

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kopi merupakan salah satu komoditas perkebunan utama di Indonesia dengan nilai ekonomi yang tinggi dibandingkan tanaman perkebunan lainnya serta berkontribusi sebagai sumber devisa negara. Beberapa daerah di Indonesia dijadikan sebagai sentra produksi dan budidaya kopi, yang tidak hanya berperan dalam meningkatkan devisa, tetapi juga menjadi sumber mata pencaharian bagi lebih dari satu setengah juta petani kopi. Secara umum, kopi diolah menjadi berbagai produk, terutama minuman yang dihasilkan melalui proses pengolahan dan ekstraksi biji kopi (Latunra et al., 2021). Kopi merupakan komoditas perkebunan utama Indonesia, dengan dua jenis utama yang ditanam, yaitu Kopi Arabika (kualitas terbaik) dan Robusta (Eliyin et al., 2022). Kopi Robusta *Coffea canephora* L. banyak dibudidayakan oleh petani di Indonesia (Budi et al., 2020).

Kopi Robusta lebih mudah dibudidayakan dan memiliki toleransi yang lebih tinggi terhadap kondisi lingkungan yang kurang mendukung (Widyasari et. at, 2023). Kualitas suatu jenis kopi dipengaruhi oleh berbagai faktor, salah satunya adalah proses pengolahan. Terdapat dua metode utama dalam pengolahan kopi, yaitu pengolahan kering dan pengolahan basah. Pada metode pengolahan kering, buah kopi yang telah dipanen dikeringkan terlebih dahulu sebelum dilakukan proses pengupasan kulit ari, daging buah, dan kulit tanduk. Sementara itu, pengolahan basah melibatkan penggunaan air dalam jumlah besar untuk mencuci dan mengupas buah kopi. Secara umum, terdapat beberapa teknik dalam proses pengolahan kopi, termasuk metode kering, semi-basah, basah, serta metode honey. Biji kopi mentah (green bean) mengandung senyawa volatil yang berperan dalam membentuk aroma khas kopi, yang dipengaruhi oleh komposisi senyawa kimia di dalamnya. Greenbean adalah biji kopi yang telah dikupas tetapi belum mengalami proses sangrai (Suandri et al., 2023). Menurut Hazar et al. (2024) senyawa polifenol dan flavonoid, yang termasuk dalam kelompok metabolit sekunder, ditemukan pada hampir semua jenis tanaman, termasuk kopi. Kandungan senyawa dalam biji kopi berperan penting dalam menentukan kualitas serta cita rasa kopi, sehingga tahapan seperti panen, pascapanen, penyimpanan, proses sangrai, hingga penyeduhan sangat mempengaruhi karakter akhir kopi.

Menurut Alam et al., (2022) Karakteristik buah kopi dapat dikenali dari warna dan tingkat kematangannya. Buah muda berwarna hijau hingga hijau kekuningan, dengan biji pucat dan berkerut, serta aroma yang masih lemah. Buah matang sempurna berwarna merah cerah, memiliki aroma dan rasa optimal, dan siap dipanen. Buah merah tua menandakan kematangan berlebih, bijinya berwarna coklat kehitaman, aromanya menurun, dan rasanya seperti bau tanah, sehingga harus segera dipetik. Buah matang memiliki kadar gula tinggi, tekstur lunak, berlendir, dan terasa manis.

Buah kopi mengalami perubahan kimia dan fisiologis selama proses pematangan, yang terbagi ke dalam empat tahap utama, yaitu: hijau (green peel), hijau-kuning (green-yellow ripe peel), merah (red peel), dan merah tua/ungu (red-purple peel). Pada tahap buah hijau, kandungan flavonoid non-pigmen seperti flavonol umumnya tinggi karena berfungsi sebagai perlindungan terhadap stres lingkungan. Memasuki tahap hijau-kuning, mulai terjadi penurunan klorofil dan karotenoid, serta awal pembentukan antosianin. Pada tahap buah merah, buah telah matang sempurna, ditandai dengan meningkatnya kandungan antosianin sebagai pigmen warna, sedangkan flavonoid non-pigmen mulai menurun. Sementara itu, pada tahap buah merah tua, antosianin mencapai puncaknya namun sebagian senyawa fenolik mengalami degradasi (Wang et. al., 2024). Berdasarkan perbedaan karakteristik fisiologis tersebut, penelitian ini difokuskan pada tahap buah hijau (belum matang) dan buah merah (matang) yang merepresentasikan dua kondisi ekstrim yaitu fase protektif awal dan fase pematangan penuh.

Salah satu kelompok penting adalah flavonoid. Dalam biji kopi robusta pada tahap green bean, flavonoid menjadi salah satu senyawa bioaktif yang berperan penting dalam aktivitas antioksidan, selain asam klorogenat. Kandungan flavonoid ini dapat dipengaruhi oleh tingkat kematangan buah kopi saat dipanen (Ningsih et al., 2023). Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik yang terdapat dalam jaringan tumbuhan dan berperan sebagai antioksidan, sebagaimana dijelaskan oleh Nintowati et al. (2024). Kandungan antioksidan dalam Greenbean berupa senyawa polifenol bervariasi, dengan biji kopi Arabika mengandung sekitar 6-7%, sedangkan biji kopi Robusta memiliki kadar yang lebih tinggi, sekitar 10%. Konsentrasi senyawa ini cenderung meningkat seiring dengan tingkat kematangan biji kopi (Campuzano and Blair, 2022). Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tumbuhan juga memiliki potensi sebagai agen fotoprotektif. Selain itu, kopi robusta (*Coffea canephora* L.) diketahui mengandung berbagai metabolit sekunder, seperti alkaloid, fenolik, flavonoid, tanin, dan saponin (Krisyanella dan Meinisasti, 2022).

Flavonoid merupakan senyawa dengan struktur dasar berupa cincin aromatik C6-C3-C6. Senyawa ini memiliki dua bentuk utama, yaitu aglikon yang bersifat nonpolar dan sulit larut dalam pelarut polar, serta glikosida (glikon) yang terikat pada gula dan lebih mudah larut dalam pelarut polar. Karena flavonoid dapat bersifat polar maupun nonpolar, diperlukan metode ekstraksi yang tepat untuk mengisolasinya secara optimal. Salah satu metode ekstraksi yang umum digunakan adalah maserasi, yaitu teknik sederhana yang dilakukan dengan merendam dan mengaduk sampel dalam pelarut yang sesuai. Metode ini memiliki keunggulan dalam penggunaan volume pelarut yang lebih besar, sehingga dapat meningkatkan jumlah senyawa yang terekstrak. Efisiensi ekstraksi flavonoid dengan maserasi dapat dioptimalkan melalui variasi rasio sampel terhadap pelarut. Selain itu, jenis dan volume pelarut juga merupakan faktor penting yang memengaruhi rendemen dan kadar total senyawa yang diperoleh (Sapiun et al., 2020).

Spektrofotometri UV-Vis adalah metode analisis yang mudah digunakan, ekonomis, dan memiliki ketelitian tinggi dalam menentukan kadar senyawa yang mengandung gugus kromofor dan auksokrom. Namun, metode ini memiliki keterbatasan dalam analisis campuran, karena senyawa di dalamnya dapat menyerap radiasi UV-Vis secara tidak selektif, dan nilai serapan (absorban) bersifat aditif (Abriyani et al., 2023).

Penentuan kadar flavonoid dapat dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan pendekatan kolorimetri, karena flavonoid memiliki sistem aromatik terkonjugasi yang mampu menyerap cahaya kuat pada daerah ultraviolet dan tampak. Metode ini memanfaatkan interaksi antara cahaya dan materi untuk menganalisis sampel secara kuantitatif maupun kualitatif (Wulandari et al., 2024). Prinsip dasar spektrofotometri UV-Vis adalah penyerapan cahaya oleh molekul, yang menyebabkan eksitasi elektron dari tingkat energi rendah ke tinggi. Instrumen spektrofotometer UV-Vis mengukur serapan cahaya pada panjang gelombang antara 100–200 nm (ultraviolet) dan 200–700 nm (cahaya tampak) (Abriyani et al., 2023). Sebagaimana telah diuraikan sebelumnya, kopi mengandung berbagai senyawa fenolik, termasuk flavonoid yang dikenal memiliki aktivitas antioksidan. Hal ini mendorong banyak peneliti untuk mengeksplorasi potensi antioksidan dari kopi serta mengkaji pengaruh penanganan pascapanen terhadap kandungan senyawa bioaktif dalam biji kopi. Namun demikian, hingga saat ini belum ditemukan penelitian yang secara khusus membandingkan kadar flavonoid pada berbagai tingkat kematangan biji kopi robusta *Coffea canephora* L. dengan menggunakan metode pascapanen *semi-wash Process*. Perlu diketahui bahwa setiap jenis kopi memiliki kandungan flavonoid yang berbeda – beda. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk memperoleh informasi mengenai perbandingan kadar flavonoid berdasarkan kematangan buah berbeda biji kopi robusta *Coffea canephora* L. Yang dihasilkan melalui metode *Semi-Wash Process* dengan menggunakan Spektrofotometri UV-VIS.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan Penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Menentukan kadar flavonoid pada biji kopi robusta *Coffea canephora* L. berdasarkan tingkat kematangan buah, yaitu buah hijau (belum matang) dan buah merah (matang), yang dihasilkan melalui metode *Semi-Wash Process*.
2. Menganalisis pengaruh tingkat kematangan buah (buah hijau dan buah merah) terhadap kadar flavonoid pada biji kopi robusta *Coffea canephora* L.

1.3 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai kadar flavonoid pada biji kopi robusta *Coffea canephora* L. berdasarkan tingkat kematangan buah. Hasil penelitian ini juga dapat dimanfaatkan oleh industri dan petani kopi sebagai acuan dalam menentukan waktu panen yang optimal untuk memperoleh kadar flavonoid yang tinggi, sehingga dapat meningkatkan kualitas akhir produk kopi.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari – Maret 2025. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Departemen Biologi, Laboratorium Biokimia dan Laboratorium Radiasi Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.

2.2 Alat dan Bahan

2.2.1 Alat

Alat yang digunakan adalah gelas kimia, erlenmeyer, gelas ukur, corong, tabung reaksi, botol kecil, spatula, rak tabung, batang pengaduk, mikropipet, kertas saring, kamera, toples kaca, spektrofotometri UV-Vis, *Rotary Evaporator*, *hot plate*, timbangan analitik dan ATK.

2.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah varietas biji kopi robusta *Coffea canephora* L. dalam bentuk green bean, quercetin, aquades, aluminium klorida (AlCl_3) 10%, Kalium asetat ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{K}$) 1 M, Pb asetat ($\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$) 1 %, aluminium foil, *plastic wrap*, kertas label dan *tissue*

2.3 Metode Penelitian

2.3.1 Lokasi dan Tahap Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel green bean kopi Robusta dilakukan di Desa Topidi Malino, Kabupaten Gowa, Sulawesi Selatan. Proses dimulai dengan pemetikan buah kopi berwarna merah dan hijau, yang kemudian direndam dalam wadah berisi air selama kurang lebih enam jam. Buah kopi yang mengapung dipisahkan karena dianggap memiliki kualitas kurang baik. Setelah diperoleh buah kopi yang berkualitas, buah dikumpulkan dan dikupas menggunakan mesin pulper. Selanjutnya, biji kopi direndam kembali untuk menghilangkan sebagian lendir yang masih menempel. Proses dilanjutkan dengan penjemuran tahap pertama selama 1–2 hari hingga kadar air mencapai 30–40%. Setelah itu, biji kopi di huller untuk menghilangkan kulit tanduk untuk memperoleh green bean. Tahap terakhir adalah proses pengeringan kedua dengan menjemur green bean hingga kadar air mencapai 12–13%.

2.3.2 Pembuatan Ekstrak Flavonoid Kopi

Sebanyak 150 g biji kopi robusta ditimbang dan dihaluskan menggunakan blender hingga diperoleh bentuk simplisia. Selanjutnya, sebanyak 70 g simplisia ditimbang dan dimasukkan ke dalam toples, kemudian ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 280 mL dengan rasio 1:4, sehingga seluruh bagian simplisia terendam secara merata. Toples ditutup rapat, kemudian direkatkan dengan *cling wrap*, dan dibungkus menggunakan

kantong berwarna hitam. Proses maserasi dilakukan selama 48 jam dalam kondisi terlindung dari cahaya, dengan pengadukan dilakukan setiap 8 jam sekali. Setelah itu, disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dari ampasnya. Maserasi ini dilakukan sebanyak tiga kali penyaringan. Ekstrak yang diperoleh kemudian diuapkan menggunakan alat rotary evaporator untuk memperoleh ekstrak pekat.

2.3.3 Uji Kualitatif

Diambil masing-masing 2 ml filtrat dari hasil ekstraksi sampel biji kopi robusta (buah merah dan buah hijau), kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Setelah itu, ditambahkan 2-5 tetes Pb asetat 1%. Apabila terbentuk endapan kuning menandakan bahwa sampel positif mengandung flavonoid.

2.3.4 Pembuatan Larutan Baku *Quercetin*

Ditimbang larutan baku kuersetin sebanyak 25 mg, dilarutkan dalam 25 ml larutan etanol 70% dan didapat 1000 ppm, kemudian diambil 1 ml dengan menggunakan mikropipet yang didapat dari 1000 ppm dan cukupkan sampai 10 ml dengan etanol 70% untuk 100 ppm.

2.3.5 Metode Spektrofotometri UV-Vis

Penentuan panjang gelombang dilakukan dengan mendeteksi absorbansi larutan standar pada rentang panjang gelombang 400-500 nm dengan menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis. Panjang gelombang maksimum ditentukan dengan membuat kuersetin 100 ppm. Diambil larutan kuersetin 100 ppm sebanyak 1 ml dan direaksikan dengan 1 mL AlCl_3 10% dan 1 ml kalium asetat 1 M. Panjang gelombang maksimum yang keluar akan digunakan untuk mengukur serapan dari sampel ekstrak etanol biji kopi buah merah dan buah hijau.

2.3.6 Pembuatan Kurva Standar

Kurva baku kuersetin dibuat dengan menggunakan larutan standar kuersetin. Dari larutan standar kuersetin dengan konsentrasi 100 ppm dibuat beberapa konsentrasi yaitu 2 ppm, 4 ppm, 8 ppm, 16 ppm, dan 32 ppm. Masing-masing larutan standar tersebut dipipet sebanyak 1 mL, kemudian ditambahkan 1 mL larutan AlCl_3 10% dan 1 mL larutan kalium asetat 1 M. Campuran larutan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Pengukuran absorbansi dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 426 nm.

2.3.7 Uji Kadar Flavonoid Kopi

Ditimbang 50 mg hasil ekstrak biji kopi robusta (buah merah dan buah hijau) yang telah dipekatkan menggunakan rotavapor, lalu dilarutkan dalam 10 mL etanol. Dari larutan tersebut dipipet masing-masing 1 mL larutan hasil ekstrak biji kopi robusta (buah merah dan buah hijau) kemudian ditambahkan masing-masing 1 mL larutan AlCl_3 10% dan 1 mL kalium asetat 1 M. Sampel diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 426 nm. Sampel dibuat dalam tiga replikasi untuk setiap analisis dan diperoleh nilai rata-rata absorbansi.

2.3.8 Analisis Data

Semua data yang terkumpul disajikan dalam bentuk analisis data secara kuantitatif menggunakan Spektrofotometri UV-Vis dengan persamaan regresi linear $Y = bx + a$. Penetapan kadar flavonoid dalam sampel dilakukan dengan menggunakan rumus perhitungan sebagai berikut:

$$\text{Kandungan Flavonoid (\%)} = \frac{X \times V \times Fp}{m}$$

Keterangan: X = Konsentrasi Kuersetin (mg/L)

V = Volume total ekstrak etanol (mL)

Fp = Faktor Pengenceran

m = Berat sampel (mg)

Hasil kadar flavonoid yang telah diperoleh berdasarkan rumus tersebut, selanjutnya dilakukan analisis data uji statistik menggunakan uji ***Independent Sample T - Test***.