

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BEBERAPA KOPI
ROBUSTA (*Coffea canephora* Pierre.) YANG ADA DI
SULAWESI SELATAN DENGAN MENGGUNAKAN
METODE ABTS (2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolin)6-
asam sulfonat)**

**ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF COFFE ROBUSTA
(*Coffea canephora* Pierre.) IN SOUTH SULAWESI
USING METHOD OF ABTS (2,2-Azinobis (3-
ethylbenzothiazoline)6-sulfonic acid)**

CHAERUNNISA INDRA

N111 14 509



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**



Optimization Software:
www.balesio.com

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BEBERAPA KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora* Pierre.) YANG ADA DI SULAWESI SELATAN DENGAN MENGGUNAKAN METODE ABTS (2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolin)6-asam sulfonat)

ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF COFFE ROBUSTA (*Coffea canephora* Pierre.) IN SOUTH SULAWESI USING METHOD OF ABTS (2,2-Azinobis (3-ethylbenzothiazoline)6-sulfonic acid)

SKRIPSI

untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana

CHAERUNNISA INDRA

N111 14 509

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**



UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BEBERAPA KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora* Pierre.) YANG ADA DI SULAWESI SELATAN DENGAN MENGGUNAKAN METODE ABTS (2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolin)6-asam sulfonat)

CHAERUNNISA INDRA

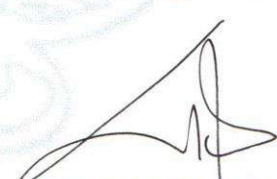
N111 14 509

Disetujui Oleh :

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,


Dra. Rosany Tayeb, M.Si., Apt.
NIP. 19561011 198603 2 002


Ismail, S.Si., M.Si., Apt.
NIP. 19850805 201404 1 001

Pada tanggal, 14 Juli 2020



Optimization Software:
www.balesio.com

SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BEBERAPA KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora* L.) YANG ADA DI SULAWESI SELATAN DENGAN MENGGUNAKAN METODE ABTS (2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolin)6-asam sulfonat)

ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF COFFE ROBUSTA (*Coffea canephora* Pierre.) IN SOUTH SULAWESI USING METHOD OF ABTS (2,2-Azinobis (3-ethylbenzothiazoline)6-sulfonic acid)

Disusun dan diajukan oleh :

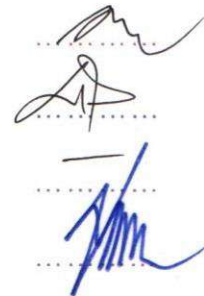
CHAERUNNISA INDRA

N111 14 509

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
Pada Tanggal, 14 juli 2020
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Panitia Penguji Skripsi

1. Ketua : Dra.Rosany Tayeb, M.Si., Apt
2. Sekretaris : Ismail, S.Si., M.Si., Apt.
3. Ex Officio : Subehan, S.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D.,Apt
4. Ex Officio : Drs. Syaharuddin Kasim, M.Si., Apt



Mengetahui,
Ketua Prgram Studi S1 Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin


Firzan Nainu, S.Si., M. Biomed., Ph.D., Apt
NIP : 19820610 200801 1 012



PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah karya saya sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi dan gelar yang diperoleh batal demi hukum.

Makassar, 27 - Agustus - 2020

Yang menyatakan



CHAERUNNISA INDRA

N111 14 509



Optimization Software:
www.balesio.com

UCAPAN TERIMAKASIH

Bismillahirrahmanirrahim

الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ

Puji syukur kepada Allah Subhanahu Wata'ala dengan segala rahmat dan karunia-nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini, dalam penyusunan skripsi ini semua tidak lepas dari dukungan berbagai pihak, penulis secara khusus mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu baik secara langsung maupun tidak langsung. Untuk itu dengan segala kerendahan hati, penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih terkhusus kepada :

1. Kepada ibu Dra. Rosany Tayeb, M.Si., Apt. sebagai pembimbing utama, dan bapak Ismail, S.Si., M.Si., Apt. selaku pembimbing pendamping terima kasih telah meluangkan waktu selama ini untuk memberikan bimbingan, arahan, dorongan dan semangat kepada penulis serta membagi ilmunya, menyumbangkan pikiran dan tenaga dalam membimbing penulis sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan.
2. Kepada Tim Penguji, bapak Subehan, S.Si., M.Pharm.Sc., Ph.d., Apt , Drs. Syaharuddin Kasim, M.Si., Apt atas masukan-masukan yang sangat bermanfaat dalam menyelesaikan skripsi ini dan terimakasih atas ilmu yang telah dibagikan kepada penulis.



pada Dekan, wakil dekan dan dosen Fakultas Farmasi Universitas
sanuddin terima kasih atas ilmu, nasehat, saran serta pengalaman

yang telah diberikan selama penulis menjalani perkuliahan ini, serta seluruh staff Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang yang tidak bisa disebutkan satu per satu terima kasih atas segala bimbingan dan ilmu serta bantuan yang diberikan selama menempuh pendidikan di Fakultas Farmasi.

4. Kepada seluruh laboran Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin terkhusus untuk kak Abdi dan kak Dewi yang sangat membantu semua kebutuhan penulis pada saat penelitian.
5. Sahabat seperjuangan dalam melakukan penelitian yaitu Dia Ananda, Dheanawati Putri, Nurfatmasari, Nahdiah dan Gretya Mayelan yang senantiasa membantu penulis pada saat pengerjaan di laboratorium, dan memberikan masukan, motivasi, dorongan serta semangat kepada penulis.
6. Kepada sahabat yang selama ini selalu memberikan dorongan, sahabat yang selalu ada menemani penulis dari awal perkuliahan hingga saat ini yang selalu memotivasi, memberikan semangat dan membantu penulis hingga sampai ketahap ini yaitu Nurul Ilmi yusuf S.Si, Apt, Riri Nurfitasari S.Si., Apt, Ika Sartika S.Si., Apt, Hajirah S.Si, Muhlisa S.Si, Ridha Amaliah S.Si terima kasih untuk kebersamaanya sampai saat ini dan seterusnya.
7. Teman-teman farmasi angkatan 2014 "HIOS14MIN" terima kasih atas

bersamaannya selama di kampus, semoga selamanya akan seperti



Terselesainya skripsi ini tidak ada artinya tanpa adanya dorongan moril maupun materil, semangat, dan doa yang tidak henti-hentinya mengalir dari orang tua tercinta. Rasa terima kasih yang teramat dalam penulis ucapkan kepada Ibunda Kursiyah dan alm ayahanda Indra jaya. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada saudara penulis yang senantiasa memberikan semangat dan doa dalam menyelesaikan skripsi ini.

Serta masih banyak lagi pihak-pihak yang sangat berpengaruh dalam proses penyelesaian skripsi yang tidak bisa penulis sebutkan satupersatu semoga Allah Subhanahu Wata'ala senantiasa membalas semua kebaikan yang telah diberikan. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi bagi peneliti umumnya kepada para pembaca.



ABSTRAK

CHAERUNNISA INDRA. Uji aktivitas antioksidan beberapa kopi robusta (*Coffea canephora* Pierre) yang ada di Sulawesi Selatan dengan menggunakan metode ABTS (2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolin)6-asam sulfonat) (dibimbing oleh Rosany Tayeb dan Ismail).

Antioksidan adalah senyawa yang memiliki peranan penting dalam menjaga kesehatan karena dapat menangkal radikal bebas sehingga menghambat reaksi oksidasi dalam tubuh yang dapat mengakibatkan berbagai jenis penyakit. Biji kopi Robusta (*Coffea canephora* Pierre) merupakan salah satu bahan alam yang dapat digunakan sebagai antioksidan alami karena memiliki aktivitas antioksidan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membandingkan aktivitas antioksidan biji kopi Robusta (*Coffea canephora* Pierre) dari berbagai daerah di Sulawesi Selatan. Tahap yang dilakukan yaitu ekstraksi dengan metode maserasi kemudian pengujian kualitatif dan kuantitatif senyawa fenol dan flavonoid menggunakan spektrofotometri UV-VIS lalu dilanjutkan dengan pengujian aktivitas antioksidan dengan metode ABTS. Hasil penelitian dari uji kualitatif dan kuantitatif senyawa fenol dan flavonoid yaitu sampel positif mengandung senyawa fenol dan flavonoid, Ekstrak A (Sinjai) memiliki kandungan senyawa fenol tertinggi sebanyak 3,53 kemudian Ekstrak B (Bantaeng) 3,17 dan Ekstrak C (Toraja) 3,09, sedangkan pada Ekstrak B (Bantaeng) mengandung senyawa flavonoid tertinggi yaitu sebesar 0,54 kemudian Ekstrak C (Toraja) 0,37 dan Ekstrak A (Sinjai) 0,10. Pengujian aktivitas antioksidan diukur berdasarkan metode ABTS dengan Trolox sebagai pembanding dan selanjutnya dihitung nilai IC_{50} yang ditentukan dengan analisis probit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak biji kopi robusta dari kabupaten Bantaeng, Toraja, dan Sinjai masing-masing memiliki IC_{50} 25.11 bpj, 25.70 bpj, dan 64.18 bpj. dan didapatkan persen rendemen terbesar pada Ekstrak A (Sinjai) diikuti Ekstrak B (Bantaeng) dan C (Toraja) yaitu 3,51%; 2,83%; dan 2,42%.

Kata Kunci : Antioksidan, ABTS, Biji kopi robusta, Maserasi, Spektrofotometri UV-VIS



ABSTRACT

CHAERUNNISA INDRA. Antioxidant Activity Test Of Coffe Robusta (*Coffea canephora* Pierre.) in South Sulawesi Using Method Of ABTS (2,2-Azinobis (3-ethylbenzothiazoline)6-sulfonic acid) (guided by Rosany Tayeb and Ismail).

Antioxidants are compounds that have an important role in maintain health because it can prevent free radical, thus inhibit oxidation reactions in the body causes various diseases. Robusta coffee's seed (*Coffea canephora* Pierre) are the one of natural materials that can used to be a natural antioxidant because it has an antioxidant activities. The research aimed is to compare the antioxidant activities of Robusta coffee's seed from various regions in South Sulawesi. The steps are extraction with maceration method, and then qualitative and quantitative test of phenol and flavonoid compounds using spechtrphotocopy UV-Vis and then continued with antioxidant activities test with ABTS method. The result from qualytatif and quantytatif test of phenol and flavonoid compounds were positive that the sample had phenol and flavonoid compounds. A Extract (Sinjai) had the highest phenol compounds with 3.53 then B Extract (Bantaeng) with 3.17 and C Extract (Toraja) with 3.09. while B Extract (Bantaeng) had the highest flavonoid compounds with 0.54 then C Extract (Toraja) with 0.37 and A Extract (Sinjai) with 0.10. Antioxidant activity based on ABTS methods with Trolox as standard and then calculated IC_{50} value determined by probit analysis. Based on the result of this research, extracts of robusta coffee seed from Bantaeng, Toraja and Sinjai each other have IC_{50} 25.11 ppm, 25.70 ppm, and 64.18 ppm. The highest of yields percent were A Extract (Sinjai) and then B Extract (Bantaeng), and C Extract (Toraja) with each other result 3.51%, 2.82%, and 2.42%.

Keywords: Antioxidant, ABTS, Maceration, Robusta Coffe Seed, Spectroscopy UV-VIS,



DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	3
I.3 Tujuan Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Tumbuhan <i>Coffea canephora</i> Pierre	4
II.1.2 Morfologi tumbuhan	5
II.1.3 Kandungan Kimia	6
II.2 Metode Ekstraksi	8
II.2.1 Maserasi	8
II.2.2 Kromatografi Lapis Tipis	9
II.2.3 Radikal bebas	10
II.2.4 Antioksidan	11



II.6	Metode Analisis Antioksidan	13
II.61	Metode ABTS	13
II.6.2	Microplate Reader	15
BAB III METODE PENELITIAN		18
III.1	Alat dan Bahan	18
III.2	Metode Penelitian	18
III.2.1	Pengambilan dan Pengolahan Sampel	18
III.2.2	Ekstraksi Sampel	18
III.2.3	Penetapan Profil Kromatogram menggunakan KLT	19
III.2.4	Uji Kualitatif dan Kuantitatif senyawa Fenol	19
III.2.4.1	Uji Kualitatif Senyawa Fenol	19
III.2.4.2	Uji Kuantitatif Senyawa Fenol	19
III.2.4.2.1	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	19
III.2.4.2.2	Pembuatan Kurva Baku	20
III.2.4.2.3	Pembuatan Larutan Uji	20
III.2.4.2.4	Pengukuran dengan Spektrofotometri UV-Vis	21
III.2.5	Uji Kualitatif dan Kuantitatif Senyawa Flavonoid	21
III.2.4.1	Uji Kualitatif Senyawa Flavonoid	21
III.2.4.2	Uji Kuantitatif Senyawa Flavonoid	21
III.2.4.2.1	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	21
III.2.4.2.2	Pembuatan Kurva Baku	22
III.2.4.2.3	Pembuatan Larutan Uji	22
III.2.4.2.4	Pengukuran dengan Spektrofotometri UV-Vis	22



III.2.6	Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode ABTS	23
III.2.6.1	Pembuatan Larutan Uji Sampel	23
III.2.6.2.	Pembuatan Larutan ABTS dan Larutan Kalium Persulfat	23
III.2.6.3	Pembuatan Larutan Pembanding Trolox	23
III.2.6.4	Penentuan Aktivitas Antioksidan	24
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		25
IV.1	Penyiapan Sampel Penelitian	25
IV.2	Ekstraksi Sampel	25
IV.3	Profil Kromatogram menggunakan KLT	26
IV.4	Uji Kualitatif Senyawa Fenol dan Flavonoid	27
IV.5	Uji Kuantitatif Senyawa Fenol dan Flavonoid	28
IV.5	Uji Aktivitas Antioksidan	29
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		33
V.1	Kesimpulan	33
V.2	Saran	33
DAFTAR PUSTAKA		34
LAMPIRAN		37



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Tingkat kekuatan antioksidan	15
2. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan	31
3. Hasil Absorbansi Baku Asam Galat	45
4. Hasil Pengukuran Kadar Fenol Total Ekstrak Biji Kopi Robusta	45
5. Hasil Absorbansi Baku Kuarsetin	47
6. Hasil Pengukuran Kadar Fenol Total Ekstrak Biji Kopi Robusta	47
7. Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan Baku Trolox	49
8. Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak A	51
9. Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak B	52
10. Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak C	54



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Coffea canephora</i> Pierre	4
2. Hasil KLT dengan Penampakan Sinar UV 254	28
3. Hasil KLT dengan Penyemprotan H ₂ SO ₄ 10%	28
4. Reaksi senyawa Fenol dengan Folin-Ciocalteu	29
5. Pembentukan senyawa kompleks Kuarsetin dengan AlCl ₃	30
6. Diagram Hasil Pengukuran Kadar Fenol dan Flavonoid Total	31
7. Grafik Kurva Baku Asam Galat	46
8. Grafik Kurva Baku Kuarsetin	48
9. Grafik Hubungan antara Konsentrasi dan % Penghambatan dari Trolox	51
10. Grafik Hubungan antara Konsentrasi dan % Penghambatan dari Ekstrak A	52
11. Grafik Hubungan antara Konsentrasi dan % Penghambatan dari Ekstrak B	54
12. Grafik Hubungan antara Konsentrasi dan % Penghambatan dari Ekstrak C	55



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja	37
2. Dokumentasi Penelitian	43
3. Perhitungan	46



BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Di dunia, Indonesia termasuk salah satu penghasil kopi terbesar keempat setelah Brazil, Vietnam dan Kolumbia (Susandi,2019). Kopi merupakan salah satu minuman yang sering dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia. Selain digunakan sebagai minuman, kopi juga dapat dijadikan sebagai pengobatan antara lain pencegahan kanker, penyakit kardiovaskular, sistem kekebalan tubuh, penyakit neurodegeneratif, dan infeksi virus/peradangan (Belay dan Gholap, 2009). Salah satu spesies kopi yang digunakan sebagai pengobatan adalah biji kopi robusta (*Coffea canephora* Pierre) hal ini di perkuat oleh penelitian Amiliyah *et al.*,2015 dan Chairgulprasert, 2016 bahwa biji kopi robusta diketahui mengandung senyawa alkaloid, tanin, saponin dan polifenol yang dapat berfungsi sebagai antifungi, antivirus, antiinflamasi dan antibakteri .

Berdasarkan penelitian Camerrer Bettina dan Lothar W. Kroh (2006) menyatakan bahwa biji kopi robusta memiliki kandungan polifenol yang tinggi yang berperan penting sebagai antioksidan. Senyawa fenolik yang terkandung dalam biji kopi robusta adalah asam klorogenat. Hasil penelitian Herawati dan Sukohar, 2013 menunjukkan bahwa asam klorogenat memiliki aktivitas antioksidan yang cukup kuat. Asam klorogenat terbesar terdapat pada biji kopi robusta yaitu sebesar 6,1 –



11,3 mg per gram biji kopi sedangkan pada biji kopi arabika sebesar 4,1 – 7,9 mg per gram biji kopi (Farah dan Carmen, 2012).

Antioksidan merupakan substansi nutrisi maupun non-nutrisi yang Biasanya ada dalam bahan pangan. Antioksidan mampu mencegah atau memperlambat terjadinya kerusakan oksidatif dalam tubuh. Antioksidan merupakan agen *free radical scavengers* artinya mampu bekerja mencegah dan memperbaiki kerusakan tubuh akibat radikal bebas (Winarsih, 2007). Antioksidan dapat digolongkan menjadi dua, yaitu antioksidan alami dan antioksidan buatan atau sintetis. Antioksidan alami biasanya ditemukan pada biji, buah, batang, daun dan bunga pada tumbuhan tertentu. Antioksidan alami diantaranya yakni senyawa turunan fenol, tokoferol, kumarin, asam askorbat, hidroksi sinamat dan dihidroflavon yang bermanfaat bagi kesehatan (Prakash, 2001), Sedangkan Antioksidan buatan atau sintesis adalah antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia contohnya Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil HidroksiToluen (BHT), Propil galat, Tert-Butil Hidoksi Quinon (TBHQ) (Cahyadi, 2006). Aktivitas antioksidan pada biji kopi robusta yang ditanam di satu daerah dengan daerah yang lainnya memiliki karakteristik yang berbeda-beda sesuai dengan usia tanaman yang digunakan, waktu panen, lingkungan tempat tumbuh atau ekologi dataran tinggi (Bettina dan Lothar W. Kroh, 2006) .

leh karena itu, perlu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan aling tinggi pada biji kopi robusta yang dilihat berdasarkan



perbedaan daerah tempat tumbuh di Sulawesi Selatan (Kabupaten Sinjai, kabupaten Bantaeng, dan kabupaten Tana Toraja)

I.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian tersebut maka muncul permasalahan yang manakah kandungan antioksidan terbesar dari ketiga sampel biji kopi robusta (*Coffea canephora* Pierre) berdasarkan perbedaan daerah tempat tumbuh menggunakan metode ABTS (*2,2-Azinobis(3-etilbenzotiazolin)6-asam sulfonat*)

I.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk menentukan aktivitas antioksidan biji kopi Robusta (*Coffea canephora* Pierre) dari berbagai daerah di Sulawesi Selatan



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Klasifikasi dan Morfologi Tanaman

II.1.1 Klasifikasi Tanaman

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta / Magnoliophyta
Anak divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae / Magnoliopsida
Anak kelas	: Dialypetalae / Asteridae
Bangsa	: Rubiales
Suku	: Rubiaceae
Marga	: Coffea
Jenis	: <i>Coffea canephora</i> Pierre (Rahardjo,2012)



Gambar 1. Tanaman kopi robusta (koleksi sendiri)



II.1.2 Morfologi Tanaman

Pada umumnya tanaman kopi berbunga setelah berumur sekitar dua tahun. Bila bunga sudah dewasa, terjadi penyerbukan dengan pembukaan kelopak dan mahkota yang akan berkembang menjadi buah. Kulit buah yang berwarna hijau akan menguning dan menjadi merah tua seiring dengan pertumbuhannya. Waktu yang diperlukan dari bunga menjadi buah matang sekitar 6-11 bulan. Bunga umumnya mekar awal musim kemarau dan buah siap dipetik diakhir musim kemarau. Diawal musim hujan, cabang primer akan memanjang dan membentuk daun-daun baru yang siap mengeluarkan bunga pada awal musim 9 kemarau mendatang (Najiyati *et.al*, 2007)

Tanaman kopi merupakan tanaman semak belukar yang berkeping dua (dikotil), sehingga memiliki perakaran tunggang. Perakaran ini hanya dimiliki jika tanaman kopi berasal dari bibit semai atau bibit sambung (okulasi) yang batang bawahnya berasal dari bibit semai. Sebaliknya, tanaman kopi yang berasal dari bibit setek, cangkok atau okulasi yang batang bawahnya berasal dari bibit setek tidak memiliki akar tunggang, sehingga relatif mudah rebah (AAK,1988). Tanaman kopi memiliki lima jenis cabang yaitu cabang primer, sekunder, reproduktif, cabang balik, dan cabang kipas.

Daun tanaman kopi hampir memiliki perwatakan yang sama

tanaman kakao yang lebar dan tipis, sehingga dalam budidayanya
kan tanaman naungan (Panggabean, 2011). Bagian pinggir daun



kopi bergelombang dan tumbuh pada cabang, batang, serta ranting. Letak daun pada cabang plagiotrop terletak pada satu bidang, sedangkan pada cabang orthotrop letak daun berselang seling. Tanaman kopi mulai berbunga setelah berumur sekitar dua tahun. Bunga tanaman ini tersusun dalam kelompok yang tumbuh pada buku-buku cabang tanaman dan memiliki mahkota yang berwarna putih serta kelopak yang berwarna hijau (AAK, 1988).

Buah kopi mentah berwarna hijau dan ketika matang akan berubah menjadi warna merah. Buah kopi terdiri atas daging buah dan biji. Daging buah terdiri atas tiga bagian yaitu lapisan kulit luar (eksokarp), lapisan daging buah (mesokarp), dan lapisan kulit tanduk (endokarp) (AAK, 1988). Kulit tanduk buah kopi memiliki tekstur agak keras dan membungkus sepanjang biji kopi. Daging buah ketika matang mengandung lener dan senyawa gula yang rasanya manis (Panggabean, 2011).

II.1.3 Kandungan Kimia

Senyawa-senyawa kimia pada biji kopi dapat dibedakan atas senyawa volatil dan non volatil. Senyawa volatil adalah senyawa yang mudah menguap, terutama jika terjadi kenaikan suhu. Senyawa volatil yang berpengaruh terhadap aroma kopi antara lain golongan aldehid, keton dan alkohol. Senyawa non volatil yang berpengaruh terhadap mutu kopi antara lain kafein, asam klorogenat, hidrokarbonatifatik, asam, tiol, furan, piro, piridin, quinon, fenol (asam alifatik) dan amin (Ramanaviciene dkk, 2003).



Fenol merupakan salah satu senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang melindungi sel tubuh dari serangan radikal bebas. Senyawa fenol meliputi flavonoid (turunan inti flavan), cincin kroman (tokoferol) dan lignan. Fenol juga dapat diklasifikasikan ke dalam komponen yang tidak larut seperti lignin dan komponen yang larut seperti asam fenolik, phenylpropanoids, flavonoid dan kuinon. Asam fenolik terdiri dari asam klorogenat, asam kafeat, asam p-kumarat, dan asam vanilat (Silalahi, 2006).

Banyaknya komponen kimia didalam kopi seperti kafein, asam klorogenat, trigonelin, karbohidrat, lemak, asam amino, asam organik, aroma volatile dan mineral dapat menghasilkan efek yang menguntungkan dan membahayakan bagi kesehatan penikmat kopi (Hidgon, 2006). Golongan asam pada kopi akan mempengaruhi mutu dan memberikan aroma serta citarasa yang khas. Asam yang dominan pada biji kopi adalah asam klorogenat yaitu sekitar 8% pada biji kopi atau 4,5% pada kopi sangrai. Selama penyangraian sebagian besar asam klorogenat menjadi asam kafeat dan asam kuinat (Yusianto, 2014).

Asam klorogenat termasuk keluarga dari ester yang terbentuk dari gabungan asam kuinat dan beberapa asam trans-sinamat, umumnya caffeic, pcoumaric dan asam ferulat (Mariana, 2007). Asam klorogenat dapat melindungi tumbuhan kopi dari mikroorganisme, serangga dan

UV (Farah, 2012), sedangkan manfaat asam klorogenat bagi



kesehatan manusia yaitu sebagai antioksidan, antivirus, hepatoprotektif, dan berperan dalam kegiatan antispasmodik (Farah, 2006).

II.2 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses penyarian zat berkhasiat atau zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis ikan termasuk biota laut (Ditjen POM, 1986). Tujuan ekstraksi adalah untuk menyari semua komponen kimia yang terdapat dalam simplisia (Mulyati, 2009).

Proses ekstraksi didasarkan pada kemampuan pelarut organik untuk menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel secara otomatis yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dalam pelarut organik dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara di dalam dan di luar sel, mengakibatkan terjadinya difusi pelarut organik yang mengandung zat aktif ke luar sel. Proses ini berlangsung terus menerus sampai terjadi keseimbangan konsentrasi zat aktif di dalam dan di luar sel (Harborne, 1987). Adapun pada penelitian ini ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi.

II.2.1 Maserasi

Maserasi merupakan proses perendaman sampel dengan pelarut organik yang digunakan pada temperatur ruangan (Khunaifi, 2010). Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam bejana yang tertutup rapat (Agoes, 2007). Selama

maserasi atau perendaman dilakukan pengocokan berulang-ulang upaya ini menjamin keseimbangan konsentrasi bahan ekstraksi



yang lebih cepat didalam cairan.Sedangkan keadaan diam selama maserasi menyebabkan turunnya perpindahan zat aktif (Voight, 1994).

II.3. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah metode kromatografi cair yang paling sederhana. KLT digunakan untuk memisahkan komponen-komponen atas dasar adsorpsi dan partisi oleh fase diam dibawah gerakan pelarut pengembang (Gandjar dan Rahman, 2007).

Prinsip KLT adalah pemisahan secara fisikokimia. Pemisahan komponen kimia berdasarkan prinsip adsorpsi dan partisi, dimana komponen kimia bergerak mengikuti cairan pengembang karena daya serap adsorben terhadap komponen kimia tidak sama sehingga menyebabkan pemisahan.

a. Fase Diam (Lapisan Penjerap)

Fase diam yang digunakan dalam KLT merupakan penjerap berukuran kecil dengan diameter partikel antara 10-30 μm . Semakin kecil ukuran rata-rata partikel fase diam dan semakin sempit kisaran ukuran fase diam, maka semakin baik kinerja kromatografi lapis tipis dalam hal efisiensi dan resolusinya. Penjerap yang paling sering digunakan adalah silika dan serbuk selulosa, sementara mekanisme sorpsi yang utama pada kromatografi lapis tipis adalah *adsorpsi* dan *partisi* (Gandjar dan

Rahman, 2007)



b. Fase Gerak

Fase gerak yang digunakan dalam KLT sering disebut dengan eluen. Pemilihan eluen didasarkan pada polaritas senyawa dan biasanya merupakan campuran beberapa cairan yang berbeda polaritas, sehingga didapatkan perbandingan tertentu. Eluen KLT dipilih dengan cara trial. Kepolaran eluen sangat berpengaruh terhadap R_f (faktor retensi) yang diperoleh (Gandjar dan Rahman, 2007).

II.4. Radikal bebas

Radikal bebas adalah molekul yang sangat reaktif karena memiliki elektron yang tidak berpasangan dalam orbital luarnya (Utomo, 2011). Untuk memperoleh pasangan elektron, radikal bebas mencari pasangan dengan cara menyerang dan mengikat elektron yang berada disekitarnya seperti karbohidrat, protein, lemak dan DNA. Untuk memperoleh stabilitas kimia, radikal bebas tidak dapat mempertahankan bentuk asli dalam waktu lama, sehingga harus menyerang molekul stabil terdekat dan mengambil elektron. Zat yang terambil elektronnya akan menjadi radikal bebas, sehingga akan memulai reaksi berantai yang akhirnya menyebabkan kerusakan sel (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Radikal bebas dalam jumlah berlebih di dalam tubuh sangat berbahaya karena dapat mengganggu aktivitas sel normal,

menyebabkan rantai reaksi perusakan. Kerusakan membran sel pada sel darah dapat menyebabkan pengerasan dan tumpukan pada



arteri dan dapat menyebabkan serangan jantung dan stroke (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Sumber radikal bebas dapat berasal dari dalam tubuh (endogen) dan dari luar tubuh (eksogen). Secara endogen, sebagai respon normal dari rantai peristiwa biokimia dalam tubuh, radikal bebas yang terbentuk dan berpengaruh di dalam sel (intrasel) maupun ekstrasel. Radikal endogen terbentuk sebagai sisa proses metabolisme (proses pembakaran) protein, karbohidrat, dan lemak pada mitokondria dan proses inflamasi atau peradangan. Secara eksogen, sumber radikal bebas berasal dari bermacam-macam sumber diantaranya adalah polusi udara (asap rokok dan asap kendaraan, radiasi dan pestisida (Sayuti dan Yenrina, 2015).

II.5. Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (*electron donors*). Antioksidan mampu menangkal atau meredam dampak negatif oksidan dalam tubuh. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektron kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan dapat dihambat dan radikal bebas pun tidak terbentuk (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Antioksidan bekerja dengan cara mencegah pembentukan senyawa radikal baru, yaitu mengubah radikal bebas menjadi molekul yang berkurang dampak negatifnya sebelum senyawa radikal bebas

. Antioksidan memiliki sifat pemutus reaksi berantai (*chain-breaking antioxidant*) dan memperbaiki kerusakan biomolekul sehingga



mengubah senyawa radikal menjadi produk-produk yang lebih stabil (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Mekanisme antioksidan dalam menghambat reaksi oksidasi dapat disebabkan oleh empat macam mekanisme, yaitu: pelepasan hidrogen dari antioksidan, pelepasan elektron dari antioksidan, adisi asam lemak ke cincin aromatik pada antioksidan, serta pembentukan senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari antioksidan (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Berdasarkan fungsi dan mekanisme kerjanya antioksidan digolongkan menjadi (Winarsi, 2007):

1. Antioksidan primer

Antioksidan primer merupakan antioksidan yang bekerja dengan cara mencegah terbentuknya radikal bebas yang baru dan mengubah radikal bebas menjadi molekul stabil. Mekanisme kerja antioksidan primer adalah memutus reaksi berantai (polimerisasi) atau dikenal dengan istilah juga *chain breaking antioxidant*. Antioksidan primer seperti butil hidroksi toluen (BHT), tersier butil hidroksi quinon (TBHQ), propil galat dan tokoferol alami maupun sintetik.

2. Antioksidan sekunder

Antioksidan sekunder adalah suatu senyawa yang dapat mencegah kerja prooksidan yaitu faktor-faktor yang mempercepat dinya reaksi oksidasi seperti logam-logam seperti : Fe, Cu, Pb



dan Mn. Antioksidan sekunder bekerja dengan cara menangkap radikal bebas serta mencegah terjadinya reaksi berantai. Antioksidan sekunder seperti Vitamin E yang diperoleh dari tumbuhan. Mekanisme kerja antioksidan sekunder adalah dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkap radikal bebas (*free radical scavenger*). Akibatnya radikal bebas tidak akan bereaksi dengan komponen seluler.

3. Antioksidan tersier

Antioksidan tersier merupakan senyawa yang memperbaiki sel-sel dan jaringan yang rusak karena serangan radikal bebas, yang termasuk kelompok antioksidan tersier adalah jenis enzim seperti metionin sulfoksidan reduktase yang dapat memperbaiki DNA dalam inti sel.

II.6. Metode analisis antioksidan

Pengukuran aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan beberapa metode diantaranya metode DPPH, metode FRAP dan metode ABTS. Adapun metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode ABTS.

II.6.1. Metode ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-asam sulfonat)

Metode ABTS adalah metode untuk mengukur aktivitas antioksidan dengan menggunakan senyawa (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat) sebagai sumber penghasil radikal



bebas. Prinsip uji ABTS adalah penghilangan warna kation ABTS dengan mengukur kapasitas antioksidan yang langsung bereaksi dengan radikal ABTS.

Suatu radikal ABTS dapat diproduksi dengan cara oksidasi kalium persulfat ($K_2S_2O_8$) sebelum penambahan antioksidan. ABTS merupakan radikal dengan pusat nitrogen dengan karakteristik warna biru-hijau, ketika tereduksi oleh antioksidan menjadi bentuk *non* radikal yang tidak berwarna (Shalaby, 2013).

Aktivitas antioksidan bahan alam pada metode ABTS seperti karotenoid dan senyawa fenolik dapat diukur berdasarkan penghilangan warna (*decolorization*) dari ABTS, yaitu mengukur serapan pengurangan radikal kation dengan spektrofotometri pada panjang gelombang 734 nm sebagai persentase penghambatan. Metode ABTS baik digunakan pada sistem larutan berbasis air maupun organik, mempunyai serapan spesifik pada panjang gelombang dari bagian *visible*, dan membutuhkan waktu reaksi yang lebih sedikit (Mastuti, 2013).

II.6.2 Metode DPPH (2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil)

Metode DPPH menggunakan 2,2' difenil-1-pikrilhidrazil sebagai sumber radikal bebas. Prinsipnya adalah reaksi penangkapan hidrogen oleh DPPH dari zat antioksidan.

DPPH yang bereaksi dengan antioksidan yang terdapat pada akan menghasilkan bentuk tereduksi difenil pikrilhidrazil.



Reduksi DPPH yang berubah menjadi DPPH-H disebabkan adanya donor hidrogen dari senyawa hidroksil yang membuat radikal DPPH berubah warna menjadi kuning saat elektron berpasangan dengan antioksidan. Pengurangan intensitas warna yang terjadi berhubungan dengan jumlah elektron DPPH. Metode DPPH menggunakan parameter IC_{50} yaitu menunjukkan konsentrasi uji yang mampu menangkap radikal bebas sebanyak 50% yang diperoleh melalui persamaan regresi. Nilai IC_{50} berbanding terbalik dengan kemampuan antioksidan suatu senyawa yang terkandung dalam bahan uji. Semakin kecil nilai IC_{50} suatu senyawa uji maka senyawa tersebut semakin aktif sebagai penangkal radikal bebas (Firdianny, 2013). Tingkat kekuatan antioksidan menggunakan metode uji DPPH dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Tabel 1) :

Intensitas	Nilai IC_{50} (bpj)
Sangat kuat	< 50
Kuat	50 -100
Sedang	100 - 250
Lemah	250 – 500
Tidak Aktif	> 500

Sumber. Jun M, 2006

II.6.3 Metode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) merupakan salah satu uji aktivitas antioksidan dengan mekanisme menginaktifkan radikal dengan mentransfer elektron tidak berpasangan (*Single Electron*



Transfer). Dalam menentukan aktivitasnya, antioksidan akan mereduksi oksidan yang dapat menyebabkan perubahan warna. Perubahan warna yang terjadi akan proporsional dengan konsentrasi antioksidan sehingga dapat diketahui aktivitas antioksidannya berdasarkan kemampuannya dalam mereduksi (Prior, 2003).

Menurut Shah P dkk (2015) menyatakan bahwa metode ini berprinsip pada kenaikan serapan dari campuran reaksi. Peningkatan pada serapan menunjukkan peningkatan pada aktivitas antioksidan. Dalam metode ini antioksidan membentuk kompleks berwarna dengan kalium ferrisianida, asam trikloroasetat, dan besi (III) klorida yang diukur pada panjang gelombang 700 nm. Peningkatan pada serapan campuran reaksi menunjukkan kekuatan mereduksi dari sampel (Chumark, dkk., 2008) Ion ferri, merupakan oksidan yang sering digunakan dalam pengukuran aktivitas antioksidan. Prinsip dari metode ini adalah melalui kenaikan serapan dari campuran reaksi yang menandakan adanya aktivitas antioksidan pada campuran tersebut. Reaksi perubahan warna yang terjadi pada metode ini karena adanya pembentukan kompleks warna kalium ferrisianida, asam trikloroasetat dan besi (III) klorida yang dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 700 nm (Amelia, 2011).

II.6.2. Microplate Reader (Elisa Reader)



Microplate reader adalah alat yang dirancang khusus untuk membaca lempeng mikro (*mikroplate*). Pembaca lempeng mikro yang

digunakan untuk membaca hasil ELISA tes. *Microplate reader* merupakan spektrofotometer khusus yang telah dirancang, Berbeda dengan spektrofotometer konvensional yang memfasilitasi pembacaan pada berbagai panjang gelombang yang digunakan pada umumnya antara 400 – 750 nm. Sedangkan microplate reader bekerja dalam rentang yaitu 340 sampai 700 nm. Sistem optik yang dimanfaatkan oleh beberapa produsen menggunakan serat optik untuk menyuplai cahaya pada sumur lempeng mikro yang berisi sampel. Berkas cahaya yang melewati sampel memiliki diameter berkisar antara 1 hingga 3 mm. Sistem deteksi akan mendeteksi cahaya yang berasal dari sampel, memperkuat sinyal dan menentukan absorbansi sampel selanjutnya suatu sistem pembacaan mengubahnya menjadi data yang memungkinkan interpretasi hasil pengujian (WHO, 2008)

