dengan konsentrasi sampel hari ke-3, hari ke-10, hari ke-14 dan kuarsetin

Dapat dilihat pada Gambar 2 data tersebut menunjukkan adanya penurunan nilai absorbansi pada kuarsetin dan fermentasi minuman kombucha hari ke-3, dan penurunan yang kurang signifikan pada fermentasi minuman kombucha hari ke-10 dan hari ke-14 seiring bertambahnya konsentrasi larutan. Hal tersebut dapat terjadi karena terjadinya reduksi radikal bebas DPPH oleh antioksidan, dimana semakin tinggi konsentrasi sampel yang mengandung senyawa antioksidan maka partikel-partikel senyawa antioksidan yang terkandung

akan semakin banyak sehingga semakin besar pula aktivitas antioksidannya dan menyebabkan absorbansi DPPH semakin berkurang [22].

Hasil pengukuran nilai absorbansi digunakan untuk menghitung nilai persen penghambat atau persen inhibisi dari kuarsetin, fermentasi minuman kombucha hari ke-3, hari ke-10, dan hari ke-14. Sehingga diperoleh nilai persen inhibisinya seperti yang disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Grafik hubungan nilai %inhibisi sampel hari ke-3, hari ke-10, hari ke-14 dan larutan pembanding dengan konsentrasi

Berdasarkan Gambar 3 dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi kuarsetin dan sampel fermentasi minuman kombucha hari ke-3 semakin tinggi pula persen inhibisinya, berbeda dengan persen inhibisi pada sampel fermentasi minuman kombucha hari ke-10 dan hari ke-14 dimana persen inhibisi yang diperoleh tidak terjadi peningkatan yang cukup tinggi seperti pada kuarsetin dan fermentasi hari ke-3. Peningkatan aktivitas antioksidan pada teh kombucha diakibatkan oleh hasil metabolisme mikroorganisme pada kombucha selama proses fermentasi. Setelah fermentasi hingga 14 hari maka aktivitas antioksidannya cenderung mengalami penurunan. Suasana asam menyebabkan senyawa fenolik menjadi semakin stabil dan sulit melepaskan proton yang berkaitan dengan DPPH sehingga aktivitas antioksidannya menurun yang ditandai dengan menurunnya persen inhibisi [17].

Hasil penelitian ini dapat membandingkan aktivitas antioksidan kuarsetin sebagai kontrol positif, sampel fermentasi minuman kombucha hari ke-3, hari ke-10, dan hari ke-14 yang dapat dilihat dari presentase inhibisi atau daya penghambat radikal bebas keempat sampel tersebut. Data hasil penelitian menunjukkan persen inhibisi kuarsetin lebih besar dibandingkan dengan persen inhibisi sampel fermentasi minuman kombucha hari ke-3, hari ke-10, dan hari ke-14.

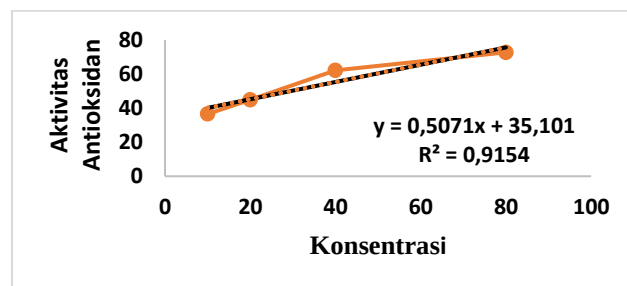
Hal ini karena kuarsetin merupakan senyawa flavonoid yang merupakan senyawa fenolik alam yang memiliki potensi sebagai antioksidan. Senyawa flavonoid merupakan senyawa golongan polifenol yang memiliki banyak gugus hidroksil (OH). Atom hidrogen dari gugus hidroksil tersebut dapat didonorkan pada senyawa radikal sehingga senyawa tersebut dapat terstabilkan [23].

Perhitungan Nilai IC_{50}

Parameter untuk menginterpretasikan hasil pengujian dengan menggunakan DPPH dan menggunakan parameter IC_{50} (*Inhibition Concentration*). IC_{50} merupakan konsentrasi substrat atau sampel yang akan menyebabkan reduksi terhadap aktivitas DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil) sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin tinggi aktivitas antioksidannya [24]. Nilai IC_{50} diperoleh dengan beberapa tahapan yaitu diawali dengan membuat grafik hubungan antara nilai konsentrasi dan nilai persen inhibisi dari masing-masing larutan uji dan larutan pembanding yaitu fermentasi minuman kombucha hari ke-3, hari ke-10, hari ke-14 dan kuarsetin. Kemudian nilai IC_{50} larutan uji dan larutan pembanding dapat dihitung nilai x yang diperoleh dari persamaan regresi linear dari suatu grafik.

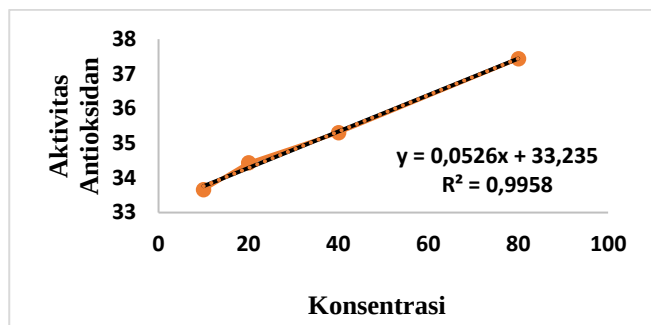
Jika nilai IC_{50} berada di bawah 50 ppm aktivitas antioksidannya sangat kuat, jika nilai IC_{50} berada di antara 50-100 ppm aktivitas antioksidannya kuat, nilai IC_{50} berada di antara 100-150 ppm aktivitas antioksidannya sedang, nilai IC_{50} berada di antara 150-200 ppm aktivitas antioksidannya lemah, dan jika nilai IC_{50} di atas 200 ppm menandakan aktivitas antioksidannya sangat lemah [21].

Grafik hubungan antara konsentrasi dan aktivitas antioksidan sampel fermentasi minuman kombucha hari ke-3, hari ke-10, hari ke-14, dan kuarsetin (larutan pembanding) dapat dilihat pada Gambar 4, 5, 6, dan Gambar 7.



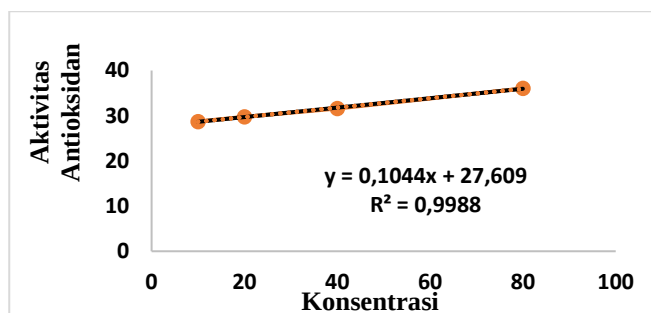
Gambar 4. Grafik hubungan aktivitas antioksidan dan konsentrasi sampel hari ke-3

Gambar 4 memperlihatkan hubungan antara aktivitas antioksidan dan konsentrasi yang memberikan nilai persamaan regresi linear yaitu $y = 0,5071x + 35,101$ dengan nilai $R^2 = 0,9154$ sehingga diperoleh nilai IC_{50} sebesar 29,387 ppm sehingga membuatnya masuk ke dalam kategori yang memiliki nilai aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Hal ini terjadi karena pada fermentasi hari ke-3 aktivitas mikroorganisme di dalam minuman kombucha pulpa kakao membentuk senyawa fenolik yang paling banyak, dimana senyawa fenolik yang terbentuk ini dimungkinkan dapat menghambat radikal bebas DPPH [25].



Gambar 5. Grafik hubungan aktivitas antioksidan dan konsentrasi sampel hari ke-10

Gambar 5 memperlihatkan hubungan antara aktivitas antioksidan dan konsentrasi yang memberikan nilai persamaan regresi linear yaitu $y = 0,0526x + 33,235$ dengan nilai $R^2 = 0,9958$ sehingga diperoleh nilai IC_{50} sebesar 322,40 ppm sehingga membuatnya masuk ke dalam kategori yang memiliki nilai aktivitas antioksidan yang sangat lemah. Peningkatan nilai IC_{50} atau aktivitas antioksidan pada fermentasi hari ke-10 disebabkan karena lama waktu fermentasi yang dilakukan dan kandungan asam-asam organik yang terkandung dalam pulpa kakao [26].

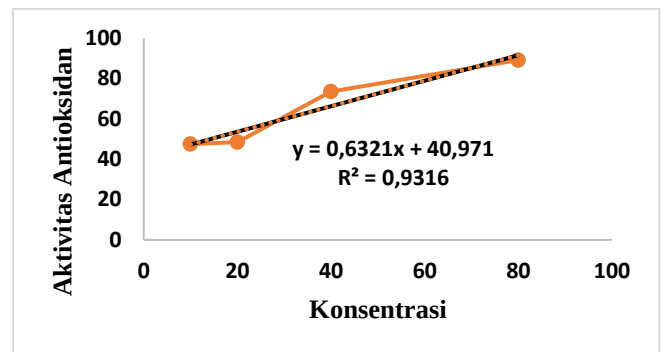


Gambar 6. Grafik hubungan aktivitas antioksidan dan konsentrasi sampel hari ke-14

Selama proses fermentasi, khamir dan bakteri melakukan metabolisme sukrosa, menghasilkan asam-asam organik seperti asam asetat dan asam glukonat, sehingga

konsentrasi asam asetat kombucha akan semakin meningkat jika waktu fermentasi semakin meningkat [26].

Gambar 6 memperlihatkan hubungan antara aktivitas antioksidan dan konsentrasi yang memberikan nilai persamaan regresi linear yaitu $y = 0,1044x + 27,609$ dengan nilai $R^2 = 0,9988$ sehingga diperoleh nilai IC_{50} sebesar 215,298 ppm sehingga membuatnya masuk ke dalam kategori yang memiliki nilai aktivitas antioksidan yang sangat lemah. Sampel fermentasi hari ke-14 juga mengalami kenaikan nilai IC_{50} yang dapat disebabkan kandungan dari pulpa kakao itu sendiri dan lamanya waktu fermentasi sehingga menyebabkan terjadinya peningkatan nilai IC_{50} seperti yang terjadi pada sampel fermentasi hari ke-10.



Gambar 7. Grafik hubungan aktivitas antioksidan kuarsetin (larutan pembanding)

Gambar 7 memperlihatkan hubungan antara aktivitas antioksidan dan konsentrasi yang memberikan nilai persamaan regresi linear yaitu $y = 0,6321x + 40,971$ dengan nilai $R^2 = 0,9316$ sehingga diperoleh nilai IC_{50} sebesar 14,28 ppm sehingga membuatnya masuk ke dalam kategori yang memiliki nilai aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Hal ini karena kuarsetin merupakan senyawa flavonoid yang merupakan senyawa fenolik alam yang memiliki potensi sebagai antioksidan. Senyawa flavonoid merupakan senyawa golongan polifenol yang memiliki banyak gugus hidroksil (OH). Atom hydrogen dari gugus hidroksil tersebut dapat didonorkan pada senyawa radikal sehingga senyawa tersebut dapat terstabilkan [23].

Berdasarkan gambar di atas, selain persamaan regresi linear diperoleh juga nilai R^2 yang merupakan koefisien korelasi yaitu hubungan linearitas antara aktivitas antioksidan dan konsentrasi. Nilai R^2 yang mendekati 1 menandakan data yang diperoleh sangat baik. Nilai R^2 yang diperoleh sampel fermentasi minuman hari ke-3, hari ke-10,

hari ke-14 dan kuarsetin sebagai kontrol positif menunjukkan nilai R^2 yang hampir mendekati 1, maka dari itu dapat dikatakan bahwa hasil yang diperoleh cukup baik [24].

Berdasarkan data nilai IC_{50} yang diperoleh dapat dilihat bahwa fermentasi hari ke-3 memiliki nilai aktivitas antioksidan yang paling baik dibandingkan dengan fermentasi hari ke-10 dan hari ke-14. Hal ini karena nilai IC_{50} yang kurang dari 50 ppm dikategorikan sebagai antioksidan yang sangat kuat, dan nilai IC_{50} lebih dari 200 ppm dikategorikan sebagai antioksidan yang sangat lemah. Adanya perbedaan aktivitas antioksidan pada fermentasi hari ke-3, hari ke-10, dan hari ke-14 karena selama fermentasi, khamir dan bakteri melakukan metabolisme sukrosa menghasilkan asam-asam organik seperti asam asetat dan asam glukonat, sehingga konsentrasi asam asetat kombucha akan semakin meningkat jika waktu fermentasi semakin lama [26]. Sedangkan kuarsetin sebagai pembanding merupakan antioksidan alami yang lebih kuat aktivitas antioksidannya bila dibandingkan dengan fermentasi hari ke-3, karena kuarsetin merupakan senyawa flavonoid yang merupakan senyawa fenolik alam yang memiliki potensi sebagai antioksidan [23].

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diambil simpulan bahwa variasi waktu fermentasi dapat mempengaruhi daya antioksidan minuman kombucha pulpa kakao yang dapat dilihat dari peningkatan nilai IC_{50} seiring bertambahnya waktu fermentasi dengan nilai IC_{50} hari ke 3, hari ke 10 dan hari ke 14 berturut-turut adalah 29,387 ppm, 322,404 ppm, dan 215, 298 ppm. Sehingga waktu fermentasi terbaik adalah 3 hari yang menunjukkan nilai IC_{50} lebih kecil dari 50 ppm sehingga aktivitas antioksidannya termasuk dalam kategori yang sangat baik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada staf Laboratorium Kimia Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Tadulako dan Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tadulako serta semua pihak yang telah membantu penulis dalam proses penyelesaian penelitian ini.

REFERENSI

- [1] E. Gyedu, & H. Oppong, "Cocoa pulp juice and its potential of soft drink, jam, and marmalade production," Paper presented at International Workshop on Cocoa By-product in Ghana, July 14-16, 2003, Accra. pp. 37-40.
- [2] B. Y. K. Anvoh, S. T. Guehi, & M. A. G. Beurghre, "Comparison of biochemical changes during alcoholic fermentation of cocoa juice conducted by spontaneous and induced processes for the production of ethanol," *African Journal of Food Agriculture*, 10(6), 2010, pp. 2740-2754.
- [3] L. Solieri, & P. Giudici, "Vinegar of the world," New York: Springer Milan Berlin Heidelberg, 2009.
- [4] T. S. Sabahannur, N. Ayam, & S. Alimudding, "Teknologi fermentasi biji kakao," Bogor: IPBP Press Printing, 2018.
- [5] P. M. Miranda, G. Putra, & L. Suhendra, "Karakteristik ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L) sebagai sumber antioksidan pada perlakuan konsentrasi pelarut dan ukuran partikel," *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 8(1), 2019, pp. 28-38.
- [6] N. M. Angles, & A. Dufresne, "Plasticized starch/tunicin whiskers nanocomposites 1. Structural Analysis," *Macromolecules*, 33(22), 2000, pp. 8344-8353.
- [7] E. Loncar, M. Djuric, M. Malbasa, J. L. Kolarov, & M. Klasnja, "Influence of working condition upon kombucha conducted fermentation of black tea," *Food and Bioprocess Technology*, 84 (C3), 2006, pp. 186-192.
- [8] W. G. Frank, "Kombucha-healthy beverage and natural remedy from the far east 8th Ed.," Austria: Publishing House Ennsthaler, 1995.
- [9] H. Naland, "Kombucha teh ajaib pencegah dan penyembuh aneka penyakit," Jakarta: Agromedia Pustaka, 2008.
- [10] C. Chen, & C. S. Chu, "Effects of origins and fermentation time on the antioxidant activities of kombucha," *Food Chemistry*, 98, 2006, pp. 502-507.
- [11] B. Riswanto, & A. Aminah, "Pembuatan kertas indikator ekstrak bunga kalpataru (*Hura crepitans* Linn) dan pemanfaatannya sebagai indikator asam basa alternatif," *Jurnal Akademika Kimia*, 9 (3), 2019, pp. 148-157.
- [12] S. Fajriah, & Megawati, "Penapisan fitokimia dan uji toksisitas dari daun *Myristica fatua* HOUTT," *Chemica at Nature Acta*, 3(3), 2015, pp. 116-119.
- [13] B. E. Minarno, "Skrining fitokimia dan kandungan total flavonoid pada buah carica pubescens Lenne dan K.Koch dikawasan Bromo, Cagar dan Dataran Tinggi Dieng," *El-Hayah*, 5(2), 2015, pp. 143-152.
- [14] N. Yuliana, L. E. Widiastuti, & T. Setiawan, "Proses pembuatan minuman kombucha pulpa kakao," Bandar Lampung: Kemenkumham RI, 2019.
- [15] N. Mutmainnah, S. Chadijah, & M. Qaddafi, "Penentuan suhu dan waktu optimum penyeduhan batang teh hijau (*Camelia sinensi* L.) terhadap kandungan antioksidan kafein, tanin dan katekin," *Lantanida Journal*, 6(1), 2018, pp. 1-102.
- [16] A. Khaerah, & F. Akbar, "Aktivitas antioksidan teh kombucha dari beberapa varian teh yang berbeda," *Prosiding Seminar Nasional LP2M UNM*. 2019, pp. 472-475.
- [17] W. D. Patria, & C. J. Soegihardjo, "Uji aktivitas antioksidan menggunakan radikal 1,1-difenil-2-pikrihidrazil (DPPH) dan penetapan kandungan fenolik total fraksi etil asetat ekstrak etanolik daun benalu (*Dendrophthoe pentandra* L. Miq) yang tumbuh dipohon kepel (*Stelechocarpus burahol* (BI) Hook. f)," *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*, 10(1), 2013, pp. 51-60.
- [18] C. Ruan, Y. Zhang, J. Wang, Y. Sun, X. Gao, G. Xiong, & J. Ling, "Preparation and antioxidant activity of sodium alginate and carboxymethyl cellulose edible films with epigallocatechin gallate," *International Journal of Biological Macromolecules*, 134, 2019, pp. 1038-1044.

- [19] A. Wilapangga, & L. P. Sari, "Analisis fitokimia dan antioksidan metode DPPH ekstrak metanol daun salam (*Eugenia polyantha*)," *IJOBB*, 2(1), 2018, pp. 19-23.
- [20] Khopkar, "Konsep dasar kimia analitik," Jakarta: UI Press, 2002.
- [21] P. Molinuex, "The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity," *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 26(2), 2004, pp. 211-219.
- [22] S. Talapessy, E. Suryanto, & A. Yudistira, "Uji aktivitas antioksidan dari ampas hasil pengolahan sagu (*Metroxlon sagu* Rottb)," *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(3), 2013, pp. 112-117.
- [23] Nurmianti, S. Nuryanti, & Tahril, "Antioxidant activity test of ethanol and water extracts of celery (*Apium graveolens* L.)," *Jurnal Akademika Kimia*, 9(2), 2020, pp. 93-100.
- [24] P. S. Hastono, & L. Sabri, "Statistic kesehatan," Jakarta: Rajawali Press, 2011.
- [25] V. S. Hunandra, "Penetapan daya antioksidan dan kadar total fenol kombucha dibandingkan teh hijau secara spektrofotometri," *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*, 5(2), 2016, pp. 436-438.
- [26] G. Screeramulu, Y. Zhu, & W. Knol, "Kombucha fermentation and it's antimolecular activity," *Journal of Agrikultural Food Chemistry*, 886, 2000, pp. 65-73.