



## Pengaruh Variasi Waktu Ekstraksi terhadap Aktivitas Peredaman Radikal Bebas DPPH Ekstrak Biji Kopi Robusta Lampung Barat

Mitsalina Fildzah Arifah<sup>a,1,\*</sup>, Azka Muhammad Rusydan<sup>a,2</sup>, Fina Ummu Sayyidah Yahya<sup>a,3</sup>, Nofran Putra Pratama<sup>a,4</sup>, Diky Permana Saputra<sup>a,5</sup>

<sup>a</sup>Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta, Jl. Siliwangi, Ringroad Barat, Sleman, 55293, Indonesia

<sup>1</sup>mitsalina.fildzah.arifah@gmail.com\*; <sup>2</sup>azkamrusydan@gmail.com; <sup>3</sup>finaummusayyidahyahya19@gmail.com, <sup>4</sup>nofranputrapratama@gmail.com, <sup>5</sup>dps230701@gmail.com

### ABSTRACT

### ARTICLE INFO

**Background:** Robusta Coffee (*Coffea canephora*) has been cultivated in Indonesia, especially in the West Lampung area. Robusta coffee contains secondary metabolites that act as antioxidants, namely chlorogenic acid and other phenolic components. These secondary metabolites of robusta coffee bean can be obtained using the extraction method. The ultrasound-assisted extraction (UAE) is a well-known method to be more effective and lower temperature than other extraction methods. Variations in time impacted by the antioxidant activity of coffee bean extract.

**Research objective:** To determine the effect of variation in extraction time on the free radical reduction activity of DPPH from West Lampung Robusta coffee bean extract.

**Research method:** Robusta coffee beans were extracted by the UAE method using a 70% ethanol solvent (1:100). The variation in extraction time was 10, 20, and 30 minutes. Robusta coffee bean extract was subjected to organoleptic tests, phytochemical screening, and antioxidant activity in DPPH free radical scavenging.

**Research results:** The yield results at 10, 20, and 30 minutes of robusta coffee bean extract were 24.04%, 35.71%, and 20.15%. The results of the organoleptic test of the extract produce a thick texture, brown color, and unique aroma. The results of the phytochemical screening of the extract contain alkaloids, phenolics, tannins, and flavonoids. The IC<sub>50</sub> values at the time variations of 10, 20, and 30 minutes, and quercetin were 29.97 ± 2.737 ppm; 30.5 ± 1.745 ppm; 23.31 ± 4.638 ppm; and 1.42 ± 0.440 ppm respectively, which were significantly different.

**Conclusion:** The variation in extraction time affected the free radical reduction activity of DPPH was an extraction time of 30 minutes in the most optimal DPPH free radical scavenging activity.

#### Article history

Received: 28 September 2024

Revised: 14 Oktober 2024

Accepted: 6 November 2024

#### Keywords

Robusta coffee beans

DPPH

West Lampung

UAE

Extraction time

## 1. Pendahuluan

Kopi merupakan tanaman yang sering ditemukan pada berbagai negara di belahan dunia dan telah dikonsumsi sebagai minuman. Jenis kopi yang umum beredar di kalangan masyarakat berasal dari biji kopi Robusta (*Coffea canephora*) [1]. Kopi Robusta dikenal tahan hama dan dapat tumbuh di berbagai iklim dibandingkan jenis kopi lain seperti Arabika, Excelsa dan lainnya [2]. Indonesia merupakan negara iklim tropis pengeksport kopi nomor empat terbesar di dunia setelah Brazil, Vietnam dan Colombia [3]. Provinsi penghasil kopi terbesar di Indonesia antara lain Sumatera



Selatan (18,11%), Lampung (17,44%), Aceh (10,27%), Sumatera Utara (9,09%), dan Jawa timur (9,73%) [4].

Lampung adalah penghasil kopi terbesar kedua di Indonesia dan diakui sebagai Kawasan Perkebunan Kopi Nasional melalui SK No. 46/Kpts/PD.300/Januari 2015. Pada 2022, kopi Robusta dari Lampung berkontribusi sebesar 124,5ton terhadap pertumbuhan ekonomi daerah [5]. Kopi Robusta di Lampung Barat tumbuh pada ketinggian 400-900 m dengan suhu 15-25°C [6]. Kopi ini mengandung berbagai metabolit sekunder seperti flavonoid, fenolik, dan asam klorogenat, yang berperan sebagai antioksidan dengan manfaat kesehatan [7].

Antioksidan melindungi tubuh dari kerusakan sel akibat radikal bebas yang dapat menyebabkan masalah kesehatan serius [8]. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak biji kopi Robusta memiliki kandungan antioksidan, dengan aktivitas yang dipengaruhi oleh waktu ekstraksi. Penelitian Gligor, *et al* melaporkan bahwa nilai IC<sub>50</sub> untuk kopi Robusta dengan metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) pada suhu 40°C bervariasi, yaitu 3,745 mg/mL untuk 30 menit, 5,639 mg/mL untuk 20 menit, dan 4,476 mg/mL untuk 10 menit [9]. Penelitian Hapsari, *et al* menemukan bahwa waktu ekstraksi 30 menit menghasilkan aktivitas antioksidan terbaik dengan metode UAE [10]. Penelitian Yuliantari, *et al* pada daun sirsak menunjukkan suhu 45°C selama 20 menit menghasilkan total flavonoid dan aktivitas antioksidan tertinggi [11]. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk menentukan suhu dan waktu ekstraksi yang tepat pada biji kopi Robusta untuk mendapatkan aktivitas antioksidan maksimal.

Berbagai metode ekstraksi modern pada penelitian Gligor, *et al* membandingkan metode UAE, ekstraksi turbo, dan kombinasi keduanya, dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 5,639 mg/mL, 6,192 mg/mL dan 8,256 mg/mL [9]. Penelitian Dong, *et al* mengemukakan metode UAE pada kopi memberikan nilai IC<sub>50</sub> terbaik (1,41 µmol/g) dibandingkan dengan metode *Microwave Assisted Extraction* (1,60 µmol/g) dan *Pressurized Liquid Extraction* (1,58 µmol/g) [12]. UAE merupakan metode ekstraksi modern yang memanfaatkan gelombang ultrasonikasi sehingga meningkatkan hasil ekstraksi dengan suhu rendah dan volume pelarut sedikit [13].[14]. Metode UAE dapat menghasilkan aktivitas antioksidan tertinggi pada kopi Robusta dibandingkan metode ekstraksi modern lainnya. Belum ada laporan mengenai aktivitas antioksidan ekstrak biji kopi Robusta dari Lampung Barat menggunakan metode Perendaman Radikal DPPH, yang dikenal sederhana, cepat dan hanya diperlukan sedikit sampel [15]. Oleh karena itu, penelitian ini menganalisis pengaruh waktu ekstraksi pada UAE terhadap aktivitas antioksidan dari ekstrak biji kopi Robusta dari Lampung Barat.

## 2. Metode

### 2.1. Alat dan Bahan Penelitian

Alat : Batang pengaduk, beaker glass (*Pyrex*) 500 mL, 250 mL, dan 50 mL, cawan porselin, corong, corong pisah (*Pyrex*), grinder, kertas saring, labu 60odide606060c (*Pyrex*) 100 mL dan 50 mL, labu ukur (*Pyrex*) 25 mL dan 250 mL, *magnetic stirrer*, mikropipet 1000-100 µL (*Ohaus*), pipet volume (*Iwaki*) 5 mL, pinset, rak tabung reaksi, sendok, spatula, spektrofotometer UV-Vis (*Thermo Fisher, Genesys 10S UV-Vis*), tabung reaksi (*Pyrex*), timbangan analitik (*Ohaus*) dengan kepekaan 0,1 mg, ultrasonikator (*Cole-Parmer*), *waterbath*, *hot plate*, dan alat-alat gelas lainnya.

Bahan : DPPH (Merck p.a.), kuersetin (p.a.), Etanol 70% (Teknis), metanol (Merck p.a.), bluetip, kertas saring, Pereaksi Mayer (Teknis), Pereaksi Wagner (Teknis), Pereaksi Dragendroff (Teknis), FeCl<sub>3</sub> (Teknis), Aquadest (Teknis), Larutan Gelatin 1% (Teknis), NaCl jenuh (Teknis).

### 2.2. Pembuatan Sampel

Buah kopi Robusta Lampung Barat dipanen pada usia 8-11 bulan, berwarna merah dan dalam keadaan segar yang dipanen pada jam 07.00-10.00 WIB. Sebanyak 3 kg buah kopi ditimbang, dibersihkan dari kotoran, lalu ditiriskan dan dikeringkan di bawah sinar matahari selama 3 hari, tergantung kondisi cuaca, untuk memudahkan proses pengupasan biji. Biji kopi kemudian dipanggang menggunakan *airfryer* pada suhu 190°C selama 30 menit hingga mendapatkan warna biji kopi yang *light*. Setelah itu, biji kopi Robusta diserbuk menggunakan grinder hingga membentuk bubuk kopi, lalu disimpan di tempat yang sejuk dan tertutup [16].

### 2.3. *Ultrasound-assisted Extraction (UAE)*

5 g bubuk kopi ditimbang dan dilarutkan dalam 500 mL larutan etanol 70% dengan rasio 1:100 (b/v). Proses ekstraksi dilakukan pada suhu 40°C selama 10, 20, dan 30 menit menggunakan alat sonikator. Filtrat ekstrak disaring dengan kertas saring, kemudian diuapkan menggunakan *waterbath* pada suhu 50°C selama 7 hari untuk mendapatkan ekstrak pekat kemudian dihitung % rendemen masing-masing kelompok waktu ekstraksi. Ekstrak biji kopi yang pekat disimpan dalam lemari es untuk analisis lebih lanjut [9]. % rendemen ekstrak biji kopi dapat dihitung pada:

$$\% \text{rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak kental (g) setiap kelompok}}{\text{bobot bubuk kopi ditimbang (5g)}} \times 100\%$$

### 2.4. *Uji Organoleptik*

Uji organoleptik dilakukan pada serbuk dan ekstrak biji kopi untuk mengamati warna, tekstur, dan bau [17].

### 2.5. *Skrining Fitokimia*

Identifikasi alkaloid: 0,5 g ekstrak biji kopi dari berbagai variasi waktu pada menit ke – 10, 20, dan 30 diencerkan menggunakan aquadest kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL sampai tanda batas. Lalu masing-masing ekstrak yang sudah diencerkan diambil 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu masing-masing ekstrak ditambahkan 3 tetes dengan Reagen Mayer, Reagen Dragendroff, dan Reagen Wagner [18].

Identifikasi saponin: 0,5 g ekstrak biji kopi dari berbagai variasi waktu pada menit ke – 10, 20, dan 30 diencerkan menggunakan aquadest kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL sampai tanda batas. Lalu masing-masing ekstrak yang sudah diencerkan diambil 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Dikocok selama 10 detik menggunakan aquadest panas. Terbentuknya buih yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit menunjukkan hasil positif adanya senyawa saponin [18].

Identifikasi fenolik: 0,5 g ekstrak biji kopi dari berbagai variasi waktu pada menit ke – 10, 20, dan 30 diencerkan menggunakan aquadest kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL sampai tanda batas. Lalu masing-masing ekstrak yang sudah diencerkan diambil 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu masing-masing ekstrak ditambahkan 3-4 tetes FeCl<sub>3</sub> 5%. Adapun hasil yang ditunjukkan terjadi perubahan warna hitam kebiruan menunjukkan adanya fenolik [18].

Identifikasi tanin: 0,5 g ekstrak biji kopi dari berbagai variasi waktu pada menit ke – 10, 20, dan 30 diencerkan menggunakan aquadest kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL sampai tanda batas. Lalu masing-masing ekstrak yang sudah diencerkan diambil 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu masing-masing ekstrak ditambahkan beberapa tetes larutan gelatin 1% b/v dalam NaCl jenuh. Endapan putih menunjukkan adanya tanin [18].

Identifikasi flavonoid: 0,5 g ekstrak biji kopi dari berbagai variasi waktu pada menit ke – 10, 20, dan 30 diencerkan menggunakan aquadest kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL sampai tanda batas. Lalu masing-masing ekstrak yang sudah diencerkan diambil 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu masing-masing ekstrak ditambahkan dengan 5 tetes etanol p.a., lalu dikocok sampai homogen. Setelah itu ditambah dengan serbuk Mg 0,2 g dan 5 tetes HCl pekat. Jika terjadi perubahan warna kuning menunjukkan adanya flavonoid pada sampel [19].

### 2.6. *Uji Aktivitas Antioksidan*

*Pembuatan larutan stok DPPH 0,1 mM.* Pembuatan larutan induk DPPH 0,1 mM ditimbang sebesar 3,9432 mg, lalu ditambahkan ke dalam labu ukur 100 mL dan kemudian dilarutkan menggunakan metanol p.a hingga mencapai batas yang ditentukan [20].

*Pembuatan larutan stok kuersetin (100 ppm).* Kuersetin ditimbang kurang lebih 10 mg yang dilarutkan dengan metanol p.a. hingga tanda batas dengan labu ukur 100 mL sehingga didapatkan konsentrasi kuersetin dengan konsentrasi 100 ppm [20].

*Pembuatan larutan seri konsentrasi kuersetin.* Seri konsentrasi larutan standar kuarsetin yang dibuat yaitu 1, 2, 3, 4, 5 yang diambil dari larutan standar induk kuarsetin 100 ppm dengan volume total sebanyak 10 mL [20].

*Penentuan panjang gelombang maksimal.* DPPH 0,1 mM diambil sebanyak 2 mL kemudian dimasukkan ke dalam kuvet. Blanko berupa (metanol p.a.) digunakan untuk *scanning* pada panjang gelombang 400-600 nm yang akan digunakan untuk mendapatkan absorbansi pada rentang  $\pm 0,2 - 0,8$  menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan panjang gelombang maksimal yang diperoleh 517 nm [21].

*Penentuan Operating Time.* Diambil sebanyak 1 mL larutan induk standar kuersetin 2 ppm kemudian ditambahkan 2 mL larutan DPPH 0,1 mM. Serapan diukur pada panjang gelombang maksimum dan diukur selama 60 menit dengan interval setiap 1 menit pada penelitian ini diperoleh *operating time* pada menit ke-31 [20].

*Penentuan absorbansi kontrol (blanko).* 2 mL larutan DPPH 0,1 mM dipindahkan ke labu ukur 10 mL, sebelumnya labu ukur ditutup menggunakan aluminium foil. Selanjutnya larutan blanko dapat didiamkan hingga menit ke - 31 pada suhu kamar [20].

*Pembuatan larutan stok sampel.* Ekstrak biji kopi pada variasi waktu 10, 20, dan 30 menit tersebut dibuat masing-masing larutan induk dengan konsentrasi 100 ppm. Ekstrak biji kopi ditimbang 10 mg dengan dilarutkan 100 mL metanol p.a. hingga tanda batas labu ukur sehingga didapatkan konsentrasi ekstrak biji kopi sebesar 100 ppm [20].

*Pembuatan seri konsentrasi sampel.* Seri konsentrasi ekstrak biji kopi disiapkan mulai dari 5, 10, 20, 40, dan 80 ppm, dari larutan induk 100 ppm ke dalam labu ukur 10 mL lalu diambil sebanyak 0,5; 1; 2; 4; 8 dan 10 mL pada masing-masing variasi waktu [20].

*Pengujian aktivitas antioksidan pada standar.* Standar kuersetin dibuat dengan seri konsentrasi 1, 2, 3, 4, dan 5 ppm lalu setiap 1 mL larutan ditambahkan 2 mL larutan DPPH 0,1 mM (1:2 v/v). Kemudian, campuran ditutup dengan aluminium foil dan diinkubasi selama *operating time* pada suhu kamar. Absorbansi kemudian diukur pada panjang gelombang maksimal sekitar 500-600 nm [20].

*Pengujian aktivitas antioksidan pada sampel.* 1 mL sampel dari setiap konsentrasi dan variasi waktu ditambahkan 2 mL larutan DPPH 0,1 mM (1:2 v/v). Setiap sampel ditutup dengan aluminium foil dan diinkubasi pada suhu kamar, kemudian absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum yang telah ditentukan [20].

## 2.7. Pengolahan dan Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak SPSS. Data nilai  $IC_{50}$  pada metode DPPH dengan perbedaan waktu ekstraksi dianalisis dengan uji statistika menggunakan *Statistical Program Service Solution (SPSS)* versi 26 pada taraf kepercayaan 95%. Uji statistika *Shapiro-Wilk* digunakan untuk menguji normalitas data jika sampel data sebesar tiga sampel [22]. Uji homogenitas data dapat digunakan dengan uji *Levene*. Jika hasil uji diperoleh nilai signifikan  $> 0,05$ , maka variabel *independent* memiliki variasi yang sama sedangkan jika  $< 0,05$  menunjukkan data dengan variasi yang berbeda [23].

Uji Normalitas menunjukkan jika signifikansi atau nilai probabilitas (p) kurang dari 0,05, maka data tidak memiliki distribusi normal, dan jika signifikansi atau nilai probabilitas (p) lebih dari 0,05, maka distribusi data dapat normal dan homogen. Uji statistika *One Way ANOVA* dan *Post Hoc Test* digunakan untuk menilai suatu data tersebut dapat terdistribusi homogen dan normal. Selanjutnya, uji Pearson dapat mengkorelasikan waktu ekstraksi dengan nilai  $IC_{50}$  pada masing-masing kelompok.

## 3. Hasil dan Pembahasan

### 3.2. Persiapan Sampel

Buah kopi robusta dipetik sebanyak 3 kg lalu berat biji kopi mentah didapatkan sebesar kurang lebih 58,152 g. Kemudian biji kopi yang dipanggang didapatkan sebesar 50,732 g. Buah kopi Robusta dari Lampung Barat dikeringkan di bawah sinar matahari selama tiga hari untuk mempermudah pemisahan biji dari buahnya [24]. Biji kopi kemudian diidentifikasi di Laboratorium Biologi

Universitas Ahmad Dahlan untuk memastikan bahwa termasuk dalam jenis *Coffea canephora* atau Robusta. Selanjutnya, biji kopi dipanggang menggunakan *airfryer* pada suhu 190°C selama 30 menit hingga mencapai warna light. Tingkat pemanggangan dibagi menjadi *light*, *medium*, dan *dark*. Kategori *light* dipilih karena memberikan nilai IC<sub>50</sub> terbaik meskipun memiliki % rendemen terendah dibandingkan kategori lainnya [16]. Dalam penelitian ini, metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) dipilih karena efek kavitasasi dari gelombang ultrasonik yang mempermudah penetrasi pelarut ke dalam sel tanaman dan meningkatkan rendemen ekstraksi [25]. UAE unggul karena memerlukan pelarut lebih sedikit, waktu ekstraksi singkat, dan mengurangi kerusakan akibat pemanasan [14]. Suhu ekstraksi yang digunakan adalah 40°C, yang efektif meningkatkan kelarutan tanpa merusak sampel [26]. Etanol 70% dipilih sebagai pelarut karena polaritasnya yang tinggi, memudahkan ekstraksi senyawa polar dan semi-polar [27]. Ekstrak kemudian dipadatkan dengan menguapkan pelarut menggunakan waterbath pada suhu 50°C, untuk mempercepat penguapan tanpa merusak senyawa antioksidan [28].

### 3.3. *Ultrasound assisted Extraction (UAE)*

Pada proses pembuatan ekstrak biji kopi robusta dengan variasi waktu 10, 20 dan 30 menit sebanyak kurang lebih 5 g serbuk biji kopi menggunakan pelarut 500 mL yang menghasilkan ekstrak kental dengan metode UAE. Hasil % rendemen ketiga variasi waktu pada Tabel 1 dapat memenuhi syarat karena >12,5% [29]. Hasil ekstraksi biji kopi robusta menunjukkan nilai rendemen 24,043% pada waktu ekstraksi 10 menit, 35,709% pada 20 menit, dan 20,154% pada 30 menit. Ketiga nilai rendemen tersebut memenuhi syarat karena lebih dari 12,5% [29]. Rendemen yang tinggi menggambarkan berbagai komponen bioaktif, sehingga semakin tinggi rendemen, semakin banyak senyawa aktif yang terkandung dalam sampel [30] [31]. Variasi waktu ekstraksi 20 menit menghasilkan rendemen tertinggi, menjadikannya waktu ekstraksi yang optimal. Temuan ini sesuai dengan penelitian Andriani *et al* yang menunjukkan penurunan rendemen dengan waktu ekstraksi yang lebih lama, disebabkan oleh kejenuhan dalam proses ekstraksi [26].

### 3.4. *Uji Organoleptik*

Ekstrak biji kopi robusta diamati secara organoleptis berdasarkan tekstur, warna dan aroma. Berdasarkan hasil uji organoleptik, ekstrak biji kopi robusta dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil uji organoleptis menunjukkan tekstur kental, warna coklat dan aroma yang khas pada semua sampel ekstrak biji kopi robusta [17].

### 3.5. *Skrining Fitokimia*

Skrining fitokimia pada penelitian ini untuk mengidentifikasi metabolit sekunder di dalam sampel ekstrak biji kopi robusta. Uji skrining fitokimia pada ekstrak biji kopi terdiri dari uji alkaloid, saponin, fenolik dan tanin. Hasil pengujian fitokimia ekstrak biji kopi robusta dapat dilihat pada (Tabel 2). Analisis senyawa metabolit sekunder pada ekstrak biji kopi robusta mengidentifikasi alkaloid, saponin, fenolik, tanin, dan flavonoid. Alkaloid terdeteksi melalui endapan coklat dengan reagen Wagner dan Mayer, serta endapan coklat kekuningan dengan reagen Dragendorff [32]. Reagen Wagner bereaksi dengan nitrogen alkaloid membentuk endapan kalium-alkaloid [33]. Mayer membentuk endapan kalium-alkaloid dengan ion logam [34]. dan Dragendorff membentuk endapan kalium-alkaloid dengan kalium tetraiodobismutat. Saponin, glikosida yang terdiri dari glikon dan aglikon, tidak ditemukan pada ketiga sampel karena tidak menghasilkan busa stabil selama 10 menit, sesuai dengan hasil Utami, *et al*. [35]. Senyawa fenolik memiliki korelasi yang tinggi terhadap aktivitas antioksidan yang merupakan kombinasi fenol dengan mono atau polisakarida, terdeteksi dengan warna hitam kebiruan. Tanin, senyawa fenolik yang memiliki aktivitas antioksidan, teridentifikasi melalui endapan putih pada ketiga sampel [32] [36] [37]. Flavonoid, yang memberikan warna dan rasa pada biji, ditemukan melalui warna kuning pada ketiga sampel [9] [38].

Skrining fitokimia menunjukkan ekstrak kopi robusta mengandung alkaloid, fenolik, flavonoid, dan tanin, dengan potensi sebagai antioksidan, terutama dari golongan fenolik seperti asam klorogenat yang dapat menangkal radikal bebas [39]. Aktivitas antioksidan akan diuji menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH, yang sederhana, cepat, dan selektif terhadap senyawa antioksidan menggunakan spektrofotometer UV-Vis [40].

### 3.6. Penentuan Nilai Aktivitas Antioksidan terhadap Peredaman DPPH

Penentuan panjang gelombang maksimal untuk nilai absorbansi dalam rentang 0,2–0,8 [21]. Untuk menentukan waktu operasi, digunakan spektrofotometer UV-Vis untuk mengamati absorbansi standar kuersetin 2 ppm dengan DPPH dari menit ke-0 hingga menit ke-60. Hasilnya menunjukkan waktu operasi stabil pada menit ke-31, berbeda dari penelitian Ruddat Iaina Rahmah, *et al.* (2023) menemukan stabilitas antara menit ke-21 hingga ke-41 [41].

Aktivitas antioksidan diuji menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH, dengan kuersetin sebagai kontrol positif karena merupakan senyawa flavonoid antioksidan alami yang umum digunakan dan direkomendasikan oleh BPOM [42]. Pengujian dilakukan tiga kali untuk setiap konsentrasi guna memastikan presisi. Hasil menunjukkan bahwa baik kuersetin maupun ekstrak biji kopi robusta pada variasi waktu ekstraksi 10, 20, dan 30 menit termasuk dalam kategori antioksidan sangat kuat. Nilai  $IC_{50}$ , yang menunjukkan konsentrasi antioksidan yang dapat menangkap 50% radikal DPPH, menunjukkan bahwa ekstrak pada menit ke-30 memiliki  $IC_{50}$  terbaik sebesar  $23,11 \pm 4,638$  ppm, diikuti oleh ekstrak pada menit ke-10 sebesar  $29,97 \pm 2,737$  ppm, dan ekstrak pada menit ke-20 sebesar  $30,50 \pm 1,745$  ppm [43]. Aktivitas peredaman radikal bebas DPPH dari berbagai variasi waktu ekstraksi ekstrak biji kopi robusta menghasilkan nilai  $IC_{50}$  dalam kategori sangat kuat. Standar yang digunakan adalah kuersetin yang juga menghasilkan nilai  $IC_{50}$  dalam kategori sangat kuat. Data nilai  $IC_{50}$  dapat dilihat pada (Tabel 3).

### 3.7. Analisis Data

Analisis hasil uji aktivitas peredaman radikal bebas DPPH dengan SPSS. Hal ini diperlukan karena terdapat nilai  $IC_{50}$  dari larutan standar kuersetin, ekstrak biji kopi robusta pada variasi waktu menit ke – 10, 20 dan 30. Analisis statistik diamati dengan uji normalitas dan uji homogenitas. Hasil analisis nilai  $IC_{50}$  kuersetin, ekstrak biji kopi robusta pada variasi waktu menit ke – 10, 20 dan 30 menunjukkan bahwa data sampel terdistribusi normal dan homogen ( $>0,05$ ). Setelah homogen dan terdistribusi normal, dilakukan uji *One Way ANOVA* dan uji *Post Hoc Test*. Hasilnya menunjukkan peredaman yang signifikan ( $p < 0,05$ ), sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan dari nilai  $IC_{50}$  kuersetin, ekstrak biji kopi robusta pada variasi waktu menit ke – 10, 20 dan 30. Hasil analisis statistik dapat dilihat pada (Tabel 4).

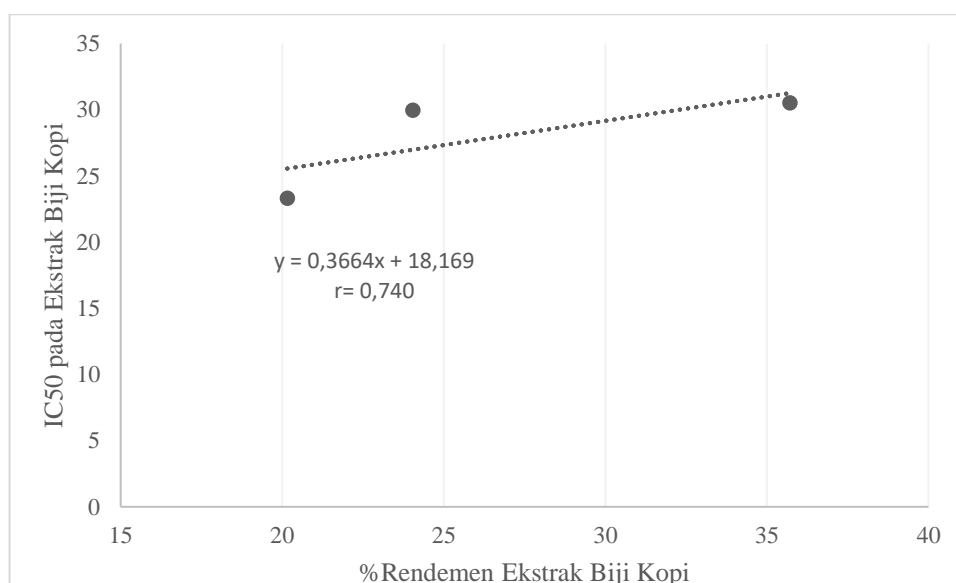
Analisis statistik menggunakan SPSS menunjukkan bahwa uji *Oneway ANOVA* dan *Post Hoc Test* mengindikasikan perbedaan signifikan ( $p < 0,05$ ) pada nilai  $IC_{50}$  antara ekstrak biji kopi robusta dengan variasi waktu 10, 20, 30 menit dan kuersetin, dengan nilai p sebesar 0,000. Hal ini berarti terdapat perbedaan signifikan dalam aktivitas antioksidan antara sampel-sampel tersebut ( $p < 0,005$ ).

Variasi waktu ekstraksi mempengaruhi nilai rendemen dan  $IC_{50}$  ekstrak biji kopi robusta. Rendemen untuk waktu 10, 20, dan 30 menit adalah 24,043%, 35,709%, dan 20,154%, sedangkan nilai  $IC_{50}$ -nya adalah  $29,970 \pm 2,737$  ppm,  $30,506 \pm 1,745$  ppm, dan  $23,311 \pm 4,638$  ppm dan dibandingkan dengan penelitian Gligor, *et al.* aktivitas antioksidan dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 4, 476 ppm pada waktu 30 menit, 5,639 ppm pada waktu 20 menit dan 3,757 ppm pada waktu 10 menit dengan suhu 40°C menggunakan metode UAE [9]. Nilai  $IC_{50}$  pada Kopi Robusta dari berbagai daerah seperti Bogor, Kuningan, Sumedang, Temanggung, Boyolali, Wonosobo, Jombang, Malang, dan Kediri masing-masing sebesar 42,63 ppm, 76,59 ppm, 37,47 ppm, dan 42,77 ppm [20]. Hal ini menunjukkan bahwa daerah tumbuh kopi Robusta dan variasi waktu mempengaruhi potensi antioksidan yang berbeda-beda. Korelasi antara % rendemen dan  $IC_{50}$  menunjukkan nilai r sebesar 0,740 pada Gambar 1. Korelasi Pearson mengevaluasi nilai 0,740 menggambarkan korelasi kategori positif kuat, walaupun tidak signifikan (nilai p lebih dari 0,05) dengan Uji Pearson. Korelasi antara % rendemen dan nilai  $IC_{50}$  menunjukkan hubungan lurus antara jumlah komponen senyawa yang diekstraksi dari sampel dengan potensi bioaktivitasnya, seperti kemampuan aktivitas antioksidan [44]. Hasil data ekstraksi biji kopi Robusta didapati bahwa rendemen tertinggi menunjukkan nilai  $IC_{50}$  yang lebih tinggi yang menunjukkan potensi aktivitas antioksidan yang lebih rendah daripada kelompok lain. Hasil rendemen dari variasi waktu ekstraksi 10, 20, dan 30 menit diperoleh adalah 24,04%; 35,71%; dan 20,15%, sedangkan nilai  $IC_{50}$  dari hasil ekstraksi adalah 29,97 ppm, 30,5 ppm, dan 23,31 ppm secara berturut-turut. Rendemen dan nilai antioksidan berhubungan dengan kandungan bioaktif, meskipun kadar air juga mempengaruhi [45]. Penelitian lain melaporkan rendemen tertinggi pada

menit ke-20 karena kadar air yang lebih tinggi dapat mengurangi komponen senyawa antioksidan pada sampel. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi rendemen, semakin rendah nilai IC<sub>50</sub> atau daya hambat menurun [46], namun tidak dilaporkan pada penelitian ini. Baik kuersetin (1,423 ppm) maupun ekstrak biji kopi robusta menit ke-30 (23,331 ppm) dikategori antioksidan sangat kuat. Nilai IC<sub>50</sub> ekstrak biji kopi robusta dengan berbagai variasi waktu ekstraksi menunjukkan daya hambat sangat tinggi terhadap radikal bebas sehingga ekstrak biji kopi berasal dari Lampung Barat dapat berpotensi sebagai sumber antioksidan. Aktivitas antioksidan menurun pada ekstrak biji kopi mungkin disebabkan oleh beberapa faktor seperti kerusakan senyawa pada preparasi, jenis kopi, proses panen, suhu ekstraksi, metode ekstraksi, kadar air, lamanya penyimpanan dan lainnya [11][45]. Penelitian ini dapat mengeksplorasi biji kopi robusta lampung sebagai antioksidan yang sangat kuat. Pengembangan produk bahan alam ini yang berpotensi sebagai antioksidan merupakan upaya berkelanjutan dalam bidang penemuan obat [47].

### 3.8. Gambar dan Tabel

**Gambar 1.** Hubungan % Rendemen dengan IC<sub>50</sub> pada Ekstrak Biji Kopi dengan Uji Pearson



**Tabel 1.** Hasil Rendemen dan Uji Organoleptik pada Biji Kopi Robusta Lampung Barat

Variasi Waktu	%Rendemen	Tekstur	Warna	Aroma
Serbuk	-	Halus	Coklat	Khas
10	24,043	Kental	Coklat	Khas
20	35,709	Kental	Coklat	Khas
30	20,154	Kental	Coklat	Khas

**Tabel 2.** Hasil Skrining Fitokimia pada Ekstrak Biji Kopi Robusta Lampung Barat

Metabolit sekunder	Pengujian	Ekstrak Biji Kopi Robusta			Teori (Tiwari <i>et al.</i> , 2011)
		Menit ke- 10	Menit ke-20	Menit ke-30	
Alkaloid	Mayer	+	+	+	Endapan kuning kecoklatan
	Wagner	+	+	+	Endapan kuning kecoklatan
	Dragendroff	+	+	+	Endapan kuning kecoklatan

Metabolit sekunder	Pengujian	Ekstrak Biji Kopi Robusta			Teori (Tiwari <i>et al.</i> , 2011)
		Menit ke-10	Menit ke-20	Menit ke-30	
Saponin	Aquadest panas	-	-	-	Tidak Berbuih
Fenolik	FeCl <sub>3</sub>	+	+	+	Hitam kebiruan
Tanin	Gelatin 1% dalam NaCl jenuh	+	+	-	Endapan coklat
Flavonoid	Etanol p.a., serbuk Mg, dan HCl pekat.	+	+	+	Warna kuning

Keterangan: (+) = positif mengandung senyawa, (-) = negatif mengandung senyawa

**Tabel 3.** Hasil IC<sub>50</sub> Ekstrak Biji Kopi Robusta pada Variasi Waktu Ekstraksi

Sampel	IC <sub>50</sub> (ppm)	Kategori (Nasution <i>et al.</i> , 2015)
Kuersetin	1,423	Sangat kuat
EBK menit ke-10	29,970	Sangat kuat
EBK menit ke-20	30,506	Sangat kuat
EBK menit ke-30	23,311	Sangat kuat

Keterangan: Ekstrak Biji Kopi Robusta (EBK)

**Tabel 4.** Uji Statistika IC<sub>50</sub> Ekstrak Biji Kopi dengan Variasi Ekstraksi

Nilai IC <sub>50</sub>	Normalitas (Shapiro Wilk)	Homogenitas (Uji Levene)	ANOVA One Way	Post Hoc
Kuersetin	0,268	0,134		0,000*
EBK menit ke – 10	0,066	0,423		0,000*
EBK menit ke – 20	0,917	0,454	<0,000*	0,823
EBK menit ke – 30	0,821	0,145		0,021*

Keterangan: \*Data signifikan  $p < 0,05$

#### 4. Kesimpulan

Variasi waktu ekstraksi dapat mempengaruhi aktivitas peredaman radikal bebas DPPH pada ekstrak biji kopi Robusta berasal dari Lampung Barat. Waktu ekstraksi menit ke-30 dengan metode UAE merupakan waktu ekstraksi optimal dapat berpotensi meningkatkan sumber antioksidan pada biji kopi Robusta.



## 5. Ucapan Terimakasih

Tim peneliti mengucapkan terima kasih kepada Program Studi Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta atas dukungan fasilitas yang diberikan sehingga tim peneliti dapat memperluas wawasan dan pengetahuan melalui penelitian ini.

## Referensi

- [1] Wang, K. (2006). *Agrobacterium protocols* (2nd ed.). Humana press inc.
- [2] Farah, A., & Donangelo, C. M. (2006). Phenolic compounds in coffee. In *Brazilian Journal of Plant Physiology* (Vol. 18, Issue 1, pp. 23–36).
- [3] Rahmadani, W., Gabrienda, G., & Yanuarti, M. (2022). Petik Merah Di Kecamatan Kabawetan Kabupaten Kepahiang. *Jurnal Riset Rimpun Ilmu Tanaman*, 1(1), 1–11.
- [4] Badan Standarisasi Nasional, B. S. (2020). SNI Produk Kopi Bubuk. In *Perpustakaan.Bsn.Go.Id*.
- [5] Ridwansyah. (2003). *Pengolahan kopi. Skripsi. Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara. Medan*.
- [6] Hulupi, R., & Martini, E. (2013). Pedoman Budidaya dan Pemeliharaan Tanaman Kopi di Kebun Campur. *Pedoman Budi Daya Dan Pemeliharaan Tanaman Kopi Di Kebun Campur*, 1–72.
- [7] Gunalan, G., Myla, N., & Balabhaskar, R. (2012). In vitro Antioxidant Analysis of Selected Coffee Bean Varieties. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2012(4), 2126–2132.
- [8] Percival. (1996). Steam processed broccoli (Brassica oleracea) has higher antioxidant activity in chemical and cellular assay systems. *Clinical Nutrition Insights Advanced Nutrition Publications*, 114, 263–219.
- [9] Gligor Octavia, Simona Clichici, Remus Moldovan, Dana Muntean, Ana-Maria Vlase, Nadás George Cosmin, Ioana Adriana Matei, Gabriela Adriana Filip, L. V., & Crisan, and G. (2023). *The Effect of Extraction Methods on Phytochemicals and Biological Activities of Green Coffee Beans Extracts*.
- [10] Hapsari, A. T., Kunarto, B., & Putri, A. S. (2021). Ekstraksi Kulit Kopi Robusta (Coffea canephora) Pada Berbagai Lama Waktu Ultrasound-Assisted Extraction Terhadap Antosianin dan stabilitasnya Selama Pemanasan. *Jurnal Mahasiswa, Food Technology Agricultural Product*, 3(2), 81–91.
- [11] Yuliantari, N.W.A., I. W. R. W. dan, & Permana., I. D. G. M. (2017). Pengaruh suhu dan waktu ekstraksi terhadap kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidan daun sirsak (*Annona muricata* L.) menggunakan ultrasonik. *Scientific Journal of Food Technology*, 4(1), 35–42.
- [12] Dong, W., Chen, Q., Wei, C., Hu, R., Long, Y., Zong, Y., & Chu, Z. (2021). Comparison of the effect of extraction methods on the quality of green coffee oil from Arabica coffee beans: Lipid yield, fatty acid composition, bioactive components, and antioxidant activity. *Ultrasonics Sonochemistry*, 74, 105578.
- [13] Liu, Q., & Yao, H. (2007). Antioxidant activities of barley seeds extracts. *Food Chemistry*, 102(3), 732–737.
- [14] Dey, S., & Rathod, V. K. (2013). Ultrasound assisted extraction of  $\beta$ -carotene from *Spirulina platensis*. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(1), 271–276.
- [15] Pratiwi, A. ., Yusran, & Islawati. (2023). Analisis Kadar Antioksidan Pada Ekstrak Daun Binahong Hijau *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis. *Bioma : Jurnal Biologi Makassar*, 8(August 2022), 66–74.
- [16] Adawiyah, R., Lady Yunita Handoyo, D., Gasim Soka, B., Nur Atiqah, S., & Haryanto Susanto, F. (2023). Pengaruh Temperatur Roasting Biji Kopi Robusta ( *Coffea canephora* Pierre )

- terhadap Nilai IC 50. *Jurnal Farmasi Ma Chung: Sains Teknologi Dan Klinis Komunitas*, 1(1), 1–7.
- [17] RI, D. K. (2008). *Farmakope Herbal Indonesia* (1st ed.). Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Direktorat Pengawas Obat Tradisional.
- [18] Tiwari, P., Kumar, B., Mandeep, K., Kaur, G., & Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1(1), 98–106.
- [19] Junito, Katja, D. G., & Kamu, V. S. (2018). Uji Fitokimia dan Toksisitas dari Ekstrak Daun *Chisocheton* sp. (C.DC) Harms. *Chemistry Progress*, 11(2), 74–80.
- [20] Wigati, E. I., Pratiwi, E., Nissa, T. F., & Utami, N. F. (2018). Uji Karakteristik Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora* Pierre) Dari Bogor, Bandung Garut Dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). *Fitofarmaka Jurnal Ilmiah Farmasi*, 8(1), 59–66.
- [21] Fauzi, M. N., Santoso, J., & Riyanta, A. B. (2021). Uji Kualitatif dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Buah Maja (*Aegle Marmelos* (L.)Correa) dengan Metode DPPH. *Jurnal Riset Farmasi*, 1(1), 1–8.
- [22] Razali, N.M., Y. B. W. (2011). Power Comparison of Shapiro-Wilk, KolmogorovSmirnov, Lilliefors, and Anderson-Darling tests. *Journal of Statistical Modeling and Analytics*, 2(1), 21–33.
- [23] Ghozali, I. (2011). *Aplikasi Analisis Multivariate Dengan Program SPSS* (6th ed.). Badan Penerbit Universitas Diponegoro.
- [24] Dhamayanthie, I. (2022). Analisis Metode Pengurangan Kadar Air pada Biji Kopi. *Jurnal Pendidikan Tambusai*, 6, 12056–12065.
- [25] Aldino, R., Widyasanti, A., & Rosalinda, S. (2023). Seminar Nasional LPPM UMMAT Proses Pembuatan Ekstrak Bunga Mawar (*Rosa* sp) Dengan Metode Ultrasonic Assisted Extraction (UAE). *Seminar Nasional Lppm Ummat*, 2(April), 37–41.
- [26] Andriani, M., Permana, G. D. M., & Widarta, I. W. R. (2019). Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Aktivitas Antiosidan Metode Ultrasonic Assisted Extraction (UAE). *Ilmu Dan Teknologi Pangan*, 8(3), 330–340.
- [27] Surya, R. P. A., & Luhurningtyas, F. P. (2021). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% dan 96% Buah Parijoto Asal Bandungan dan Profil Kromatografinya. *Pharmaceutical and Biomedical Sciences Journal*, 3(1), 39–44.
- [28] Sayakti, P. I., Anisa, N., & Ramadhan, H. (2022). Antioxidant activity of methanol extract of cassava leaves (*Manihot esculenta* Crantz) using CUPRAC method. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 97–106.
- [29] BSN. (2008). SNI 01-2907-2008 tentang Biji Kopi. *Standar Nasional Indonesia*, 4.
- [30] Dewatisari, W. F., Rumiyanti, L., Rakhmawati, I., Soekarno, J. (2017). *Rendemen dan Skrinning Fitokimia pada Ekstrak Daun Sansevieria sp, Rendemen and Pyhtoschemical Screening using Leaf extract of.* 17(3), 197–202.
- [31] Si Harbone. (1987). *Metode Fitokimia. Edisi ke2. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah. Bandung: Institut Teknologi Bandung. Terjemahan dari: Phytochemical Methods.*
- [32] Khafid, A., Wiraputra, M. D., Putra, A. C., Khoirunnisa, N., Putri, A. A. K., Suedy, S. W. A., & Nurchayati, Y. (2023). Uji Kualitatif Metabolit Sekunder pada Beberapa Tanaman yang Berkhasiat sebagai Obat Tradisional. *Buletin Anatomi Dan Fisiologi*, 8(1), 61–70.
- [33] Putriantari, M., & Santosa, E. (2014). Pertumbuhan dan Kadar Alkaloid Tanaman Leunca (*Solanum americanum* Miller) pada Beberapa Dosis Nitrogen. *Jurnal Hortikultura Indonesia*, 5 (3), 175–182.

- [34] Ergina, Nuryanti, S., & Pursitasari, P. I. (2014). Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang Diekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol. *Jurnal Akademika Kimia*, 3(3), 165–172.
- [35] Utami, Y. P., Imrawati, & Barrang, J. A. (2019). Studi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) dan Biji Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) Dengan Metode DPPH. *Jurnal FARBAL*, 7(1), 19–28.
- [36] Utami, Y. P., Imrawati, & Barrang, J. A. (2019). Studi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) dan Biji Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) Dengan Metode DPPH. *Jurnal FARBAL*, 7(1), 19–28.
- [37] Permana, S. N., Fakhri, T. M., & Soewondo, B. P. (2023). Uji Aktivitas Antioksidan Kopi Robusta Gunung Tilu dan Lampung. *Bandung Conference Series: Pharmacy*, 375–379.
- [38] Hudáková, J., Marcinčáková, D., & Legáth, J. (2016). Study of Antioxidant Effects of Selected Types of Coffee. *Folia Veterinaria*, 60(3), 34–38.
- [39] Pathak, L., Agrawal, Y., & Dhir, A. (2013). Natural polyphenols in the management of major depression. In *Expert Opinion on Investigational Drugs* (Vol. 22, Issue 7, pp. 863–880).
- [40] Bawole, A. S. W., Wewengkang, D. S., & Antasionasti, I. (2021). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Teripang (*H. atra*) dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). *Pharmacoin*, 10(2), 863.
- [41] Ruddat Ilaina Rahmah, Nur Anggreini Dwi Sasangka, & Dian Marlina. (2023). Perbandingan Kadar Dan Uji Mutu Fisik Injeksi Dexamethasone Sodium Phosphate Sebelum Dan Sesudah Masa Kadaluarsa Secara Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 9(2), 136–148.
- [42] Lim, T. K. (2012). *Syzygium aqueum*. *Edible Medicinal And Non Medicinal Plants*, 8(2), 738–742.
- [43] Molyneux. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*, 50(June 2003), 211–219.
- [44] Senduk, T. W., Montolalu, L. A. D. Y., & Dotulong, V. (2020). The rendement of boiled water extract of mature leaves of mangrove *Sonneratia alba*. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan Tropis*, 11(1), 9.
- [45] Asyikaputri, Devia Ellyna and Rayhan, Hilmy and Ir. Aji Hendra Sarosa, S.T., M.T and Ir. Luthfi Kurnia Dewi, S.T., M.(2023). Pengaruh Variasi Kadar Air dan Jenis Pelarut Pada Ekstraksi Daun Jeruk Purut Terhadap Rendemen dan Senyawa Aktif. *Sarjana Thesis, Universitas Brawijaya*.
- [46] Jabnabillah, F., & Margina, N. (2022). Analisis Korelasi Pearson Dalam Menentukan Hubungan Antara Motivasi Belajar Dengan Kemandirian Belajar Pada Pembelajaran Daring. *Jurnal Sintak*, 1(1), 14–18.
- [47] Iqbal, M., & Triyandi, R. (2024). Exploration of potential antioxidant and antibacterial activities of Lampung robusta coffee ethanolic extracts. In *AIP Conference Proceedings*, 2970 (1).