

**PENGUJIAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KOPI ARABIKA  
(*Coffea arabica*) GUNUNGHALU TEKNIK *LIGHT ROASTING*,  
*MEDIUM ROASTING* DAN *DARK ROASTING* DENGAN  
METODE 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)**

Oleh  
**Yeni Purnamasari**  
NIM : 19208083

**KARYA TULIS ILMIAH**

Untuk memenuhi salah satu syarat ujian  
Guna memperoleh gelar Ahli Madya Farmasi pada  
Program studi Diploma III Akademi Farmasi Bumi Siliwangi Bandung



**PROGAM STUDI DIPLOMA III FARMASI  
AKADEMI FARMASI BUMI SILIWANGI BANDUNG  
TERAKREDITASI "B" LAM-PTKES  
Berdasarkan SK 047/LAM-PTKES/Akr/Dip/VIII/2019  
2022**

**LEMBAR PENGESAHAN**  
**KARYA TULIS ILMIAH**  
**Pengujian Aktivitas Antioksidan Kopi Arabika (*Coffea arabica*)**  
**Gununghalu Teknik *Light Roasting*, *Medium Roasting* Dan *Dark***  
***Roasting* Dengan Metode *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH)**

**Disusun Oleh :**  
**Yeni Purnamasari**  
**NIM : 19208083**

Karya Tulis Ilmiah ini telah diterima, disetujui dan disahkan  
menjadi salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Ahli Madya Farmasi pada  
Program Studi Diploma III Farmasi Akademi Farmasi Bumi Siliwangi Bandung

Bandung, Juni 2022

Mengetahui,

Ketua Program Studi  
Diploma III

Pembimbing

**Apt, Andi Ika Julianti H, M.Si.,**

**Irma Rahmawati, M.Pd**

## LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya yang bertandatangan di bawah ini menyatakan bahwa karya tulis ilmiah dengan judul “**Pengujian Aktivitas Antioksidan Kopi Arabika (*Coffea arabica*) Gununghalu Teknik *Ligth Roasting*, *Medium Roasting* dan *Dark Roasting* Dengan Metode 2,2-diphenyl-1-pichrylhydrazyl (DPPH)**” merupakan karya tulis saya sendiri dan tidak ada pekerjaan orang lain yang saya gunakan tanpa menyebutkan sumbernya.

Bandung, Mei 2022

Yeni Purnamasari

## ABSTRAK

Kopi menjadi salah satu komoditas di dunia yang telah dibudidayakan oleh lebih dari 50 negara. Kopi arabika (*coffea arabica*) adalah jenis kopi yang paling banyak diproduksi dan pangsa pasarnya di seluruh dunia yang mencapai 70%. Tanaman kopi merupakan salah satu tanaman yang mengandung antioksidan tinggi. Beberapa senyawa metabolit sekunder yang diduga sebagai antioksidan yaitu flavonoid, alkaloid, saponin, tanin dan terpenoid. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada kopi arabika (*coffea arabica*) Gununghalu teknik *light roasting*, *medium roasting* dan *dark roasting* dengan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhidrazyl). Berdasarkan hasil penelitian terhadap kopi arabika (*coffea arabica*) teknik *light roasting*, *medium roasting* dan *dark roasting* positif mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, tanin dan terpenoid. Konsentrasi yang digunakan dimulai dari 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm dicampur dengan DPPH. Spektrofotometer digunakan untuk pengukuran absorbansi pada panjang gelombang maksimum 515,6 nm. Hasil penelitian menunjukkan nilai IC<sub>50</sub> kopi arabika (*coffea arabica*) teknik *light roasting*, *medium roasting* dan *dark roasting* dengan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhidrazyl) berturut-turut adalah sebesar 109,99 ppm, 70,66 ppm dan 86,54 ppm. Hasil pengujian menunjukkan sifat antioksidan kopi arabika teknik *light roasting* adalah sedang, teknik *medium roasting* dan *dark roasting* adalah kuat.

Kata kunci : Antioksidan, Kopi Arabika (*coffea arabica*) teknik *light roasting*, *medium roasting* dan *dark roasting*, Gununghalu, DPPH

## ***ABSTRACT***

Coffee is one of the commodities in the world that has been cultivated by more than 50 countries. Arabica coffee (*coffea arabica*) is the most widely produced type of coffee and its market share around the world reaches 70%. Coffee plants are one of the plants that contain high antioxidants. Several secondary metabolites that are suspected as antioxidants are flavonoids, alkaloids, saponins, tannins and terpenoids. This study was conducted to determine the antioxidant activity of Gununghalu arabica coffee (*coffea arabica*) with *light roasting*, *medium roasting* and *dark roasting* techniques using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method. Based on the results of research on arabica coffee (*coffea arabica*), *light roasting*, *medium roasting* and *dark roasting* techniques are positive for flavonoids, alkaloids, saponins, tannins and terpenoids. The concentrations used started from 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm and 100 ppm mixed with DPPH. Spectrophotometer was used for absorbance measurement at a maximum wavelength of 515.6 nm. The results showed that the IC<sub>50</sub> value of arabica coffee (*coffea arabica*) for *light roasting*, *medium roasting* and *dark roasting* using the DPPH method (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) was 109.99 ppm, 70.66 ppm and 86.54 ppm. The test results showed that the antioxidant activity of arabica coffee with *light roasting* techniques are moderate, *medium roasting* and *dark roasting* techniques are strong.

*Keywords: Antioxidants, Arabica Coffee (coffea arabica) light roasting technique, medium roasting and dark roasting, Gununghalu, DPPH*

## KATA PENGANTAR

Puji syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kehadirat Allah SWT karena atas berkat dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah yang berjudul **“Pengujian Aktivitas Antioksidan Kopi Arabika (*Coffea arabica*) Gununghalu Teknik *Light Roasting*, *Medium Roasting* dan *Dark Roasting* dengan metode *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH)”**

Adapun maksud dan tujuan dari karya tulis ilmiah ini adalah untuk memenuhi salah satu persyaratan guna memperoleh gelar Ahli Madya Farmasi pada program studi Diploma III Akademi Farmasi Bumi Siliwangi Bandung.

Dalam penyusunan dan penulisan karya tulis ilmiah ini tidak terlepas dari bantuan, bimbingan serta dukungan dari berbagai pihak. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ibu Irma Rahmawati, M.Pd selaku Dosen Pembimbing yang telah memberikan ilmu, bimbingan, waktu dan arahan selama proses penelitian, penyusunan dan penulisan karya tulis ilmiah sehingga karya tulis ilmiah ini dapat berjalan dengan lancar. Tidak lupa pada kesempatan ini penulis dengan senang hati menyampaikan terima kasih yang sebesar – besarnya kepada :

1. Bapak Apt. Drs. H. Akhmad Priyadi, MM selaku Direktur Akademi Farmasi Bumi Siliwangi Bandung.
2. Ibu Apt. Andi Ika Julianti, M.Si Apt selaku Ketua Program Studi Akademi Farmasi Bumi Siliwangi Bandung.
3. Ibu Apt. Cszahreyloren Vitamia, S.Farm.,Msi selaku Dosen Wali yang telah memberi dukungan dan motivasi kepada penulis.
4. Seluruh dosen beserta staf Akademi Farmasi Siliwangi Bandung

5. Keluarga Penulis yang telah memberikan dukungan dan motivasi dalam penyelesaian karya tulis ilmiah ini.
6. Teman-teman terkompak yang telah mendukung terselesaikannya karya tulis ilmiah ini.

Penulis menyadari bahwa karya tulis ilmiah ini masih memerlukan kritik dan saran yang membangun demi perbaikan menuju kesempurnaan karya tulis ilmiah ini. Akhir kata, penulis berharap karya tulis ilmiah ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Bandung, Mei 2022

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	i
<b>LEMBAR PERNYATAAN</b> .....	ii
<b>ABSTRAK</b> .....	iii
<b>ABSTRACT</b> .....	iv
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	v
<b>DAFTAR ISI</b> .....	vii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	x
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xii
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Maksud dan Tujuan .....	4
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
1.5 Waktu dan Tempat Penelitian .....	5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	6
2.1 Kopi Arabica ( <i>Coffea arabica</i> ) .....	6
2.2 Teknik Pengolahan <i>Roasting</i> .....	8
2.2.1 <i>Light Roasting (Sangrai Ringan)</i> .....	9
2.2.2 <i>Medium Roasting (Sangrai Sedang)</i> .....	10
2.2.3 <i>Dark Roasting (Sangrai Gelap)</i> .....	10
2.3 Ekstrak dan Ekstraksi .....	10
2.4 Antioksidan .....	12
2.5 Radikal Bebas .....	13
2.6 Analisis Kualitatif antioksidan pada Kopi Arabika .....	13
2.6.1 Flavonoid .....	13
2.6.2 Alkaloid .....	14
2.6.3 Saponin .....	15
2.6.4 Tanin .....	15

2.6.5	Terpenoid.....	16
2.7	Spektrofotometri UV-Vis .....	17
2.7.1	Instrument Spektrofotometri UV-Vis .....	18
2.8	Metode 2,2-diphenyl-1-phydryhydrazyl (DPPH) .....	19
2.9	Persentase Inhibisi .....	20
2.10	Nilai IC <sub>50</sub> (inhibitory concentration) .....	20
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN .....</b>		<b>21</b>
3.1	Alat dan Bahan .....	21
3.1.1	Alat .....	21
3.1.2	Bahan .....	21
3.2	Metode Penelitian .....	21
3.2.1	Determinasi .....	22
3.2.2	Preparasi Sampel .....	22
3.2.3	Pembuatan Larutan .....	25
3.2.4	Identifikasi Kopi Arabika .....	26
3.2.5	Uji Aktifias Antioksidan Kopi Arabika.....	28
3.2.6	Penentuan nilai IC <sub>50</sub> .....	29
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>		<b>30</b>
4.1	Preparasi Sampel .....	30
4.2	Hasil Uji Kualitatif.....	32
4.2.1	Identifikasi Flavonoid .....	32
4.2.2	Identifikasi Alkaloid .....	33
4.2.3	Identifikasi Terpenoid .....	35
4.2.4	Identifikasi Saponin .....	36
4.2.5	Identifikasi Tanin .....	37
4.3	Hasil Pengujian Analisis Kuantitatif.....	38
4.3.1	Panjang Gelombang Maksimum .....	38
4.3.2	Uji Aktivitas Antioksidan Sampel .....	40
4.3.3	Pengukuran Inhibisi Sampel.....	42
4.3.4	Penentuan nilai IC <sub>50</sub> .....	44
<b>BAB V SIMPULAN DAN SARAN .....</b>		<b>48</b>

5.1 Simpulan.....	48
5.2 Saran.....	48
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>49</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>54</b>

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 2.1</b> Tanaman Kopi Arabika .....	7
<b>Gambar 2.2</b> Spektrofotometri UV-Vis merk Shimadzu .....	17
<b>Gambar 2.3</b> Instrumen Spektrofotometri UV-Vis (Sirotiak, 2014).....	18
<b>Gambar 4.1</b> Reaksi flavonoid dengan Magnesium .....	33
<b>Gambar 4.2</b> Reaksi Alkaloid dengan Pereaksi Wagner .....	34
<b>Gambar 4.3</b> Persamaan reaksi Dragendorff .....	35
<b>Gambar 4.4</b> Reaksi uji terpenoid .....	36
<b>Gambar 4.5</b> Reaksi Hidrolisis saponin dalam air .....	37
<b>Gambar 4.6</b> Reaksi antara Tanin dengan $\text{FeCl}_3$ .....	38
<b>Gambar 4.7</b> Panjang Gelombang Maksimum DPPH .....	40
<b>Gambar 4.8</b> Reaksi antara DPPH dengan Antioksidan .....	41
<b>Gambar 4.8</b> Kurva Hubungan Persentase Antioksidan Terhadap Konsentrasi Sampel .....	45

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 4.1</b> Hasil Uji Flavonoid Ekstrak Biji Kopi Arabika Teknik <i>Light Roasting</i> , <i>Medium Roasting</i> dan <i>Dark Roasting</i> .....	32
<b>Tabel 4.2</b> Hasil Uji Alkaloid Ekstrak Biji Kopi Arabika Teknik <i>Light Roasting</i> , <i>Medium Roasting</i> dan <i>Dark Roasting</i> .....	33
<b>Tabel 4.3</b> Hasil Uji Terpenoid Ekstrak Biji Kopi Arabika Teknik <i>Light Roasting</i> , <i>Medium Roasting</i> dan <i>Dark Roasting</i> .....	35
<b>Tabel 4.4</b> Hasil Uji Saponin Ekstrak Biji Kopi Arabika Teknik <i>Light Roasting</i> , <i>Medium Roasting</i> dan <i>Dark Roasting</i> .....	36
<b>Tabel 4.5</b> Hasil Uji Tanin Ekstrak Biji Kopi Arabika Teknik <i>Light Roasting</i> , <i>Medium Roasting</i> dan <i>Dark Roasting</i> .....	37
<b>Tabel 4.6</b> Nilai Persentase inhibisi ekstrak biji kopi teknik <i>light roasting</i> , <i>medium roasting</i> dan <i>dark roasting</i> .....	43
<b>Tabel 4.7</b> Nilai IC <sub>50</sub> Ekstrak Biji Kopi Arabika Teknik <i>Light Roasting</i> , <i>Medium Roasting</i> dan <i>Dark Roasting</i> .....	46
<b>Tabel 4.8</b> Sifat Antioksidan Berdasarkan Nilai IC <sub>50</sub> .....	46

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>LAMPIRAN 1</b> Lembar Identifikasi Tumbuh .....	54
<b>LAMPIRAN 2</b> Alur Uji Sampel .....	55
<b>LAMPIRAN 3</b> Gambar Perekasi .....	56
<b>LAMPIRAN 4</b> Gambar Sampel .....	57
<b>LAMPIRAN 5</b> Hasil Uji Kualitatif Sampel .....	58
<b>LAMPIRAN 6</b> Hasil Uji Kuantitatif Sampel .....	59
<b>LAMPIRAN 7</b> Perhitungan .....	61
<b>LAMPIRAN 8</b> COA Methanol .....	64
<b>LAMPIRAN 9</b> COA DP .....	65
<b>LAMPIRAN 10</b> Panjang Gelombang Maksimum .....	66
<b>LAMPIRAN 11</b> Absorbansi Kopi Arabika Teknik Dark Roasting .....	67
<b>LAMPIRAN 12</b> Absorbansi Kopi Arabika Teknik Medium Roastin .....	68
<b>LAMPIRAN 13</b> Absorbansi Kopi Arabika Teknik Light Roasting .....	69
<b>LAMPIRAN 14</b> Absorbansi Larutan Blanko .....	70

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Ilmu pengetahuan serta perkembangan teknologi saat ini tidak membuat kehidupan manusia bebas dari senyawa radikal bebas seperti asap rokok, asap mobil, paparan sinar matahari, gorengan, makanan yang dipanggang, beberapa obat-obatan, zat racun dan polusi udara. Lingkungan yang mengandung radikal bebas mempengaruhi kualitas hidup masyarakat, terutama penyakit tidak menular seperti kanker, penyakit kardiovaskular, stroke dan diabetes (Arnanda, dkk., 2019).

Radikal bebas dihasilkan oleh oksidasi senyawa kimia, yang merupakan awal dari reaksi berantai yang dapat merusak sel-sel dalam tubuh. Zat yang mungkin berperan dalam memerangi radikal bebas adalah antioksidan melalui reaksi penghambatan (Shebis, dkk., 2013). Antioksidan alami yang ditemukan pada tanaman yang tinggi polifenol (Tristantini, dkk., 2016).

Kopi adalah tanaman yang mengandung penguat sel tinggi. Biji kopi espresso mengandung senyawa polifenol, antara lain *caffeic acid*, *korosif klorogenat*, *feurat acid*, *sinaptik acid*, dan *koumarat acid*. Bagian senyawa terbesar dalam biji adalah *klorogenat acid* (Ciptaningsih, 2012).

Kopi menjadi salah satu produk di bumi ini ditanam oleh lebih dari 50 negara. Negara-negara penghasil kopi terbentang di Benua Amerika, Benua Afrika dan Benua Asia. Indonesia merupakan salah satu negara di Asia yang membudidayakan kopi. Indonesia adalah pembuat espresso terbesar keempat di bumi setelah Brazil, Vietnam dan Kolombia. Data tersebut berdasarkan data dari *International Coffee Organization* (ICO) (Kemendag, 2018). Konsumsi kopi di

Indonesia meningkat sebesar 98 % dalam 10 tahun terakhir (Ingrouille, 2013). Pengaruh gaya hidup dan bertambahnya jumlah *cafe* dan kedai kopi berkontribusi terhadap peningkatan jumlah konsumen kopi (Liveina, 2013).

Data statistik kopi Indonesia menunjukkan tahun 2019 produksi kopi di Indonesia mencapai 742 ton. Sebesar 98,6% berasal dari perkebunan rakyat, 0,8% perkebunan besar negara dan 0,6% perkebunan besar swasta (Statistik Kopi Indonesia, 2019). Salah satu perkebunan rakyat tersebut yaitu perkebunan di Desa Gununghalu yang terletak di kecamatan Bandung Barat memiliki luas perkebunan kopi 20 Ha. Mayoritas masyarakat di Gununghalu memiliki mata pencaharian sebagai petani kopi (Winata, dkk., 2018). Pada tahun 2018, kopi Gununghalu mendapatkan penghargaan AVPA (*Agency for the Valorization of the Agricultural Product*) *Gourmet Product* di pameran SIAL Paris (Muttaqien, 2020).

Ada ribuan spesies pohon kopi di dunia. Namun hanya 4 spesies yang populer dan banyak ditanam, yaitu Arabica, Robusta, Liberica dan Excelsa. Kopi arabika merupakan kopi dengan produksi terbesar dan pangsa pasarnya di dunia mencapai 70%. Kopi arabika adalah kopi dengan rasa yang paling enak diantara kopi lainnya (Hamdan dan Sontani, 2018).

Kopi biasanya disajikan dalam bentuk biji kopi sangrai. Penyangraian dilakukan pada biji kopi yang telah mencapai tingkat kekeringan yang ideal. Melalui proses sangrai mengubah biji kopi mentah (*green bean*) menjadi biji kopi panggang (*roasted bean*) (Hamdan dan Sontani, 2018). Proses sangrai dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu menggunakan cara manual dan menggunakan alat sangrai disebut *Roaster*. Proses sangrai manual memiliki kekurangan yaitu dari hasil sangrai yang tidak merata sebagai akibat dari proses pengadukan yang

tidak stabil, juga tidak efisien karena memerlukan waktu yang cukup lama. Sedangkan proses sangrai menggunakan alat *roaster* memiliki keunggulan dari segi penampilan yang merata sebagai hasil sangrai juga sangat efisien karena memerlukan waktu yang singkat (Maulana, 2017). Secara umum, tingkat kematangan biji kopi pada proses roasting dibedakan menjadi tiga, yaitu *light*, *medium*, dan *dark*. Pada proses roasting kandungan air pada biji kopi akan hilang dan akan muncul aroma kopi sebagai akibat perubahan dari unsur gula menjadi karbondioksida (Hamdan dan Sontani, 2018).

Salah satu gerakan agen pencegahan kanker yang paling umum dicoba dipergunakan adalah melalui penangkalan radikal bebas (*free radical scavenging*) memakai radikal *2,2-dyphenyl-1-ptycrylhydrazyl* (DPPH) (erika, dkk., 2014). Metode spektrofotometri UV-Vis dengan DPPH merupakan cara yang paling sederhana, mudah, dan sensitif serta sampel yang dipergunakan sedikit dengan waktu yang lebih singkat (Yuliani dan Desmira, 2015).

Berdasarkan uraian diatas, menjelaskan bahwa kopi arabika memiliki nilai lebih daripada jenis kopi lain, kopi arabika juga baik untuk kesehatan karena kandungan antioksidannya. Oleh karena itu penulis berminat untuk melakukan uji aktivitas antioksidan pada kopi arabika (*coffea arabica*) Gununghalu teknik *light roasting*, *medium roasting* dan *dark roasting* dengan metode *2,2-dyphenyl-1-ptycrylhydrazyl* (DPPH).

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang penelitian maka dapat diidentifikasi beberapa masalah diantaranya :

1. Apakah terdapat beberapa kandungan senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan pada kopi arabika (*Coffea arabica*) teknik *light roasting*, *medium roasting* dan *dark roasting*?
2. Bagaimanakah aktivitas antioksidan pada kopi arabika (*Coffea arabica*) teknik *light roasting*, *medium roasting* dan *dark roasting*?

## 1.3 Maksud dan Tujuan

Maksud dan Tujuan yang ingin dicapai dari penelitian ini yaitu :

1. Mengetahui beberapa kandungan senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan pada kopi arabika (*coffea arabica*) GunungHalu teknik *light roasting*, *medium roasting* dan *dark roasting*.
2. Menentukan aktivitas antioksidan pada kopi arabika (*coffea arabica*) GunungHalu teknik *light roasting*, *medium roasting* dan *dark roasting* dengan metode *2,2-diphenyl-1-phycrylhydrazyl* (DPPH).

## 1.4 Manfaat Penelitian

1. Manfaat bagi peneliti  
Meningkatkan kemampuan penggunaan alat di laboratorium. Dapat menambah wawasan tentang teknik *light roasting*, *medium roasting* dan *dark roasting* pada kopi dan juga teknik metode antioksidan untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada kopi arabika (*Coffea arabica*) teknik *light roasting*, *medium roasting* dan *dark roasting*.

## 2. Manfaat bagi masyarakat

Masyarakat dapat mengetahui manfaat dari kopi khususnya kopi arabica (*Coffea arabica*) sebagai antioksidan yang diperlukan untuk kesehatan tubuh.

### **1.5 Waktu dan Tempat Penelitian**

Kegiatan penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2021 sampai dengan bulan Maret 2022 di Laboratorium Instrumen Akademi Farmasi Bumi Siliwangi Bandung.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Kopi Arabica (*Coffea arabica*)

Kopi arabika cocok ditanam di dataran tinggi pada ketinggian minimal 800 m dpl dengan suhu 16-20°C. Jika ditanam di dataran rendah di bawah 600m di atas permukaan laut, produksi kopi Arabika mungkin di bawah maksimum dan rentan terhadap penyakit karat daun. (HV) (Hamdan dan Sontani, 2018).

Kopi arabika merupakan tanaman perdu tegak atau pohon kecil, tinggi 5-6 m, diameter 7 cm, setinggi dada orang dewasa. Selain itu, kopi arabika memiliki kulit berwarna abu-abu, tipis dan pecah-pecah yang menjadi keras seiring bertambahnya usia (Hiwot, 2011).

##### 2.1.1 Klasifikasi kopi Arabika (*Coffea arabica*)

Adapun klasifikasi tanaman kopi (*coffea* sp) adalah :

Kigdom	: <i>Plantae</i> (Tumbuhan)
Subkigdom	: <i>Tracheobionta</i> (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: <i>Spermatophyta</i> (Menghasilkan biji)
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i> (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i> (Berkeping dua/dikotil)
Sub Kelas	: <i>Asteridae</i>
Ordo	: <i>Rubiales</i>
Famili	: <i>Rubiaceae</i>
Genus	: <i>Coffea</i>
Spesies	: <i>coffea arabica</i> L. (kopi arabika)

( Raharjo, 2012 ).



**Gambar 2.1** Tanaman Kopi Arabika

#### 2.1.2 Morfologi Kopi Arabika (*Coffea arabica*)

Ciri morfologi khas kopi arabika adalah kecil, tajuk tipis, sedikit ketai, dan ukuran bunga kecil. Biji kopi arabika memiliki ciri khas dibandingkan biji kopi lainnya, bentuk agak memanjang, bidang cembung tidak terlalu tinggi, lebih terang dari jenis lainnya, ujung biji cerah, dan bagian tengah alur bagian datar ditekuk (Anshori, 2014).

#### 2.1.3 Kandungan Kopi Arabika (*Coffea arabica*)

Kopi arabika mengandung senyawa polifenol antioksidan yang berasal dari asam fenolik seperti kafein, asam klorogenat, cucumin, asam ferulic dan asam sinapat. Kualitas biji kopi dan aktivitas antioksidan dapat ditentukan oleh komposisi polifenol dalam biji kopi. Komposisi polifenol

dapat dipengaruhi oleh jenis kopi, cara pengolahan kopi, dan letak geografis tanaman kopi. (Tamilmani, dkk., 2015).

#### 2.1.4 Manfaat Kopi Arabika (*Coffea arabica*)

Kopi memiliki banyak manfaat bagi tubuh kita. Kopi sangat bermanfaat sebagai antioksidan. Kopi mengandung lebih banyak antioksidan daripada teh dan coklat. Selain itu, kopi dapat merangsang fungsi otak dan kanker ( Farida dan Kumoro, 2013 ). Bagi pecinta kopi, toleransi kafein yang tinggi dapat membantu menjaga tubuh tetap sejuk dan hangat. Di antara manfaat yang terkait dengan minum kopi adalah bahwa kopi tidak memiliki nilai gizi yang nyata bagi tubuh kecuali jika Anda menambahkan krim dan susu ke dalamnya. Manfaat tersebut antara lain bebas stimulan dalam berbagai aktivitas, berbagai jenis minuman dan mencegah kanker prostat (kandungan boron dalam kopi dapat mencegah kanker prostat) ( Oktadina, Argo, dan Hermanto, 2013).

## 2.2 Teknik Pengolahan *Roasting*

*Roasting* atau penyangraian kopi adalah proses pengolahan biji kopi yang telah mencapai tingkat kekeringan ideal. *Roasting* mengubah biji kopi mentah (*green bean*) menjadi biji kopi sangrai (*roasted bean*). Kandungan air pada biji kopi akan menghilang dan aroma kopi akan muncul pada biji kopi sebagai akibat adanya konversi unsur gula menjadi karbondioksida. Biji kopi akan mengembang dan akan kehilangan berat sebesar 20% . Terdapat berbagai jenis mesin *roasting* di pasaran, dari yang manual hingga otomatis, dari kapasitas gram hingga kilogram dalam satu kali proses.

Berikut tahapan proses *roasting* kopi secara umum :

1. Pasang tabung gas lalu nyalakan api
2. Nyalakan saklar penggerak tabung mesin roaster
3. Tunggu hingga suhu 150°C (selama 20-30 menit)
4. Siapkan biji kopi yang akan di *roasting* sebanyak 500 gram atau 1 kilogram
5. Cek suhu mesin, jika sudah sesuai masukan biji kopi secara perlahan
6. Biarkan mesin berputar sambil sesekali mengecek biji kopi sampai diperoleh tingkat kematangan yang di inginkan
7. Setelah diperoleh tingkat kematangan yang sesuai matikan tabung penggerak dan api , keluarkan biji kopi secara perlahan
8. Dinginkan biji kopi

Secara umum tingkat kematangan biji kopi sangrai di bedakan menjadi tiga, yaitu *light*, *medium* dan *dark* (Hamdan dan Sontani, 2018).

### 2.2.1 Light Roasting (Sangrai Ringan)

Tingkat kematangan *light roasting* memiliki karakteristik sebagai berikut :

1. Tingkat kematangan hasil *roasting* biji kopi pada pemanggangan dibawah 10 menit
2. Warna biji kopi hasil *light roast* masih terang. Aroma seperti rumput segar yang baru dipotong menjadi mirip aroma rumput kering
3. Cita rasa *light roast* cenderung asam dengan body yang ringan dan eksotis

4. *Light roast* banyak digunakan untuk identifikasi karakter kopi dibandingkan dengan permintaan konsumen yang lebih sedikit
5. Pemanggangan *light roast* biasanya hanya digunakan untuk kepentingan penilain karakteristik dan kualitas kopi (Hamdan dan Sontani, 2018).

### 2.2.2 *Medium Roasting (Sangrai Sedang)*

Tingkat kematangan *medium roasting* memiliki karakteristik sebagai berikut :

2. Pemanggangan biji kopi sampai terjadi crack pada biji kopi (crack 2)
3. Tingkat kematangan *medium roast* yang paling banyak digemari peminat kopi
4. Rasanya lebih manis ,karena terjadi karamelisasi yang sempurna
5. Keasaman akan menurun dan tekstur lebih tebal
6. Biji kopi akan lebih gelap dan aromanya menjadi seperti gandum atau kacang-kacangan (Hamdan dan Sontani, 2018).

### 2.2.3 *Dark Roasting (Sangrai Gelap)*

Pemanggangan biji kopi pada *roasting dark* yaitu sampai terjadi crack pada biji kopi (crack 3 sampai crack 4). Hasil *dark roasting* hanya pahitnya yang dibutuhkan (Hamdan dan Sontani, 2018).

## 2.3 Ekstrak dan Ekstraksi

### 2.3.1 Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan cara mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati ataupun simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian seluruh atau hampir seluruh pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa sehingga memenuhi syarat yang ditetapkan (Depkes RI, 2014).

### 2.3.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah teknik pemisahan bagian bagian tanaman atau bahan lainnya dari bagian inaktif dengan menggunakan pelarut selektif sesuai dengan prosedurnya. Ekstraksi berupa *solid* menjadi *liquid* merupakan proses perubahan secara difusi senyawa yang berwujud *solid* ke dalam pelarutnya (Leba, 2017).

Ada beberapa metode yang biasa digunakan dalam ekstraksi yaitu:

#### 1. Maserasi

Maserasi adalah salah satu jenis ekstraksi yang paling sederhana. Proses maserasi dilakukan dengan cara merendam sampel pada suhu kamar menggunakan pelarut yang sesuai. Kelebihan teknik maserasi adalah alat dan cara yang digunakan sangat sederhana, dapat digunakan untuk analit yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan (Leba, 2017).

## 2. Perkolasi

Perkolasi adalah salah satu jenis ekstraksi padat cair yang dilakukan dengan cara mengalirkan pelarut secara bertahap pada sampel dalam perkolator. Pada proses ini pelarut ditambahkan secara terus menerus sehingga pelarut yang digunakan adalah pelarut yang baru (Leba, 2017).

## 3. Sokletasi

Sokletasi adalah jenis ekstraksi yang menggunakan alat soklet. Pada proses ini pelarut dan sampel ditempatkan secara terpisah. Pada prinsip ekstraksi dilakukan secara terus menerus menggunakan pelarut yang relatif sedikit. Bila telah selesai maka pelarut dapat diuapkan sehingga akan diperoleh ekstrak (Leba, 2017).

## 2.4 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa dengan struktur molekul yang mendonorkan elektron sehingga aktivitas senyawa oksidan bisa dihambat. Antioksidan dapat menangkal maupun meredam dampak negatif dari oksidan di dalam tubuh (Winarsi H, 2011). Antioksidan alami yaitu senyawa antioksidan yang terdapat secara alami di dalam tubuh sebagai mekanisme pertahanan tubuh yang normal ataupun yang berasal dari asupan luar tubuh. Sedangkan antioksidan sintetik yaitu senyawa yang disintesis secara kimia. Tanaman yang mengandung senyawa polifenol tinggi merupakan salah satu sumber antioksidan alami (Tristantini, dkk., 2016).

Antioksidan yang dikonsumsi dalam jumlah yang memadai dapat menurunkan resiko kerusakan sel pada tubuh. Kerusakan sel berkontribusi secara

signifikan terhadap penuaan dan penyakit degeneratif seperti penyakit kardiovaskula, kanker dan penurunan sistem kekebalan tubuh. Oleh karena itu, konsumsi antioksidan yang memadai secara optimal sangat diperlukan oleh tubuh (Winarsi H, 2011).

## **2.5 Radikal Bebas**

Radikal bebas adalah molekul atau atom yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbit terluarnya sehingga sangat reaktif. Molekul yang tidak berpasangan dapat menjadi tidak stabil dan berpotensi berbahaya, membuat radikal bebas menjadi racun bagi molekul biologis atau sel yang dapat mengganggu produksi DNA, produksi prostaglandin, lapisan lipid pada dinding sel, protein lain seperti enzim yang terdapat pada tubuh dan mempengaruhi pembuluh darah (Yuslianti,2018).

## **2.6 Analisis Kualitatif antioksidan pada Kopi Arabika**

### **2.6.1 Flavonoid**

Flavonoid merupakan kelompok besar senyawa polifenol tumbuhan yang banyak ditemukan pada berbagai makanan dan dalam konsentrasi yang bervariasi. Flavonoid merupakan senyawa polifenol dengan 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi C6-C3-C6, yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh tiga atom karbon yang dapat membentuk atau tidak membentuk cincin ketiga (Ishak, 2018).

Untuk menguji adanya senyawa flavonoid dalam sampel digunakan uji Wilstatter, uji Batesmith, dan uji NaOH 10 % (Achmad, Harborne, Khotimah, 2016).

1. Uji Wilstatter

Sampel dengan 2-4 tetes HCl pekat dan 23 keping logam Mg. Perubahan warna di amati dari warna kuning tua menjadi orange (Ahmad, dalam Khotimah, 2016).

2. Uji Bate Smith

Sampel ditambahkan HCl pekat kemudian dipanaskan menggunakan waktu 15 menit di atas penangas air. Reaksi positif bila memberikan warna merah (Ahmad, dalam Khotimah, 2016).

3. Uji NaOH

Sampel ditambahkan pereaksi NaOH 10 % dan reaksi positif jika terjadi perubahan warna yang khusus (Harborne, dalam Khotimah 2016).

## 2.6.2 Alkaloid

Alkaloid adalah sekelompok senyawa organik yang ditemukan terutama di alam, alkaloid mengandung satu atau lebih atom nitrogen, umumnya dalam kombinasi sebagai bagian dari sistem cincin. Alkaloid umumnya tidak berwarna, sering aktif secara optik, dan umumnya kristal, tetapi sedikit yang cair pada suhu kamar, seperti nikotin ( Harborne, dalam Ishak, 2018).

Uji alkaloid dapat dilakukan dengan pereaksi dengan pengendapan.

Dapat dilakukan dengan cara :

1. Iodium – Iodida (Bouchardat) : Endapan coklat

2. Kalium Raksa (III) – Iodida (Valser - Mayer) : Endapan putih kekuningan
3. Garam Bi dengan KI (pereaksi Dragendroff) : Endapan jingga
4. Fosfotungstat atau silikotungstat (Bertrand-Scheilver) : Endapan putih kekuningan (Endarini, 2016)

### 2.6.3 Saponin

Saponin adalah glikosida interpene dan sterol yang telah ditemukan di lebih dari 90 genera tanaman. Glikosida adalah kompleks antara gula pereduksi (glukon) dan non-gula (aglikon). Banyak saponin memiliki hingga 5 unit gula dan komponen yang umum adalah asam glukuronat. Adanya saponin pada tanaman ditunjukkan dengan terbentuknya buih pada saat ekstraksi tanaman atau pemekatan ekstrak (Harborne, dalam Khotimah, 2016).

Uji saponin dilakukan dengan menambahkan 0,5 gram ekstrak ke dalam 20 ml air panas, lalu dinginkan dan disaring. Filtrat yang diperoleh dikocok kuat selama 10 detik. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya gelembung yang stabil (Mangiwa dan Maryuni, 2015).

### 2.6.4 Tanin

Tanin merupakan golongan metabolit sekunder penting yang tersebar luas pada tumbuhan. Tanin adalah polifenol yang larut dalam air (dengan rasa pahit atau astringen) dengan berat molekul umumnya antara 1000 dan 3000. Tanin adalah zat organik yang sangat kompleks dan terdiri dari senyawa fenolik. Tanin terdiri dari sekelompok zat kompleks yang

sangat luas di dunia tumbuhan, termasuk di kulit kayu, batang, daun dan buah (Ishak, 2018).

Uji tanin dilakukan dengan melarutkan ekstrak sampel dalam 20 ml air panas, kemudian didinginkan dan disaring. Ditambahkan 2-3 tetes larutan  $\text{FeCl}_3$  1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat (Mangiwa dan Maryuni, 2015).

#### 2.6.5 Terpenoid

Terpenoid merupakan komponen-komponen tumbuhan yang memiliki bau dan dapat diisolasi dari bahan nabati dengan penyulingan yang disebut minyak atsiri. Terpen adalah senyawa yang tersusun dari isoprene  $\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}=\text{CH}_2$  dan kerangka karbonnya dibangun oleh penyambungannya dua atau lebih satuan  $\text{C}_5$ . Terpenoid mengandung beberapa senyawa seperti monoterpen dan sekuiterpen yang mudah menguap, diterpen yang sukar menguap, triterpen dan sterol yang tidak menguap. Secara umum terpenoid larut dalam lemak dan terdapat dalam sitoplasma sel tumbuhan. Biasanya senyawa ini diekstraksi dengan menggunakan petroleum eter, eter atau kloroform (Harborne, dalam Khotimah, 2016).

Uji terpenoid dilakukan dengan cara sebanyak 0,5 gram ekstrak dilarutkan dalam 5 ml asetat anhidrat, kemudian ditambahkan larutan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat sebanyak 2 ml melalui dinding tabung reaksi. Terbentuknya warna merah, jingga atau ungu menunjukkan adanya senyawa terpenoid (Mangiwa dan Maryuni, 2015)

## 2.7 Spektrofotometri UV-Vis

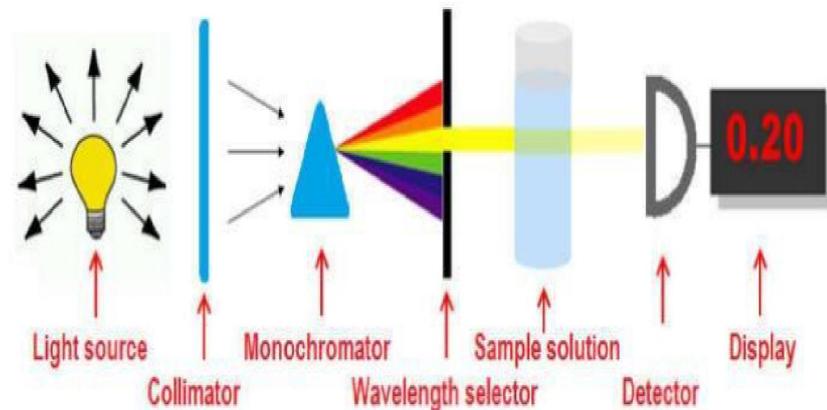
Spektrofotometri UV-Vis terdiri dari dua komponen utama, yaitu spektrofotometer dan fotometer. Spektrofotometer menghasilkan spektrum Panjang gelombang tertentu, sedangkan fotometer adalah alat untuk mengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan, dipantulkan atau diserap. Perangkat spektrofotometri UV-Vis digunakan untuk mengukur energi relative Ketika ditransmisikan, dipantulkan atau dipancarkan sebagai fungsi Panjang gelombang. Sekarang, spektrofotometri adalah metode yang didasarkan pada pengukuran energi cahaya tampak (visible) atau ultraviolet (UV) melalui suatu senyawa sebagai fungsi Panjang gelombang (Day, R, A., et al, 2010).

Hukum yang menjadi dasar spektrofotometri adalah hukum Lambert-Beer. Ketika beberapa cahaya monokromatik menembus media transparan, intensitas cahaya yang dipancarkan meningkat sebanding dengan peningkatan ketebalan dan kepadatan media (Day, R, A., et al, 2010).



Gambar 2.2 Spektrofotometri UV-Vis merk Shimadzu

### 2.7.1 Instrument Spektrofotometri UV-Vis



Gambar 2.3 Instrumen Spektrofotometri UV-Vis (Sirotiak, 2014)

#### a) Sumber cahaya

Sebagai sumber cahaya dalam spektrofotometri, ia harus memiliki sinar yang stabil dan berintensitas tinggi. Sumber cahaya yang biasa digunakan untuk daerah tampak, ultraviolet dan inframerah dekat adalah lampu pijar dengan kawat tungsten (Eliza, dkk., 2012)

#### b) Monokromator

Monokromator adalah alat yang digunakan untuk membagi cahaya pikromatik menjadi beberapa komponen yang berbeda Panjang gelombang (monokromatik) yang berbeda (hamburan). Monokromator bertindak sebagai pemilih Panjang gelombang yang mengubah cahaya dari sumber cahaya polikromatik menjadi cahaya monokromatik (Eliza, dkk., 2012).

#### c) Sel sampel

Berfungsi untuk meletakkan sampel, UV-Vis menggunakan kuvet sebagai tempat sampel sebagai ruang sampel. Kuvet

biasanya terbuat dari kuarsa atau kaca, tetapi sel kuarsa silika memiliki kualitas yang lebih baik. Hal ini dikarenakan kaca dan plastik dapat menyerap sinar UV, sehingga hanya digunakan pada spektrofotometer tampak (visible). Baki biasanya berbentuk persegi Panjang dengan lebar 1cm (Eliza, dkk., 2012).

d) Detektor

Fungsi dari detector adalah untuk menangkap cahaya yang ditransmisikan oleh sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik (Eliza, dkk., 2012).

e) Read Out

Ini adalah sistem pembacaan yang mencatat ukuran sinyal listrik yang berasal dari detektor (Eliza, dkk., 2012)

## **2.8 Metode 2,2-diphenyl-1-phyrcryhydrazyl (DPPH)**

Metode peredaman radikan *2,2-diphenyl-1-phyrcryhydrazyl* (DPPH) aktivitas antioksidan suatu senyawa dapat di ukur dengan kemampuannya dalam menangkap radikal bebas. Radikal bebas yang biasa digunakan sebagai model untuk mengukur daya penangkap radikal bebas adalah DPPH yang merupakan senyawa radikal bebas yang stabil sehingga Ketika digunakan sebagai reagen pada uji penangkap radikal cukup larut. Jika disimpan ditempat yang kering dan dalam kondisi penyimpanan yang baik maka akan stabil selama bertahun-tahun (Amelia, 2011).

Metode DPPH merupakan metode yang paling banyak digunakan untuk mendeteksi aktivitas antioksidan berbagai tanaman. Metode peredaman radikal DPPH didasarkan pada reduksi radikal DPPH berwarna menggunakan inhibitor radikal. Metode ini melibatkan pengukuran penurunan penyerapan DPPH pada Panjang gelombang maksimum, yang sebanding dengan konsentrasi inhibitor radikal bebas yang ditambahkan ke larutan pereaksi DPPH. Aktivitas dinyatakan sebagai konsentrasi efektif  $IC_{50}$  (*inhibitory concentration*) (Amelia, 2011).

## **2.9 Persentase Inhibisi**

Jumlah radikal bebas yang dihambat oleh larutan sampel dinyatakan dalam persen inhibisi. Semakin besar konsentrasi larutan sampel, semakin besar persen inhibisi nya. Hal tersebut menunjukkan dengan bertambahnya konsentrasi sampel, maka semakin banyak radikal bebas yang dapat dihambat (Mangiwa dan Maryuni, 2015).

## **2.10 Nilai $IC_{50}$ (inhibitory concentration)**

Nilai  $IC_{50}$  adalah nilai yang menunjukkan konsentrasi sampel uji ( $\mu\text{g/ml}$ ) yang memberikan peredaman DPPH sebesar 50% (mampu menghambat / merendam proses oksidasi sebesar 50%). Nilai 0% menunjukkan tidak memiliki aktivitas antioksidan, sedangkan nilai 100% menunjukkan perendaman total dan pengujian perlu dilanjutkan dengan pengenceran larutan sampel uji untuk melihat batas konsentrasi aktivitasnya (Ajhar dan Melani, 2020).

## BAB III

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1 Alat dan Bahan

##### 3.1.1 Alat

Timbangan analitik, tabung erlenmeyer, tabung reaksi, cawan, gelas ukur, kaca arloji, labu ukur 10 ml, labu ukur 50 ml, labu ukur 25ml, gelas beaker, botol gelap, mikropipet, aluminium foil, kuvet, spektrofotometri UV-Vis, kertas saring, *evaporator* (EM1000/CE), *thermometer*, pipet plastik (Antonio, Levacchia, 2013).

##### 3.1.2 Bahan

Biji kopi Arabica yang sudah di buat menjadi serbuk; HCl 2N; serbuk Mg; pereaksi bouchardat (1g I<sub>2</sub> dan 2g KI); pereaksi dragendrof (Garam Bi dengan KI); etanol 95%; FeCl<sub>3</sub> 1% (p.a) (Merk); asetat anhidrat (p.a); aquadest; H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat (p.a)(smart lab); Kloroform (p.a)(Emsure); methanol (p.a) (Fultime); DPPH (2,2-diphenyl,1-picrylhydrazyl).

#### 3.2 Metode Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental. Tahapan pertama yang dilakukan adalah mempersiapkan biji kopi arabika Gununghalu dalam bentuk *green bean* yang kemudian akan di *roasting* dengan tiga teknik yaitu *light roasting*, *medium roasting* dan *dark roasting*. Setelah proses *roasting* selanjutnya akan di *grinding* atau dibuat serbuk untuk dibuat ekstrak kemudian diuji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH.

### 3.2.1 Determinasi

Biji kopi arabika telah dideterminasi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Departemen Biologi FMIPA Universitas Padjajaran (lampiran 1). Determinasi dilakukan untuk menentukan apakah spesies yang digunakan sesuai dengan bahan yang diperlukan dalam penelitian ini. Hasil dari determinasi menunjukkan bahwa sampel yang diuji benar yaitu biji kopi arabika.

### 3.2.2 Preparasi Sampel

#### a. Pengambilan Sampel Biji Kopi Arabika

Tahap awal yang dilakukan adalah memetik buah kopi arabika dengan varietas gayo 1 dengan jenis *berry* yaitu *long berry* di salah satu kebun yang terdapat di Gununghalu. Buah kopi arabika dipetik ketika sudah berumur 6 bulan dan sudah berwarna merah kekuningan atau seluruh buah kopi berwarna merah. Tahap pengolahan buah kopi arabika harus dilakukan maksimum 6 jam setelah dipanen. Tujuannya, tidak terjadi pembusukan pada buah kopi arabika (Hamdan dan Sontani, 2018).

#### b. Pengolahan Buah Kopi Arabika

Dipisahkan buah kopi arabika sesuai tingkat kematangannya, kemudian cuci buah kopi arabika menggunakan air bersih, pisahkan dari dedaunan dan ranting. Kemudian dipilih kopi arabika yang tenggelam ketika dimasukkan ke dalam wadah berisi air. Buah kopi yang sudah dicuci kemudian ditiriskan,

lalu dijemur bersama kulit buahnya sampai kadar air mencapai 12-14%. Selama proses penjemuran lakukan proses pembalikan agar buah kopi arabika matang secara merata. Setelah dijemur Masukkan buah kopi ke mesin *huller* untuk memisahkan biji kopi dengan kulit buahnya (Hamdan dan Sontani, 2018).

c. Proses *Roasting* (Sangrai)

Biji kopi arabika yang sudah melalui proses pengeringan kemudian disiapkan untuk disangrai yang bertempat di salah satu pemilik pekerbunan kopi arabika GunungHalu menggunakan *roaster*. Pada proses ini akan dilakukan dengan tiga teknik *roasting*, yaitu :

1) *Ligth Roasting* (Sangrai Ringan)

Dipasangkan tabung gas lalu dinyalakan api, kemudian dinyalakan saklar penggerak tabung mesin *roaster* tunggu hingga suhu 150°C (selama 20-30 menit). Siapkan biji kopi yang akan *diroasting* sebanyak 500 gram. Cek suhu mesin, jika sudah sesuai dimasukkan biji kopi secara perlahan dan biarkan mesin berputar sambil sesekali mengecek biji kopi sampai diperoleh tingkat kematangan yaitu terdapat bunyi *crack* yang pertama yaitu dibawah 10 menit. Setelah diperoleh tingkat kematangan yang sesuai matikan tabung penggerak dan api, biji kopi dikeluarkan secara perlahan dan didinginkan (Hamdan dan Sontani, 2018) .

## 2) *Medium Roasting* (Sangrai Sedang)

Dipasangkan tabung gas lalu dinyalakan api, kemudian dinyalakan saklar penggerak tabung mesin *roaster* tunggu hingga suhu 150°C (selama 20-30 menit). Siapkan biji kopi yang akan *diroasting* sebanyak 500 gram. Cek suhu mesin, jika sudah sesuai dimasukkan biji kopi secara perlahan dan biarkan mesin berputar sambil sesekali mengecek biji kopi sampai diperoleh tingkat kematangan yaitu terdapat bunyi *crack* yang kedua yaitu sekitar 10 menit. Setelah diperoleh tingkat kematangan yang sesuai dimatikan tabung penggerak dan api, biji kopi dikeluarkan secara perlahan dan didinginkan (Hamdan dan Sontani, 2018).

## 3) *Dark Roasting* (Sangrai Gelap)

Dipasangkan tabung gas lalu dinyalakan api, kemudian dinyalakan saklar penggerak tabung mesin *roaster* tunggu hingga suhu 150°C (selama 20-30 menit). Siapkan biji kopi yang akan di *roasting* sebanyak 500 gram. Cek suhu mesin, jika sudah sesuai dimasukkan biji kopi secara perlahan dan biarkan mesin berputar sambil sesekali mengecek biji kopi sampai diperoleh tingkat kematangan yaitu terdapat bunyi *crack* yang ketiga atau keempat. Setelah diperoleh tingkat kematangan yang sesuai dimatikan tabung penggerak dan api, biji kopi dikeluarkan secara perlahan dan didinginkan (Hamdan dan Sontani, 2018) .

d. Proses *Grinding* (Giling)

Biji kopi yang sudah melalui proses *roasting*, masing-masing dihaluskan menggunakan *grinder* untuk mendapatkan ukuran seragam. Serbuk biji kopi yang sudah halus disimpan dalam wadah bersih dan tertutup rapat (Mangiwa dan Maryuni, 2015).

e. Ekstraksi

Ditimbang masing-masing serbuk kopi sebanyak 200 gram kemudian direndam dengan metanol sebanyak 600 ml selama 24 jam dan diaduk sesekali. Ekstrak dipisahkan dari ampas dengan cara penyaringan. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C. Hasil Ekstrak pekat yang diperoleh disimpan dalam wadah bersih dan tertutup rapat (Mangiwa dan Maryuni, 2015).

### 3.2.3 Pembuatan Larutan

a. Pembuatan Larutan DPPH 1 mM

Serbuk DPPH ditimbang sebanyak 39,432 mg, kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 100ml yang sudah ditutupi dengan alumunium foil. Larutkan dengan metanol p.a hingga batas (Purnamasari, 2015).

b. Pembuatan Larutan Blanko

Dipipet larutan DPPH sebanyak 1 ml ke dalam labu ukur yang sudah ditutupi dengan alumunium foil, tambahkan metanol p.a sampai 10 ml, kemudian homogenkan. Larutan blanko

diinkubasikan pada suhu ruang selama 30 menit (Purnamasari, 2015).

c. Pembuatan Larutan Bouchardat (Wagner)

Dilarutkan 1 gram  $I_2$  dan 2 gram KI dalam air sampai 50 ml (Rivai, dkk., 2010)

d. Pembuatan Larutan  $FeCl_3$  1%

Ditimbang kristal  $FeCl_3$  sebanyak 1 gram , kemudian dilarutkan dengan air sampai dengan 100 ml (Rivai, dkk, 2010)

### 3.2.4 Identifikasi Kopi Arabika

a. Identifikasi Flavonoid

Uji ini dilakukan dengan cara sebanyak 0,5 gram ekstrak biji kopi arabika dilarutkan dengan metanol panas sebanyak 10 ml, kemudian ditambahkan 0,1 gram serbuk Mg dan 5 tetes HCl pekat. Terbentuknya warna jingga, merah muda atau merah tua yang tidak hilang dalam waktu 3 menit menunjukkan adanya senyawa flavonoid (Mangiwa dan Maryuni, 2015).

b. Identifikasi Alkaloid

Ditimbang ekstrak sebanyak 0,5 gram kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Selanjutnya ditambahkan 1 ml HCl 2N dan 19 ml air dan dipanaskan di atas penangas air selama 5 menit. Setelah itu dinginkan dan disaring sehingga menghasilkan filtrat. Teteskan 2 tetes reagen Bouchardat (Wagner) ke dalam filtrat, hasil positif ditunjukkan dengan

terbentuknya endapan coklat sampai kehitaman (Mangiwa dan Maryuni, 2015).

Ditimbang ekstrak sebanyak 0,5 gram kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Selanjutnya ditambahkan 1 ml HCl 2N dan 19 ml air dan dipanaskan di atas penangas air selama 5 menit. Setelah itu dinginkan dan disaring sehingga menghasilkan filtrat. Teteskan 2 tetes reagen Dragendroff ke dalam filtrat, hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan jingga (Mangiwa dan Maryuni, 2015)

c. Identifikasi Saponin

Ditimbang sebanyak 0,5 gram ekstrak, masukkan ke dalam tabung reaksi. Tambahkan 10 ml air panas lalu dinginkan, setelah dingin tabung reaksi dikocok kuat kuat selama 10 detik. Terbentuknya busa yang stabil dengan penambahan asam klorida menunjukkan adanya senyawa saponin (Hanani, 2015).

d. Identifikasi Tanin

Ditimbang sebanyak 2 gram ekstrak diekstraksi dengan etanol 95% (30ml) selama 15 menit, kemudian disaring. Kemudian filtrat dipanaskan di atas penangas air. Tambahkan aquadest panas pada sisa penguapan dan diaduk, setelah dingin cairan disentrifugasi. Dipisahkan cairan atas dengan cara dekantasi, kemudian filtrat ditambahkan larutan  $FeCl_3$ , hasil positif senyawa tanin ditunjukkan dengan adanya warna hijau biru kehitaman (Hanani, 2015).

e. Identifikasi Terpenoid

Ditimbang ekstrak sebanyak 0,5 gram, kemudian dilarutkan ke dalam kloroform dan asetat anhidrat masing-masing sebanyak 5 ml. Selanjutnya ditambahkan 2 ml larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat melalui dinding tabung reaksi. Terbentuknya warna merah, jingga atau ungu menunjukkan adanya terpenoid (Mangiwa dan Maryuni, 2015).

3.2.5 Uji Aktifias Antioksidan Kopi Arabika

a. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum ( $\lambda_{max}$ ) DPPH

Dipipet metanol p.a sebanyak 8 ml, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml yang sudah ditutupi alumunium foil, kemudian tambahkan 1 ml larutan DPPH lalu encerkan dengan metanol p.a sampai tanda batas. Larutan diinkubasi pada suhu 25-30°C selama 30 menit. Kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 500-600 nm (Purnamasari, 2015).

b. Pengukuran Absorbansi kopi Arabika

Ditimbang Sebanyak masing-masing 50 mg ekstrak kopi arabika hasil dari teknik *light roasting*, *medium roasting* dan *dark roasting* kemudian dilarutkan dengan metanol p.a ke dalam labu ukur 50 ml yang sampai tanda batas. Dibuat dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm dari larutan induk ke dalam labu ukur 10 ml yang sudah ditutupi alumunium foil. Sebanyak 4ml larutan sampel ditambahkan 4ml larutan DPPH, kemudian homogenkan. Diamkan pada

suhu 25-30°C selama 30 menit. Ukur absorban pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Purnamasari, 2015).

c. Pengukuran Persentase Inhibisi

Serapan larutan uji diukur dengan spektrofotometer UV-Vis. Kemudian dihitung persentase inhibisi (hambatan) dan IC<sub>50</sub> ( 50% *inhibition Concentration*). Perhitungan kuantitatif dilakukan dengan menghitung persen inhibisi radikal bebas dari masing-masing sampel kopi arabika dengan menggunakan persamaan dibawah ini:

$$\% \text{inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100 \%$$

(Mubarak, dkk., 2017).

### 3.2.6 Penentuan nilai IC<sub>50</sub>

Nilai IC<sub>50</sub> adalah bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel uji (µg/ml) yang memberikan peredaman DPPH sebesar 50 % (mampu menghambat atau merendam proses oksidasi sebesar 50%). Nilai 0% artinya tidak memiliki aktivitas antioksidan, sedangkan nilai 100% artinya peredaman total dan pengujian perlu dilanjutkan dengan pengenceran larutan uji untuk melihat batas konsentrasi aktivitasnya (Ajhar dan Melani, 2020).

Nilai IC<sub>50</sub> diperoleh dari potongan garis antara 50% daya hambat dengan sumbu konsentrasi menggunakan persamaan linier (  $y = bx + a$  ), dimana  $y = 50$  dan  $x$  menunjukkan IC<sub>50</sub> (Tristantini, dkk., 2016).

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Hasil penelitian yang diperoleh meliputi (1) hasil analisis pengujian kualitatif identifikasi flavonoid, alkaloid, terpenoid, saponin dan tanin pada biji kopi arabika hasil dari teknik *light roasting*, *medium roasting* dan *dark roasting*, (2) hasil analisis pengujian kuantitatif meliputi penentuan panjang gelombang maksimum DPPH, pengukuran absorbansi biji kopi Arabika hasil dari teknik *light roasting*, *medium roasting* dan *dark roasting*, pengukuran persentase inhibisi dan penentuan nilai IC<sub>50</sub>.

#### **4.1 Preparasi Sampel**

Tahap awal dari penelitian ini dimulai dengan menghaluskan biji kopi arabika hasil dari teknik *light roasting*, *medium roasting* dan *dark roasting* untuk mendapatkan ukuran serbuk yang seragam sehingga memudahkan pada proses ekstraksi. Semakin kecil ukuran partikel suatu bahan, maka luas permukaan semakin besar sehingga memudahkan pelarut untuk mengekstrak komponen dan hasil yang diperoleh menjadi maksimal (Mangiwa dan Maryuni, 2015)

Penelitian Pratyaksa (2019) mengenai pengaruh ukuran partikel dan waktu maserasi menunjukkan bahwa nilai rendemen lebih besar dari perlakuan maserasi selama 48 jam dibandingkan dengan perlakuan maserasi selama 24jam. Sedangkan penelitian Suryani (2012) mengenai optimasi metode ekstraksi, bahwa waktu optimal ekstraksi selama 36 jam menghasilkan ekstrak lebih besar.

Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi selama 24 jam sambil sesekali di aduk. Proses ini dilakukan pada suhu ruangan (25-30 °C) sehingga dapat mengurangi resiko kerusakan pada senyawa metabolit sekunder dalam biji kopi arabika (Mangiwa dan Maryuni, 2015). Maserasi merupakan proses perendaman pada sampel yang akan mengalami pemecahan dinding dan membrane sel sebagai akibat dari perbedaan tekanan antara di luar dan di dalam sel, sehingga metabolit sekunder akan larut dalam pelarut (Handayani, 2015).

Pemilihan metanol sebagai pelarut dikarenakan metanol adalah pelarut yang dapat mengekstrak senyawa metabolit sekunder dengan baik (Mangiwa dan Maryuni, 2015). Metanol merupakan pelarut yang memiliki tetapan dielektrik lebih rendah dari air yang memiliki tetapan dielektriknya 80, sedangkan metanol memiliki tetapan dielektrik 33. Tetapan dielektrik ini menentukan derajat kepolaran, semakin besar tetapan dielektrik pelarut maka kepolaran pelarut tersebut semakin besar. Sehingga kepolaran dari pelarut metanol lebih kecil dari pelarut air. Kepolaran yang lebih rendah bermanfaat untuk melarutkan semua zat baik yang bersifat polar, semipolar dan nonpolar (Agustina, 2017). Metanol yang bersifat universal yang mampu mengikat semua komponen kimia yang terdapat pada tumbuhan bahan alam, baik yang memiliki sifat polar, semi polar maupun nonpolar. Selain itu metanol juga sangat mudah masuk ke dalam sel melalui dinding sel bahan, sehingga metabolit sekunder yang terkandung pada bahan alam akan terlarut dalam metanol dan senyawa akan terekstraksi dengan baik dan sempurna (Lenny, 2006).

Pada proses ekstraksi senyawa metabolit sekunder dalam biji kopi terjadi perubahan warna pelarut menjadi cokelat kehitaman. Perubahan ini disebabkan

karena adanya distribusi senyawa kimia (metabolit sekunder) dalam biji kopi ke dalam metanol (pelarut). Semakin banyak senyawa kimia yang terdistribusi ke dalam metanol maka hasil dari ekstraksi semakin maksimal. Ekstrak cair dipisahkan dari ampas dengan cara penyaringan kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak yang pekat (Mangiwa dan Maryuni, 2015). Ekstrak pekat yang dihasilkan berwarna coklat kehitaman dengan tekstur lebih kental dengan rendemen 18,54 % untuk biji kopi arabika teknik *light roasting*, 21,52% untuk biji kopi arabika teknik *medium roasting* dan 18,59 % untuk biji kopi arabika teknik *dark roasting*, perhitungan rendemen dapat dilihat pada lampiran 7 halaman 62.

## 4.2 Hasil Uji Kualitatif

Hasil pengujian kualitatif menunjukkan bahwa biji kopi arabika hasil dari teknik *light roasting*, *medium roasting* dan *dark roasting* mengandung senyawa golongan flavonoid, alkaloid, terpenoid, saponin dan tanin.

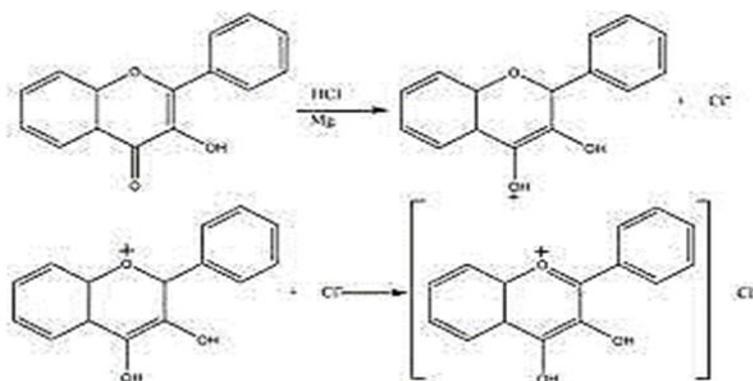
### 4.2.1 Identifikasi Flavonoid

Tabel 4.1 Hasil Uji Flavonoid Ekstrak Biji Kopi Arabika Teknik *Light Roasting*, *Medium Roasting* dan *Dark Roasting*

Golongan Senyawa	Sampel	Pereaksi	Perlakuan		
			Sebelum	Sesudah	Hasil
Flavonoid	<i>Light roasting</i>	Logam Mg dan HCl	Cokelat bening	Jingga	Positif
	<i>Medium roasting</i>		Cokelat bening	Jingga	Positif
	<i>Dark roasting</i>		Cokelat bening	Jingga	Positif

Hasil uji flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna jingga ketika sampel direaksikan dengan logam Mg dan HCl. Terbentuknya

gelembung-gelembung yang merupakan gas  $H_2$  yang dihasilkan dari reaksi logam Mg dengan HCl. Logam Mg dan HCl mereduksi intibenzo (Mangiwa dan Maryuni, 2015). Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Mangiwa dan Maryuni (2015) yang menunjukkan hasil positif pada uji flavonoid.



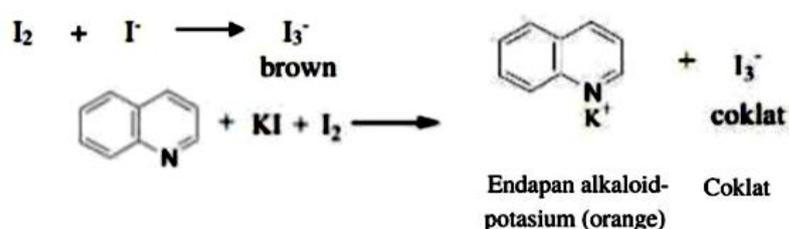
Gambar 4.1 Reaksi flavonoid dengan Magnesium dan HCl  
(Nugrahani, 2016)

#### 4.2.2 Identifikasi Alkaloid

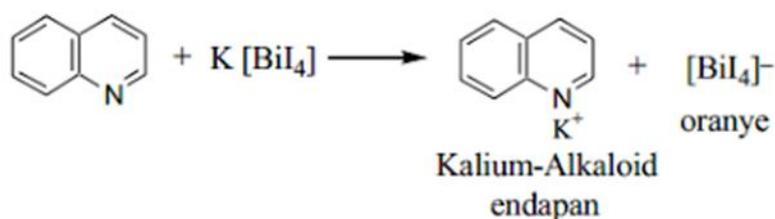
Tabel 4.2 Hasil Uji Alkaloid Ekstrak Biji Kopi Arabika Teknik *Light Roasting*, *Medium Roasting* dan *Dark Roasting*

Golongan Senyawa	Sampel	Perekasi	Perlakuan		
			Sebelum	Sesudah	Hasil
Alkaloid	<i>Light roasting</i>	Pereaksi Bouchardat (wagner)	Cokelat bening	Endapan cokelat kemerahan	Positif
	<i>Medium roasting</i>		Cokelat bening	Endapan cokelat kemerahan	Positif
	<i>Dark roasting</i>		Cokelat bening	Endapan cokelat kemerahan	Positif
Alkaloid	<i>Light roasting</i>	Pereaksi Dragendroff	Cokelat bening	Endapan jingga	Positif
	<i>Medium roasting</i>		Cokelat bening	Endapan jingga	Positif
	<i>Dark roasting</i>		Cokelat bening	Endapan jingga	Positif

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Mangiwa dan Maryuni (2015) menunjukkan hasil positif pada uji alkaloid menggunakan pereaksi Bouchardat dan Dragendroff. Hasil yang sama pada sampel dari teknik *light roasting*, *medium roasting* dan *dark roasting* menunjukkan hasil positif uji alkaloid. Hasil ini ditandai dengan terbentuknya endapan cokelat kemerahan dengan pereaksi *Bouchardat* (wegner) dan endapan jingga dengan pereaksi dragendroff. Endapan yang dihasilkan adalah kompleks kalium-alkaloid yang terbentuk dari reaksi antara ion logam kalium dari atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas yang dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan ion logam (Marliana, dkk., 2005). Warna cokelat kemerahan yang terbentuk dengan pereaksi *Bouchardat* (wegner) adalah warna dari  $I_3^-$  yang merupakan hasil reaksi dari  $I_2$  dan  $I^-$  dengan KI dalam pembuatan pereaksi *Bouchardat* (wegner). Sedangkan warna jingga yang terbentuk dengan pereaksi *Dragendroff* adalah warna dari ion *tetraiodobismut* yang terbentuk dari reaksi antara  $Bi(NO_3)_3$  dan KI yang digunakan pada pembuatan pereaksi *Dragendroff* (Mangiwa dan Maryuni, 2015).



Gambar 4.2 Reaksi Alkaloid dengan Pereaksi Wagner (Nugrahani, 2016)



Gambar 4.3 Persamaan reaksi Dragendorff (Nugrahani, 2016)

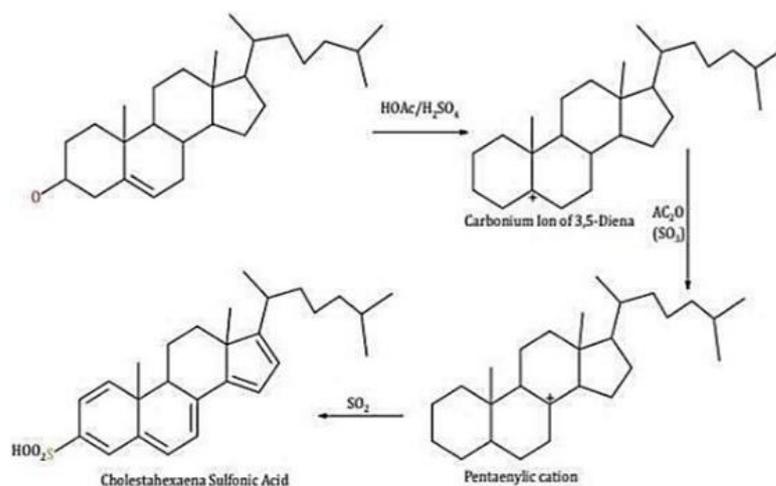
#### 4.2.3 Identifikasi Terpenoid

Tabel 4.3 Hasil Uji Terpenoid Ekstrak Biji Kopi Arabika Teknik *Light Roasting*, *Medium Roasting* dan *Dark Roasting*

Golongan Senyawa	Sampel	Perekasi	Sebelum	Perlakuan Sesudah	Hasil
Terpenoid	<i>Light roasting</i>		Cokelat bening	Hijau pekat dan cincin cokelat	Positif
	<i>Medium roasting</i>	asetat anhidrat dan H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Cokelat bening	Hijau pekat dan cincin cokelat	Positif
	<i>Dark roasting</i>		Cokelat bening	Hijau pekat dan cincin cokelat	Positif

Hasil uji positif terpenoid pada sampel dari teknik *light roasting*, *medium roasting* dan *dark roasting* ditunjukkan dengan perubahan warna hijau pekat dengan penambahan asetat anhidrat dan pembentukan cincin cokelat pada batas larutan ketika penambahan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat. Perubahan ini merupakan terjadinya oksidasi pada senyawa terpenoid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi (Mangiwa dan Maryuni, 2015).

Identifikasi terpenoid menggunakan asam asetat pekat dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat akan menghasilkan larutan berwarna merah dan menjadi senyawa cholestahexaena sulfonic acid (Habibi, dkk., 2018). Hasil ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan Mangiwa dan Maryuni (2015) pada uji senyawa terpenoid.



Gambar 4.4 Reaksi uji terpenoid

(Habibi, dkk., 2018)

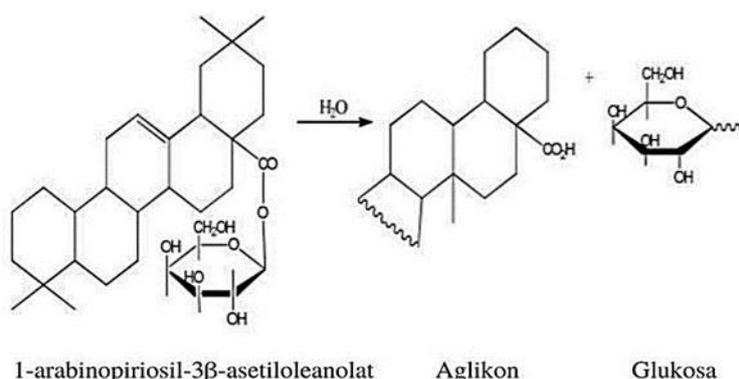
#### 4.2.4 Identifikasi Saponin

Tabel 4.4 Hasil Uji Saponin Ekstrak Biji Kopi Arabika Teknik *Light Roasting*, *Medium Roasting* dan *Dark Roasting*

Golongan Senyawa	Sampel	Pereaksi	Sebelum	Perlakuan Sesudah	Hasil
Saponin	<i>Light roasting</i>	Air panas dan pengocokan	Cokelat bening	Terbentuk busa	Positif
	<i>Medium roasting</i>		Cokelat bening	Terbentuk busa	Positif
	<i>Dark roasting</i>		Cokelat bening	Terbentuk busa	Positif

Hasil uji positif saponin pada ekstrak biji kopi hasil dari teknik *light roasting*, *medium roasting* dan *dark roasting* ditandai dengan terbentuknya busa setelah dilakukan pengocokan terhadap ekstrak yang dilarutkan dalam air panas. Busa ini terbentuk sebagai hasil dari reaksi antara gugus hidrofobik dengan udara. Senyawa golongan saponin memiliki gugus hidrofilik yang berikatan dengan air dan gugus hidrofobik

yang dapat berikatan dengan udara (Hanani, 2015). Hasil pada uji saponin ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Mangiwa dan Maryuni (2015), dimana terbentuknya busa pada sampel setelah dilakukan pengocokan pada sampel yang telah dilarutkan air panas.



Gambar 4.5 Reaksi Hidrolisis saponin dalam air (Nugrahani, 2016)

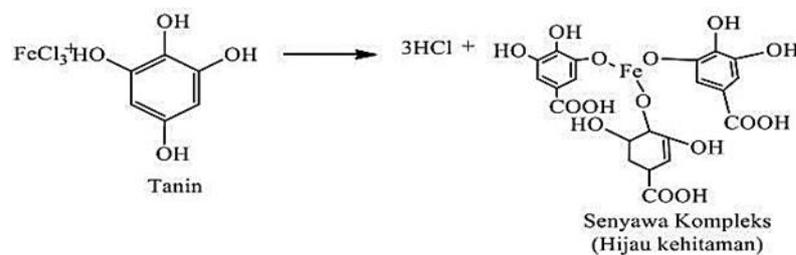
#### 4.2.5 Identifikasi Tanin

Tabel 4.4 Hasil Uji Tanin Ekstrak Biji Kopi Arabika Teknik *Light Roasting*, *Medium Roasting* dan *Dark Roasting*

Golongan Senyawa	Sampel	Pereaksi	Perlakuan		
			Sebelum	Sesudah	Hasil
Tanin	<i>Light roasting</i>	Pereaksi $FeCl_3$ 1%	Cokelat bening	Hijau kehitaman	Positif
	<i>Medium roasting</i>		Cokelat bening	Hijau kehitaman	Positif
	<i>Dark roasting</i>		Cokelat bening	Hijau kehitaman	Positif

Hasil yang diperoleh dari uji identifikasi tanin sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Mangiwa dan Maryuni (2015) yang menunjukkan hasil positif. Hasil uji positif tanin pada sampel dari teknik *light roasting*, *medium roasting* dan *dark roasting* ditandai dengan terbentuknya warna hijaukehitaman dengan pereaksi  $FeCl_3$  1 %. Warna yang dihasilkan merupakan senyawa kompleks Fe-tanin yang terbentuk

dari reaksi antara tanin dari ekstrak dengan ion  $Fe^{3+}$  dengan pereaksi  $FeCl_3$  (Hanani, 2015).



Gambar 4.6 Reaksi antara Tanin dengan  $FeCl_3$  (Nugrahani, 2016)

### 4.3 Hasil Pengujian Analisis Kuantitatif

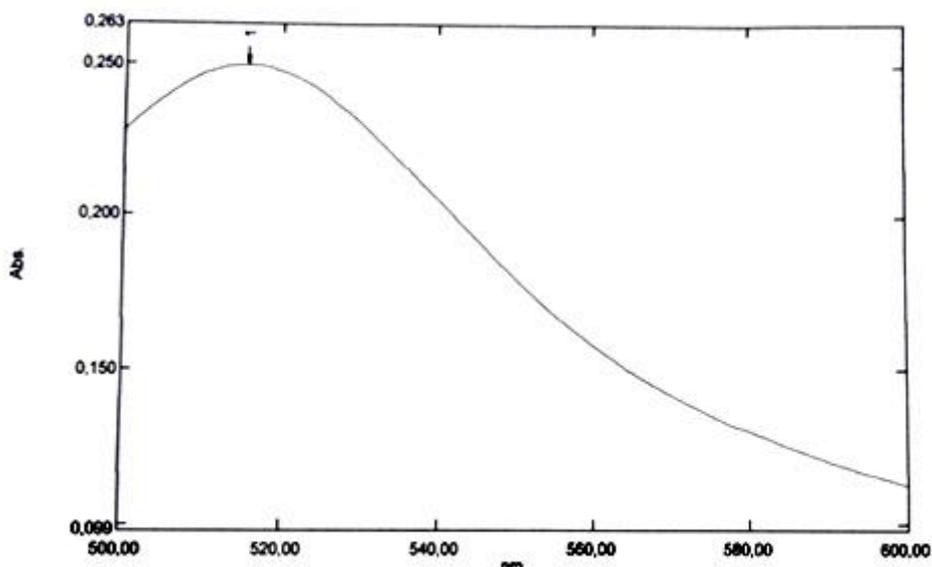
#### 4.3.1 Panjang Gelombang Maksimum

Untuk pengujian kuantitatif dilakukan dengan Spektrofotometri UV-Visible. Yang pertama adalah membuat larutan induk DPPH dengan menimbang Serbuk DPPH sebanyak 39,432 mg, kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 100 ml yang sudah ditutupi dengan alumunium foil. Dilarutkan dengan metanol p.a hingga batas sehingga diperoleh larutan induk dengan konsentrasi 400 ppm (Purnamasari, 2015). Untuk memperoleh larutan blanko dengan konsentrasi 40 ppm, dipipet metanol p.a sebanyak 8 ml, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml yang sudah ditutupi alumunium foil, kemudian tambahkan 1 ml larutan DPPH lalu encerkan dengan metanol p.a sampai tanda batas. Larutan diinkubasi pada suhu 25-30°C selama 30 menit, tujuannya adalah untuk memberikan waktu terjadinya reaksi pendonoran terhadap radikal bebas yang optimum. Penyimpanan di tempat yang gelap dan terhindar dari cahaya bertujuan

untuk menghindari terurainya larutan DPPH yang memiliki sifat mudah teroksidasi. Kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 500-600 nm (Purnamasari, 2015).

Berdasarkan hasil penentuan panjang gelombang maksimum menggunakan Spektrofotometri UV-Visible DPPH standar 40 ppm menunjukkan bahwa nilai panjang gelombang maksimumnya adalah 515,6 nm. Panjang gelombang yang didapatkan didukung oleh hasil penelitian Purnamasari (2015) yang menyatakan bahwa panjang gelombang maksimum larutan blanko DPPH pada Spektrofotometri UV-Visible adalah 500-600 nm. Sehingga panjang gelombang maksimum tersebut dapat digunakan untuk pengukuran absorbansi biji kopi Arabika hasil dari teknik *light roasting*, *medium roasting* dan *dark roasting*.

Setelah panjang gelombang maksimum dari larutan blanko DPPH diketahui, maka dilakukan pengukuran absorbansi larutan blanko DPPH pada panjang gelombang maksimum 515,6 nm menggunakan Spektrofotometri UV-Visible. Berdasarkan grafik nilai absorbansi yang diperoleh adalah 0,661.



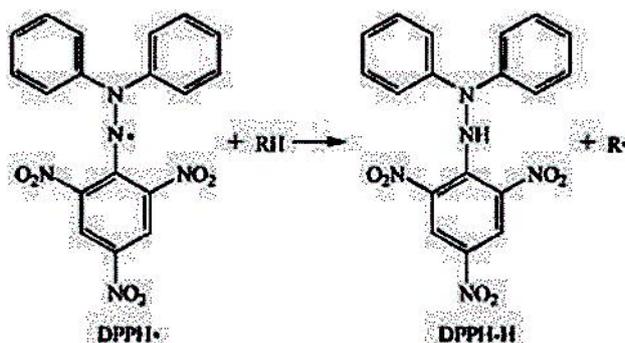
Gambar 4.7 Panjang Gelombang Maksimum DPPH

#### 4.3.2 Uji Aktivitas Antioksidan Sampel

Tahap selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi larutan dari biji kopi arabika hasil dari teknik *light roasting*, *medium roasting* dan *dark roasting* dengan membuat larutan seri berkonsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm. Tujuan pembuatan larutan dengan berbagai konsentrasi adalah untuk mendapatkan nilai  $IC_{50}$  dengan menggunakan persamaan matematis yang diperoleh melalui korelasi antara inhibisi dan konsentrasi sampel (Widyasanti, dkk., 2019). Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan mereaksikan larutan sampel biji kopi arabika teknik *light roasting*, *medium roasting* dan *dark roasting* masing-masing konsentrasi dengan larutan DPPH kemudian campuran diinkubasikan selama 30 menit pada suhu 25-30°C (Purnamasari, 2015). Tujuan dari inkubasi adalah untuk memberikan waktu untuk larutan uji yang berperan sebagai antioksidan dapat bereaksi dengan larutan

DPPH. Inkubasi dilakukan pada tempat gelap dikarenakan DPPH merupakan radikal bebas yang bersifat peka terhadap cahaya (Charlinia, 2016).

Aktivitas antioksidan yang terdapat pada sampel mengakibatkan terjadi perubahan warna pada larutan DPPH dalam metanol yang direaksikan dengan sampel. Larutan awal yang berwarna ungu berubah menjadi warna ungu pudar. Senyawa radikal berwarna ungu apabila bereaksi dengan senyawa peredamnya akan menghasilkan perubahan intensitas warna ungu sampai menjadi kuning. Perubahan warna ini menunjukkan bahwa adanya senyawa yang bersifat sebagai radikal bebas yang mereduksi DPPH. Ketika terjadi reaksi radikal DPPH dengan antioksidan, DPPH akan menerima donor hydrogen dan menjadi DPPH-H. Molekul DPPH akan mendonorkan atom hidrogennya sehingga DPPH yang bersifat radikal berubah menjadi *difenil pikrilhidrazin* yang bersifat non radikal (Wassalwa, 2016).



Gambar 4.8 Reaksi antara DPPH dengan Antioksidan  
(Williams, *et al.*, dalam Septiani, 2018).

Hasil nilai absorbansi yang diperoleh dapat dilihat pada tabel 4.2, dimana didapatkan nilai absorbansi sampel yang terbesar terdapat pada sampel biji kopi arabika teknik *dark roasting* sebesar 0,970 dengan konsentrasi 20 ppm sedangkan absorbansi terkecil terdapat pada sampel biji kopi arabika teknik *medim roasting* sebesar 0,087 dengan konsentrasi 100 ppm.

Hasil dari pengujian yang dilakukan kemudian diambil data-data untuk melakukan pengolahan sehingga data dapat dianalisa. Teknik pengolahan data dengan membandingkan konsentrasi dengan nilai persentase aktivitas antioksidan masing-masing sampel pada sebuah grafik regresi (Tristantini, dkk., 2016).

#### 4.3.3 Pengukuran Inhibisi Sampel

Persentase aktivitas antioksidan ditandai dengan berkurangnya warna DPPH dengan menggunakan persamaan pengukuran inhibisi dari hasil yang ditunjukkan pada tabel 4.2 dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100 \%$$

(Mubarak, 2017).

Tabel 4.2 Nilai Persentase inhibisi ekstrak biji kopi teknik *light roasting*, *medium roasting* dan *dark roasting*

Absorbansi blanko	Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi ke-			Rata-rata	% inhibisi
			1	2	3		
0,661	<i>light roasting</i>	20	0,87	0,85	0,85	0,86	-30,10
		40	0,6	0,64	0,63	0,62	6,2
		60	0,52	0,49	0,5	0,50	24,35
		80	0,43	0,43	0,4	0,42	36,46
		100	0,44	0,43	0,54	0,47	28,90
0,661	<i>medium roasting</i>	20	0,87	0,85	0,85	0,86	-30,10
		40	0,69	0,68	0,74	0,70	-5,9
		60	0,44	0,42	0,39	0,42	36,6
		80	0,09	0,15	0,21	0,15	77,30
		100	0,11	0,08	0,07	0,09	86,38
0,661	<i>dark roasting</i>	20	0,96	0,98	0,98	0,97	-46,74
		40	0,71	0,81	1,02	0,85	-28,59
		60	0,66	0,68	0,67	0,67	-1,36
		80	0,34	0,30	0,32	0,32	51,58
		100	0,21	0,17	0,24	0,20	96,97

Aktivitas antioksidan dalam sampel dinyatakan dengan pengurangan nilai absorbansi DPPH kontrol (absorbansi DPPH sebelum direaksikan dengan sampel) terhadap nilai absorbansi DPPH sisa absorbansi DPPH sesudah direaksikan dengan sampel (Wahyuni, 2013).

Berdasarkan perhitungan inhibisi pada tabel 4.2 maka dapat diketahui nilai aktivitas antioksidan tertinggi pada sampel ekstrak biji kopi teknik *light roasting* adalah 36,36 % dengan konsentrasi larutan 80 ppm. Sedangkan pada sampel ekstrak biji kopi arabika teknik *medium roasting* memiliki nilai aktivitas antioksidan 86,38 % dengan konsentrasi larutan 100 ppm. Dan untuk sampel ekstrak biji kopi arabika teknik *dark roasting* memiliki nilai aktivitas antioksidan sebesar 96,97 % dengan konsentrasi larutan 100 ppm.

Berdasarkan hasil persentase inhibisi pada pengujian kopi arabika teknik *light roasting*, *medium roasting* dan *dark roasting* dapat dilihat nilai inhibisi pada konsentrasi 20 ppm pada teknik *light roasting*, konsentrasi

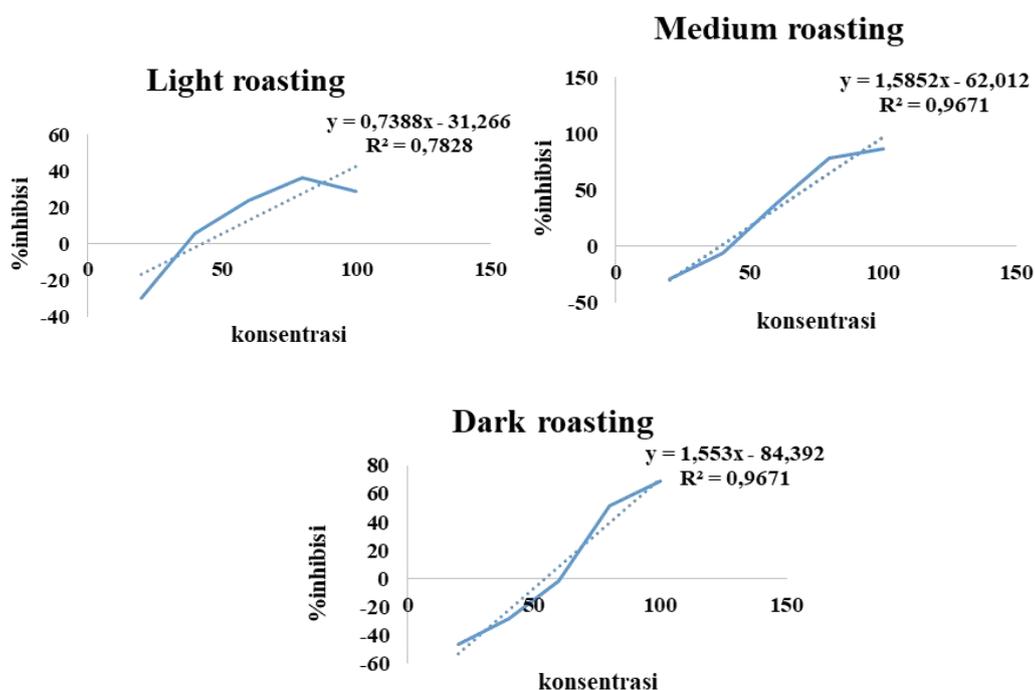
20 dan 40 ppm pada teknik *medium roasting*, konsentrasi 20,40 dan 60 ppm pada teknik *dark roasting* menghasilkan nilai negatif. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut tidak ada aktivitas penghambatan antara antioksidan yang ada pada sampel dengan radikal pada DPPH dikarenakan konsentrasi sampel yang terlalu kecil. Semakin besar konsentrasi larutan uji maka nilai absorbansinya semakin kecil. Hal ini disebabkan semakin besar konsentrasi larutan uji maka semakin banyak radikal bebas dari DPPH yang dapat dinetralkan. Penetralkan yang dilakukan terhadap radikal bebas menyebabkan ikatan rangkap diazo pada DPPH akan berkurang sehingga nilai absorbansinya akan menurun (molyneux, 2004).

#### 4.3.4 Penentuan nilai $IC_{50}$

Data persentase inhibisi yang dan konsentrasi larutan yang diperoleh dari masing-masing sampel kemudian dibuat kurva hubungan antara persentase aktivitas antioksidan terhadap konsentrasi sampel, setelah itu akan didapat persamaan garis. Persamaan tersebut bisa digunakan untuk mencari konsentrasi efektif ekstrak untuk meredam radikal bebas DPPH atau nilai  $IC_{50}$  (Tristantini, dkk., 2016).

Nilai  $IC_{50}$  merupakan konsentrasi efektif sampel yang dibutuhkan untuk merendam 50% dari total DPPH, sehingga nilai 50 disubsitusikan terhadap nilai y. Setelah nilai 50 disubsitusikan terhadap nilai y maka akan diperoleh nilai x sebagai nilai  $IC_{50}$  (Tristantini, dkk., 2016). Nilai  $IC_{50}$  adalah kemampuan menghambat suatu zat yang bersifat antioksidan

sebesar 50% terhadap aktivitas radikal bebas (Salim dan Eliyati, 2019). Berdasarkan tabel 4.3 menunjukkan bahwa nilai  $IC_{50}$  pada ekstrak biji kopi arabika teknik *light roasting*, *medium roasting* dan *dark roasting* memiliki nilai di atas 50. Untuk ekstrak biji kopi arabika teknik *medium roasting* dan *dark roasting* memiliki nilai di bawah 100 yang berarti sifat antioksidannya kuat. Sedangkan untuk ekstrak biji kopi arabika teknik *light roasting* memiliki nilai di atas 100 yang berarti memiliki sifat antioksidannya sedang. Nilai  $r^2$  yang terdapat pada masing-masing persamaan tersebut adalah hubungan antara konsentrasi ekstrak biji kopi arabika terhadap persentase inhibisi yang diamati dengan derajat keeratan 0,99. Nilai 0,99 adalah daya hambat yang terjadi sebesar 99% tersebut dipengaruhi oleh konsentrasi bahan sedangkan 1% dipengaruhi oleh faktor lain (Karim, dkk., 2015).



Gambar 4.8 Kurva Hubungan Persentase Antioksidan Terhadap Konsentrasi Sampel

Tabel 4.3 Nilai IC<sub>50</sub> Ekstrak Biji Kopi Arabika Teknik *Light Roasting*, *Medium Roasting* dan *Dark Roasting*

Sampel	Persamaan Garis	Nilai Y	Nilai X (IC <sub>50</sub> )	Sifat Antioksidan
<i>Light roasting</i>	$y = 0,7388x - 31,266$	50	109,99	Sedang
<i>Medium roasting</i>	$y = 1,5852x - 62,012$	50	70,66	Kuat
<i>Dark roasting</i>	$y = 1,533x - 84,392$	50	86,54	Kuat

Berdasarkan hasil dari penelitian ini dapat ditunjukkan bahwa semakin besar nilai IC<sub>50</sub> suatu senyawa maka semakin berkurang nilai aktivitas antioksidan senyawa tersebut karena nilai IC<sub>50</sub> yang besar akan mengurangi efek antioksidan. Hal ini sesuai dengan ketentuan sifat antioksidan yang terdapat pada tabel 4.4.

Tabel 4.4 Sifat Antioksidan Berdasarkan Nilai IC<sub>50</sub> (Molyneux, 2004)

Nilai IC <sub>50</sub>	Sifat Antioksidan
< 50 ppm	Sangat Kuat
50 ppm – 100 ppm	Kuat
100 ppm – 150 ppm	Sedang
150 ppm – 200 ppm	Lemah

Sesuai penelitian yang dilakukan utami (2016) menyatakan bahwa semakin tinggi suhu dan lama pada proses penyangraian (proses *roasting*) maka aktivitas antioksidan yang diperoleh akan semakin menurun, ini sesuai dengan hasil yang diperoleh pada kopi arabika teknik *medium roasting* memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar dibanding dengan teknik *dark roasting*. Namun tidak sesuai dengan hasil yang diperoleh pada teknik *light roasting* yang seharusnya memiliki aktivitas antioksidan lebih besar dibandingkan teknik *medium roasting* dan *dark roasting*. Hal ini bisa dipengaruhi oleh faktor lain selain suhu dan lamanya proses penyangraian, salah satunya adalah pada saat proses ekstraksi yang dilakukan (Wahyuni, dkk., 2015).

Proses ekstraksi dengan metode maserasi dengan memakai temperatur ruang mempunyai kekurangan ialah proses ekstraksi yang kurang sempurna menimbulkan berkurangnya senyawa yang terlarut (Ningrum, 2017). Selain suhu ekstraksi, waktu maserasi juga menjadi salah satu aspek yang bisa mempengaruhi proses ekstraksi. Semakin lama waktu maserasi yang dilakukan sehingga semakin lama kontak antara senyawa dengan pelarut (Wahyuni, dkk., 2015).

Bersumber pada hasil-hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa keadaan temperatur serta waktu maserasi mempengaruhi hasil ekstrak yang dihasilkan. Sesuai dengan penelitian yang dilakukan D. Ananta dkk (2021) yang melakukan waktu maserasi selama 36 jam menggunakan suhu 60° C, menyatakan suhu dan waktu maserasi mempengaruhi terhadap kapasitas antioksidan.

Dari penelitian yang dilakukan bisa disimpulkan kalau kandungan antioksidan yang baik untuk dikonsumsi sehingga memberikan efek antioksidan yang kuat untuk tubuh kita yaitu kopi arabika dengan teknik *medium roasting* yang mempunyai kadar antioksidan yang lebih baik dibandingkan teknik *light roasting* dan *dark roasting*.

## BAB V

### SIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Pengujian kualitatif identifikasi flavonoid, alkaloid, saponin, tanin dan terpenoid pada kopi Arabika GunungHalu teknik *light roasting*, *medium roasting* dan *dark roasting* positif mengandung senyawa tersebut yang merupakan senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan.
2. Aktivitas antioksidan pada kopi arabika GunungHalu teknik *light roasting* adalah sedang dengan nilai  $IC_{50}$  109,99. Aktivitas antioksidan pada kopi arabika GunungHalu teknik *medium roasting* adalah kuat dengan nilai  $IC_{50}$  70,66. Aktivitas antioksidan pada kopi arabika GunungHalu teknik *dark roasting* adalah kuat dengan nilai  $IC_{50}$  86,54.

#### 5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk kopi arabika dengan konsentrasi larutan yang lebih besar.
2. Perlu dilakukan penelitian pada kopi Arabika menggunakan pelarut lain dan teknik maserasi dengan suhu dan waktu yang berbeda.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, Eva., 2017, Uji Aktivitas Senyawa Antioksidan Dari Ekstrak Daun Tiin (*Ficus Carica Linn*) Dengan Pelarut Air, Metanol Dan Campuran Metanol-Air, *Klorofil*, 1(1): 38-47
- Ajhar, N., M., Meilani, D., 2020, skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan dari ekstrak biji kopi arabika (*COFFEA ARABICA*) yang tumbuh di daerah GAYO dengan metode DPPH, *Pharma Xplore*, **5(1)**.
- Amelia, Puteri., 2011, *Isolasi, elusidasi struktur dan uji aktivitas antioksidan senyawa kimia dari daun Garcinia benthami Pierre*, Tesis Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Program Magister Ilmu Kefarmasian, Universitas Indonesia.
- Ananta, D., Ganda Putra, G., Arnata, I, 2021, Pengaruh Suhu dan Maserasi terhadap Aktivitas Antioksidan Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*), *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 9(2): 186-197
- Anshori, M., F., 2014, *Analisis Keragaman Morfologi Koleksi Tanaman Kopi Arabika dan Robusta Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar Sukabumi*, Skripsi. IPB University.
- Arnanda Q A., Nurwarda R F, 2019, Review Article: Penggunaan Radiofarmaka Teknesium-99M Dari Senyawa Glutation Dan Senyawa Flavonoid Sebagai Deteksi Dni Radikal Bebas Pemicu Kanker, *Farmaka*, 17 (2):236-242
- Charlinia, Widya., 2016, *Pengaruh Penambahan Buah Mengkudu (*Morinda citrifoli L.*) Terhadap Aktivitas Antioksidan Dan Kadar Kafein Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*)*, Skripsi Program Studi Pendidikan Kimia Universitas Bengkulu.
- Ciptaningsih, E., 2012, *Uji Aktivitas Antioksidan dan Karakteristik Fitokimia pada Kopi Luwak Arabika dan Pengaruhnya terhadap Tekanan Darah Tikus Normal dan Tikus Hipertensi*, Tesis. Fakultas Matematika dan Pengetahuan Alam. Universitas Indonesia, Depok.
- Day, R. A., A. L. Underwood., 2010. *Analisis Kimia Kuantitatif Edisi VI*, Erlangga, Jakarta, Hal 396.
- Eliza, Wahyu., Tutut, Rahmawati., Sri, Mulyana., Sri, Rahayu., Ilham Iswahyudi, 2012, *Makalah Kimia Analisis II Spektrofotometri Ultra Violet dan Sinar Tampak*, Universitas Tanjungpura Pontianak.

- Endarini, Lully, Hanni., 2016, *Farmakognisi dan Fitokimia*, Badan Pengembangan dan Pemberdayaan Sumber Daya Manusia Kesehatan.
- Farida, A., Ristanti, E., Kumoro, A.C., 2013, Penurunan kadar kafein dan asam total pada biji kopi robusta menggunakan teknologi fermentasi anaerob fakultatif dengan mikroba nopkor MZ-15, *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*, **2**, 70-75.
- Habibi, Ahmad, Ikhwan., Arizal, Firmansyah., Siti, 2018, *Skrinning Fitokimia Ekstral n-Heksan Korteks Batang Salam (Syzygium polyanthum)*. *Indonesian Journal of Chemical Science*
- Hamdan, D., Sontani, A., 2018, *Coffe Karena Selera Tidak Dapat Diperdebatkan*, Jakarta(ID): Agromedia Pustaka.
- Hanani, E., 2015, *Analisis Fitokimia*, Jakarta(ID): ECG.
- Hiwot, H., 2011, *Growth and Physiological Response of Two Coffea Arabica L. Population Under High and Low Irradiance*. Tesis P. Addis Abada University.
- Ingrouille, K., 2013, 'Effect of Caffeinated Beverages upon Breakfast Meal Consumption of University of Wisconsin-Stout Undergraduate Students', pp. 1– 29
- Ishak, Anisa., 2018, *Analisis Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Biskuit Biji Labu Kuning (Curcubita sp.) Sebagai Snack Sehat*, Skripsi Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Hasanudin Makasar.
- Karim, Karina., Minarni., Sri Mulyani., 2015, *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Patikan Kebo (Euphorbia hirta L.)*, *Jurnal Akademika Kimia*, Vol. 4. No. 2.
- Kementrian Perdagangan, 2018, *Performa Kopi Indonesia*, [https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:2Y3Nm3kPYa8J:https://djpen.kemendag.go.id/app\\_frontend/admin/docs/publication/9321548126511.pdf+&cd=1&hl=id&ct=clnk&gl=id&client=firefox-b-d](https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:2Y3Nm3kPYa8J:https://djpen.kemendag.go.id/app_frontend/admin/docs/publication/9321548126511.pdf+&cd=1&hl=id&ct=clnk&gl=id&client=firefox-b-d) ., [diunduh pada 23 November 2021].
- Khotimah, Ishak., 2016. *Skrinning Fitokimia dan Identifikasi Metabolit Sekunder Senyawa Karpain Pada Ekstrak Metanol Daun Carica pubescens Lenne & K. Koch Dengan LC/MC (Liquid Chromatograph-tandem Mass Spectrometry)*, Skripsi Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Leba, Maria Aloisia Uron., 2017, *Buku Ajar Ekstraksi dan Real Kromatografi*, Deepublish, Sleman.

- Lenny, S., 2006, Senyawa Flavonoida, Fenil Propanoida dan Alkaloida (Makalah), Fakultas Matematika Dan Ilmu Alam, Universitas Sumatera Utara.
- Liveina, 2013, '*Pattern and Side Effects of Caffeinated Drinks Consumption Among Medical Students At Udayana*', no, Liveina, pp, 1–12.
- Mangiwa, S., dan Maryuni A.,E., 2015. *Pengaruh suhu penyangraian terhadap kadar kafein dalam biji kopi arabika (Arabica coffea)*. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Pengembangan Ipteks dan Sains*, LPPM Uncen, Edisi 1, 7-11.
- Maulana, Iqbal., 2017, *Perancangan Alat Sangrai Kopi Menggunakan Drum Tradisiona.*. Undergraduate thesis, U Jember.
- Mubarak, Khalil., Hasnah., Abd Wahid., Pasjan., 2017, Analisis kadar a Tokoferol (vitamin e) dalam daun kelor (*Moringa oleifera Lam*) dari daerah pesisir dan pegunungan serta potensinya sebagai antioksidan, *Jurnal Riset Kimia Kovalen*, **3(1)**.
- Muttaqien, A., 2020, Salut! Kopi Gununghalu Meraih Award di Paris Prancis, Begini Pendapat Warga KBB, <https://bandungkita.id/2020/08/05/salut-kopi-gununghalu-meraih-award-di-paris-begini-pendapat-warga-kbb/> .. [diunduh pada 28 September 2021].
- Ningrum, M.P. 2017. Pengaruh Suhu dan Lama Waktu Maserasi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Rumput Laut Merah (*Euchema cottoni*). Tesis. Tidak dipublikasikan. Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang
- Nugrahani, Rizki., dkk., 2016, *Skrinning Fitokimia Dari Ekstrak Buah Buncis (Phaseolus vulgaris L) Dalam Sediaan Serbuk*, *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, Vol. 2. No.1.
- Oktadina, F.,D., Argo, B.,D., Hermanto, M.,B., 2013. Pemanfaatan nanas (*Ananas Comosus L. Merr* ) untuk penurunan kadar kafein dan perbaikan citarasa kopi (*Coffea Sp*) dalam pembuatan kopi bubuk, *Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis dan Biosistem*, **1(3)**, 265-273.
- Parbuntari, H., et.al., 2018, *Preliminary Phytochemical Screening (Qualitative Analysis) of Cacao Leaves (Theobroma Cacao L)*, *EKSAKTA* Vol. 19.
- Pratyaksa, I.P.L., G.P. Ganda Putra dan L. Suhendra, 2019, Pengaruh ukuran partikel dan waktu maserasi terhadap karakteristik ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) sebagai sumber antioksidan, *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 8(1): 139-149

- Purnamasari, A., 2015, *Uji Toksisitas Aktivitas Antioksidan dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 70% Propolis serta Serbuk Nanopropolis*, Skripsi Universitas Pakuan Bogor.
- Rahardjo, P., 2012, *Panduan Budi Daya dan Pengolahan Kopi Arabika dan Robusta*, Jakarta(ID): Penebar Swadaya.
- Rivai, Harrizul., Meliyana., Dian, Handayani., 2010, *Karakteristik Ekstrak Spon Laut Axinella cartery Dendy Secara Fisika, Kimia dan Fisikokimia*, Jurnal Farmasi Higea, Vol. 2 No. 1.
- Salim, Reny., Eliyarti., 2019, *Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Kelor (Moringa oleifera Lam.) Terhadap Warna Daun*, Jurnal Katalisator, Vol. 4 No. 2.
- Septiani, Revi., 2018, *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Jamblang (Syzygiumcumini L.) Dengan Metode DPPH*, Skripsi Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara Medan.
- Shebis, Y., Iluz, D., Kinel-Tahan, Y.,Dubinsky, Z., and Yehoshua, Y. Natural antioxidants: Function and sources. Review. Food and Nutrition Sciences. 2013; 4:643 – 649.
- Sirotiak, Maros., Alica Bartosova., Lenka, Blinova., 2014, *UV-Vis Spectrophotometric Determinations Of Selected Elements In Modelled Aqueous Solutions*, Journal of Environmental Protection, Safety, Education and Management, Vol. 2 No. 3.
- Smith, C., Marks, A.,D., Lieberman, M., 2005, *Marks Basic Medical Biochemistry: A Clinical Approach 2nd Edition*, Philadelphia(PA): Lippincott Williams & Wilkins.
- Suryani, L., 2012, *Optimasi metode ekstraksi fenol dari rimpang jahe empirit (Zingiber Officinalle Var. Rubrum)*, Jurnal Agrisains, 3(4):63-70
- Tamilmani, P., and M,C, Pandey, 2015, *Optimization and elaviation of phenolic coumpound and their antioxidant activity from coffee beans*, *International Journal of Advanced Research*, 3(4): 296–306.
- Tristantini, Dewi, Alifah Ismawati, Bhayangkara Tegar Paradana, Jason Gabriel Jonathan., 2016, *Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (Mimusops elengi L)*, Prodi Teknik Kimia, Dan Prodi Teknologi Bioproses, Fakultas Teknik. Universitas Indonesia, Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia “Kejuangan”.
- Utami, 2009, *Potensi daun alpukat (Persea americana Mill) sebagai sumber antioksidan alami*, Jurnal Teknik Kimia, 2(1): 58-64

- Wahyuni, D.T. dan S.B. Widjanarko, 2015, Pengaruh jenis pelarut dan lama ekstraksi terhadap ekstrak karotenoid labu kuning dengan metode gelombang ultrasonik, *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3(2): 390-401
- Wahyuni., 2013, *Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Jeruk Siam Dengan Metode DPPH*, Institut Agama Islam Negeri Walisongo, Semarang.
- Winarsi, H., 2011, *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas Potensi dan Aplikasinya Dalam Kesehatan*, Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Winata, A., Sunengsih, N., D., Widiastuti, 2018, Rekayasa sosial untuk menjamin keberlangsungan desa mandiri energi Desa Tangsi Jaya Kecamatan Gunung Halu Kabupaten Bandung Barat, *Jurnal Ilmiah WIDYA Non-Eksasta*, 1(1), 56-62.
- Yuliani, Ni Nyoman., Desmira., 2015, *Uji Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Kelor (Moringa Oleifera, Lamk) Dengan Metode 1,1-diphenyl-2picrylhydrazyl (DPPH)*, *Jurnal Info Kesehatan*, Vol. 14 No. 2.
- Yuslianti, Euis Reni., 2018, *Pengantar radikal bebas dan Antioksidan*, Deepublish. Penerbit CV Budi Utama, Sleman.
- Wassalwa, Manna., 2016, *Pengaruh Waktu Infusa Dan Suhu Air yang Berbeda Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Vitamin C pada Infused Water Kulit Pisang*, *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pendidikan Biologi*, Vol. 1. Hal: 107-118.

## LAMPIRAN 1

### Lembar Identifikasi Tumbuh

HERBARIUM JATINANGOR  
LABORATORIUM TAKSONOMI TUMBUHAN  
JURUSAN BIOLOGI FMIPA UNPAD  
Gedung D2-212, Jl. Raya Bandung Sumedang Km 21 Jatinangor  
Telp. 022-7796412, email: [phanerogamae@yahoo.com](mailto:phanerogamae@yahoo.com)

#### LEMBAR IDENTIFIKASI TUMBUHAN No.36/HB/10/2021

Herbarium Jatinangor, Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Jurusan Biologi FMIPA UNPAD, dengan ini menerangkan bahwa:

Nama : Yeni Purnamasari  
NIM : 19208083  
Instansi : Bumi Siliwangi Bandung  
Telah melakukan identifikasi tumbuhan, dengan No. Koleksi: -  
Tanggal Koleksi : 19 Oktober 2021.  
Lokasi : Bandung.

#### Hasil Identifikasi,

Nama Ilmiah : *Coffea arabica* L.  
Sinonim : *Coffea arabica* var. *amarella* A.Froehner  
Nama Lokal : Kopi Arabika  
Suku/Famili : Rubiaceae

#### Klasifikasi (Hirarki Taksonomi)

Kingdom	Plantae
Divisi	Magnoliophyta
Class	Magnoliopsida
Ordo	Gentianales
Famili	Rubiaceae
Genus	<i>Coffea</i>
Species	<i>Coffea arabica</i> L.

#### Referensi:

Cronquist, Arthur. 1981. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*.  
Columbia University Press. New York  
The Plant List. *Website DuniaTumbuhan*. <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-158489>.  
Backer, C. A. and Bakhuizen w/d Brink R. C Jr. 1963. *Flora of Java*.  
Wolter-Noordhoff NV. Groningen.

Jatinangor, 20 Oktober 2021.

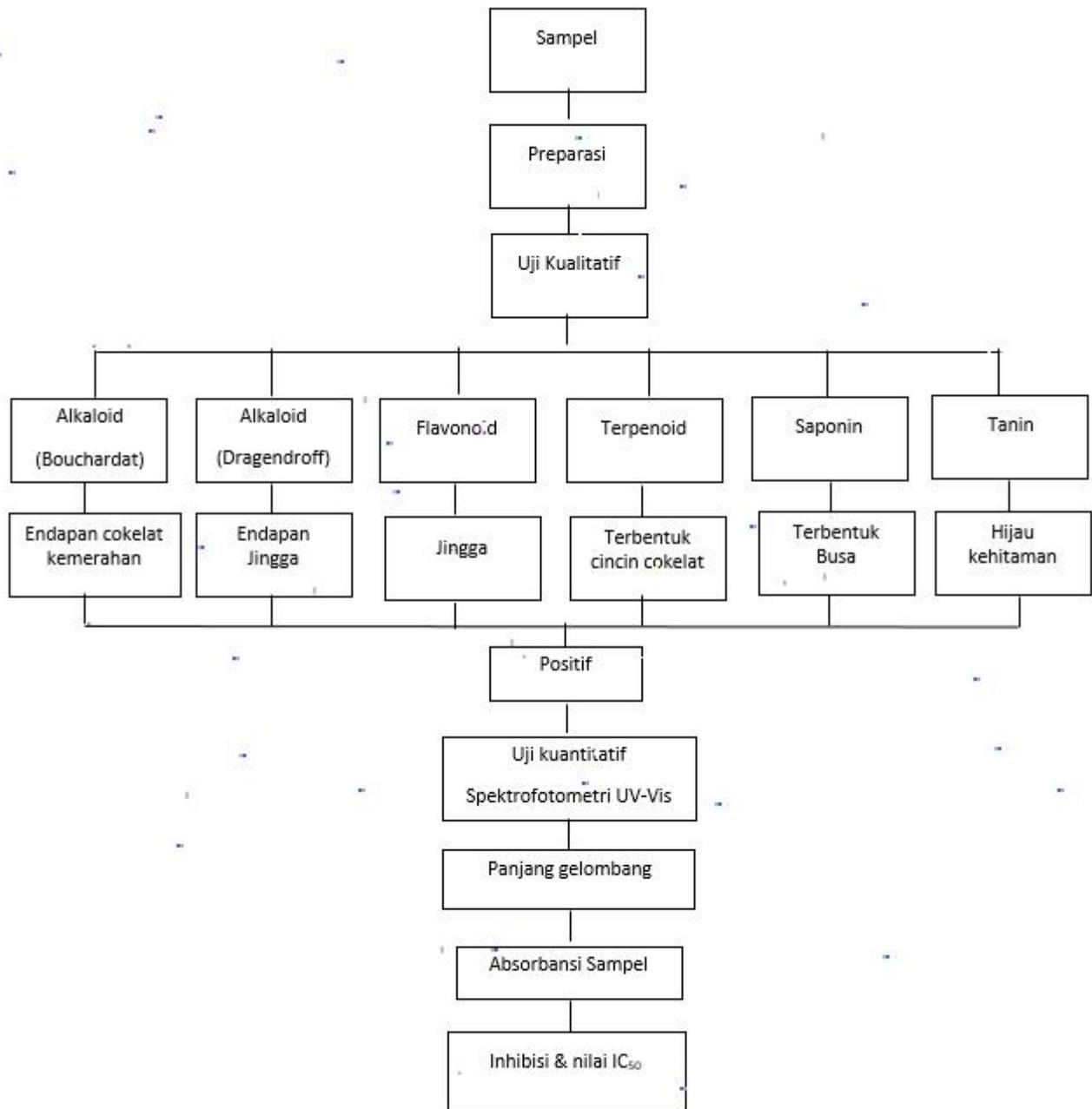
Identifikator,

LABORATORIUM TAKSONOMI TUMBUHAN  
JURUSAN BIOLOGI FMIPA-UNPAD

Drs. Joko Kusmoro, M.P.  
NIP. 19660801 199101 1 001

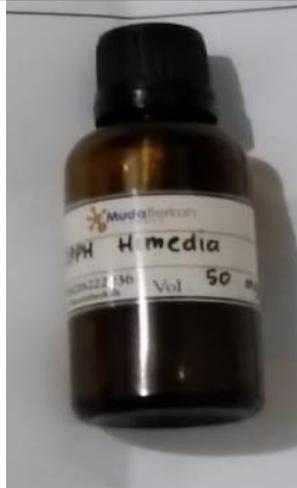
## LAMPIRAN 2

### Alur Uji Sampel

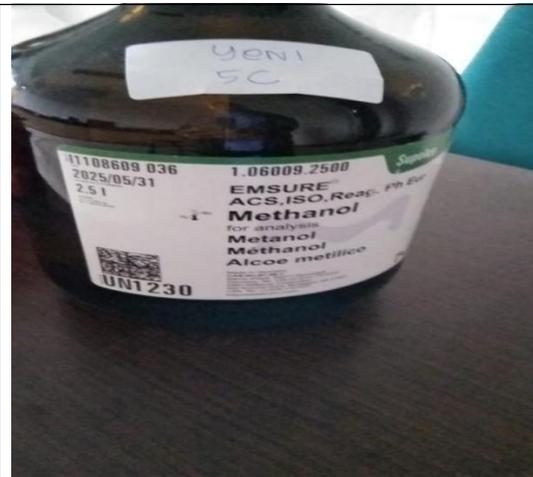


LAMPIRAN 3  
Gambar Pereaksi

Gambar Pereaksi



DPPH 1



Methanol



Bourchard



Dragendorf

## LAMPIRAN 4

### Gambar Sampel

### Gambar Sampel



Serbuk Kopi Arabika 1



Proses Maserasi Kopi Arabika 1



Hasil Ekstraksi Kopi Arabika

**LAMPIRAN 5**  
**Hasil Uji Kualitatif Sampel**



Alkaloid (Wagner)



Saponin



Alkaloid (Dragendrof)



Flavonoid



Tanin



Terpenoid

**LAMPIRAN 6**  
**Hasil Uji Kuantitatif Sampel**



Proses Inkubasi



*Teknik Light Roasting*



*Medium Roasting*



*Dark Roasting*

## LAMPIRAN 7

### Perhitungan

#### A. Perhitungan Rendemen Ekstrak

1. Kopi arabika teknik *light roasting*

Berat bubuk kopi	= 150 gram
Ekstrak yang dihasilkan	= 8,088 gram
Rendemen	= $\frac{150 \text{ gram}}{8,088 \text{ gram}} \times 100\% = 18,54 \%$

2. Kopi arabika teknik *medium roasting*

Berat bubuk kopi	= 150 gram
Ekstrak yang dihasilkan	= 6,96 gram
Rendemen	= $\frac{150 \text{ gram}}{6,96 \text{ gram}} \times 100\% = 21,52 \%$

3. Kopi arabika teknik *dark roasting*

Berat bubuk kopi	= 150 gram
Ekstrak yang dihasilkan	= 8,067 gram
Rendemen	= $\frac{150 \text{ gram}}{8,067 \text{ gram}} \times 100\% = 18,59 \%$

#### B. Perhitungan Pengenceran Sampel

Larutan induk 1000 ppm:

Sebanyak 50 mg dilarutkan dalam 50 ml methanol

Larutan seri :

Rumus  $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$

20 ppm	= $20 \text{ ppm} / 1000 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml} = 0,2 \text{ ml}$
40 ppm	= $40 \text{ ppm} / 1000 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml} = 0,4 \text{ ml}$
60 ppm	= $60 \text{ ppm} / 1000 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml} = 0,6 \text{ ml}$
80 ppm	= $80 \text{ ppm} / 1000 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml} = 0,8 \text{ ml}$
100 ppm	= $100 \text{ ppm} / 1000 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml} = 1 \text{ ml}$

### C. Perhitungan Pengenceran DPPH

Larutan induk 400 ppm :

Serbuk DPPH 34,99 mg dilarutkan dalam methanol 100 ml

Larutan blanko 40 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 400 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \times 40 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 40 \text{ ppm} / 400 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml} = 1 \text{ ml}$$

### D. Perhitungan % Inhibisi

$$\% \text{inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100 \%$$

#### 1. Kopi arabika teknik *light roasting*

$$\% \text{inhibisi 20 ppm} = \frac{0,661 - 0,86}{0,661} \times 100 \% = -30,10 \%$$

$$\% \text{inhibisi 40 ppm} = \frac{0,661 - 0,62}{0,661} \times 100 \% = 6,20 \%$$

$$\% \text{inhibisi 60 ppm} = \frac{0,661 - 0,50}{0,661} \times 100 \% = 24,35 \%$$

$$\% \text{inhibisi 80 ppm} = \frac{0,661 - 0,42}{0,661} \times 100 \% = 36,46 \%$$

$$\% \text{inhibisi 100 ppm} = \frac{0,661 - 0,47}{0,661} \times 100 \% = 28,90 \%$$

#### 2. Kopi arabika teknik *medium roasting*

$$\% \text{inhibisi 20 ppm} = \frac{0,661 - 0,86}{0,661} \times 100 \% = -30,10 \%$$

$$\% \text{inhibisi 40 ppm} = \frac{0,661 - 0,70}{0,661} \times 100 \% = -5,9 \%$$

$$\% \text{inhibisi 60 ppm} = \frac{0,661 - 0,42}{0,661} \times 100 \% = 36,36 \%$$

$$\% \text{inhibisi 80 ppm} = \frac{0,661 - 0,15}{0,661} \times 100 \% = 77,30 \%$$

$$\% \text{inhibisi 100 ppm} = \frac{0,661 - 0,09}{0,661} \times 100 \% = 86,38 \%$$

3. Kopi arabika teknik *dark roasting*

$$\% \text{inhibisi 20 ppm} = \frac{0,661 - 0,97}{0,661} \times 100 \% = -46,74 \%$$

$$\% \text{inhibisi 40 ppm} = \frac{0,661 - 0,85}{0,661} \times 100 \% = -28,59 \%$$

$$\% \text{inhibisi 60 ppm} = \frac{0,661 - 0,67}{0,661} \times 100 \% = -1,36 \%$$

$$\% \text{inhibisi 80 ppm} = \frac{0,661 - 0,32}{0,661} \times 100 \% = 51,58 \%$$

$$\% \text{inhibisi 100 ppm} = \frac{0,661 - 0,021}{0,661} \times 100 \% = 96,97 \%$$

**E. Perhitungan Nilai IC<sub>50</sub>**

Persamaan linier (  $y = bx + a$  ), dimana  $y = 50$  dan  $x$  menunjukkan IC<sub>50</sub>

1. Kopi arabika teknik *light roasting*

$$y = 0,7388x - 31,266$$

$$x = \frac{50 + 31,266}{0,7388} = 109,99$$

2. Kopi arabika teknik *medium roasting*

$$y = 1,5852x - 62,012$$

$$x = \frac{50 + 62,012}{1,5852} = 70,66$$

3. Kopi arabika teknik *dark roasting*

$$y = 1,533x - 84,392$$

$$x = \frac{50 + 84,392}{1,533} = 86,54$$

**LAMPIRAN 8**  
**COA Methanol**



**Certificate of Analysis**

1.06009.2500 Methanol for analysis EMSURE® ACS,ISO,Reag. Ph Eur  
Batch I0937709

	Batch Values	
Purity (GC)	≥ 99.9	%
Identity (IR)	conforms	
Appearance	clear	
Color	≤ 10	Hazen
Solubility in water	conforms	
Acidity	≤ 0.0002	meq/g
Alkalinity	≤ 0.0002	meq/g
Density (d 20 °C/20 °C)	0.791 - 0.793	
Boiling point	64 - 65	°C
Benzene (impurity A) (GC)	< 1	ppm
Ethanol (GC)	≤ 0.05	%
Acetone	≤ 0.001	%
Acetaldehyde	≤ 0.001	%
Formaldehyde	≤ 0.001	%
Readily carbonizable substances	conforms	
Carbonyl compounds (as CO)	≤ 0.001	%
Chloride (Cl)	≤ 0.5	ppm
Sulfate (SO <sub>4</sub> )	≤ 1	ppm
Substances reducing potassium permanganate (as O)	≤ 0.00025	%
Ag (Silver)	≤ 0.000002	%
Al (Aluminium)	≤ 0.00005	%
As (Arsenic)	≤ 0.000002	%
Au (Gold)	≤ 0.000002	%
Ba (Barium)	≤ 0.00001	%
Be (Beryllium)	≤ 0.000002	%
Bi (Bismuth)	≤ 0.000002	%
Ca (Calcium)	≤ 0.00005	%
Cd (Cadmium)	≤ 0.000005	%
Co (Cobalt)	≤ 0.000002	%
Cr (Chromium)	≤ 0.000002	%
Cu (Copper)	≤ 0.000002	%
Fe (Iron)	≤ 0.00001	%
Ga (Gallium)	≤ 0.000002	%
In (Indium)	≤ 0.000002	%
Li (Lithium)	≤ 0.000002	%
Mg (Magnesium)	≤ 0.00001	%
Mn (Manganese)	≤ 0.000002	%
Mo (Molybdenum)	≤ 0.000002	%
Ni (Nickel)	≤ 0.000002	%
Pb (Lead)	≤ 0.00001	%
Pt (Platinum)	≤ 0.000005	%

LAMPIRAN 9  
COA DP

HiMedia Laboratories Pvt. Ltd.  
Certified ISO 9001-2015 and WHO GMP

HIMEDIA

23, Vadhani Industrial Estate, L.B.S. Marg, Mumbai - 400086  
Website : www.himedialabs.com, Email : info@himedialabs.com

Certificate of Analysis

Material Name: 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl

CAS Number : 1898-66-4

Material Code : MB263

Lot Number : 0000473772

Molecular Formula :  $C_{18}H_{12}N_4O_6$

Report No : 10000464112

TEST	SPECIFICATIONS	RESULTS
Appearance	Green to dark violet to black-gold to black crystals or powder or solid	Dark violet crystals
Solubility	33.3 mg soluble in 1 mL of dimethylformamide	Complies
FTIR	Matches with the standard pattern	Complies
DNases	None detected	Complies
RNases	None detected	Complies
Assay (HPLC)	$\geq 85.00\%$	99.99%

STATUS : APPROVED

QC Release Date : 2021-03-15

Expiry Date : 2025-03-08

  
Sanjay Ghosh

Quality Control Chemist  
Chemical Division

  
P. K. Misra

Manager, Quality Control  
Chemical Division

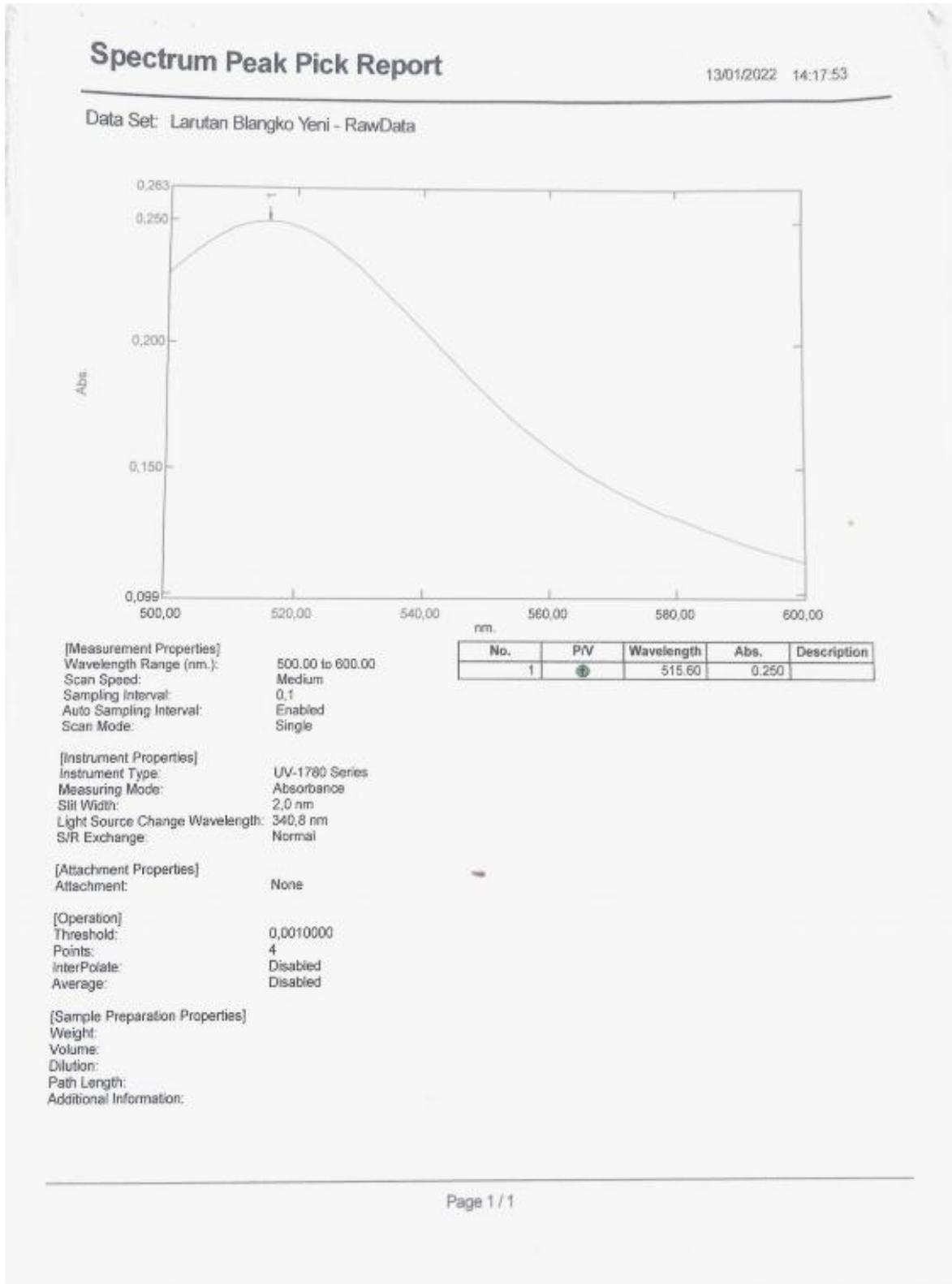
  
Rajesh Malhotra

Manager, Quality Assurance  
Chemical Division

This is to certify that this lot passes and it conforms to the above mentioned tests and specifications. The information given here is believed to be correct and accurate, however, both the information and products are offered without warranty for any particular use, other than that specified in the current technical data.

This document has been produced electronically and is valid with out signature.

**LAMPIRAN 10**  
**Panjang Gelombang Maksimum**



## LAMPIRAN 11

### Absorbansi Kopi Arabika Teknik Dark Roasting

$y = -0,00881767 x + 1,02923$   
 $r^2 = 0,99100$   
 Chi Square = 0,00819  
 $r(m)^2 = 0,99100$

Standard Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515,6	Wgt.Factor	Comments
1	ArabikaD20	Standard		20.000	0.988	1.000	
2	ArabikaD40	Standard		40.000	0.811	1.000	
3	ArabikaD60	Standard		60.000	0.682	1.000	
4	ArabikaD80	Standard		80.000	0.301	1.000	
5	ArabikaD100	Standard		100.000	0.168	1.000	
6							

$y = -0,00911021 x + 1,09949$   
 $r^2 = 0,95906$   
 Chi Square = 0,04145  
 $r(m)^2 = 0,95906$

Standard Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515,6	Wgt.Factor	Comments
1	ArabikaD20	Standard		20.000	0.976	1.000	
2	ArabikaD40	Standard		40.000	1.017	1.000	
3	ArabikaD60	Standard		60.000	0.669	1.000	
4	ArabikaD80	Standard		80.000	0.315	1.000	
5	ArabikaD100	Standard		100.000	0.242	1.000	
6							

Slit Width: 2,0 nm  
 Light Source Change Wavelength: 340,8 nm  
 S/R Exchange: Normal

$y = -0,00754494 x + 0,953782$   
 $r^2 = 0,95878$   
 Chi Square = 0,01848  
 $r(m)^2 = 0,95878$

[Attachment Properties]

Standard Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515,6	Wgt.Factor	Comments
1	ArabikaD20	Standard		20.000	0.955	1.000	
2	ArabikaD40	Standard		40.000	0.711	1.000	
3	ArabikaD60	Standard		60.000	0.663	1.000	
4	ArabikaD80	Standard		80.000	0.342	1.000	
5	ArabikaD100	Standard		100.000	0.212	1.000	
6							

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515,6	Comments
1						

## LAMPIRAN 12

### Absorbansi Kopi Arabika Teknik Medium Roastin

Instrument Type: UV-1700 Series  
 Measuring Mode: Absorbance  
 slit Width: 2.0 nm  
 Light Source: Change Wavelength: 340.6 nm  
 PR: Normal  
 [Attachment Properties]

$y = -0.00850243x + 0.870075$   
 $r^2 = 0.92768$   
 Chi Square = 1.05377  
 $r(m)^2 = 0.92768$

Conc. (ppm)

Sample ID	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515,6	Wgt.Factor	Comments
1	ArabikaM20	Standard		20.000	0.870	1.000	
2	ArabikaM40	Standard		40.000	0.590	1.000	
3	ArabikaM60	Standard		60.000	0.441	1.000	
4	ArabikaM80	Standard		80.000	0.387	1.000	
5	ArabikaM100	Standard		100.000	0.156	1.000	
6							

Sample ID	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515,6	Comments
1						

Conc. (ppm)

$y = -0.00834791x + 0.869400$   
 $r^2 = 0.93600$   
 Chi Square = 0.09291  
 $r(m)^2 = 0.93600$

Standard Table

Sample ID	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515,6	Wgt.Factor	Comments
1	ArabikaM20	Standard		20.000	0.851	1.000	
2	ArabikaM40	Standard		40.000	0.738	1.000	
3	ArabikaM60	Standard		60.000	0.389	1.000	
4	ArabikaM80	Standard		80.000	0.208	1.000	
5	ArabikaM100	Standard		100.000	0.074	1.000	
6							

Conc. (ppm)

$y = -0.00842425x + 0.855478$   
 $r^2 = 0.95205$   
 Chi Square = 0.32952  
 $r(m)^2 = 0.95205$

Standard Table

Sample ID	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515,6	Wgt.Factor	Comments
1	ArabikaM20	Standard		20.000	0.850	1.000	
2	ArabikaM40	Standard		40.000	0.683	1.000	
3	ArabikaM60	Standard		60.000	0.418	1.000	
4	ArabikaM80	Standard		80.000	0.145	1.000	
5	ArabikaM100	Standard		100.000	0.075	1.000	
6							

## LAMPIRAN 13

### Absorbansi Kopi Arabika Teknik Light Roasting

Conc. (ppm)

$y = -5.26352e-004 x + 0.0882187$   
 $r^2 = 0.86744$   
 Chi Square = 0.00330  
 Residual Standard Deviation = 0.00661  
 $(m)^2 = 0.86744$

Standard Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL512,6	Wgt.Factor	Comments
1	ArabikaL20	Standard		20.000	0.855	1.000	
2	ArabikaL40	Standard		40.000	0.644	1.000	
3	ArabikaL60	Standard		60.000	0.499	1.000	
4	ArabikaL80	Standard		80.000	0.433	1.000	
5	ArabikaL100	Standard		100.000	0.433	1.000	
6							

Conc. (ppm)

$y = -5.78842e-004 x + 0.0898788$   
 $r^2 = 0.91056$   
 Chi Square = 0.00273  
 Residual Standard Deviation = 0.00574  
 $(m)^2 = 0.91056$

Standard Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL512,6	Wgt.Factor	Comments
1	ArabikaL20	Standard		20.000	0.855	1.000	
2	ArabikaL40	Standard		40.000	0.633	1.000	
3	ArabikaL60	Standard		60.000	0.500	1.000	
4	ArabikaL80	Standard		80.000	0.400	1.000	
5	ArabikaL100	Standard		100.000	0.388	1.000	
6							

Conc. (ppm)

$y = -5.21240e-004 x + 0.0884460$   
 $r^2 = 0.81736$   
 Chi Square = 0.00425  
 Residual Standard Deviation = 0.00779  
 $(m)^2 = 0.81736$

Standard Table

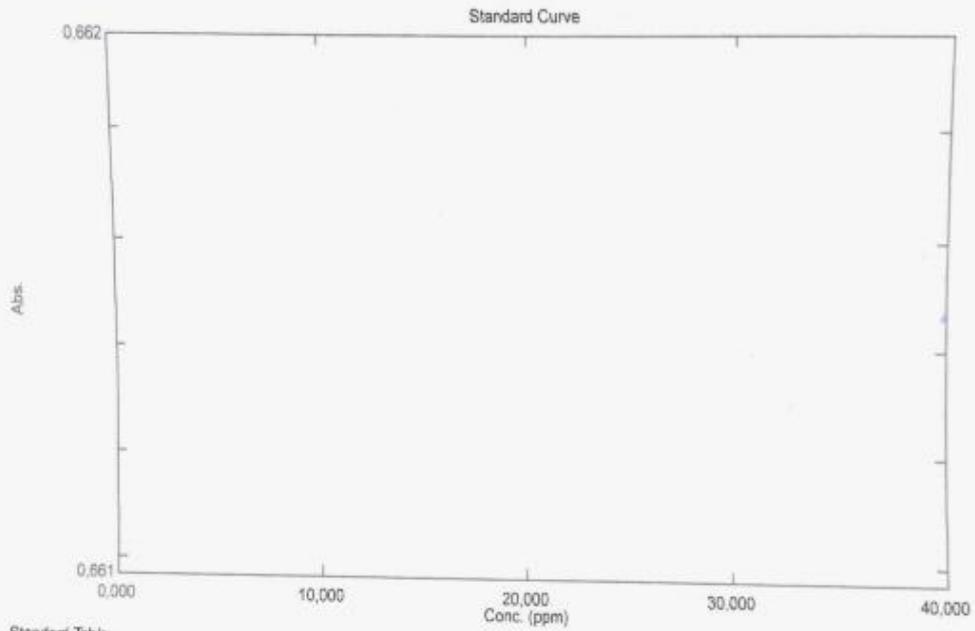
	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL512,6	Wgt.Factor	Comments
1	ArabikaL20	Standard		20.000	0.877	1.000	
2	ArabikaL40	Standard		40.000	0.600	1.000	
3	ArabikaL60	Standard		60.000	0.522	1.000	
4	ArabikaL80	Standard		80.000	0.433	1.000	
5	ArabikaL100	Standard		100.000	0.444	1.000	
6							

**LAMPIRAN 14**  
**Absorbansi Larutan Blanko**

**Standard Table Report**

25/02/2022 09:56:54

File Name: D:\training\Kurva Dpph Blanko yeni.pho



Standard Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515,6	Wgt.Factor	Comments
1	StandarDPPHBlanko	Standard		40.000	0.661	1.000	
2							