

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL BIJI  
KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*) DENGAN METODE  
DPPH (*1,1-Diphenyl-2-picryl-hidrazyl*)**

**SKRIPSI**



**Oleh :  
Halimatus Zahroh  
NIM 18040040**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI  
FAKULTAS ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI  
JEMBER  
2022**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL BIJI  
KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*) DENGAN METODE  
DPPH (*1,1-Diphenyl-2-picryl-hidrazyl*)**

**SKRIPSI**

Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi ( S. Farm )



Oleh :  
**Halimatus Zahroh**  
**NIM 18040040**

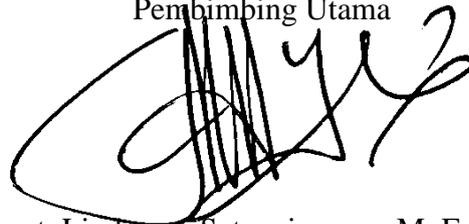
**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI  
FAKULTAS ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI  
JEMBER  
2022**

## LEMBAR PERSETUJUAN

Skripsi ini telah diperiksa oleh pembimbing dan telah disetujui untuk mengikuti seminar hasil pada Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi

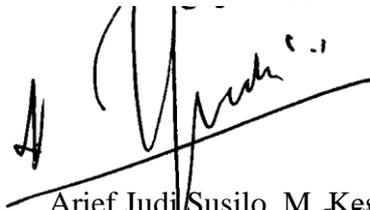
Jember, 29 September 2022

Pembimbing Utama



apt. Lindawati Setyaningrum, M. Farm.  
NIDN. 07030668903

Pembimbing Anggota



Arief Judi Susilo, M. Kes.  
NIK. 196512179890031001

## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul Uji Aktivitas Antioksidan Ekstak Etanol Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Dengan Metode DPPH (*1,1-Diphenyl-2-picryl-hidrazyl*) telah diuji dan disahkan oleh Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada:

Hari : Kamis

Tanggal : 29 September 2022

Tempat : Program Studi Sarjana Farmasi  
Universitas dr. Soebandi

Ketua Penguji



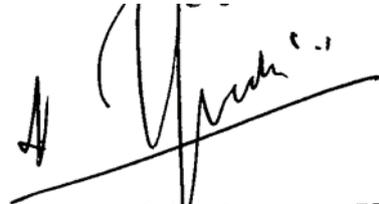
apt. Sholihati Hidayati, M.Farm  
NIDN. 0509088601

Penguji II,



apt. Lindawati Setyaningrum, M. Farm.  
NIDN. 07030668903

Penguji III,

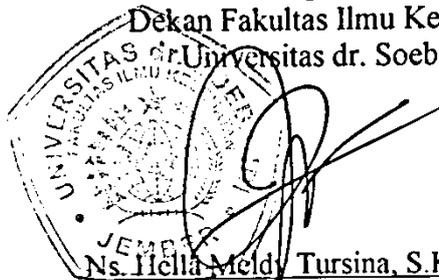


Arief Judi Susilo, M. Kes.  
NIK. 196512179890031001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan,

Universitas dr. Soebandi



Ns. Hella Meldy Tursina, S.Kep., M.Kep  
NIDN. 0706109104

## **PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI**

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Halimatus Zahroh

NIM : 18040040

Program Studi : Sarjana Farmasi

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau hasil tulisan orang lain.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi akhir ini adalah karya orang lain atau ditemukan adanya pelanggaran terhadap etika keilmuan dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Jember, 22 Agustus 2022

Yang menyatakan

  
(Halimatus Zahroh)



**SKRIPSI**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL BIJI  
KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*) DENGAN METODE  
DPPH (*1,1-Diphenyl-2-picryl-hidrazyl*)**

Oleh:

Halimatus Zahroh

18040040

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : apt. Lindawati Setyaningrum, M. Farm.

Dosen pembimbing Anggota : Arief Judi Susilo, M. Kes.

## **PERSEMBAHAN**

Alhamduillah dengan memanjatkan ucapan Syukur Kepada Allah SWT dan nabi besar Muhammad SAWatas segala berkat serta rahmat dan juga kesempatan dalam menyelesaikan tugas akhir skripsi penulis dengan segala kekurangannya. Skripsi ini saya persembahkan sebagai bukti semangat usaha serta, cinta dan kasih sayang saya kepada orang-orang yang sangat berharga dalam hidup saya.

1. Kedua orang tua saya abah dan mama yang sangat berjasa dalam hidup saya, serta keluarga besar, nyek, paman, adik dan kakak sepupu terimakasih yang selalu memberikan doa, kasih sayang, nasihat dan pengorbanan yang senantiasa memberikan kekuatan sehingga membuat segalanya terselesaikan dengan baik dan saya bisa sampai tahap dimana skripsi ini selesai.
2. Ibu dan Bapak Dosen Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi yang telah memberikan banyak ilmu dan pengalaman selama perkuliahan.
3. Teman – teman kontrakan biru daun (Retno, Rikza, Ina, Puji, Soca, dan Rinta) sudah menjadi sahabat dan penyemangat selama dalam perkuliahan ini.
4. Teman-temanku yang telah banyak menemani selama menempuh pendidikan farmasi di Universitas dr. Soebandi, canda, tawa, dan banyak momen yang telah kita lewati bersama.
5. Teman kuliah satu angkatan terutama kelas 18A Farmasi terimakasih untuk perjuangan yang telah kita lewati bersama dan sukses untuk kita semua.

6. Sahabat setia Natasya AK dan geng RMJ18+ yang selalu memberikan semangat, menjadi penghibur dan selalu mengatakan “*you can do it*”. Terima kasih selalumemberikan dukungan yang positif untuk saya.
7. Partner saya Rony Siantono yang selalu memberikan dukungan dan semangat dalam menyelesaikan skripsi ini.
8. *last but not least, i wanna thank me, i wanna thank me for believing in me, i wanna thank me for doing all this hard work, i wanna thank me for having no days of, i wanna thank me for never quitting*

## **MOTTO**

Ujian itu menguatkan bukan melemahkan sesusah manapun ujian itu, Allah tak akan menguji manusia diluar kemampuan mereka

*Anonymouse*

Tugasmu hanya mengangkat tangan, sisanya biar Allah yang turun tangan

*Anonymouse*

Jangan pernah merasa gagal, itu jalan kamu menuju menjadi seseorang yang bermanfaat bagi orang banyak

(Habibie & Ainun 3)

*Education does not change the world,*

*education changes people. People change the world*

(Paulo Freire)

## ABSTRAK

Zahroh, Halimatus\* Setyaningrum, Lindawati\*\*\* Judi Susilo, Arief\*\*\*. 2022. **Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-picryl-hidrazyl)**. Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi.

**Latar Belakang :** Radikal bebas merupakan pemicu perusakan saraf dan otak. Selain itu radikal juga terlibat dalam peradangan, pengapuran tulang, gangguan pencernaan, gangguan fungsi hati, meningkatkan kadar LDL, dan penyakit jantung koroner, oleh karena itu tubuh manusia memerlukan antioksidan sebagai pertahanan tubuh, agar terhindar dari radikal bebas. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol biji kopi robusta (*Coffea canephora*) dengan metode DPPH (1,1 Diphenyl 2 Picrylhidrazyl).

**Metode:** Desain penelitian pada uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol biji kopi robusta (*Coffea canephora*) merupakan desain penelitian eksperimen laboratorium yang dilakukan secara invitro dengan metode DPPH (*Diphenyl-picylhydrazyl*). Konsentrasi sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 50, 100, 150, 200, dan 250 ppm dan konsentrasi kuersetin 10, 20, 30, 40 dan 50 ppm. penelitian diawali dengan identifikasi senyawa metabolit sekunder dilanjutkan dengan uji aktivitas antioksidan dan dilakukan analisis data dengan regresi probit

**Hasil penelitian :** Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol biji kopi robusta (*Coffea canephora*) menunjukkan adanya senyawa flavonoid, saponin, alkaloid, tanin, terpenoid. Hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol biji kopi robusta menunjukkan nilai IC<sub>50</sub> dengan Rata-rata 36,107 µg/mL sedangkan pembanding kuersetin memiliki nilai IC<sub>50</sub> dengan Rata-rata 5,538 µg/mL

**Kesimpulan :** Ekstrak etanol biji kopi robusta (*Coffea canephora*) dan pembanding kuersetin memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat.

**Kata Kunci :** Biji kopi robusta (*Coffea canephora*), DPPH, Kuersetin, IC<sub>50</sub>

\*Peneliti

\*\*Pembimbing 1

\*\*\*Pembimbing 2

## ***ABSTRACT***

Zahroh, Halimatus \* Setyaningrum, Lindawati\*\* Judi Susilo, Arief. 2022.  
**Antioxidant Activity Test of Robusta Coffee Bean (*Coffea canephora*) Ethanol Extract Using DPPH Method (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl).** Essay. Pharmacy Undergraduate Study Program, University of dr. Soebandi.

**Introduction :** Free radicals are triggers for nerve and brain damage. In addition, radicals are also involved in inflammation, calcification of bones, digestive disorders, impaired liver function, increasing LDL levels, and coronary heart disease, therefore the human body needs antioxidants as body defenses to avoid free radicals. The purpose of this study was to determine the antioxidant activity of the ethanol extract of robusta coffee beans (*Coffea canephora*) using the DPPH method (1,1 Diphenyl 2 Picrylhydrazyl).

**Methods :** The research design on the antioxidant activity test of the ethanol extract of robusta coffee beans (*Coffea canephora*) is a laboratory experimental research design conducted in vitro using the DPPH (Diphenyl-picrylhydrazyl) method. The sample concentrations used in this study were 50, 100, 150, 200, and 250 ppm and the concentrations of quercetin 10, 20, 30, 40 and 50 ppm. The study begins with the identification of secondary metabolites followed by antioxidant activity tests and data analysis is carried out with probit regression.

**Results and Analysis :** The results of phytochemical screening of the ethanolic extract of robusta coffee beans (*Coffea canephora*) showed the presence of flavonoid compounds, saponins, alkaloids, tannins, terpenoids. The results of testing the antioxidant activity of the ethanolic extract of robusta coffee beans showed an IC<sub>50</sub> value with an average of 36.107 g/mL while the comparison of quercetin had an IC<sub>50</sub> value with an average of 5.538 g/mL.

**Conclusion :** Robusta coffee bean ethanol extract (*Coffea canephora*) and quercetin as a comparison have very strong antioxidant activity.

**Keyword :** Robusta coffee bean (*Coffea canephora*), DPPH, quercetin, IC<sub>50</sub>

\*Author

\*\* Advisor 2

\*\*\* Advisor 3

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa, atas segala limpahan rahmat, taufik, dan Hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi yang berjudul “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Biji Kopi Robusta (*Coffea Canephora*) Dengan Metode DPPH (*Diphenyl-2-Picryl-hidrazyl*)” dengan tepat waktu.

Penyusunan skripsi ini dapat terlaksana dengan baik berkat bimbingan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Drs. Said Mardijanto, S.Kep., Ns., M.M. selaku Rektor Universitas dr. Soebandi
2. Ibu Hella Meldy Tursina, S.Kep., Ns., M.Kes. selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi
3. Ibu apt. Dhina Ayu Susanti, S.Farm., M.Kes. selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi
4. Ibu apt. Sholihatil Hidayati, M.Farm. selaku Ketua Penguji
5. Ibu apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm. selaku Dosen Pembimbing Utama
6. Bapak Arief Judi Susilo, M.Kes. selaku Dosen Pembimbing Anggota

Penulis tentu menyadari bahwa Skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Penulis mengharapkan kritik serta saran dari semua pihak demi kesempurnaan Skripsi ini.

Semoga Skripsi ini dapat bermanfaat. Akhir kata penulis mengucapkan terima kasih.

Jember, 17 Juni 2022

## DAFTAR ISI

|   |              |
|---|--------------|
| <b>SKRIPSI</b> .....  | <b>i</b>     |
| <b>SKRIPSI</b> .....  | <b>ii</b>    |
| <b>LEMBAR PERSETUJUAN</b> .....   | <b>iii</b>   |
| <b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....   | <b>iv</b>    |
| <b>PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI</b> .....                                    | <b>v</b>     |
| <b>SKRIPSI</b> .....  | <b>vi</b>    |
| <b>PERSEMBAHAN</b> .....  | <b>vii</b>   |
| <b>MOTTO</b> .....  | <b>ix</b>    |
| <b>ABSTRAK</b> .....  | <b>x</b>     |
| <b>ABSTRACT</b> .....   | <b>xi</b>    |
| <b>KATA PENGANTAR</b> .....   | <b>xii</b>   |
| <b>DAFTAR ISI</b> .....   | <b>xiv</b>   |
| <b>DAFTAR TABEL</b> .....   | <b>xviii</b> |
| <b>DAFTAR GAMBAR</b> .....  | <b>xix</b>   |
| <b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....  | <b>xx</b>    |
| <b>DAFTAR SINGKATAN</b> .....   | <b>xxi</b>   |
| <b>BAB 1 PENDAHULUAN</b> .....  | <b>1</b>     |
| 1.1 Latar Belakang .....  | 1            |
| 1.2 Rumusan Masalah .....   | 4            |
| 1.3 Tujuan Penelitian.....  | 4            |
| 1.3.1 Tujuan Umum .....   | 4            |
| 1.3.2 Tujuan Khusus .....   | 4            |
| 1.4 Manfaat Penelitian.....   | 5            |
| 1.5 Keaslian Penelitian .....   | 6            |
| <b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b> .....   | <b>7</b>     |
| 2.1 Tanaman Kopi .....  | 7            |
| 2.1.1 Morfologi Tanaman Kopi .....  | 7            |
| 2.1.2 Klasifikasi Tanaman kopi robusta ( <i>Coffea canephora</i> ).....         | 11           |
| 2.1.3 Kandungan dan Manfaat biji kopi robusta ( <i>Coffea canephora</i> ) ..... | 11           |
| 2.2 Radikal bebas .....   | 12           |

|   |           |
|---|-----------|
| 2.2.1 Definisi Radikal bebas.....                   | 12        |
| 2.2.2 Sumber radikal bebas .....                    | 13        |
| 2.2.3 Mekanisme radikal bebas .....                 | 14        |
| 2.2.4 Penyakit yang ditimbulkan radikal bebas.....  | 15        |
| 2.3 Antioksidan .....                               | 15        |
| 2.3.1 Definisi antioksidan.....                     | 15        |
| 2.3.2 Penggolongan antioksidan.....                 | 16        |
| 2.3.3 Cara kerja antioksidan .....                  | 16        |
| 2.4 Uji Aktivitas Antioksidan.....                  | 17        |
| 2.4.1 DPPH.....                                     | 17        |
| 2.4.1.1 Definisi DPPH.....                          | 17        |
| 2.4.1.2 Mekanisme DPPH.....                         | 18        |
| 2.4.1.3 Tingkat kekuatan DPPH.....                  | 18        |
| 2.5 Ekstraksi .....                                 | 19        |
| 2.5.1 Pengertian Ekstraksi .....                    | 19        |
| 2.5.2 Tujuan Ekstraksi .....                        | 20        |
| 2.5.3 Jenis-jenis Ekstraksi.....                    | 21        |
| 2.5.4 Pelarut .....                                 | 26        |
| 2.6 Instrumen Spektrofotometer UV-VIS .....         | 27        |
| 2.6.1 Definisi Spektrofotometer UV-VIS .....        | 27        |
| 2.6.2 Jenis Spektrofotometer UV-VIS .....           | 27        |
| 2.6.3 Sistem Instrumen Spektrofotometer UV-Vis..... | 28        |
| 2.6.4 Syarat menggunakan.....                       | 33        |
| 2.6.5 Hasil.....                                    | 33        |
| 2.6.6 Pengujian secara In Vitro.....                | 33        |
| <b>BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL .....</b>              | <b>34</b> |
| 3.1 kerangka konseptual .....                       | 34        |
| 3.2 hipotesis.....                                  | 35        |
| <b>BAB 4 METODE PENELITIAN.....</b>                 | <b>36</b> |
| 4.1 Desain Penelitian .....                         | 36        |
| 4.2 Populasi dan Sampel .....                       | 36        |
| 4.2.1 Populasi.....                                 | 36        |

|   |           |
|---|-----------|
| 4.2.2 Sampel Penelitian .....   | 36        |
| 4.3 Variabel Penelitian .....   | 36        |
| 4.4 Tempat Penelitian.....  | 37        |
| 4.5 Waktu penelitian.....   | 37        |
| 4.6 Definisi Operasional.....   | 37        |
| 4.7 Tekni Dan Instrumen Pengumpulan Data .....  | 38        |
| 4.7.1 Alat dan Bahan.....   | 38        |
| 4.7.2 Preparasi Sampel.....   | 39        |
| 4.7.3 Skrining Fitokimia .....  | 40        |
| 4.7.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH.....   | 41        |
| 4.7.5 Analisi Data.....   | 44        |
| <b>BAB 5 HASIL PENELITIAN .....</b>   | <b>47</b> |
| 5.1 Hasil Determinasi Tanaman .....   | 47        |
| 5.2 Pengambilan Sampel .....  | 47        |
| 5.3 Ekstraksi .....   | 47        |
| 5.4 Skrining Fitokimia.....   | 48        |
| 5.5 Pengukuran Aktivitas Antioksidan.....   | 49        |
| 5.5.1 Penentuan Panjang Gelombang .....   | 49        |
| 5.4.2 Optimasi Waktu Inkubasi Ekstrak Etanol Biji Kopi Robusta ( <i>Coffea canephora</i> ).....                     | 49        |
| 5.4.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Kopi Robusta ( <i>Coffea canephora</i> ) dan Kuersetin.....      | 52        |
| 5.4.5 Hasil Analisis Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Kopi Robusta ( <i>Coffea canephora</i> ) dan Kuersetin..... | 54        |
| <b>BAB 6 PEMBAHASAN .....</b>   | <b>55</b> |
| 6.1 Determinasi tanaman.....  | 55        |
| 6.3 Skrining Fitokimia.....   | 56        |
| 6.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan.....  | 58        |
| 6.4.1 Penentuan Panjang Gelombang .....   | 58        |
| 6.4.2 Pengukuran Absorbansi Senyawa DPPH .....  | 59        |
| 6.4.3 Optimasi Waktu Inkubasi Ekstrak Etanol Biji Kopi Robusta ( <i>Coffea canephora</i> ) dan kuersetin.....       | 59        |

|  |           |
|--|-----------|
| 6.4.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Biji kopi robusta<br>( <i>Coffea canephora</i> ) dan Kuersetin..... | 60        |
| <b>BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>  | <b>63</b> |
| 7.1 Kesimpulan.....  | 63        |
| 7.2 Saran .....  | 63        |
| <b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>  | <b>64</b> |

## DAFTAR TABEL

|  |    |
|--|----|
| Tabel 1. 2 Keaslian Penelitian.....  | 6  |
| Tabel 2. 1 Tingkat Kekuatan Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH (1,1 Diphenyl- 2-picrylhydrazyl)..... | 18 |
| Tabel 4. 1 Definisi Operasional.....   | 37 |
| Tabel 4. 2 SOP (Standart Operasional Prosedur).....  | 45 |
| Tabel 5. 1 Hasil Ekstrak Biji Kopi Robusta (Coffea canephora)  | 48 |
| Tabel 5. 2 Hasil Skrining Fitokimia Biji Robusta (Coffea canephora) .....                                  | 48 |
| Tabel 5. 3 Hasil Nilai IC <sub>50</sub> Ekstrak dan Kuersetin .....  | 50 |
| Tabel 5. 4 Hasil Absorbansi Waktu Inkubasi Ekstrak dan Kuersetin .....                                     | 51 |
| Tabel 5. 5 Hasil Absorbansi Pengujian Kuersetin .....  | 52 |
| Tabel 5. 6 Hasil Absorbansi Pengujian Ekstrak Biji Kopi Robusta.....                                       | 53 |
| Tabel 5. 7 Hasil Nilai IC <sub>50</sub> Ekstrak dan Kuersetin .....  | 54 |

## DAFTAR GAMBAR

|   |    |
|---|----|
| Gambar 2. 1 Tanaman Kopi Robusta ( <i>Coffea canephora</i> ) .....  | 11 |
| Gambar 2. 2 Alat Sokletasi .....  | 25 |
| Gambar 2. 3 Skema Alat Spektrofotometri UV-Vis Single-beam.....   | 28 |
| Gambar 3. 1 Kerangka Konsep.....  | 34 |
| Gambar Grafik 5. 1 Hasil Optimasi Waktu Inkubasi Kuersetin.....   | 51 |
| Gambar Grafik 5. 2 Hasil Optimasi Waktu Inkubasi Ekstrak Etanol Biji Kopi<br>( <i>Coffea canephora</i> ) Robusta..... | 52 |

## DAFTAR LAMPIRAN

|   |     |
|---|-----|
| Lampiran 1 Determinasi Tanaman.....   | 70  |
| Lampiran 2 Dokumentasi Penelitian.....  | 71  |
| Lampiran 3 Perhitungan Rendemen Ekstrak.....  | 75  |
| Lampiran 4 Skrining Fitokimia.....  | 76  |
| Lampiran 5 Panjang Gelombang.....   | 78  |
| Lampiran 6 Perhitungan Waktu Inkubasi Sampel .....  | 79  |
| Lampiran 7 Perhitungan Nilai IC <sub>50</sub> Ekstrak Dengan Analisis Probit.....   | 81  |
| Lampiran 8 Perhitungan Sampel Kuersetin .....   | 88  |
| Lampiran 9 Optimasi Waktu Inkubasi Kuersetin Dengan Probit .....  | 90  |
| Lampiran 10 Perhitungan Nilai IC <sub>50</sub> Ekstrak Etanol Biji Kopi Robusta ( <i>Coffea canephora</i> ) Dengan Replikasi Tiga Kali..... | 98  |
| Lampiran 11 Perhitungan Nilai IC <sub>50</sub> Kuersetin.....   | 102 |
| Lampiran 12 Nilai absorbansi dan % Inhibisi Kuersetin Dengan Replikasi 3x...  | 106 |
| Lampiran 13 Nilai absorbansi dan % Inhibisi Ekstrak Dengan Replikasi 3x .....   | 107 |
| Lampiran 14 Tabel Probit .....  | 108 |
| Lampiran 15 Lembar Konsultasi.....  | 114 |

## DAFTAR SINGKATAN

1. ROS : *Reactive Oxygen Species*
2. UV : *Ultra Violet*
3. DPPH : *1,1-Difenil-1-Pikrilhidrazyl*
4. IC50 : *Inhibition Contration 50*
5. ITIS : *Integrated Taxononomic Information System*
6. DNA : *Depxyribonucleic Acid*
7. LDL : *Low-Density Lipoprotein*
8. ABTS : *Azini-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic-acid)*
9. FRAP : *Ferric Reducing Antioxidant Power*
10. PFRAP : *Pottasium Ferricyanide Reducing Power*
11. CUPRAC : *Cupric Reducing Antioxidant Power*
12. ORAC : *Oxygen Radical Absorption Capacity*
13. HORAC : *Hydroxyl Radical Averting Capacity*
14. TRAP : *Total Peroxyl Radical Antioxiant Parameter*

## **BAB 1 PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Indonesia merupakan produsen kopi terbesar ke empat di dunia dan masuk lima negara konsumen terbesar. Pusat penelitian kopi dan kakao (puslitkoka) di Jember adalah salah satu pusat penelitian kopi dan kakao di Jember, Jawa Timur, kopi yang terdapat disana adalah kopi arabica dan kopi robusta (*Coffea canephora*). Puslitkoka (Pusat penelitian kopi dan kakao) Jember merupakan lembaga riset dan pengembangan kopi dan kakao nasional berdasarkan Surat Keputusan Menteri Pertanian NO. 786/Kpts/Org/9/1981. Ada empat jenis kelompok kopi yang dikenal, yaitu kopi arabica, kopi robusta, kopi liberika dan kopi ekselsa. Kelompok kopi yang memiliki nilai ekonomis adalah kopi robusta dan kopi arabica sementara itu, kopi liberika dan kopi ekselsa kurang ekonomis dan kurang komersial (Rahardjo, 2012).

Kopi adalah minuman yang berasal dari tanaman kopi yang telah disangrai digiling atau ditumbuk dan dihaluskan lalu diseduh dengan air, kopi merupakan salah satu hasil komoditi perkebunan yang memiliki nilai ekonomis yang cukup tinggi dan berperan penting sebagai sumber divisi negara. Kopi tidak hanya berperan penting bagi divisa melainkan juga merupakan sumber penghasilan bagi tidak kurang dari satu setengah juta jiwa petani kopi di indonesia (Rahardjo, 2012). Tidak banyak yang tahu bahwa kopi memiliki beberapa manfaat yang baik bagi tubuh, Biji kopi robusta diketahui mengandung senyawa alkaloid, tanin, saponin, dan polifenol (Satyanarayana and Jaya Kumari, 2017).

Antioksidan merupakan suatu substansi yang pada konsentrasi kecil secara signifikan mampu menghambat atau mencegah oksidasi pada substrat yang disebabkan oleh radikal bebas (Bahriul, *et al*, 2014). Radikal bebas adalah suatu molekul yang relatif tidak stabil dengan atom yang pada orbit terluarnya memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan (Robins,2007). Alif (2010) Menambahkan radikal bebas merupakan pemicu kerusakan saraf dan otak. Selain itu radikal bebas juga terlibat dalam peradangan, pengapuran tulang, gangguan pencernaan gangguan fungsi hati, meningkatkan kadar LDL (*low density lipoprotein*) yang akan menyebabkan penimbunan kolesterol pada dinding pembuluh darah sehingga timbul aterosklerosis atau yang sering dikenal sebagai penyakit jantung koroner. Oleh karena itu tubuh kita memerlukan antioksidan sebagai pertahanan tubuh agar terhindar dari radikal bebas.

Pengujian aktivitas antioksidan tanaman pada umumnya menggunakan metode radikal bebas DPPH (*1,1 Diphenyl-2-picrylhidrazyl*) Dibandingkan metode FRAP dan FIC. Metode DPPH (*1,1 Diphenyl-2-picrylhidrazyl*) sering di pilih untuk pengujian antioksidan karena sederhana, mudah, cepat, peka dan memerlukan sedikit sampel, senyawa perbandingan pada metode DPPH (*1,1 Diphenyl-2-picrylhidrazyl*) seperti Vitamin A, vitamin C dan vitamin E. Pengujian tentang metode uji aktivitas antioksidan menggunakan DPPH, FRAP dan FIC pada asam askorbat, asam galat dan kuersetin pernah dilakukan oleh (Kiki Maesaroh, Dikdik Kurnia, 2018) dan di buktikan uji aktivitas antioksidan terhadap radikal DPPH ditemukan paling efektif dan efisien diantara tiga metode uji yang digunakan dan

metode FIC paling tidak efektif dan efisien karena sensitivitasnya yang sangat rendah dan daya kelatnya lebih kecil dari 20%.

Prinsip kerja metode DPPH (*1,1 diphenyl-2-picrylhidrazyl*) adalah adanya atom hidrogen dari senyawa antioksidan yang berikatan dengan elektron bebas pada senyawa radikal sehingga menyebabkan perubahan dari radikal bebas (*diphenyl picryl hydrazil*) menjadi senyawa non radikal (*diphenyl picryl hidrzine*). Adanya senyawa antioksidan menyebabkan perubahan warna larutan DPPH dari warna ungu gelap menjadi warna kuning. Semakin kuat senyawa antioksidan untuk menangkal radikal DPPH, semakin pudar warna yang teramati (Setiawan *et al*, 2018).

Penelitian tentang aktivitas antioksidan menggunakan biji kopi robustasebelumnya pernah diteliti oleh (Suena and Antari, 2020) dengan nilai  $IC_{50}$  adalah 244,42 ppm, dari nilai tersebut menunjukkan bahwa endapan biji kopi memiliki aktivitas antioksidan lemah. kemudian penelitian yang dilakukan oleh Evi Indah Wigati.*et.al* (2018) menunjukkan bahwa biji kopi robusta mengandung senyawa kimia alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin, dan memiliki nilai antioksidan  $IC_{50}$  sebesar 55,13 (Bandung dan Bogor) dan 55,14 (Garut) termasuk antioksidan kuat. Penelitian serupa juga diteliti oleh (Utami, Nhestricia and Maryanti, 2018) dengan menggunakan biji kopi robusta dari sembilan daerah di pulau jawa yaitu bogor didapat nilai  $IC_{50}$  62,04, kuningan didapat nilai  $IC_{50}$  59,94, temanggung didapat nilai  $IC_{50}$  50,18, boyolali didapat nilai  $IC_{50}$  9,88, wonosobodidapat nilai  $IC_{50}$  42,62, jombang didapat nilai  $IC_{50}$  76,59, malang didapat nilai  $IC_{50}$  37,47 dan kediri didapat nilai  $IC_{50}$  42,47 dan aktivitas antioksidan wonosobo paling kuat dibandingkan kopi robusta dari sembilan daerah lainnya.

Berdasarkan uraian di atas antioksidan sangat penting bagi tubuh manusia, manusia memiliki antioksidan dalam tubuh, namun jumlahnya tidak mencukupi untuk mengatasi radikal bebas yang berlebih, sehingga dibutuhkan antioksidan eksogen. Oleh karena itu peneliti ingin membuktikan apakah biji kopi robusta (*Coffea canephora*) yang terdapat di pusat penelitian kopi dan kako di Jember, Jawa Timur mengandung Antioksidan yang lemah, sedang, kuat, atau sangat kuat.

## **1.2 Rumusan Masalah**

1. Apakah ekstrak etanol dari biji kopi robusta (*Coffea canephora*) mempunyai aktivitas antioksidan ?
2. Berapakah nilai  $IC_{50}$  pada ekstrak etanol biji kopi Robusta (*Coffea canephora*) dengan menggunakan DPPH (*1,1 Diphenyl 2 picryl hidrazyl*) ?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol biji kopi robusta (*Coffea canephora*) dengan metode DPPH (*1,1 Diphenyl 2 Picryl hidrazyl*).

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

1. Untuk mengidentifikasi senyawa apakah yang ada pada ekstrak etanol biji kopi robusta (*Coffea Canephora*).
2. Untuk menganalisis nilai  $IC_{50}$  pada ekstrak etanol biji kopi robusta (*Coffea canephora*) yang mengandung antioksidan menggunakan DPPH (*1,1 Diphenyl 2 picryl hidrazyl*).

## **1.4 Manfaat Penelitian**

### **1. Bagi Peneliti**

Menambah pengetahuan tentang khasiat biji kopi robusta (*Coffea canephora*) sebagai antioksidan dan meningkatkan kemampuan peneliti menggunakan alat di laboratorium.

### **2. Bagi Peneliti lain**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi pada peneliti selanjutnya sehingga dan dijadikan refrensi dan acuan perbandingan bagi peneliti selanjutnya tentang aktivitas antioksidan pada kopi robusta (*Coffea canephora*).

### **3. Bagi Masyarakat**

Penelitian ini diharapkan memberikan pengetahuan lebih di bidang kesehatan dan pengetahuan alam tentang potensi antioksidan biji kopi Robusta (*Coffea canephora*).

### **4. Bagi Ilmu Pengetahuan**

Penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai bahan informasi dan menambah pengetahuan mengenai potensi antioksidan pada ekstrak etanol biji kopi robusta (*Coffea canephora*).

## 1.5 Keaslian Penelitian

Tabel 1. 1 Keaslian Penelitian

| Peneliti   | Persamaan  | Perbedaan  |
|--|--|--|
| Ni Made Dharma<br>Shantini Suena dan<br>Ni Putu Udayana<br>Antarin ( 2020) | a) Metode DPPH<br>b) Menggunakan<br>Spektrofotometer UV-Vis  | a) Menggunakan pelarut aquadest<br>b) Menggunakan sampel biji kopi<br>hijau robusta atau tanpa<br>pemanggangan (roasting).   |
| Fensia analda<br>souhoka. <i>et al</i> (2019)                              | a) Metode DPPH<br>b) Menggunakan<br>spektrofotometer UV-Vis  | a) Menggunakan sampel biji<br>kesumba keling<br>b) Menggunakan pelarut metanol   |
| Evi Indah Wigati. <i>Et<br/>al</i> (2018)                                  | a) Metode DPPH<br>b) Menggunakan<br>spektrofotometer UV-Vis<br>c) Menggunakan biji kopi<br>robusta | a) Menggunakan pelarut etanol<br>80%<br>b) Menggunakan sampel dari<br>Bogor, Bandung dan Garut   |
| Novi fajar Utami <i>et<br/>al</i> (2018)                                   | a) Metode DPPH<br>b) Menggunakan<br>spektrofotometer UV-Vis<br>c) Menggunakan biji kopi<br>robusta | a) Menggunakan pelarut etanol<br>80%<br>b) Menggunakan sampel dari<br>bogor, kuningan, sumedang,<br>temanggung, boyolali,<br>wonosobo, jombang, malang<br>dan kediri |

## **BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA**

### **2.1 Tanaman Kopi**

#### **2.1.1 Morfologi Tanaman Kopi**

Kopi merupakan minuman yang banyak diminati oleh semua kalangan di dunia. Negara Brazil, Vietnam, Kolombia, dan Indonesia merupakan negara-negara produsen kopi terbesar di dunia. Brazil menghasikan 2,5 juta ton pada tahun 2015. Kopi yang di produksi Brazil 80% didominasi oleh jenis kopi Arabika dan 20% adalah jenis kopi Robusta (Wenny Bekt Sunarharum *et al* 2017).

Batang tumbuhan kopi pada saat masih muda kelihatan memiliki ruas-ruas, tiap ruas tumbuh sepasang daun yang saling berhadapan. Ruas yang daunnya telah besar, akan muncul dua jenis cabang, yaitu cabang orthotrop dan plagiotop (Hasbullah *et al* 2021). Ada enam jenis cabang batang tumbuhan kopi yaitu Cabang primer, cabang reproduksi, cabang mati, cabang balik, cabang kipas dan cabang air (Hasbullah *et al* 2021).

Menurut buku yang ditulis oleh Hasbullah *et al* (2021) Bagian daun tumbuhan kopi terdiri dari tiga bagian, yaitu tangkai daun, tulang daun dan lembaran atau helaian daun itu sendiri.

1. Tangkai daun : menghubungkan antara helai daun dengan batang cabang dan ranting kopi
2. Tulang daun : kerangka daun serta tempat proses transpirasi hasil asimilasi daun ke seluruh tanaman

3. Daun kopi : berbentuk bulat telur ujungnya agak meruncing hingga bulat, tulang daun menyirip (*pennivervis*) dan tegas. umumnya berwarna hijau mengkilap, dan tumbuh berpasangan dengan berlawanan arah.

Tanaman kopi disebut dengan tumbuhan berbunga banyak (*planta multiflora*). Letak bunga pada kopi adalah pada ketiak daun maka disebut *flos lateralis* atau *flos axillari*. Bunga membentuk susunan bergerombol yang dinamakan bunga majemuk (*anthotaxis atau inflorescentia*). Pada bunga kopi terdapat bagian yang bersifat seperti batang atau cabang dan bagian yang bersifat seperti daun. Yang bersifat seperti batang adalah ibu tangkai bunga (*pedunculus, pedunculus communis atau rhachis*), tangkai bunga (*pedicellus*) dan dasar bunga (*receptaculum*) dan bagian yang bersifat daun tersusun atas daun tangkai (*bracteola*) yaitu beberapa daun kecil yang terdapat pada tangkai bunga yang telatiknya tegak lurus pada bidang median (Hasbullah, *et al* 2021).

Buah kopi mentah berwarna hijau muda, setelah itu, berubah menjadi hijau tua, lalu kuning, buah kopi matang dan siap panen (*ripe*) berwarna merah atau merah tua. Pada umumnya buah kopi mengandung 2 butir biji, biji-bijian tersebut mempunyai bidang yang datar (*perut*) dan bidang yang cembung (*punggung*). Kopi merumakan tumbuhan tertutup (*Angiospermae*). Biji kopi terdiri dari dua lapis, lapis pertama disebut kulit luar (*testa*) lapisan kedua disebut kulit dalam (*tegmen*). Pada biji terdapat inti biji (*Nukleus seminis*) yang terdiri dari dua bagian yaitu lembaga (*embryo*) dan putih lembaga (*albumen*). Daging buah teriri atas 3 bagian lapisan kulit luar (*eksokarp*), lapisan daging (*mesokarp*) dan (*mesokarp*) lapisan kulit tanduk (Hasbullah *et al* 2021).

Ada tiga jenis kopi yang yang dibudidayakan luas untuk tujuan komersial. Pertama, Kopi Arabika (*coffea arabica*). Kedua, kopi Robusta (*coffea canephora*). Ketiga, kopi liberica var dan kopi excelsa (*coffea liberica*). Ciri-ciri kopi arabika aromanya wangi sedap mirip percampuran bungan dan buah, memiliki rasa asam yang tidak dimiliki oleh jenis kopi jenis robusta memiliki bodi atau ras akental saat disesap dimulut, rasa kopi arabika lebih *mild* atau halus dan kopi arabika terkenal kepahitannya (Billah, 2018).

Kopi arabika merupakan jenis tanaman kopi yang pertama kali dibudidayakan. Asal tanaman ini dari dataran tinggi Ethiopia, kemudian dibawa dan dikembangkan bangsa arab di Yaman. Selanjutnya orang-orang eropa membawa ke Jawa, hingga akhirnya menyebar ke berbagai belahan dunia (Billah, 2018). Tanaman kopi jenis ini membutuhkan waktu 9 bulan untuk berbunga dan berbuah. Butuh perhatian khusus karena kopi arabika sangat mudah terangsang hama dan mudah rusak jika tidak ditangani dengan baik. Pohon kopi berbentuk perdu, jika tidak dipangkas ketinggiannya mencapai 6 meter, daun kopi arabika berukuran relatif kecil dibanding jenis kopi lainnya, penjangnya 10-15 cm dan lebarnya 4-6 cm. Kopi arabika memiliki perakaran yang lebih dalam, daunnya tipis, percabnagan tanaman yang lentur, ukuran biji keil berbentuk oval dengan warna hijau tua hingga merah gelap (Billah, 2018)

Kopi robusta baru ditemukan pada 1898 di Kongo oleh Emil Laurent, seorang pedagang asal Prancis. Selain di Kongo, Tanaman ini diperkirakan ada juga di daerah Sudan, Liberia, dan Uganda. (Harun mahbub billah 2018 hal 78). Ciri-ciri kopi robusta memiliki rasa yang lebih seperti coklat, bau khas dan manis, warnanya

bervariasi sesuai dengan cara pengolahan, memiliki tekstur yang lebih kasar dari pada arabika. Jenis robusta bisa tumbuh dengan baik di dataran sekitar 250-1.500 meter dari permukaan laut. Tanaman ini membutuhkan suhu rata-rata yang lebih hangat, sekitar 18-36 derajat celcius dengan curah hujan 2.200-3000 mm pertahun. Ukuran buah diameternya berkirsaran dari 16-18 mm, waktu yang diperlukan mulai dari berbunga hingga buah siap panen adalah sekitar 9-11 bulan. Pohon kopi robusta tumbuh hingga 12 meter bila tidak di pangkas. Daun kopi robusta panjang sekitar 20-35 cm dan lebar 8-15 cm. Jenis kopi robusta memiliki sistem perakaran yang dangkal sehingga membutuhkan tanah yang subur. (Billah, 2018).

Kopi liberika ditemukan pertama kali di daerah liberia. Selain di Liberia, diketahui juga tumbuh di hutan-hutan Burkuna Paso, Pantai Gading, Gabon, Gambia, Gana, Mauritania, Nigeria, Uganda, Kamerun hingga Angola. (Billah, 2018). Pohon kopi liberika memiliki ukuran yang cukup besar, bila tidak di pangkas tingginya 18 meter. Ukuran buahnya berdiameter sekitar 18-30 mm.

Kopi excelsa ditemukan pada 1905 oleh August Chevalier, seorang ahli botani asal Prancis (Billah, 2018). Warna daunnya hijau tua dengan bagian belakang berwarna hijau terang. Ukuran daun lebar dan luas. Bunganya berwarna putih dan besar, tumbuh berkelompok terdiri dari satu sampai lima bunga dalam satu kelompok. Tanaman kopi excelsa cocok dikembangkan pada ketinggian 0-750 meter di atas permukaan laut. Kopi excelsa memerlukan waktu 1-2 bulan dengan curah hujan kurang dari 50 mm untuk berbunga. (Billah, 2018).

### 2.1.2 Klasifikasi Tanaman kopi robusta (*Coffea canephora*)



Gambar 2. 1 Tanaman Kopi Robusta (*Coffea canephora*)

klasifikasi kopi sebagai berikut :

|                |                                    |
|----------------|------------------------------------|
| Kingdom/Regnum | : Plantae                          |
| Subkingdom     | : Magnoliophyts                    |
| Divisi         | : Spermatophyta                    |
| Kelas          | : Magnoliopsida (Dicotyledoneae)   |
| Sub kelas      | : Asteridae                        |
| Ordo           | : Rubiales                         |
| Famili         | : Rubiaceae                        |
| Genus          | : Coffea                           |
| Spesies        | : <i>Coffea canephora</i> , Pierre |

### 2.1.3 Kandungan dan Manfaat biji kopi robusta (*Coffea canephora*)

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Evi indah wigati *et al*(2018) karakteristik fitokimia ekstrak biji kopi robusta mengandung senyawa kimia yaitu alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin. penelitian yang dilakukan oleh (Hertina and

Dwiyanti, 2013) mengungkapkan bahwa buah kopi sangat baik untuk perawatan wajah dengan konsentrasi 2,5% (b/b). Dan penelitian yang dilakukan oleh (Hertina and Dwiyanti, 2013) mengungkapkan bahwa biji kopi sangat baik untuk mengangkat sel kulit mati, melembabkan dan melembutkan kulit. Kandungan tanin dalam kulit buah kopi efektif sebagai antibakteri. Selain itu adanya senyawa polifenol dalam biji kopi sebanyak 0,2% (b/b). Kopi sebagai antioksidan yang sangat penting untuk kesehatan kulit wajah (Gunalan, Sivaraj and Rajendran, 2012). Penelitian oleh Sonatalia (2016) menyatakan kopi banyak mengandung senyawa fitokimia yang bersifat antioksidan yang dapat mempercepat pertumbuhan rambut. Hasil tes mengatakan sampo yang mengandung kafein dapat mencegah kerontokan hingga 7,17% dalam 3 bulan dan 13,45% dalam waktu 6 bulan. Kafein merupakan cikal bakal yang dapat menstimulasi pertumbuhan rambut. Kafein dalam konsentrasi 0,001% dan 0,0005% dapat menginduksi penekanan pertumbuhan rambut (Sonathalia *et al* 2016).

## **2.2 Radikal bebas**

### **2.2.1 Definisi Radikal bebas**

Radikal bebas adalah molekul yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbit terluarnya, dan memiliki sifat yang sangat labil dan reaktif (SOEKSMANTO, HAPSARI and SIMANJUNTAK, 2007). Radikal bebas memiliki peran penting dalam kerusakan jaringan dan proses patologi dalam organisme hidup (Valazquez *et al* 2003). Abnormalnya kadar radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh dapat menyerang senyawa yang rentan, seperti lipid dan protein dan berimplikasi pada timbulnya berbagai penyakit (Amic *et al* 2003). Sifat

radikal bebas adalah tidak stabil sehingga akan selalu berusaha mengambil elektron dari molekul di sekitarnya (Khaira, 2010). Hal tersebut menyebabkan radikal bersifat toksis terhadap molekul biologi atau sekitarnya. Radikal bebas dapat mengganggu produksi DNA (*Deoxyribonucleic Acid* atau *Deoksiribonukleat*), lapisan lipid pada dinding sel, mempengaruhi pembuluh darah, produksi prostaglandin, dan protein lain seperti enzim yang terdapat dalam tubuh (Werdhasari, 2014). Radikal bebas bereaksi reaktif karena dapat membentuk senyawa radikal bebas baru, senyawa baru apabila bereaksi dengan molekul lain akan terbentuk senyawa radikal yang baru lagi. Demikian seterusnya sehingga semua reaksi-reaksi tadi disebut dengan reaksi berantai (*chain reaction*). Reaksi berantai akan berlangsung terus menerus dan reaksi ini akan berhenti sampai ada peredaman oleh senyawa lain yang bersifat antioksidan (Yuslianti., 2018).

### **2.2.2 Sumber radikal bebas**

Sumber radikal bebas terdiri dari dua yaitu sumber radikal bebas berasal dari dalam tubuh (Radikal bebas endogenus) dan sumber radikal bebas dari luar tubuh (radikal bebas eksogenus). Sumber endogenus dapat melewati autoksidasi, oksidasi enzimatis, fagositosis dalam respirasi, transpor elektron di mitokondria, oksidasi ion-ion logam transisi, atau iskemik (Yuslianti, 2018).

Sumber radikal eksogenus diantaranya adalah sinar ultraviolet (UV), radiasi, asap rokok, senyawa kimia klorotetrafluorida, senyawa hasil pemanggangan dan zat warna (Yuslianti, 2018). Sumber radikal bebas dari luar tubuh dapat menyebabkan ROS (*Reactive oxygen species*). ROS didefinisikan sebagai radikal eksogen reaktif secara turunan oksigen non radikal. Rentang reaktivitas yang bervariasi yang

ditunjukkan oleh setiap spesies oksigen reaktif sangat penting untuk dampaknya pada tingkat molekuler. Signifikansi dalam perkembangan banyak penyakit kardiovaskular sudah diketahui dengan baik, tetapi juga memiliki peran yang bermanfaat dalam sel. Mengembangkan keseimbangan antara kelebihan produksi ROS dan pemanfaatannya penting dalam menjaga proses redoks yang sehat di dalam sel (Cristiana flip dan Elina albu, 2018). Pada tingkat produksi yang lebih rendah ROS dapat bermanfaat sebagai respon metabolik terhadap hiposia dengan mengatur stabilitas HIF-1 $\alpha$ . Tingkat menengah produksi ROS lebih menunjukkan respon inflamasi dengan mengaktifkan mitogen activated protein kinase (MAPK) dan sitokin proinflamasi. Tingkat produksi ROS yang berlebih dapat menjadi patologis, dan dapat menyebabkan mitokondria dan apoptosis sel melalui aktivitas kompleks protein apoptosom.

### **2.2.3 Mekanisme radikal bebas**

Mekanisme pembentukan radikal bebas atau ROS terjadi melalui tiga tahapan reaksi yaitu inhalasi, propagasi, dan terminasi (Utami and Orbayinah, 2013). Tahapan inhalasi merupakan langkah pertama terciptanya spesies radikal bebas. Secara umum ini adalah peristiwa pembelahan homolitik yang jarang terjadi karena hambatan energi. Pada tahapan propagasi, bagian rantai dari reaksi berantai. Begitu radikal bebas reaktif dihasilkan, akan menjadi pemicu untuk bereaksi dengan molekul stabil dan membentuk radikal bebas baru. Demikian hal ini terus menerus berlangsung dengan melibatkan abstraksi hidrogen atau penambahan radikal bebas menjadi ikatan rangkap dan menghasilkan banyak radikal bebas. Sementara pada

tahapan erminasi, reaksi radikal akan berhenti jika dua radikal saling bereaksi dan menghasilkan suatu spesies non radikal (Labola and Puspita, 2018)

#### **2.2.4 Penyakit yang ditimbulkan radikal bebas**

Menurut definisi radikal bebas adalah atom atau molekul dengan satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dan bersifat tidak stabil, berumur pendek, dan sangat reaktif untuk penarikan elektron molekul lain dalam tubuh untuk mencapai stabilitas yang menyebabkan potensi kerusakan pada biomolekul dengan merusak integritas lipid, protein, dan DNA yang mengarah pada peningkatan stres oksidatif seperti penyakit *neurodegenerative*, diabetes militus, penyakit kardiovaskular, proses penuaan dini, bahkan kanker (Phaniendra, Jestadi and Periyasamy, 2015).

### **2.3 Antioksidan**

#### **2.3.1 Definisi antioksidan**

Antioksidan adalah zat atau senyawa alami yang dapat melindungi sel tubuh dari kerusakan dan penuaan yang disebabkan oleh molekul reaktif atau radikal bebas. Dalam kinerjanya senyawa alami menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat molekul liar serta menjaga struktur genetik dari suatu sel agar tetap dalam kondisi normal. Senyawa dengan kandungan bioaktif tertentu yang memiliki kemampuan sebagai antioksidan melemahkan zat lain yang berpotensi sebagai molekul reaktif jika bereaksi dengan oksigen (teroksidasi). Reaksi oksidasi dihambat dengan cara reduksi. Karena itu antioksidan disebut senyawa pereduksi. Antioksidan bekerja melalui berbagai cara. Setiap jenis antioksidan memiliki kinerja yang bervariasi satu dengan yang lainnya. Cara kerja tersebut mencegah

terbentuknya molekul radikal, mereduksi molekul radikal sehingga tidak menjadi berbahaya, memperbaiki kerusakan oksidatif, mengeliminasi molekul yang rusak, meningkatkan aktivitas enzim detoksifikasi tahap kedua, mencegah terjadinya mutasi (Lingga, 2014)

### **2.3.2 Penggolongan antioksidan**

Antioksidan dapat dibagi menjadi dua golongan, yaitu antioksidan primer (*primary antioxidants*) atau disebut juga antioksidan pemutus rantai (*chain-breaking antioxidants*) dan antioksidan sekunder (*secondary atau preventive antioxidants*). Antioksidan primer bereaksi dengan radikal lipid dan mengonversikannya menjadi produk-produk yang lebih stabil. Antioksidan sekunder adalah antioksidan yang mencegah atau mengurangi laju reaksi inisiasi dengan berbagai mekanisme (Santoso, 2021). Antioksidan yang diproduksi tubuh terdiri atas tiga enzim yaitu, superoksida dismutase (SOD), glutathion peroksidase (GSHPx), katalase serta non enzim, yaitu senyawa protein kecil glutathion (Handajani, 2019). SOD berperan dalam melawan radikal bebas pada mitokondria, sitoplasma dan bakteri aerob dengan mengurangi bentuk radikal bebas superoksida.

### **2.3.3 Cara kerja antioksidan**

Jika disuatu tempat terjadi reaksi oksidasi dimana reaksi tersebut menghasilkan hasil samping berupa radikal bebas (OH) maka tanpa adanya kehadiran antioksidan radikal bebas ini akan menyerang molekul-molekul lain di sekitarnya. Hasil reaksi ini akan dapat menghasilkan radikal bebas yang lain yang siap menyerang molekul yang lainnya lagi akhirnya akan terbentuk reaksi berantai yang sangat membahayakan (Hasanah, 2015).

## 2.4 Uji Aktivitas Antioksidan

Ada sembilan metode yang biasa digunakan untuk uji aktivitas antioksidan yaitu, DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*), ABTS (*2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid*), FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant power*), PFRAP (*pottasium ferricyanide reducing power*); CUPRAC (*cupric reducing antioxidant power*); ORAC (*Oxygen radical absorption capacity*); HORAC (*Hydroxyl Radical Averting Capacity*), TRAP (*Total Peroxyl Radical Antioxidant Parameter*); dan Flourimetri (Pisoschi and Negulescu, 2012).

Menurut (Lung and Destiani, 2018) metode DPPH adalah metode *in vitro* yang sering dipilih sebagai metode pengujian aktivitas antioksidan karena sederhana, mudah, cepat, peka, dan memerlukan sedikit sampel. Karena hal itu metode yang digunakan dalam penetapan aktivitas antioksidan pada penelitian ini adalah DPPH (*1,1 diphenyl picryl-2-hidrazil*)

### 2.4.1 DPPH

#### 2.4.1.1 Definisi DPPH

Menurut (Lung and Destiani, 2018) Metode DPPH merupakan uji aktivitas antioksidan menggunakan reagen DPPH yang berperan sebagai senyawa radikal. Metode DPPH merupakan metode *in vitro* yang sering dipilih sebagai metode pengujian aktivitas antioksidan karena sederhana, mudah, cepat, peka dan memerlukan sedikit sampel. DPPH atau *1,1-difenil-2-pikrilhidrazil* adalah suatu radikal bebas yang diperdagangkan, memiliki sifat stabil pada suhu ruang dengan bentuk serbuk ungu tua, cepat teroksidasi oleh temperatur dan udara dan sering

digunakan untuk mengevaluasi peredaman radikal bebas bahan alam (Nasution and Siregar, 2018;Utami and Welas, 2019).

#### **2.4.1.2 Mekanisme DPPH**

Menurut (Lung and Destiani, 2018) hasil dari reaksi dapat diamati menggunakan perubahan larutan dari warna ungu menjadi kuning. Perubahan warna menunjukkan bahwa DPPH telah tereduksi oleh proses donasi hydrogen atau elektron dari senyawa antioksidan sehingga warnanya berubah dari violet ke kuning dan DPPH memberikan serapan pada panjang gelombang 517 nm. Semakin tinggi aktivitas antioksidan maka warna ungu DPPH akan semakin berkurang sehingga menyebabkan penurunan nilai absorbansi sinar tampak pada spektrofotometer (Lisi, 2017). Radikal DPPH mempunyai absorbansi kuat pada panjang gelombang 517 nm (Souhoka, Hattu and Huliselan, 2019). Pada panjang gelombang tersebut DPPH memberikan serapan kuat karena adanya elektron yang tidak berpasangan.

#### **2.4.1.3 Tingkat kekuatan DPPH**

Menurut (Agustina, Andiarna and Hidayati, 2020) parameter yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan dengan penangkapan radikal DPPH merupakan nilai konsentrasi hambatan atau *Inhibitory concentration* (IC50) atau *efficient concentration* (EC50). Nilai IC<sub>50</sub> didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam 50% radikal bebas. Semakin kecil nilai IC<sub>50</sub>, maka semakin aktif sampel tersebut sebagai antioksidan (Budilaksono, Wahdaningsih and Fahrurroji, 2014)

Tabel 2. 1 Tingkat Kekuatan Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH (*1,1 Diphenyl- 2-picrylhydrazyl*)

| <b>Intesitas kekuatan aktivitas</b> | <b>Nilai IC50</b> | <b>Warna</b> |
|-------------------------------------|-------------------|--------------|
| Lemah                               | >150 µg/MI        | Ungu gelap   |
| Sedang                              | 101-150 µg/mL     | Ungu         |
| Kuat                                | 50-100 µg/mL      | Kuning       |
| Sangat kuat                         | <50 µg/mL         | Kuning pucat |

## 2.5 Ekstraksi

### 2.5.1 Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan zat aktif dengan menggunakan pelarut tertentu. Proses ekstraksi pada dasarnya adalah proses pemindahan massa dari komponen zat padat yang terdapat pada simplisia ke dalam pelarut yang digunakan. Pelarut yang digunakan pada ekstraksi dengan tingkat kepolaran yang berbeda ada 3 jenis yaitu, non polar ( n- heksana), semi polar (etil asetat), polar (etanol,metanol). Pada proses ekstaksi simplisia dikumpulkan dan dibersihkan dari pengotor dengan cara pemisahan simplisia lain yang tidak digunakan (pemilihan) selanjutnya sortasi basah atau yang biasa disebut pencucian. Untuk melakukan ekstraksi terhadap simplisia sebaiknya digunakan simplisia segar (Hanani, Widowati and Susanto, 2020).

Pada saat pengeringan simplisia cara penegeringannya perlu diperhatikan karena proses ini berpotensi dapat membuat perubahan metabolik baik secara kualitatif atau kuantitatif. Ada beberapa cara pengeringan salah satunya adalah pengeringan dengan aliran udara. Sebelum simplisia diekstraksi, simplisia dapat disimpan dalam wadah tertutup rapat tidak terlalu lama, untuk mencegah adanya

hama atau kutu yang dapat menyebabkan rusaknya kandungan kimia pada simplisia. Untuk proses pengecilan ukuran diperlukan agar proses ekstraksi berjalan dengan cepat (Hanani, Widowati and Susanto, 2020).

Menurut (Winangsih, Prihastanti and Parman, 2013) terdapat beberapa metode pengeringan yaitu pengeringan dengan sinar matahari langsung, pengeringan dengan oven, kering angin dan pengeringan dengan rumah kaca. pengeringan dengan sinar matahari, kering angin dan rumah kaca merupakan proses pengeringan yang paling mudah dilakukan namun memerlukan waktu yang lebih lama jika dibandingkan dengan pengeringan oven. Pengeringan oven dapat mengurangi kadar air dalam jumlah besar dalam waktu yang singkat.

### **2.5.2 Tujuan Ekstraksi**

Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik semua komponen kimia yang terdapat dalam simplisia. Ekstraksi ini berdasarkan pada perpindahan massa komponen zat padat dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka, kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut. Terdapat struktur dalam senyawa, suhu dan tekanan yang dapat harus diperhatikan dalam melakukan proses ekstraksi. Salah satu pelarut yang biasa digunakan adalah alkohol yang digunakan untuk penyarian secara total. Menurut (Hanani, Widowati and Susanto, 2020) ada beberapa metode ekstraksi yang digunakan secara umum yaitu, maserasi, perkolasi, refluksi, sokhletasi, infusa, dekokta, destilasi, lawan arah (*Countercurrent*), ultrasonik, gelombang mikro (*massisted ectraction*, MAE), dan ekstraksi gas superkritis (*supercritical gas extraction*, MAE).

### 2.5.3 Jenis-jenis Ekstraksi

#### 1. Berdasarkan bentuk substansi dalam campuran

##### a. Ekstraksi padat-cair

Ekstraksi padat-cair adalah proses ekstraksi yang paling banyak ditemukan untuk mengisolasi suatu substansi yang terkandung di dalam suatu bahan alam. Proses ini menggunakan substansi yang berbentuk padat dalam campurannya dan memerlukan kontak yang sangat lama antar pelarut dan zat padat. Pada proses ekstraksi kesempurnaan ditentukan oleh sifat bahan alam dan sifat dari bahan yang akan diekstraksi.

##### b. Ekstraksi cair-cair

Ekstraksi dilakukan apabila substansi yang akan diekstraksi berbentuk cairan di dalam campurannya (Marjoni *et al.*, 2018).

#### 2. Berdasarkan penggunaan panas

##### a. Ekstraksi secara dingin

Tujuan ekstraksi secara dingin untuk mengekstrak senyawa-senyawa yang terdapat pada simplisia, yang tidak tahan terhadap panas dan bersifat termobil. Ekstraksi dingin dapat dilakukan dengan cara berikut ini yaitu:

##### 1) Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi sederhana yang dilakukan hanya dengan cara merendam simplisia dalam satu atau campuran pelarut selama waktu tertentu pada temperatur kamar dan terlindung dari

cahaya (Marjoni *et al.*, 2018). Menurut (Wahyuni and Widjanarko, 2015) hal yang perlu diperhatikan dalam ekstraksi adalah waktu maserasi, semakin lama waktu maserasi semakin lama pelarut yang tercampur dalam bahan hal itu akan memperbanyak jumlah sel yang pecah dan bahan aktif yang terlarut.

Kelebihan ekstraksi maserasi yaitu terjaminnya zat aktif yang di ekstrak tidak akan rusak (Chairunnisa, Wartini and Suhendra, 2019). Sedangkan menurut (Febriana *et al.*, 2015). Keuntungan utama metode ekstraksi maserasi adalah prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana dan metode ini tidak dipanaskan sehingga bahan alam yang dikandungnya tidak terurai

## 2) Perkolasi

Perkolasi adalah proses penyarian zat aktif secara dingin dengan cara mengalirkan pelarut secara kontinu pada simplisia selama waktu tertentu (Marjoni *et al.*, 2018). Perkolasi dilakukan dengan cara sepuluh bagian simplisia halus dimasukkan dalam bejana tertutup yang diberi cairan 2,5-5 bagian selama 3jam. Massa akan dipindahkan bertahap sedikit demi sedikit ke perkolator yang ditambahkan cairan penyari. Kemudian perkolator ditutup selama 24jam. Setelah 24jam, kran dibuka dengan kecepatan 1ml/menit. Filtrat dipindahkan dalam bejana, ditutup dan dibiarkan selama 2 hari terlindung cahaya (Ibrahim *et al.*, 2016).

### b. Ekstraksi secara panas

Metode pana digunakan pada senyawa-senyawa yang terkandung dalam simplisia yang sudah dipastikan tahan dengan panas. Metode ekstraksi yang memerlukan panas, yaitu:

1) Seduhan

Merupakan proses penyarian paling sederhana dengan cara merendam simplisia pada air panas selama waktu tertentu (5-10menit)

2) Coque (Penggodokan)

Merupakan proses penyarian dengan cara menggodok simplisia menggunakan api langsung dan hasilnya langsung digunakan sebagai obat baik keseluruhan termasuk ampar hasil tanpa ampas.

3) Infusa

Merupakan sediaan cair dengan proses penyarian simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit.

4) Digesta

Merupakan proses penyarian dengan digesti menggunakan pemanasan rendah pada suhu 30-40°C. Metode ini hampir sama dngan proses ekstraksi maserasi dan biasanya digunakan untuk simplisia yang tersari pada suhu biasa.

5) Dekokta

Proses penyarian hampir sama dengan infusa namun perbedaannya terletak pada waktu pemanasan yaitu 30 menit

dengan suhu mencapai 90°C. Namun, metode jarang digunakan karena pada proses penyarian kurang sempurna dan juga tidak dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang bersifat termobil.

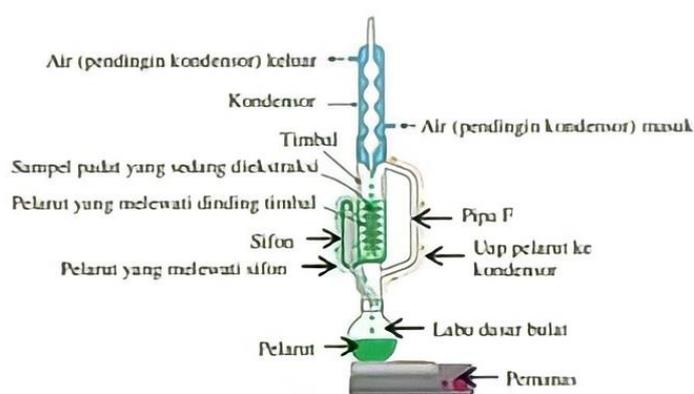
#### 6) Refluksi

Merupakan proses ekstraksi dengan pelarut pada titik didid pelarut selama waktu dan jumlah pelarut tertentu dengan adanya pendingin balik (kondensor). Umumnya dilakukan 3-5 kali pengulangan pada residu pertama, hingga termasuk proses ekstraksi yang cukup sempurna. Merupakan ekstraksi dengan pelarut pada suhu dididnya selama waktu tertentu. Teknik ini merupakan penyarian berkesinambungan dengan simplisia direndam dalam cairan penyari dalam lab alas bulat yang dilengkapi dengan alat pendingin yang tegak. Dan dipanaskan sampai mendidih. Cairan penyari yang menguap akan diembunkan dengan pendingin tegak sehingga dapat menyari simplisia lagi.

#### 7) Sokletasi

Merupakan metode penyarian berkesinambungan dengan alat soklet, serbuk sampel dimasukkan dalam sarung selulosa dalam klonsong yang di tempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Cairan penyari dipanaskan sampai mendidih. Cairan

penyari akan menguap yang akan naik melalui pipa samping. Uap akan diembunkan lagi. Cairan penyari akan turun untuk menyaring simplisia. proses ini akan berlangsung terus menerus hingga zat aktif pada simplisia tersaring seluruhnya yang ditandai dengan larutan sudah menjadi jernih (Marjoni et al., 2018).



Gambar 2. 2 Alat Sokletasi

### 3. Berdasarkan proses pelaksanaan

#### a. Ekstraksi berkesinambungan (*Continuous Extraction*)

Proses ekstraksi yang menggunakan pelarut yang sama dan dipakai berulang-ulang sampai proses ekstraksi selesai.

#### b. Ekstraksi bertahap (*Bath Extraction*)

Merupakan ekstraksi yang setiap tahap prosesnya menggunakan pelarut yang baru sampai proses selesai (Marjoni et al., 2018)

### 4. Berdasarkan metode ekstraksi

#### 1. Ekstraksi tunggal

Merupakan proses ekstraksi dengan cara mencampurkan bahan yang akan diekstrak sebanyak satu kali dengan pelarut. Kekurangan dari proses ekstraksi ini yaitu rendahnya rendemen.

#### 2. Ekstraksi multi tahap (bertingkat)

Merupakan suatu proses ekstraksi dengan cara mencampurkan bahan yang akan diekstrak oleh beberapa kali dengan menggunakan pelarut yang baru dengan jumlah yang sama banyak (Marjoni *et al.*, 2018)

### 2.5.4 Pelarut

Menurut (Marjoni *et al.*, 2018) pelarut adalah zat yang berada pada larutan dalam jumlah yang besar, sedangkan zat lainnya dianggap sebagai zat terlarut. Pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi harusnya merupakan pelarut terbaik untuk zat aktif yang terdapat pada sampel dan simplisia. Sehingga zat aktif dapat dipisahkan dari simplisia dan senyawa lainnya yang terdapat pada simplisia. Hasil akhir yang diperoleh dari ekstraksi adalah didapatkannya ekstrak yang hanya mengandung sebagian besar dari zat aktif yang diinginkan.

Pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi memiliki beberapa sifat penting. Diantara sifat-sifat penting pelarut yaitu :

- a. Kemampuan melarutkan (*solubility*)
- b. Kecepatan menguap
- c. Trayek menguap
- d. Trayek didih
- e. Berat jenis (*spesific gravity*)

f. Faspoint

Pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol 70% yang bersifat polar.

Etanol adalah campuran etilalkohol dan air. Mengandung tidak kurang dari 94,7% dan tidak lebih dari 95% v/v atau 92,75 C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O. etanol adalah cairan berwarna jernih, mudah menguap dan mudah bergerak, bau khas, rasa panas, dan mudah terbakar ddengan memberikan nyala biru yang mudah berasap. Etanol sangat mudah larut dalam air dalam *klorofom* P dan dalam eter P dan memiliki bobot jenis 0,8119 sampai 0,8139 (Farmakope Indonesia edisi III:65)

## **2.6 Instrumen Spektrofotometer UV-VIS**

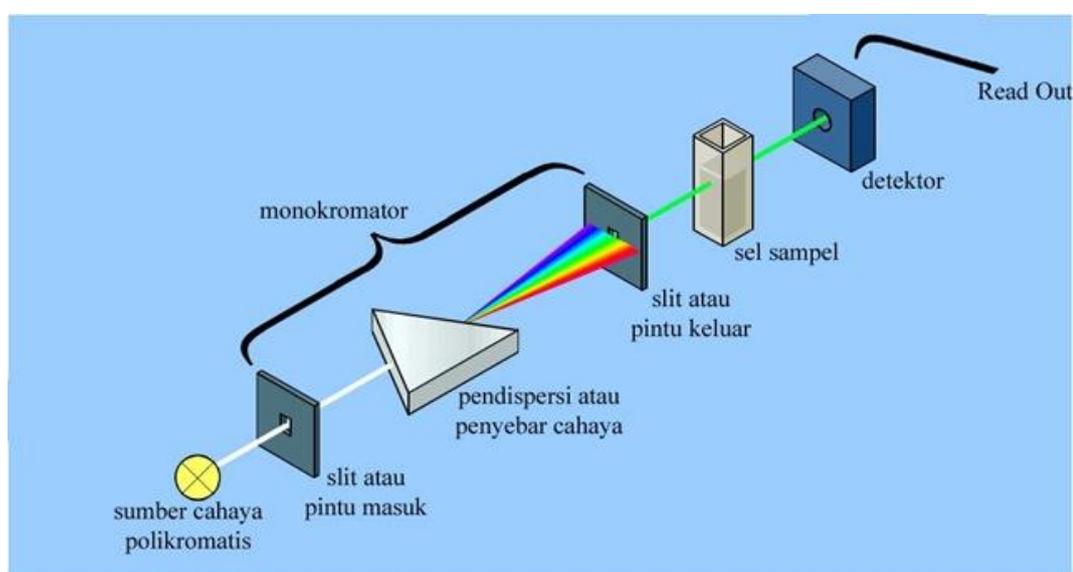
### **2.6.1 Definisi Spektrofotometer UV-VIS**

Menurut (Due, Bukit and Johannes, 2019)Spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk mengkaji sifat absorpsi dari material dalam rentang panjang gelombang ultraviolet (mulai dari 200nm) hingga mencakup semua panjang gelombang cahaya tampak (sampai sekitar 700nm). Sedangkan menurut (Nasution and Siregar, 2018) Spektrofotometer UV-Vis merupakan suatu alat yang digunakan untuk mengukur serapan yang dihasilkan dari interaksi kimia antara radiasi elektromagnetik dengan molekul atau atom dari suatu zat kimia pada daerah UV-Vis.

### **2.6.2 Jenis Spektrofotometer UV-VIS**

Menurut Suhartati, (2017) Instrumen spektrofotometer, adalah *single-beam* dan *double-beam*. *Single beam* instrument dapat digunakan untuk kuantitatif dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tunggal. *Single-beam* instrument mempunyai beberapa keuntungan yaitu sederhana, harganya murah, dan

mengurangi biaya. Beberapa instrumen menghasilkan *single-beam* instrument untuk pengukuran sinar ultra violet dan sinar tampak. Panjang gelombang paling rendah adalah 190 sampai 210 nm dan paling tinggi adalah 800-1000 nm. *Double-beam* instrument mempunyai dua sinar yang dibentuk oleh potongan cermin yang berbentuk V yang disebut pemecah sinar. Sinar pertama melewati larutan blanko dan sinar kedua secara serentak melewati sampel. *Double beam* dibuat untuk digunakan pada panjang gelombang 190-750 nm.



Gambar 2. 3 Skema Alat Spektrofotometri UV-Vis Single-beam

### 2.6.3 Sistem Instrumen Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer yang sesuai untuk pengukuran di daerah spektrum ultraviolet dan sinar tampak terdiri dari suatu sistem optik dengan kemampuan menghasilkan sinar monokromatis dalam jangkauan panjang gelombang 200-800 nm. Suatu diagram sederhana spektrofotometer UV-Vis ditunjukkan pada gambar dibawah ini dengan komponen-komponennya yang meliputi sumber-sumber sinar, monokromator, kuvet, dan sistem optik.

### **A. Sumber Sinar Spektrofotometer UV-VIS**

Syarat sumber sinar yang ideal pada suatu instrumen spektrofotometer UV-Vis adalah : mampu mencakup semua kisaran pengukuran di daerah UV-Vis , Mempunyai intensitas sinar yang kuat dan stabil pada keseluruhan kisaran panjang gelombang. Sehingga penguatan sinyal yang eksentif dari detektor dapat dihindari, intensitas sumber sinar tidak boleh bervariasi secara signifikan pada panjang gelombang yang berbeda, intensitas sumber sinar tidak berfluktuasi (naik turun) pada kisaran waktu yang lama, dan intensitas sumber sinar tidak berfluktuasi (naik turun) pada kisaran waktu yang singkat. Fluktuasi dalam jangka waktu yang singkat ini disebut dengan *flicker*.

Dua sumber sinar utama yang digunakan dalam spektroskopi analitik adalah sumber sinar kontinu dan sumber garis, sumber sinar kontinu mengemisikan sinar dengan intensitas yang kontinu dan relatif stabil pada kisaran panjang gelombang yang luas, dan umum digunakan pada instrumentasi spektrofotometrik serapan molekuler ataupun pada fluoresensi. Sumber sinar garis hanya mengemisikan beberapa panjang gelombang sinar yang diskrit, dan intensitas sinar yang diemisikan bervariasi pada panjang gelombang yang berbeda.

### **B. Monokromator Spektrofotometer UV-VIS**

Monokromator merupakan alat yang akan memecah cahaya polikromatis menjadi cahaya tunggal (monokromatis) dengan komponen panjang gelombang tertentu. Monokromator berfungsi untuk mendapatkan radiasi monokromator dari sumber radiasi yang memancarkan radiasi polikromatis. Monokromator terdiri dari susunan: celah (slit) masuk filter - prisma - kisi (grating) – celah (slit) keluar.

a. Jenis Monokromator

Terdapat dua jenis monokromator dalam spektrofotometer modern, yaitu *prismadan dakisi difraksi*. Celahmasuk kemungkinan cahaya dari sumber sinar jatuh ke elemen pendispersi. Sinar yang didisimpersikan jatuh ke celah keluar monokromator. Fungsi celah keluar adalah untuk mengizinkan hanya cahaya dengan pita yang sangat sempit yang dapat melalui sampel dan dekokta. Salah satu cara untuk melakukannya adalah dengan memutar elemen pendispersi untuk memungkinkan cahaya terdispersi dengan panjang gelombang yang berbeda, sehingga jatuh ke celah keluar secara berurutan.

b. Resolusi monokromator

Kemampuan monokromator untuk mrndispersikan radiasi disebut dengan daya pisah. Penandaan alternatifnya adalah daya dispersi dan resolusi.

c. Dispersi kisi monokromator

Resolusi monokromator mengukur kemampuannya untuk memisahkan panjang-panjang gelombang yang yang berdekatan satu sama lain. Resolusi terkait dengan kuantitatif yang bermanfaat, yang disebut dengan dispersi timbal balik atau dispersi timbal balik.

### C. Kuvet

Wadah sampel yang baisanya disebut sel atau kuvet harus mempunyai jendela yang transparan di daerah yang dituju. Berbagai kisaran transmitans untuk

bahan-bahan optik ditunjukkan yang menunjukkan kisaran-kisaran panjang gelombang fungsional untuk berbagai bahan optik yang digunakan di daerah UV, Sinar tampak, dan inframerah.

#### **D. Prinsip kerja Spektrofotometer UV-VIS**

Prinsip spektrofotometri adalah cahaya (monokromatik atau campuran) jatuh ke dalam medium homogen, sebagian cahaya jatuh dipantulkan, sebagian diserap oleh medium, dan sisanya diteruskan. Nilai dari cahaya yang ditransmisikan dinyatakan sebagai nilai penyerapan. Karena berkaitan dengan konsentrasi sampel.

Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam analisis Spektrofotometri UV-Vis menurut (Hertina and Dwiyantri, 2013):

1. Pembentukan molekul yang dapat menyerap sinar UV-Vis

Hal ini perlu dilakukan jika senyawa yang dianalisis tidak menyerap pada daerah tersebut. Cara yang digunakan adalah dengan merubah menjadisenyawa lain atau direaksikan dengan pereaksi tertentu.

2. Waktu Operasional (*operating time*)

Cara ini biasa digunakan untuk pengukuran hasil reaksi atau pembentukan warna. Tujuannya adalah untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil. Waktu operasional ditentukan dengan mengukur hubungan antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan.

3. Pemilihan Panjang Gelombang

Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang yang mempunyai absorbansi maksimal. Untuk memilih panjang gelombang maksimal, dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara

absorbansi dengan panjang gelombang dari suatu larutan baku pada konsentrasi tertentu.

#### **E. Display Atau Tampilan**

Menurut Warono (2013) Display atau tampilan mengubah sinar listrik dari detektor menjadi pembacaan yang berupa meter atau angka yang sesuai dengan hasil yang dianalisis. Pada spektrofotometer UV-Vis, zat diukur dalam bentuk larutan. Analit yang dapat diukur dengan spektrofotometer sinar tampak adalah analit berwarna atau yang dapat dibuat berwarna. Analit berwarna adalah analit yang memiliki sifat menyerap cahaya secara alami. Analit yang dibuat berwarna adalah analit yang tidak berwarna sehingga harus direaksikan dengan zat tertentu untuk membentuk senyawa menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu. Pembentukan warna zat atau senyawa yang tidak berwarna dapat dilakukan dengan pembentukan kompleks atau dengan cara oksidasi sehingga analit menjadi berwarna.

Menurut (Votavová *et al.*, 2009) Yang dilakukan pada tahap awal penentuan aktivitas antioksidan adalah penentuan panjang gelombang maksimum ( $\lambda_{\text{maks}}$ ) larutan DPPH. Penentuan panjang gelombang maksimum ini bertujuan untuk mengetahui pada panjang gelombang larutan DPPH yang dapat menghasilkan absorbansi maksimum pada spektrofotometer UV-Vis. Hal ini berkenaan dengan kepekaan analisis, dimana perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar pada panjang gelombang maksimum sehingga akan diperoleh kepekaan analisis yang maksimum. Menurut Anita, (2015) panjang gelombang maksimum yang digunakan untuk pengujian antioksidan ini adalah 514

nm dengan absorbansi maksimum 0,692 A dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar.

#### **2.6.4 Syarat menggunakan**

Menurut Suhartati, (2017) Spektrofotometri dapat digunakan untuk penentuan terhadap sampel yang berupa larutan, gas, atau uap. Pada umumnya sampel harus diubah menjadi suatu larutan yang jernih. Untuk sampel yang berupa larutan perlu diperhatikan beberapa persyaratan pelarut yang dipakai antara lain : harus melarutkan sampel dengan sempurna, pelarut yang dipakai tidak mengandung ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur molekulnya dan tidak berwarna (tidak boleh mengabsorpsi sinar yang dipakai oleh sampel), tidak terjadi interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis, kemurniannya harus tinggi.

#### **2.6.5 Hasil**

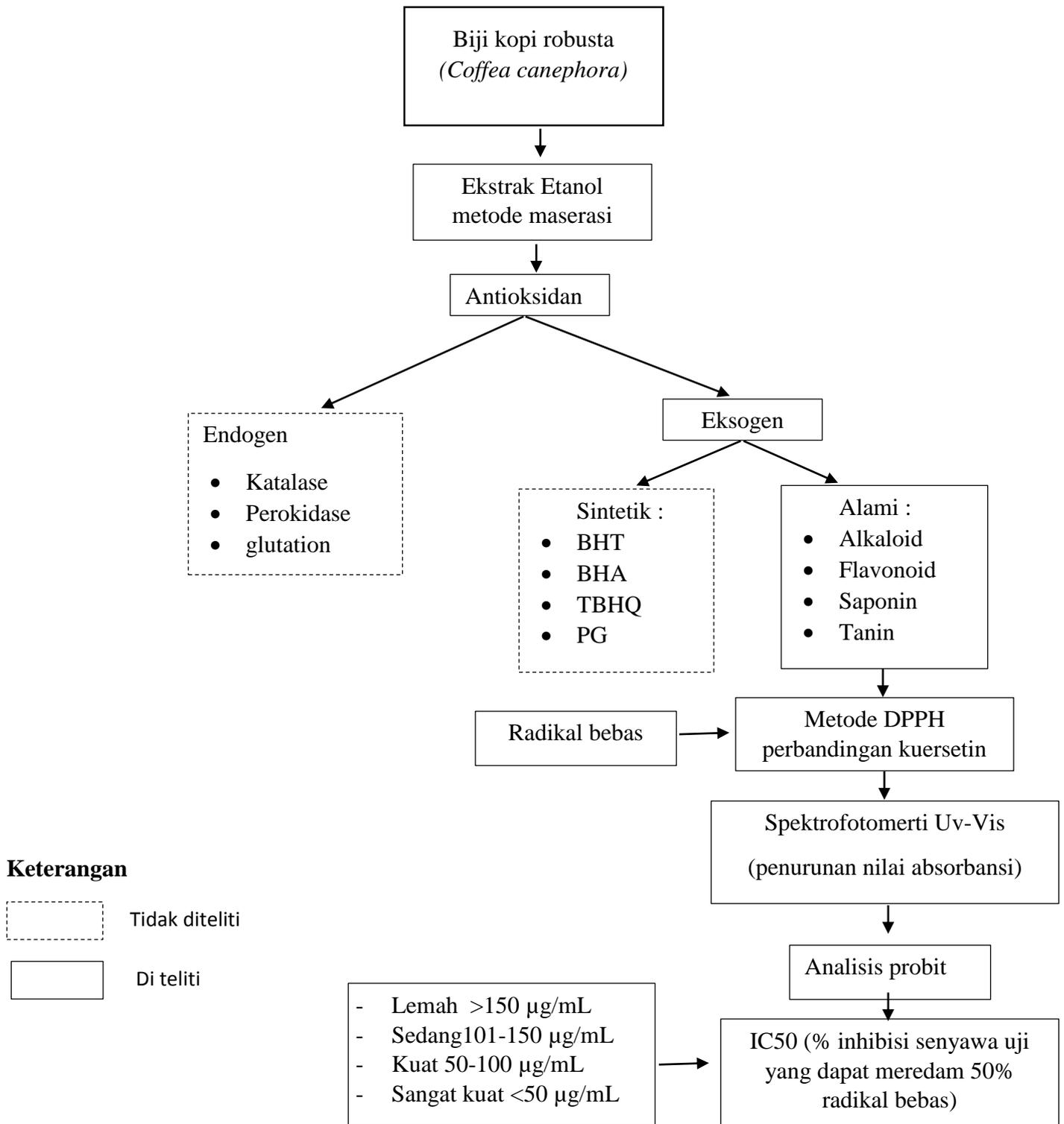
Menurut Anggraini, (2013) Hasil analisis instrumen spektrofotometer UV-Vis adalah absorbansi. Pembacaan absorbansi hendaknya berada diantara 0,2-0,8 atau 15-70% jika dibaca sebagai transmittan. Hal ini karena pada kisaran pada daerah tersebut kesalahan fotometrik yang terjadi akibat pembiasaan cahaya paling minimal sehingga penyimpangan yang terjadi sangat rendah (0,005% atau 0,5%).

#### **2.6.6 Pengujian secara In Vitro**

Menurut Ikrom, 2014 Uji In vitro adalah suatu metode uji pada media buatan yang sesuai dengan lingkungan yang diperlukan. Metode aktivitas antioksidan in vitro sering dipilih karena cepat, dapat diproduksi, dan membutuhkan sejumlah kecil senyawa kimia yang dianalisis. Dan tidak dipengaruhi oleh sifat fisik senyawa tersebut Sanchez, (2019).

## BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL

### 3.1 kerangka konseptual



Gambar 3. 1 Kerangka Konsep

### **3.2 hipotesis**

Hipotesis adalah jawaban sementara terhadap masalah dalam penelitian.

Berdasarkan kerangka konseptual diatas, maka yng menjadi hipotesisi adalah :

H<sub>0</sub> : Tidak terdapat aktivitas antioksidan pada biji kopi robusta dengan pelarut etanol menggunakan etode DPPH

H<sub>A</sub> : Terdapat aktivitas antioksidan pada biji kopi robusta dengan pelarut etanol menggunakan etode DPPH

## **BAB 4 METODE PENELITIAN**

### **4.1 Desain Penelitian**

Desain penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah penelitian eksperimen Laboratorium. Penelitian yang dilakukan adalah uji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol padabiji kopi robusta (*Coffea canephora*) menggunakan metode DPPH (*1,1 Diphenyl picryl hidrazyl*).

### **4.2 Populasi dan Sampel**

#### **4.2.1 Populasi**

Menurut Husaini usman populasi adalah semua nilai, baik hasil perhitungan maupun pengukuran, baik kuantitatif maupun kualitatif, dari karakteristik tertentu mengenai sekelompok objek yang lengkap dan jelas. Populasi dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol biji kopi robusta (*Coffea canephora*) yang di dapat dari pusat penelitian kopi dan kakao di Jember.

#### **4.2.2 Sampel Penelitian**

Sampel penelitian adalah suatu sub kelompok dari populasi yang dipilih untuk digunakan dalam penelitian (Amirullah, 2015). Sampel pada penelitian ini menggunakan bagisnbiji kopi Robusta (*Coffea canephora*) yang di dapat dari puslitkoka (pusat penelitian kakao dan kopi) Jember, Jawa timur.

### **4.3 Variabel Penelitian**

#### 1. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak etanol biji kopi robusta (*Coffea canephora*).

## 2. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan nilai IC<sub>50</sub>.

### 4.4 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium, yaitu Laboratorium biologi dan laboratorium kimia farmasi Universitas Dr.Soebandi Jember.

### 4.5 Waktu penelitian

Waktu penelitian dimulai bulan September 2022

### 4.6 Definisi Operasional

Definisi operasional dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

Tabel 4. 1 Definisi Operasional

| Variabel   | Pengertian  | Cara Ukur   | Alat Ukur      | Skala         | Hasil ukur   |
|--|---|---|----------------|---------------|--|
| Sampel biji kopi robusta ( <i>Coffea canephora</i> ) | Proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut etanol 70% dengan metode maserasi  | Biji kopi robusta yang diencerkan menggunakan etanol 70% sehingga diperoleh ekstrak kental kemudian di timbang dan dihitung hasil rendemennya | Maserasi       | Skala rasio   | %rendemen  |
| Aktivitas Antioksidan                                | Hasil nilai absorbansi pada sampel biji kopi robusta ( <i>Coffea canephora</i> ) yang kemudian dihitung persen peredaman dan ditentukan konsentrasi | Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara memipet dari masing-masing larutan uji ekstrak dengan konsentrasi yang sudah           | Spektro UV VIS | Skala Ordinal | <ul style="list-style-type: none"> <li>• jika hasil yang didapat &lt;50 µg/mL sangat kuat</li> <li>• jika yang di dapat 50-100 µg/mL kuat</li> <li>• jika yang didapat 101-</li> </ul> |

|                                   |   |  |
|-----------------------------------|---|--|
| penghambatan<br>50% ( $IC_{50}$ ) | ditentukan,<br>kemudian<br>ditambahkan<br>dengan larutan<br>DPPH hingga<br>homogen.<br>Lakukan<br>Inkubasi pada<br>suhu ruang<br>sesuai engan<br>hasil optimasi<br>waktu. Serapan<br>diukur pada<br>panjang<br>gelombang<br>maksimum. | 150 $\mu\text{g/mL}$<br>sedang<br>• jika yang<br>didapat<br>>150 $\mu\text{g/mL}$<br>lemah |
|-----------------------------------|---|--|

## 4.7 Tekni Dan Instrumen Pengumpulan Data

### 4.7.1 Alat dan Bahan

#### a. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain spektrofotometer UV Vis (Shimadzu UV-19001), timbangan analitik (*Pioneer*), alat-alat gelas, *rotary evaporator*, toples maserasi, ultrasonik, aluminium foil, tabung reaksi, spatula, kuvet disposable, vial, blender, penyaring, cawan penguap, batang pengaduk dan stopwatch.

#### b. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain biji kopi robusta (*Coffea canephora*), kertas saring, HCL pekat, HCL 2N, pereaksi mayer, wagner, dregendrof,  $FeCl_3 \cdot 4H_2O$ , etil asetat, asam asetat anhidrat, asam sulfat pekat etanol 70%, etanol pa, etanol 96% kuersetin, dan senyawa DPPH

#### 4.7.2 Preparasi Sampel

##### 1. Determinasi

Determinasi dilakukan untuk memastikan bahwa tumbuhan yang dipilih benar-benar spesies dari biji kopi robusta (*Coffea canephora*). Determinasi dilakukan dilaboratorium Tanaman Politeknik Negeri Jember dengan membawa semua bagian dari tumbuhan.

##### 2. Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel yaitu Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) yang di dapat dari pusat penelitian dan kakao Jember, Jawa Timur berupa biji kopi yang telah dihaluskan.

##### 3. Ekstraksi Sampel

Biji kopi robusta yang telah dihaluskan kemudian diekstraksi, ekstraksi pada penelitian ini yaitu menggunakan metode maserasi dan remaserasi dengan pelarut etanol 70%. peredaman yang dilakukan dengan cara mencampurkan bahan dan pelarut dengan rasio 1:10 yaitu 100 gramgram serbuk biji Kopi Robusta (*Coffea Canephora*) dan 750mL selama 5 hari dengan pengadukan 1 kali sehari selama 5 menit, kemudian dilakukan remaserasi dengan menggunakan simplisia sisa pada proses maserasi ditambahkan dengan pelarut etanol 70% sebanyak 250 mL dan di rendam selama 2 hari dan diaduk 1 kali sehari selama 5 menit. Hasil ekstraksi yang diperoleh disring menggunakan kertas saring dan *Corong Buchner*, Lalu di uapkan menggunakan *Retory Evapolatord* dengan suhu 50°C kemudian di

pekatkan diatas tangas air dengan suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental  
(Wardaningrum, (2020))

### 4.7.3 Skrining Fitokimia

#### 1. Flavonoid

1 gram ekstrak sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan HCl pekat lalu dipanaskan dengan waktu 15 menit di atas penangas air. Apabila terbentuk warna merah atau kuning berarti positif flavonoid (Muthmainnah, 2019).

#### 2. Saponin

1 gram ekstrak sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambahkan 10 mL air panas, di dinginkan kemudia dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Positif mengandung saponin jika terbentuk buih setinggi 1-10 cm tidak kurang dari 10 menit dan pada penambahan 1 tetes HCl 2 N, buih tidak hilang. (Muthmainnah, 2019).

#### 3. Alkaloid

1 gram ekstrak sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi ditetesi dengan 5 mL HCl 2 N dipanaskan kemudian didinginkan lalu dibagi dalam 3 tabung reaksi, masing-masing 1 mL. Tiap tabung ditambahkan dengan masing-masing preaksi. Pada penambahan pereaksi mayer, positif mengandung alkaloid jika membentuk endapan putih atau kuning. Pada penambahan pereaksi wagner, positif mengandung alkaloid jika terbentuk endapan coklat. Pada

penambahan pereaksi dregendrof, mengandung alkaloid jika terbentuk endapan jingga (Muthmainnah, 2019).

#### 4. Tanin

1 gram ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan 10 mL air panas kemudian dididihkan selama 5 menit kemudian filtratnya ditambahkan  $\text{FeCl}_3$  3-4 tetes, jika berwarna hijau biru (hijau-hitam) berarti positif adanya tanin katekol sedangkan jika berwarna biru hitam berarti positif adanya tanin pirogalol (Muthmainnah, 2019).

#### 5. Steroid

2gram ekstrak sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan 2 ml etil asetat dan dikocok. Lapisan etil asetat diambil lalu ditetesi pada plat tetes dibiarkan sampai kering. Setelah kering ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat apabila terbentuk warna hijau berarti positif steroid (Muthmainnah, 2019).

### **4.7.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH**

#### 1. Pembuatan larutan DPPH

Larutan DPPH 40 ppm dibuat dengan cara menimbang DPPH sebanyak 10mg dilarutkan dengan 100 ml etanol P.A dalam labu ukur. Larutan DPPH dijaga dalam temperatur rendah dan terlindung dari cahaya (Suena and Antari, 2020).

## 2. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak

Larutan uji ekstrak dibuat dengan cara menimbang ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dengan etanol P.A sambil diaduk dan di homogenkan lalu dicukupkan volumenya hingga 10 ml hingga didapatkan larutan induk dengan konsentrasi 1000 ppm. Pelarut ekstrak dibantu dengan getaran ultrasonik agar ekstrak dapat larut seluruhnya. Kemudian dilakukan pengenceran dengan variasi konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm dengan cara memipet sejumlah tertentu larutan induk kemudian ditambahkan dengan etanol p.a hingga diperoleh beberapa konsentarsi larutan uji akhir untuk masing-masing ekstrak (Handayani *et al.*, 2014).

## 3. Pembuatan Larutan Pembanding Kuersetin

Sebanyak 2 mg kuersetin dilarutkan dengan 10 mL etanol p.a dalam labu ukur 50 mL sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm kemudian dilakukan pengenceran dalam labu ukur 50 mL dengan menambahkan etanol p.a sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm (Handayani, Najib and Wati, 2018)

## 4. Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH

Penentuan panjang gelombang maksimum larutan baku DPPH 40 ppm, dilakukan dengan cara larutan DPPH 40 ppm dipipet sebanyak 4ml dimasukkan ke dalam kuvet, lalu diamati spektrum serapannya

pada panjang gelombang 400-800 nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Untuk larutan blanko digunakan 4 mL etanol p.a. Dari kurva serapan dapat ditentukan panjang gelombang maksimum (Suena and Antari, 2020).

#### 5. Penentuan Waktu Inkubasi

Dilakukan dengan cara larutan DPPH dipipet sebanyak 2 mL, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2 mL larutan uji yaitu kuersetin. Dan diamati dengan spektrofotometer UV-Vis yang dimulai dari menit ke-0 hingga menit ke-60 dengan selang waktu 10 menit (Suena and Antari, 2020) ; (Handayani, Najib and Wati, 2018))

#### 6. Pengukuran aktivitas Antioksidan Larutan Uji Ekstrak etanol Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) dan kuersetin

Pengukuran aktivitas Antioksidan dilakukan dengan cara memipet 1 mL larutan sampel dan pembanding dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 3 mL larutan DPPH, campuran dikocok hingga homogen. Kemudian campuran diinkubasi dalam suhu ruang sesuai dengan hasil optimasi waktu. Serapan diukur pada panjang gelombang maksimum, dilakukan replikasi tiga kali. (Ni madhe 2020)

#### 4.7.5 Analisa Data

##### 1. Perhitungan Nilai IC<sub>50</sub>

Nilai IC<sub>50</sub> dapat dihitung berdasarkan persentase peredaman antara radikal DPPH dengan larutan sampel dengan menggunakan persamaan :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(A \text{ Blanko} - A \text{ Sampel}) \times 100\%}{A \text{ Blanko}}$$

Keterangan :

A Blanko = absorbansi serapan radikal DPPH (blanko) pada panjang gelombang maksimum.

A Sampel = absorbansi serapan sampel dalam radikal DPPH pada panjang gelombang maksimum.

Parameter yang digunakan untuk pengukuran aktivitas antioksidan berupa nilai IC<sub>50</sub> (*Inhibitor Concentration 50%*), yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai IC<sub>50</sub> didapat dari hasil inhibisi dan konsentrasi yang dimasukkan ke dalam aplikasi *Microsoft excell* (Retnaningtyas, Hamzah and Kristiningrum, 2019)

##### 2. Pengolahan data

Pengolahan data bertujuan untuk memperoleh penyajian data dan kesimpulan yang baik, data yang diperoleh dari penelitian masih mentah, belum dapat memberikan informasi, maka diperlukan pengolahan data (Notoatmojo, 2010).

Data pengamatan pada penelitian ini adalah analisis kuantitatif. Data kuantitatif berupa uji aktivitas antioksidan. Selanjutnya data hasil analisis aktivitas antioksidan dihitung menggunakan persamaan regresi linier yang diperoleh dari kurva kalibrasi pembanding kemudian dideskripsikan hasilnya. Daya aktivitas antioksidan dilihat dari nilai  $IC_{50}$  yang dihitung dengan menggunakan persamaan regresi probit.

Analisis regresi probit adalah analisis yang digunakan untuk melihat hubungan antara variabel dependen yang bersifat kategori (Kualitatif) dan variabel-variabel independen yang bersifat kuantitatif. Data diolah menggunakan analisa probit antara log konsentrasi larutan uji (x) dengan persentase aktivitas antioksidan (y) sehingga diperoleh  $IC_{50}$  menggunakan *Microsoft Excell*.

#### 4.7.7 SOP ( Standart Oprasional Prosedur)

Tabel 4. 2 SOP (Standart Operasional Prosedur)

| Kegiatan          | Prosedur  |
|-------------------|---|
| Pengolahan sampel | - pengambilan bahan yang diambil dari pusat penelitian kopi dan kakao berupa biji yang sudah dihaluskan   |
| Pembuatan ekstrak | - Penimbangan serbuk biji kopi dan pengukuran etanol<br>- Ekstraksi menggunakan metode maserasi<br>- Hasil maserasi diuapkan menggunakan retory evaporator hingga mendapatkan ekstrak kental.<br>- Hitung persen rendemen |

---

|                    |  |                            |
|--------------------|--|----------------------------|
| Skrining fitokimia |  | - Uji Flavonoid            |
|                    |  | - Uji Saponin              |
|                    |  | - Uji Alkaloid             |
|                    |  | - Uji Tanin                |
|                    |  | - Uji Terpeoid dan Steroid |

---

|             |           |                                    |
|-------------|-----------|------------------------------------|
| Pengujian   | aktivitas | - Pembuatan larutan DPPH           |
| antioksidan | dengan    | - Penentuan absorbansi DPPH        |
| metode DPPH |           | - Pembuatan larutan uji ekstrak    |
|             |           | - Pembuatan larutan pembanding     |
|             |           | - Optimasi waktu inkubasi          |
|             |           | - Pengukuran aktivitas antioksidan |
|             |           | - Perhitungan nilai $IC_{50}$      |

---

|                 |  |  |
|-----------------|--|--|
| Pengolahan data |  | - Menggunakan aplikasi microsoft excel |
|-----------------|--|--|

---

## **BAB 5 HASIL PENELITIAN**

### **5.1 Hasil Determinasi Tanaman**

Determinasi dilakukan di PT (Pengembangan Pertanian Tepadu) Politeknik Negeri Jember, Hasil dari determinasi menunjukkan apabila biji kopi robusta yang digunakan dalam penelitian ini dapat dipastikan bahwa tanaman yang diteliti adalah spesies *Coffea canephora* yang tergolong dalam suku *Rubiaceae*. Hasil identifikasi biji kopi robusta dapat dilihat pada Lampiran 1

### **5.2 Pengambilan Sampel**

Pengambilan sampel dilakukan di Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Kabupaten Jember yang berupa serbuk kering. Bagian yang digunakan yaitu biji kopi robusta. Berat serbuk simplisia kering sebanyak 300 gram Lampiran 2

### **5.3 Ekstraksi**

Pembuatan ekstraksi biji kopi robusta (*Coffea canephora*) dilakukan berdasarkan metode maserasi secara umum. Sejumlah bagian serbuk biji kopi robusta (*Coffea canephora*) ditimbang 300 gram kemudian dimasukkan dalam maserator, dan ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 3 liter. Serbuk dan pelarut dimaserasi selama 5 hari, dan dilanjutkan dengan remaserasi 2 kali selama 2 hari hingga diperoleh maserat jernih. Selama proses maserasi dan remaserasi dilakukan pengadukan sesering mungkin agar semua simplisia dapat larut dengan pelarut. Ekstrak selanjutnya disaring menggunakan kertas saring dan corong gelas, filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator dan waterbath di laboratorium Universitas dr. Soebandi Jember hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak biji kopi robusta yang diperoleh berupa ekstrak kental sebanyak 57,14 gram

dari 300 gram serbuk biji kopi robusta, hasil rendemen diperoleh sebesar 19%. Proses pembuatan ekstrak dapat dilihat pada lampiran 2, dan perhitungan % rendemen dapat dilihat pada Lampiran 3.

Tabel 5. 1 Hasil Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*)

| Simplisia | Ekstrak Kental | Rendemen |
|-----------|----------------|----------|
| 300 gram  | 57,14 gram     | 19,04%   |

#### 5.4 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui jenis metabolit sekunder apa saja yang terkandung pada masing-masing sampel dan untuk memperkirakan senyawa apa saja yang memiliki aktivitas antioksidan. Berdasarkan data yang dihasilkan, biji kopi rosbusta memiliki golongan senyawa Flavonoid, Saponin, Alkaloid, Tanin dan Terpenoid. Lampiran 4

Tabel 5. 2 Hasil Skrining Fitokimia Biji Robusta (*Coffea canephora*)

| NO | Identifikasi yang dilakukan | Nama pereaksi   | Perubahan yang terjadi  | Hasil |
|----|-----------------------------|---|---|-------|
| 1  | Flavonoid                   | Pereaksi Lieberman<br>Burchard (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )          | Berwarna merah  | +     |
| 2  | Alkoloid                    | HCL 2N dipanaskan dibagi<br>3, ditambah pereaksi Mayer<br>Pereaksi wagner | Terbentuk endapan<br>putih<br><br>Terbentuk endapan<br>coklat | +     |

|   |           | Pereaksi dregendrof                                   | Terbentuk endapan<br>jingga      |   |
|---|-----------|---|----------------------------------|---|
| 3 | Terpenoid | Etil asetat+Asam asetat<br>anhidrat+Asam sulfat pekat | Kuning                           | + |
| 4 | Saponin   | HCL 2N dikocok 20detik                                | Terbentuk buih<br>dalam 20 menit | + |
| 5 | Tanin     | 10ml air + FeCl <sub>3</sub>                          | Hijau kehitaman                  | + |

## 5.5 Pengukuran Aktivitas Antioksidan

### 5.5.1 Penentuan Panjang Gelombang

Pada penentuan panjang gelombang maksimal, blanko yang digunakan yaitu etanol p.a 4 ml dan larutan DPPH 4 ml yang diperoleh absorbansi yaitu 0,417 pada panjang gelombang 516 nm. Lampiran 5

### 5.4.2 Optimasi Waktu Inkubasi Ekstrak Etanol Biji Kopi Robusta (*Coffea canepohora*)

Proses optimasi waktu inkubasi ekstrak etanol biji kopi robusta dilakukan dengan cara memipet ekstrak sebanyak 0,5 ml, dari berbagai larutan uji ekstrak dengan konsentrasi (6,25 ppm, 25 ppm, 56,25 ppm, 100ppm, dan 156,25 ppm), kemudian ditambah dengan larutan DPPH 3,5 ml. Nilai absorbansi diamati pada panjang gelombang 516 nm yang dimulai dari menit 0 hingga menit 60 dengan selang waktu 10 menit.

Proses optimasi waktu inkubasi dilakukan dengan cara memipet larutan kuersetin sebanyak 0,5 mL dari berbagai konsentrasi larutan uji kuersetin (6,25ppm,

2,5 ppm, 5,62 ppm, 10 ppm, 15,62 ppm) kemudian ditambah larutan DPPH sebanyak 3,5 mL. Nilai absorbansi diamati pada Panjang gelombang 516 nm yang dimulai dari menit 0 hingga menit 60 dengan selang waktu 10 menit.

Tabel 5. 3 Hasil Nilai IC<sub>50</sub> Ekstrak dan Kuersetin

| ekstrak |                  | Kuersetin |                  |
|---------|------------------|-----------|------------------|
| menit   | IC <sub>50</sub> | menit     | IC <sub>50</sub> |
| 10      | 489,77           | 10        | 5,59             |
| 20      | 179,88           | 20        | 3,67             |
| 30      | 25,88            | 30        | 1,76             |
| 40      | 17,58            | 40        | 2,15             |
| 50      | 25,76            | 50        | 2,42             |
| 60      | 56,36            | 60        | 1,88             |

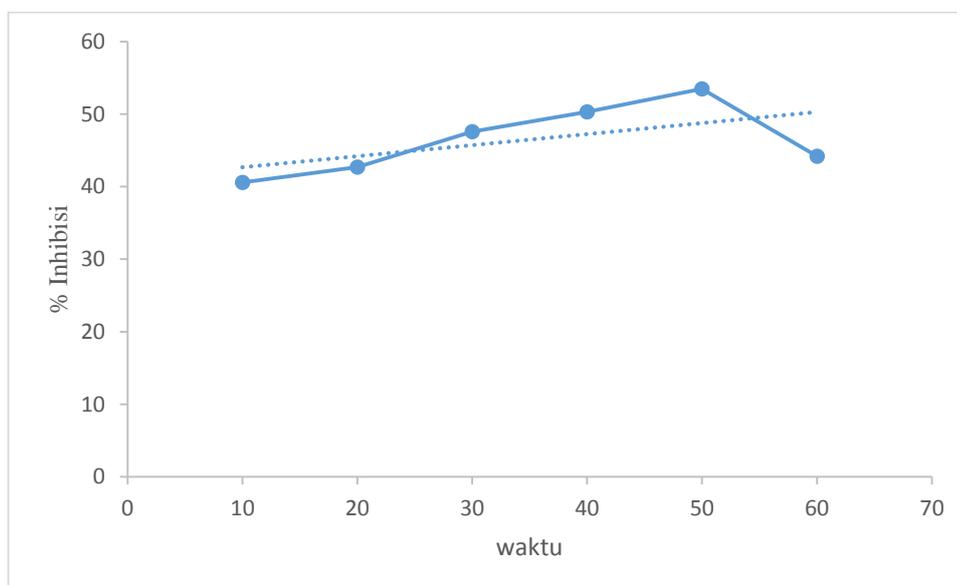
Dari tabel 5.3 menunjukkan hasil IC<sub>50</sub> dari ekstrak etanol biji kopi robusta dan kuersetin dan waktu inkubasi didapat pada menit 40 pada ekstrak dan 30 pada kuersetin hal ini dilihat dari nilai IC<sub>50</sub> terkecil. IC<sub>50</sub> didapat dari nilai serapan larutan DPPH sebelum dan sesudah penambahan sampel dihitung sebagai % inhibisi dan probit. Hasil perhitungan probit dimasukkan ke dalam persamaan regresi dengan log konsentrasi sebagai absis sumbu (X) dan nilai probit sebagai ordinatnya (sumbu) Y. Nilai % inhibisi dan analisis probit dapat dilihat pada lampiran 7

Waktu inkubasi kuersetin dan ekstrak selain dari nilai IC<sub>50</sub> terkecil pemilihan waktu inkubasi dipilih dengan cara melihat 50% absorbansi blanko dan % inhibisi yang paling optimal.

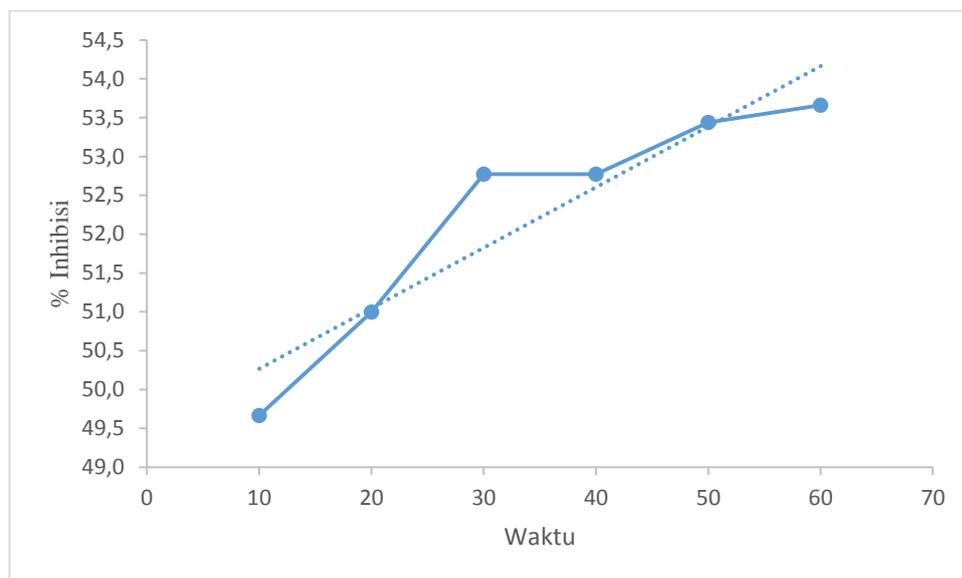
Tabel 5. 4 Hasil Absorbansi Waktu Inkubasi Ekstrak dan Kuersetin

| Ekstrak |             |       |        | Kuersetin |             |       |        |
|---------|-------------|-------|--------|-----------|-------------|-------|--------|
| Waktu   | konsentrasi | ABS   | %      | Waktu     | konsentrasi | ABS   | %      |
| 10      | 25          | 0,281 | 40,592 | 10        | 5,62        | 0,227 | 49,667 |
| 20      | 25          | 0,271 | 42,706 | 20        | 5,62        | 0,221 | 50,998 |
| 30      | 25          | 0,248 | 47,569 | 30        | 5,62        | 0,213 | 52,772 |
| 40      | 25          | 0,235 | 50,317 | 40        | 5,62        | 0,213 | 52,772 |
| 50      | 25          | 0,22  | 53,488 | 50        | 5,62        | 0,21  | 53,437 |
| 60      | 25          | 0,264 | 44,186 | 60        | 5,62        | 0,209 | 53,659 |

Tabel 5.3 menunjukkan hasil absorbansi dan % inhibisi dari ekstrak etanol biji kopi robusta dan kuersetin pada satu konsentrasi, yaitu pada ekstrak dengan konsentrasi 25 ppm dan pada kuersetin dengan konsentrasi 5,62 ppm, selanjutnya dibuat grafik dengan persamaan waktu vs % inhibisi. Dan didapat paling optimal pada ekstrak yaitu pada menit 40 dan kuersetin pada menit 30.



Gambar 5. 1 Grafik Hasil Optimasi Waktu Inkubasi Kuersetin



Gambar 5. 2 Grafik Hasil Optimasi Waktu Inkubasi Ekstrak Etanol Biji Kopi (*Coffea canephora*) Robusta

#### 5.4.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) dan Kuersetin

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) dengan konsentrasi (6,25 ppm, 25 ppm, 56,25 ppm, 100ppm, 156,25 ppm) dan kuersetin (6,25 ppm, 2,5 ppm, 5,62 ppm, 10 ppm, 15,62 ppm) yang dilakukan 3 replikasi dari masing-masing konsentrasi yang diukur pada panjang gelombang yaitu 516 nm. Pengujian ekstrak etanol biji kopi robusta dilakukan inkubasi selama 40 menit dan kuersetin selama 30 menit. Hasil absorbansi dapat dilihat pada tabel 5.5 pada kuersetin dan tabel 5.6 pada ekstrak

Tabel 5. 5 Hasil Absorbansi Pengujian Kuersetin

| Ekstrak Biji Kopi Robusta |               |            |            |                 |        |
|---------------------------|---------------|------------|------------|-----------------|--------|
| Replikasi                 | Konsentrasi   | Absorbansi | % Inhibisi | log konsentrasi | probit |
|                           | <b>Blanko</b> | 0,585      |            |                 |        |
| R1                        | 6,25          | 0,357      | 38,974     | 0,796           | 4,69   |
|                           | 25            | 0,307      | 47,521     | 1,398           | 4,90   |

|        |        |       |        |        |       |
|--------|--------|-------|--------|--------|-------|
|        | 56,25  | 0,271 | 53,675 | 1,750  | 5,00  |
|        | 100    | 0,256 | 56,239 | 2,000  | 5,10  |
|        | 156,25 | 0,225 | 61,538 | 2,194  | 5,20  |
| R1     | 6,25   | 0,359 | 38,632 | 0,796  | 4,72  |
|        | 25     | 0,309 | 47,179 | 1,398  | 4,92  |
|        | 56,25  | 0,28  | 52,137 | 1,750  | 5,05  |
|        | 100    | 0,261 | 55,385 | 2,000  | 5,13  |
|        | 156,25 | 0,233 | 60,171 | 2,194  | 5,25  |
|        | R1     | 6,25  | 0,357  | 38,974 | 0,796 |
| 25     |        | 0,307 | 47,521 | 1,398  | 4,92  |
| 56,25  |        | 0,271 | 53,675 | 1,750  | 5,10  |
| 100    |        | 0,256 | 56,239 | 2,000  | 5,15  |
| 156,25 |        | 0,225 | 61,538 | 2,194  | 5,28  |

Tabel 5. 6 Hasil Absorbansi Pengujian Ekstrak Biji Kopi Robusta

| Kuersetin |               |            |            |                 |        |
|-----------|---------------|------------|------------|-----------------|--------|
| Replikasi | Konsentrasi   | Absorbansi | % Inhibisi | log konsentrasi | probit |
|           | <b>Blanko</b> | 0,635      |            |                 |        |
| R1        | 0,62          | 0,355      | 44,094     | -0,21           | 4,85   |
|           | 2,5           | 0,33       | 48,031     | 0,40            | 4,95   |
|           | 5,62          | 0,318      | 49,921     | 0,75            | 5,00   |
|           | 10            | 0,311      | 51,024     | 1,00            | 5,03   |
|           | 15,62         | 0,3        | 52,756     | 1,19            | 5,08   |
|           | R2            | 0,62       | 0,351      | 44,724          | -0,21  |
| 2,5       |               | 0,321      | 49,449     | 0,40            | 4,97   |
| 5,62      |               | 0,315      | 50,394     | 0,75            | 5      |
| 10        |               | 0,31       | 51,181     | 1,00            | 5,03   |
| 15,62     |               | 0,302      | 52,441     | 1,19            | 5,05   |
| R3        |               | 0,62       | 0,352      | 44,567          | -0,21  |
|           | 2,5           | 0,325      | 48,819     | 0,40            | 4,97   |
|           | 5,62          | 0,316      | 50,236     | 0,75            | 5      |
|           | 10            | 0,304      | 52,126     | 1,00            | 5,05   |
|           | 15,62         | 0,303      | 52,283     | 1,19            | 5,05   |

#### 5.4.5 Hasil Analisis Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) dan Kuersetin

Larutan DPPH sesudah dan sebelum penambahan sampel dihitung sebagai % inhibisi dan probit. Hasil perhitungan probit dimasukkan ke dalam persamaan regresi dengan log konsentrasi ekstrak sebagai sumbu (X) dan nilai probit sebagai sumbu (Y). Hasil analisis nilai  $IC_{50}$  ekstrak dan kuersetin dapat dilihat pada tabel 5.7

Tabel 5. 7 Hasil Nilai  $IC_{50}$  Ekstrak dan Kuersetin

| Senyawa   | IC50 (Replikasi) |        |        | $\bar{x}$ IC50±SD | Kategori    |
|-----------|------------------|--------|--------|-------------------|-------------|
|           | 1                | 2      | 3      |                   |             |
| Kuersetin | 5,508            | 5,662  | 5,445  | 5,538±0,112       | sangat kuat |
| Ekstrak   | 34,754           | 38,815 | 34,754 | 36,107±2,345      | sangat kuat |

Bedasarkan hasil pengujian ekstrak etanol biji kopi robusta dan kuersetin dengan replikasi 3 kali menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak etanol biji kopi robusta dan kuersetin masuk dalam kategori sangat kuat, dengan nilai rata-rata  $IC_{50}$  5,538±0,112  $\mu\text{g/mL}$  pada kuersetin dan 36,107±2,345  $\mu\text{g/mL}$  pada ekstrak dan didapat RSD sebesar 2,01% pada kuersetin dan 6,49% pada ekstrak.

## **BAB 6 PEMBAHASAN**

### **6.1 Determinasi tanaman**

Biji kopi robusta yang digunakan dalam penelitian ini dapat dipastikan bahwa tanaman yang diteliti adalah benar spesies *Coffea canephora* yang tergolong dalam suku *Rubiaceae*.

Determinasi adalah proses untuk menentukan atau memastikan bahwa tanaman yang dipilih adalah benar jenis kopi robusta (*Coffea canephora*). Dengan membandingkan atau mencocokkan suatu tumbuhan dengan tumbuhan yang lain yang telah dikenal sebelumnya.

### **6.2 Ekstraksi**

Ekstraksi dilakukan untuk menarik senyawa dari tanaman kering maupun tanaman segar dengan pelarut tertentu. Ekstraksi maserasi yang dilakukan selama 5x24 jam dan remaserasi selama 2x24 jam dan terlindung dari cahaya matahari langsung sambil sesekali diaduk, agar proses ekstraksi berjalan maksimal. Setelah dilakukan ekstraksi lalu dilakukan pemisahan suatu pelarut dari sebuah larutan menggunakan Rotary evaporator sehingga akan menghasilkan ekstrak dengan kandungan atau konsentrasi lebih pekat, selanjutnya dikentalkan menggunakan waterbath dengan suhu tidak lebih dari 50°C.

Selanjutnya dihitung %Rendemen, pada penelitian ini yang didapatkan 19%. Pada penelitian (Wardaningrum, 2020) dihasilkan %rendemen sebesar 17,11%. Rendemen dikatakan baik jika nilainya lebih dari 10% (Pratiwi, 2018).

Hasil persen rendemen berbeda kemungkinan dikarenakan banyaknya simplisia yang digunakan berbeda dan pelarut yang digunakan berbeda.

### 6.3 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia bertujuan untuk melihat kandungan senyawa kimia apa saja yang terdapat pada biji kopi robusta, Senyawa tersebut dapat diidentifikasi dengan pereaksi tertentu yang akan memberikan ciri khas tertentu dari setiap golongan metabolit sekunder. Rangkain skrining fitokimia yaitu uji Flavonoid, Saponin, Alkoloid, Tanin, dan Steroid.

Flavonoid, fenolik dan tanin merupakan senyawa fenol yang memiliki gugus –OH yang terikat pada karbon cincin aromatik. Kemampuan flavonoid sangat potensi untuk antioksidan karena struktur molekul dan posisi dari gugus hidroksilnya (Rajanandh and Kavitha, 2010). Pada biji kopi robusta (*Coffea canephora*) positif flavnoid yang ditandai dengan warna merah pada sampel yang direaksikan dengan HCL pekat. HCL pekat digunakan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya yaitu dengan menghidrolisis O-glikosi (Ikalinus, Widyastuti and Eka Setiasih, 2015).

Pengujian pada biji kopi robusta positif mengandung saponin. pada pengujian ini saponin mengandung gugus glikosil yang berperan sebagai gugus polar serta gugus steroid dan triterpenoid, yang berfungsi sebagai gugus nonpolar akan bersifat aktif permukaan sehingga saat dikocok dengan air. saponin dapat membentuk misel, dimana struktur polar akan menghadap ke luar sedangkan gugus

nonpolar akan menghadap ke dalam. Pada kondisi tersebut akan terbentuk saponin berbentuk seperti busa (Sangie *et al.*, 2008).

Hasil positif alkaloid pada uji mayer ditandai dengan terbentuknya endapan putih. Diperkirakan endapan tersebut adalah kompleks kalium-alkaloid yang diperkirakan nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam  $K^+$  dari kalium tetraiodomerkurat (II) (Pereaksi mayer) membentuk kompleks kalium alkaloid yang mengendap (Woei, 2016). Untuk menegaskan bahwa pada biji kopi robusta terdapat senyawa alkaloid dilakukan uji dengan pereaksi Mayer, Wagner dan Dragendorff. Hasil positif alkaloid pada uji wegner ditandai dengan terbentuknya endapan coklat. Diperkirakan endapan tersebut adalah kalium-alkaloid. Pada pereaksi wegner, iodine bereaksi dengan ion  $I^-$  dari kalium iodida menghasilkan ion  $I_3^-$  yang berwarna coklat. Pada uji wegner, ion logam  $K^+$  akan membentuk ikatan kovalen koordinat dengan nitrogen pada alkaloid yang mengendap. Hasil positif alkaloid pada uji Dragendorff juga ditandai dengan terbentuknya endapan jingga. Endapan tersebut adalah kalium-alkaloid (Fajrin and Susila, 2019).

Positif tanin ditandai dengan terbentuknya warna hijau-hitam, terbentuknya warna tersebut pada ekstrak setelah ditambahkan dengan  $FeCl_3$  karena tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion  $Fe^{3+}$ . Sifat polar pada tanin dikarenakan adanya beberapa gugus OH dan larut pada pelarut polar (Sriwahyuni I, 2010).

Pada biji kopi robusta positif steroid, ketika senyawa triterpenoid ditetesi pereaksi Lieberman-Burchard (merupakan campuran antara asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat) melalui dindingnya akan memberikan reaksi berwarna hijau

kebiruan, hal ini disebabkan terjadinya reaksi oksidasi pada golongan steroid melalui pebetukan ikatan rangkap terkonjungsi (senyawa pentaenilik) (Sriwahyuni I, 2010).

Biji kopi robusta (*Coffea canephora*) dengan pelarut etanol 70% mengandung senyawa flavonoid, saponin, alkaloid, tanin dan terpenoid, yang bersifat antioksidan.

#### **6.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan**

Proses penetapan aktivitas antioksidan pada penelitian menggunakan metode DPPH. Metode DPPH adalah suatu metode uji aktivitas antioksidan yang sering digunakan karena mudah, cepat, sederhana, peka, dan memerlukan sedikit sampel (Lung and Destiani, 2018). DPPH adalah senyawa radikal bebas yang stabil sehingga jika digunakan untuk pereaksi pada penangkapan radikal bebas cukup dengan cara dilarutkan dan disimpan dalam keadaan kering dengan kondisi penyimpanan yang baik dan stabil selama bertahun-tahun. Panjang gelombang maksimum DPPH adalah 515-520 nm (Tristantini *et al.*, 2016).

##### **6.4.1 Penentuan Panjang Gelombang**

Sebelum dilakukan pengujian antioksidan dan optimasi waktu inkubasi terlebih dahulu dilakukan penentuan panjang gelombang maksimal. Pada penentuan panjang gelombang, blanko yang digunakan yaitu etanol p.a sebanyak 2 ml dan larutan DPPH sebanyak 2 ml yang diperoleh absorbansi 0,417 pada panjang gelombang 516 nm, sedangkan pada penelitian (Utami, *et al* 2018) diperoleh hasil

panjang gelombang 517 nm. Hasil penentuan panjang gelombang berbeda biasanya disebut pergeseran panjang gelombang yang disebabkan oleh kondisi alat maupun perbedaan alat yang digunakan.

#### **6.4.2 Pengukuran Absorbansi Senyawa DPPH**

Penentuan aktivitas penangkal radikal bebas DPPH dilakukan pada panjang gelombang 516 nm dikarenakan hasil dari penelitian panjang gelombang maksimum yang telah dilakukan yaitu 516 nm. Hasil dari pengukuran absorbansi (blanko) adalah 0,473 untuk DPPH (Ekstrak) dan 0,451 untuk DPPH (Kuersetin). Hasil absorbansi DPPH berbeda kemungkinan disebabkan karena faktor cahaya, DPPH tidak stabil dalam suhu ruang. Untuk mengatasi hal tersebut hindari cahaya atau letakkan pada tempat yang gelap.

#### **6.4.3 Optimasi Waktu Inkubasi Ekstrak Etanol Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) dan kuersetin**

Proses optimasi waktu inkubasi yaitu dilakukan dengan cara mereaksikan larutan ekstrak sebanyak 2 ml dari berbagai konsentrasi larutan uji ekstrak 6,25 ppm, 25 ppm, 56,25 ppm, 100 ppm, 156,25 ppm dan kuersetin dengan konsentrasi 0,62 ppm, 2,5 ppm, 5,62 ppm, 10ppm dan 15,62 ppm. Kemudian ditambahkan larutan DPPH sebanyak 3,5ml. Nilai absorbansi diamati pada panjang gelombang maksimum 516 nm yang dimulai dari menit 0-10 dengan selang waktu 10 menit. Hasil dan proses optimasi waktu inkubasi menunjukkan bahwa pada penelitian ini aktivitas antioksidan yang optimal pada ekstrak dan kuersetin yaitu pada menit 40 dengan nilai  $IC_{50}$  17,58  $\mu\text{g/mL}$  dan 3,04  $\mu\text{g/mL}$ . Hal ini disebabkan karena nilai

IC<sub>50</sub> terkecil. Karena semakin kecil nilai IC<sub>50</sub> maka aktivitas antioksidan di dalam sampel semakin kuat (Zuraida and Sulistiyani, 2017).

#### **6.4.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Biji kopi robusta (*Coffea canephora*) dan Kuersetin**

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol biji kopi robusta (*Coffea canephora*) dengan konsentrasi 6,25 ppm, 25 ppm, 56,25 ppm, 100 ppm, 156,25 ppm dan kuersetin dengan konsentrasi 0,5 ppm, 2 ppm, 4,5 ppm, 8 ppm, dan 12,5 ppm menggunakan 3 replikasi dari masing-masing konsentrasi yang diukur pada panjang gelombang 516 nm pada menit 40. Tahap selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi dan data absorbansi yang telah diperoleh dari sampel ekstrak dan kuersetin digunakan untuk menghitung persen inhibisi dari larutan uji terhadap DPPH. % inhisi dapat dilihat pada tabel 5.3 (ekstrak), 5.4 (kuersetin)

Tahap selanjutnya yaitu menghitung log konsentrasi dan memplotkan hasil persen inhibisi ke tabel probit (Finney, 1971). Agar didapatkan persamaan regresi linier penentuan IC<sub>50</sub>, dengan cara memasukkan log konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan nilai probit sebagai sumbu y yang diolah menggunakan *Microsoft Excel*, hingga diperoleh persamaan regresi:  $Y = a + bx$  (lampiran 10). Dari hasil persamaan regresi yang diperoleh nilai X dapat ditentukan setelah mengganti nilai  $Y=5$  yang merupakan harga probit dari 50% pada persamaan regresi linier.

Nilai rata-rata IC<sub>50</sub> yang didapatkan untuk ekstrak yaitu  $36,107 \pm 2,345$  µg/mL. Yang tergolong antioksidan tingkat sangat kuat dengan nilai RSD 6,494% Menurut (Pratiwi, et al, 2016) RSD yang baik yaitu kurang dari 16%. Senyawa

antiosidan yang terkandung dalam ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) sudah baik dalam menghambat kerja radikal bebas DPPH, didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh (Novi Fajar Utami, 2018). Yang menyatakan bahwa nilai IC<sub>50</sub> pada ekstrak biji kopi robusta memiliki antioksidan sangat kuat dengan nilai IC<sub>50</sub>, Wonosobo 42,63 µg/mL dengan ketinggian 800Mdpl (Jawa Tengah), Malang 37,47µg/mL dengan ketinggian 700Mdpl, Kediri 42,77µg/mL dengan ketinggian 500Mdpl dengan panjang gelombang maksimum 517 nm. Perbedaan nilai IC<sub>50</sub> dapat disebabkan karena perbedaan ekologi tempat tumbuh yang berbeda sehingga diperoleh hasil berbeda, perbedaan pelarut juga berpengaruh pada nilai IC<sub>50</sub>, Nilai aktivitas antioksidan akan meningkat sesuai dengan meningkatnya kandungan total fenolik dan flavonoid yang terdapat dalam ekstrak, namun setelah konsentrasi pelarut optimum aktivitas antioksidan akan berkurang sesuai dengan penurunan total fenolik dan flavonoid yang terdapat pada ekstrak (Suhendra *et al.*, 2019). (Zhang *et al.*, 2009) menyatakan bahwa pelarut etanol 70 % merupakan pelarut yang cocok untuk melarutkan senyawa flavonoid karena menghasilkan flavonoid optimum dibandingkan dengan etanol 65 % dan 75 %.

Nilai rata-rata IC<sub>50</sub> yang didapatkan untuk kuersetin yaitu 5,538±0,112 µg/mL yang tergolong antioksidan tingkat sangat kuat dengan nilai RSD 2,019%. Kuersetin mempunyai aktivitas antioksidan jauh lebih tinggi dibandingkan ekstrak. Hal ini dikarenakan kandungan senyawa pada ekstrak masih dalam bentuk senyawa kompleks (tidak murni) sedangkan kuersetin merupakan suatu senyawa yang murni (Handayani *et al.*, 2018). Pada keadaan ini dapat diartikan bahwa ekstrak etanol biji kopi robusta (*Coffea canephora*) dan kuersetin memiliki kemampuan dalam

menangkal radikal bebas. Hal ini terlihat dari kemampuan ekstrak etanol biji kopi robusta (*Coffea canepora*) dalam mereduksi senyawa radikal bebas dalam DPPH pada penelitian ini kurang stabil dan kurang optimal sedangkan kemampuan kuersetin dalam mereduksi senyawa radikal bebas dalam DPPH pada penelitian ini yaitu optimal

## **BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN**

### **7.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak etanol biji kopi robusta (*Coffea canephora*) yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan terpenoid.
2. Nilai aktivitas antioksidan ekstrak etanol biji kopi robusta (*Coffea canephora*) dan kuersetin tergolong antioksidan sangat kuat yaitu 36,107 µg/mL pada ekstrak dan 5,538 µg/mL pada kuersetin.

### **7.2 Saran**

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dari kadar senyawa kimia yang terkandung dalam biji kopi robusta (*Coffea canephora*).
2. Perlu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan pada tanaman kopi robusta (*Coffea canephora*) pada bagian lain seperti kulit buah dan kulit biji.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada biji kopi robusta (*Coffea canephora*) secara *in vivo*
4. Perlu dilakukan uji aktivitas antioksidan biji kopi robusta (*Coffea canephora*) dengan metode lain untuk membandingkan hasil IC<sub>50</sub> yang terbaik seperti metode FRAP, dan ABTS

**DAFTAR PUSTAKA**

- Agustina, E., Andiarna, F. and Hidayati, I. (2020) 'Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bawang Hitam (Black Garlic) Dengan Variasi Lama Pemanasan', *Al-Kauniah: Jurnal Biologi*, 13(1), pp. 39–50. doi: 10.15408/kauniah.v13i1.12114.
- Budilaksono, W., Wahdaningsih, S. and Fahrurroji, A. (2014) 'Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Kloroform Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus lemairei* Britton dan Rose) Menggunakan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil)', *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 1(1), pp. 1–11.
- Chairunnisa, S., Wartini, N. M. and Suhendra, L. (2019) 'Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) sebagai Sumber Saponin', *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 7(4), p. 551. doi: 10.24843/jrma.2019.v07.i04.p07.
- Due, Y. P., Bukit, M. and Johannes, A. Z. (2019) 'Kajian Awal Spektrum Serapan Uv–Vis Senyawa Hasil Ekstrak Daun Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia*) Asal Tarus Kabupaten Kupang', *Jurnal Fisika : Fisika Sains dan Aplikasinya*, 4(1), pp. 40–47. doi: 10.35508/fisa.v4i1.1437.
- Fajrin, F. I. and Susila, I. (2019) 'Uji fitokimia ekstrak kulit petai menggunakan metode maserasi.', *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Dan Sains.*, 6(3), pp. 455–462.

- Febrina, L., Rusli, R. and Muflihah, F. (2015) 'Optimalisasi Ekstraksi Dan Uji Metabolit Sekunder Tumbuhan Libo (*Ficus Variegata* Blume)', *Journal Of Tropical Pharmacy And Chemistry*, 3(2), pp. 74–81. doi: 10.25026/jtpc.v3i2.153.
- Finney, D. J. (1971) 'Probit Analysis. 3th Aufl. Cambridge University Press. XV, 333 S., 41 Rechenbeispiele, 20 Diagr., 8 Tab.,231 Lit.,L5.80.'
- Gunalan, S., Sivaraj, R. and Rajendran, V. (2012) 'Green synthesized ZnO nanoparticles against bacterial and fungal pathogens', *Progress in Natural Science: Materials International*, 22(6), pp. 693–700. doi: 10.1016/j.pnsc.2012.11.015.
- Hanani, T., Widowati, I. and Susanto, A. (2020) 'Kandungan Senyawa Beta Karoten pada *Spirulina platensis* dengan Perlakuan Perbedaan Lama Waktu Pencahayaan', *Buletin Oseanografi Marina*, 9(1), pp. 55–58. doi: 10.14710/buloma.v9i1.24681.
- Handayani, S., Najib, A. and Wati, N. P. (2018) 'Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Daruju (*Acanthus ilicifolius* L.) Dengan Metode Peredaman Radikal Bebas *1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazil* (DPPH)', *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 5(2), pp. 299–308. doi: 10.33096/jffi.v5i2.414.
- Handayani, V. *et al.* (2014) 'Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga dan Daun Patikala (*Etlingera elatior* ( Jack ) R . M . Sm ) Menggunakan Abstrak', *Pharm Sci Res*, 1(2), pp. 86–93.
- Hasanah (2015) 'Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun salam', *Jurnal Pena*

*Medika*, 5(1), pp. 55–59.

Hertina, T. N. and Dwiyantri, S. (2013) ‘Pemanfaatan Ampas Kedelai Putih Dan Ampas Kopi Dengan Perbandingan Berbeda Dalam Pembuatan Lulur Tradisional Untuk Perawatan Tubuh’, *e-Journal*, 02(3), pp. 70–77.

Ibrahim, W. *et al.* (2016) ‘Penggunaan Kulit Nanas Fermentasi dalam Ransum yang Mengandung Gulma Berkhasiat Obat Terhadap Konsumsi Nutrient Ayam Broiler’, *Jurnal Agripet*, 16(2), p. 76. doi: 10.17969/agripet.v16i2.4142.

Ikalinus, R., Widyastuti, S. and Eka Setiasih, N. (2015) ‘Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa Oleifera*)’, *Indonesia Medicus Veterinus*, 4(1), p. 77.

Khaira, K. (2010) ‘Menangkal Radikal Bebas dengan Anti-Oksidan’, *STAIN Batusangkar Sumatera Barat*, p. 184.

Kiki Maesaroh, Dikdik Kurnia, J. A. A. (2018) ‘Chimica et Natura Acta’, *Chimica et Natura Acta*, 6(2), pp. 93–100.

Labola, Y. A. and Puspita, D. (2018) ‘Peran Antioksidan Karotenoid Penangkal Radikal Bebas Penyebab Berbagai Penyakit’, *Farmasetika.com (Online)*, 2(5), p. 12. doi: 10.24198/farmasetika.v2i2.13668.

Lung, J. K. S. and Destiani, D. P. (2018) ‘Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin A, C, E dengan Metode DPPH’, *Farmaka*, 15(1), pp. 53–62.

Marjoni, M. R. *et al.* (2018) ‘Phenolics compounds, flavonoids, and antioxidant activity methanol extract of arum manis leaves (*Mangifera indica* L. Var.

- Arumanis)', *International Journal of Green Pharmacy*, 12(3), pp. S651–S656.
- Nasution, W. M. and Siregar, F. A. (2018) '156-303-1-Sm', 13(April).
- Novi Fajar Utami, et. all (2018) 'Uji Aktivitas Antioksidan Dari Biji Kopi Robusta (*Coffea Canephora P.*) Berdasarkan Perbedaan Ekologi Dataran Tinggi Di Pulau Jawa Novi', *Fitofarmaka Jurnal Ilmiah Farmasi*, 8(1), pp. 67–72.
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B. and Periyasamy, L. (2015) 'Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases', *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1), pp. 11–26. doi: 10.1007/s12291-014-0446-0.
- Pisoschi, A. M. and Negulescu, G. P. (2012) 'Methods for Total Antioxidant Activity Determination: A Review', *Biochemistry & Analytical Biochemistry*, 01(01), pp. 1–10. doi: 10.4172/2161-1009.1000106.
- Rajanandh, M. G. and Kavitha, J. (2010) 'Quantitative estimation of  $\beta$ -Sitosterol, total phenolic and flavonoid compounds in the leaves of *Moringa oleifera*', *International Journal of PharmTech Research*, 2(2), pp. 1409–1414.
- Retnaningtyas, Y., Hamzah, M. H. and Kristiningrum, N. (2019) 'Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Daun Kopi Arabika (*Coffea arabica*) dan Daun Pandan (*Pandanus amaryllifolius*) dengan Metode DPPH', *JFIOnline / Print ISSN 1412-1107 / e-ISSN 2355-696X*, 9(1), pp. 26–32. doi: 10.35617/jfi.v9i1.565.

- Sangi, M., Runtuwene, M. R. J. and Simbala, H. E. I. (2008) 'Analisa Fitokimia Obat Di Minahasa Utara', *Chemistry Progres*, 1(1), pp. 47–53.
- Satyanarayana, V. and Jaya Kumari, S. (2017) 'Preliminary phytochemical screening and antioxidant activity of selected four plants', *International Journal of Green Pharmacy*, 11(1), pp. S116–S123. doi: 10.14456/tijsat.2017.
- Setiawan, F., Yunita, O. and Kurniawan, A. (2018) 'Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kayu secang dan FRAP', *Media Pharmaceutica Indonesiana*, 2(2), pp. 82–89.
- Soeksmanto, A., Hapsari, Y. And Simanjuntak, P. (2007) 'Antioxidant content of parts of Mahkota dewa, *Phaleria macrocarpa* [Scheff] Boerl. (Thymelaceae)', *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 8(2), pp. 92–95. doi: 10.13057/biodiv/d080203.
- Souhoka, F. A., Hattu, N. and Huliselan, M. (2019) 'Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Biji Kesumba Keling (*Bixa orellana* L)', *Indo. J. Chem. Res.*, 7(1), pp. 25–31. doi: 10.30598//ijcr.2019.7-fas.
- Sriwahyuni I (2010) *Uji Fitokimia Ekstrak Tanaman Anting - anting (Acalypha Indica Linn) dengan variasi pelarut dan uji toksisitas menggunakan brine shrimp (artemia salina leach)*. Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim.
- Suena, N. M. D. S. and Antari, N. P. U. (2020) 'Uji Aktivitas Antioksidan Maserat Air Biji Kopi (*Coffea Canephora*) Hijau Pupuan Dengan Metode Dpph

(2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)', *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 6(2), pp. 111–117. doi: 10.36733/medicamento.v6i2.1106.

Suhendra, C. P., Widarta, I. W. R. and Wiadnyani, A. A. I. S. (2019) 'Pengaruh Konsentrasi Etanol Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Ilalang (*Imperata Cylindrica (L) Beauv.*) Pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik', *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 8(1), p. 27. doi: 10.24843/itepa.2019.v08.i01.p04.

Tristantini, D. *et al.* (2016) 'Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi L*)', *Universitas Indonesia*, p. 2.

Utami, I. R. and Orbayinah, S. (2013) 'Pengaruh Pemberian Seduhan Teh Kelopak Bunga Hibiscus sabdariffa L terhadap Kadar Kolesterol Total Perokok Aktif', *Mutiara Medika*, 13(3), pp. 167–172.

Utami, N. F., Nhestricia, N. and Maryanti, S. (2018) 'Antioxidant Activity Test from Robusta Coffee Seeds (*Coffea canephora P.*) Based On High Flat Ecology Differences in Java Island', *Fitofarmaka*, 8(1), pp. 60–65.

Utami, P. and Welas (2019) 'Pengaruh Pemberian Seduhan Teh Kelopak Bunga *Hibiscus sabdariffa L.* terhadap Kadar Kolesterol Total Perokok Aktif 2 (1, 2.)', 10(2), pp. 71–76.

Votavová, L. *et al.* (2009) 'Changes of antioxidant capacity of robusta coffee during roasting', *Czech Journal of Food Sciences*, 27(SPEC. ISS.), pp. 49–52.

doi: 10.17221/1105-cjfs.

Wahyuni, D. T. and Widjanarko, S. B. (2015) 'Pengaruh Jenis Pelarut Dan Lama Ekstraksi Terhadap Ekstrak Karotenoid Labu Kuning Dengan Metode Gelombang Ultrasonik The Effect of Different Solvent and Extraction Time of Carotenoids Extract From Pumpkin with Ultrasonic Method', *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3(2), pp. 390–401.

Werdhasari, A. (2014) 'Peran Antioksidan Bagi Kesehatan', *Jurnal Biomedik Medisiana Indonesia*, 3(2), pp. 59–68.

Winangsih, Prihastanti, E. and Parman, S. (2013) 'Pengaruh Metode Pengeringan Terhadap Kualitas Simplisia Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* L.)', *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 21(1), pp. 19–25.

Woei, I. C. (2016) 'Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Sirih Lengkung (*Piper aduncum* L.) Title', (June).

Zhang, L. *et al.* (2009) 'Ultrasound-assisted extraction flavonoids from Lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn) leaf and evaluation of its anti-fatigue activity', *International Journal of Physical Sciences*, 4(8), pp. 418–422.

Zuraida, Sulistiyani, D. S. & I. H. S. (2017) 'Fenol, Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Kulit Batang Pulai', 4(0216-4329), pp. 211–219.

Lampiran 1 Determinasi Tanaman

Kode Dokumen : FR-AUK-064  
 Revisi : 0



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,  
RISET DAN TEKNOLOGI**  
**POLITEKNIK NEGERI JEMBER**  
**UPT. PENGEMBANGAN PERTANIAN TERPADU**  
 Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember - 68101 Telp. (0331) 333532 - 333534 Fax. (0331) 333531  
 E-mail : [Polije@polije.ac.id](mailto:Polije@polije.ac.id) Web Site : <http://www.Polije.ac.id>

---

**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN**  
 No: 100/PL17.8/PG/2022

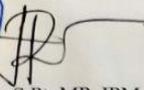
Menindaklanjuti surat dari Dekan Universitas dr. Soebandi Program Studi S1 Farmasi No: 1546/FIKES.UDS/U/VI/2022 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke UPT. Pengembangan Pertanian Terpadu, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama : Halimatus Zahroh  
 NIM : 18040040  
 Jur/Fak/PT : Prodi S1 Farmasi/ Universitas dr. Soebandi

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah:  
*Kingdom: Plantae; Devisio: Spermatophyta; Sub Devisio: Magnoliophyta; Kelas: Magnoliopsida; Sub Kelas: Asteridae; Ordo: Rubiales; Famili: Rubiaceae; Genus: Coffea; Spesies: Coffea canephora, Pierre.*

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.



Jember, 10 Juni 2022  
 Ka. UPT. Pengembangan Pertanian Terpadu  
  
 Ir. Budi Prasetyo, S.Pt, MP, IPM  
 NIP. 197106212001121001

Berat serbuk simplisia kering



Maserasi biji kopi robusta



Penyaringan



Penguapan Ekstrak menggunakan  
Rotary Evaporator





Waterbath



Hasil ekstrak kental



Instrument yang digunakan



Ultrasonic



Larutan ekstrak

Larutan kuersetin



Larutan DPPH



### Lampiran 3 Perhitungan Rendemen Ekstrak

#### Rendemen Ekstrak

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Bobot Ekstrak}}{\text{Bobot Simplisia}} \times 100\%$$

$$\frac{57,14 \text{ gram}}{300 \text{ gram}} \times 100\% = 19\%$$

## Lampiran 4 Skrining Fitokimia



Flavonoid Berwarna merah (+)



Saponin Terbentuk buih (+)



Alkaloid Terbentuk (+)  
endapan putih (Pereaksi mayer)



Terbentuk endapan coklat (Pereaksi Wagner)  
Terbentuk endapan jingga



(Pereaksi  
dregendrof)

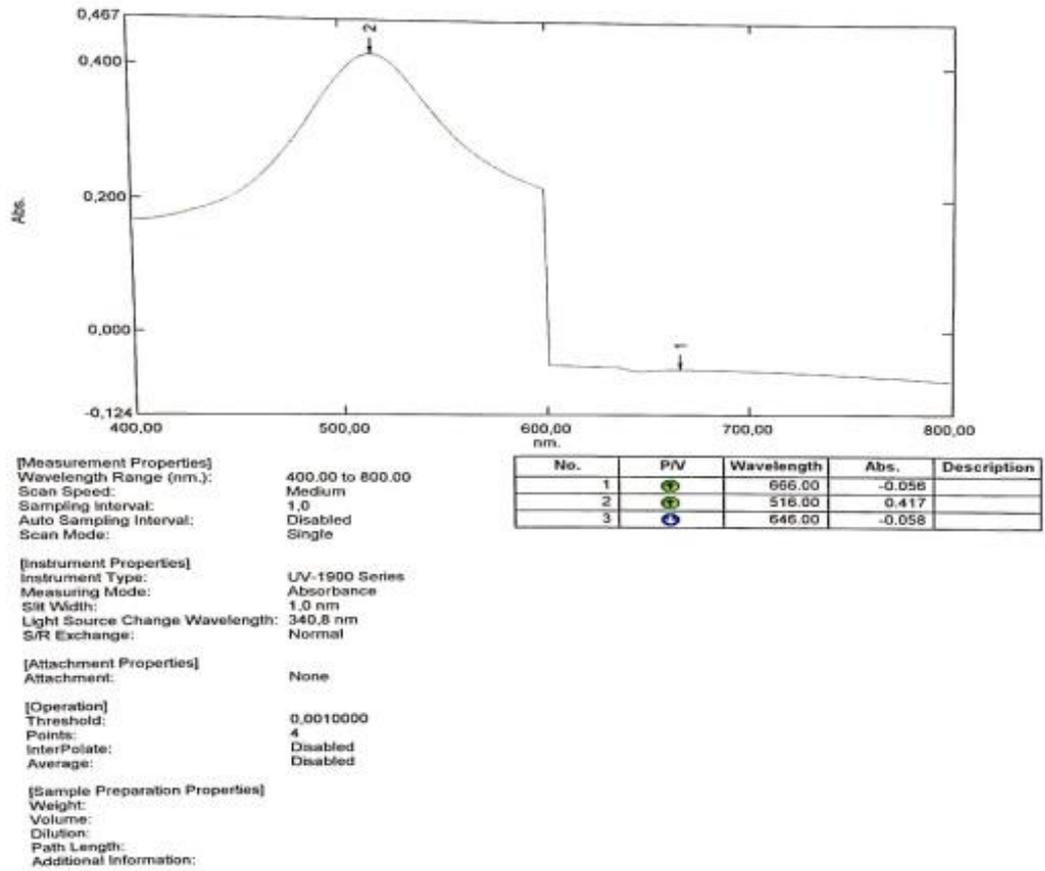
Tanin      Hijau hitam      (+)



Terpenoid      Berwarna merah      (+)



## Lampiran 5 Panjang Gelombang



grafik panjang gelombang

## Lampiran 6 Perhitungan Waktu Inkubasi Sampel

1000ppm dalam 10mL

### **Pengenceran**

$$M1.V1=M2.V2$$

$$50 \text{ ppm} = \frac{50ppm}{1000} \times 10 = 0,5 \text{ ml}$$

$$100 \text{ ppm} = \frac{100ppm}{1000} \times 10 = 1ml$$

$$150 \text{ ppm} = \frac{150ppm}{1000} \times 10 = 1,5ml$$

$$200 \text{ ppm} = \frac{200ppm}{1000} \times 10 = 2mL$$

$$250 \text{ ppm} = \frac{250ppm}{10ml} \times 10 = 2,5mL$$

### **Perhitungan konsentrasi ekstrak dalam labu takar**

$$50 \text{ ppm} = \frac{0,5ml}{5} \times 50 = 5ppm$$

$$100 \text{ ppm} = \frac{1ml}{5} \times 100 = 20ppm$$

$$150 \text{ ppm} = \frac{1,5}{5} \times 150 = 45ppm$$

$$200 \text{ ppm} = \frac{2ml}{5} \times 200 = 80ppm$$

$$250 \text{ ppm} = \frac{2,5ml}{5} \times 250 = 125ppm$$

**Perhitungan konsentrasi ekstrak dalam kuvet**

$$50 \text{ ppm} = \frac{5\text{ppm}}{4\text{ml}} \times 5 = 6,25\text{ppm}$$

$$100 \text{ ppm} = \frac{20\text{ppm}}{4\text{ml}} \times 5 = 25\text{ppm}$$

$$150 \text{ ppm} = \frac{45\text{ppm}}{4\text{ml}} \times 5 = 56,25\text{ppm}$$

$$200 \text{ ppm} = \frac{80\text{ppm}}{4\text{ml}} \times 5 = 100\text{ppm}$$

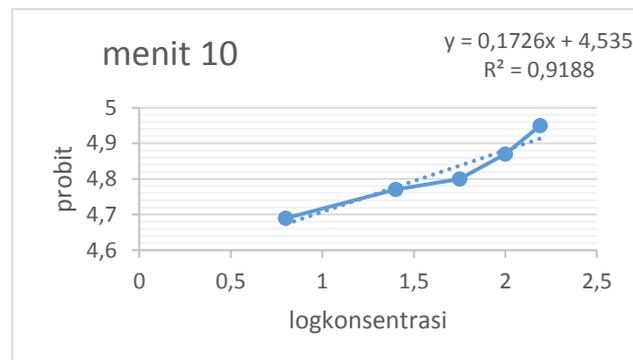
$$250 \text{ ppm} = \frac{125}{4\text{ml}} \times 5 = 156,25\text{ppm}$$

Lampiran 7 Perhitungan Nilai IC<sub>50</sub> Ekstrak Dengan Analisis Probit

| sampel  | Menit  | konsentrasi | abs   | %inhibisi |
|---------|--------|-------------|-------|-----------|
| DPPH    | Blanko |             | 0,473 |           |
| Ekstrak | 10     | 6,25        | 0,294 | 37,844    |
|         |        | 25          | 0,281 | 40,592    |
|         |        | 56,25       | 0,273 | 42,283    |
|         |        | 100         | 0,26  | 45,032    |
|         |        | 156,25      | 0,244 | 48,414    |
|         | 20     | 6,25        | 0,291 | 38,478    |
|         |        | 25          | 0,271 | 42,706    |
|         |        | 56,25       | 0,267 | 43,552    |
|         |        | 100         | 0,25  | 47,146    |
|         |        | 156,25      | 0,23  | 51,374    |
|         | 30     | 6,25        | 0,258 | 45,455    |
|         |        | 25          | 0,248 | 47,569    |
|         |        | 56,25       | 0,222 | 53,066    |
|         |        | 100         | 0,211 | 55,391    |
|         |        | 156,25      | 0,187 | 60,465    |
|         | 40     | 6,25        | 0,25  | 47,146    |
|         |        | 25          | 0,235 | 50,317    |
|         |        | 56,25       | 0,21  | 55,603    |
|         |        | 100         | 0,204 | 56,871    |
|         |        | 156,25      | 0,195 | 58,774    |
|         | 50     | 6,25        | 0,23  | 51,374    |
|         |        | 25          | 0,22  | 53,488    |
|         |        | 56,25       | 0,21  | 55,603    |
|         |        | 100         | 0,196 | 58,562    |
|         |        | 156,25      | 0,181 | 61,734    |
|         | 60     | 6,25        | 0,291 | 38,478    |
|         |        | 25          | 0,264 | 44,186    |
|         |        | 56,25       | 0,239 | 49,471    |
|         |        | 100         | 0,204 | 56,871    |
|         |        | 156,25      | 0,216 | 54,334    |

| menit | konsentrasi | log konsentrasi | inhibisi |
|-------|-------------|-----------------|----------|
| 10    | 6,25        | 0,8             | 37,844   |
|       | 25          | 1,4             | 40,59197 |
|       | 56,25       | 1,75            | 42,283   |
|       | 100         | 2               | 45,032   |
|       | 156,25      | 2,19            | 48,414   |

| log konsentrasi | probit |
|-----------------|--------|
| 0,8             | 4,69   |
| 1,4             | 4,77   |
| 1,75            | 4,8    |
| 2               | 4,87   |
| 2,19            | 4,95   |



$$a = 4,535$$

$$b = 0,1726x$$

$$r = 0,9188$$

pers. Garis

$$y = a + bx$$

$$y = 4,535 + 0,1726x$$

probit 5 = 50% peredaman

jika  $y = 5$ , maka

$$:$$

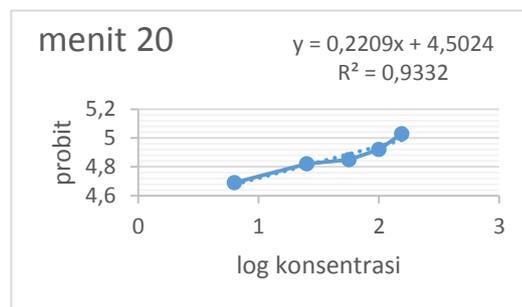
$$5 = 4,535 + 0,1726x$$

$$x = 2,69$$

Antilog  $x = 489,77$

| menit | Konsentrasi | log konsentrasi | inhibisi   |
|-------|-------------|-----------------|------------|
| 20    | 6,25        | 0,8             | 38,4778013 |
|       | 25          | 1,4             | 42,7061311 |
|       | 56,25       | 1,75            | 43,551797  |
|       | 100         | 2               | 47,1458774 |
|       | 156,25      | 2,19            | 51,3742072 |

| log konsentrasi | probit |
|-----------------|--------|
| 0,8             | 4,69   |
| 1,4             | 4,82   |
| 1,75            | 4,85   |
| 2               | 4,92   |
| 2,19            | 5,03   |



$$a = 4,5024$$

$$b = 0,2209x$$

$$r = 0,9332$$

pers. Garis

$$y = a + bx$$

$$y = 4,5024 + 0,2209x$$

probit 5 = 50% peredaman

jika  $y = 5$ , maka :

$$5 = 4,5024 + 0,2209x$$

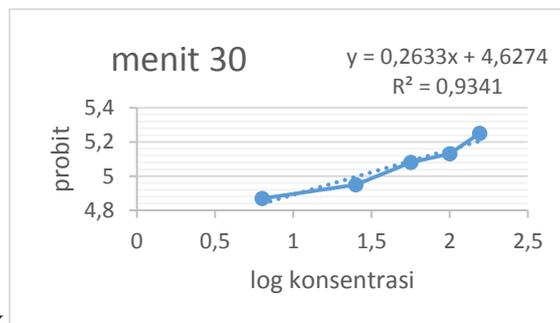
$$x = 2,1268$$

Antilog  $x =$  179,88

| menit | konsentrasi | log konsentrasi | inhibisi    |
|-------|-------------|-----------------|-------------|
| 30    | 6,25        | 0,8             | 45,45454545 |
|       | 25          | 1,4             | 47,56871036 |

|  |        |      |             |
|--|--------|------|-------------|
|  | 56,25  | 1,75 | 53,06553911 |
|  | 100    | 2    | 55,39112051 |
|  | 156,25 | 2,19 | 60,46511628 |

| log konsentrasi | probit |
|-----------------|--------|
| 0,8             | 4,87   |
| 1,4             | 4,95   |
| 1,75            | 5,08   |
| 2               | 5,13   |
| 2,19            | 5,25   |



$$a = 4,6274$$

$$b = 0,2633x$$

$$r = 0,9341$$

pers. Garis

$$y = a + bx$$

$$y = 4,6274 + 0,2633x$$

probit 5 = 50% peredaman

jika  $y = 5$ , maka :

$$5 = 4,6274 + 0,2633x$$

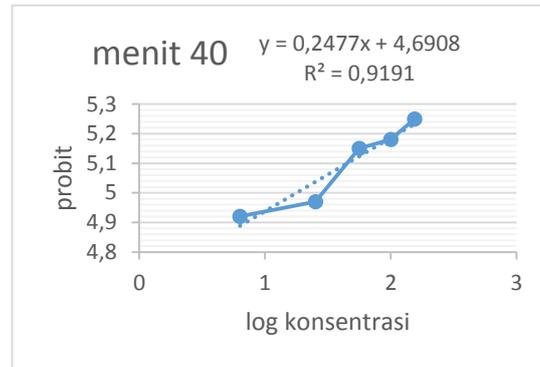
$$x = 1,413$$

Antilog  $x =$  25,88

| menit | konsentrasi | log konsentrasi | inhibisi    |
|-------|-------------|-----------------|-------------|
| 40    | 6,25        | 0,8             | 47,14587738 |
|       | 25          | 1,4             | 50,31712474 |
|       | 56,25       | 1,75            | 55,602537   |
|       | 100         | 2               | 56,87103594 |
|       | 156,25      | 2,19            | 58,77378436 |

| log konsentrasi | probit |
|-----------------|--------|
| 0,8             | 4,92   |
| 1,4             | 4,97   |

|      |      |
|------|------|
| 1,75 | 5,15 |
| 2    | 5,18 |
| 2,19 | 5,25 |



pers. Garis

$$y = a + bx$$

$$y = 4,6908 + 0,2477x$$

probit 5 = 50% peredaman

jika  $y = 5$ ,

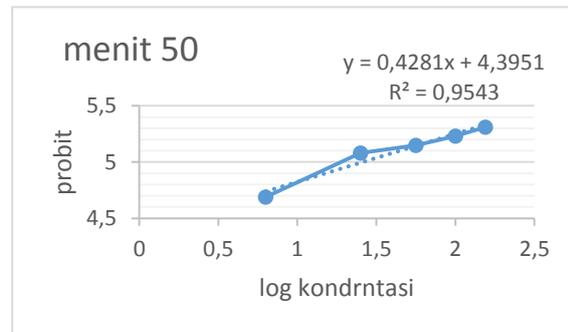
maka :

$$5 = 4,6908 + 0,2477x$$

$$\text{Antilog } x = 1,245$$

| menit | konsentrasi | log konsentrasi | inhibisi   |
|-------|-------------|-----------------|------------|
| 50    | 6,25        | 0,8             | 51,3742072 |
|       | 25          | 1,4             | 53,4883721 |
|       | 56,25       | 1,75            | 55,602537  |
|       | 100         | 2               | 58,5623679 |
|       | 156,25      | 2,19            | 61,7336152 |

| log konsentrasi | probit |
|-----------------|--------|
| 0,8             | 4,69   |
| 1,4             | 5,08   |
| 1,75            | 5,15   |
| 2               | 5,23   |
| 2,19            | 5,31   |



$$a = 4,3951$$

$$b = 0,4281x$$

$$r = 0,9543$$

pers. Garis  $y = a + bx$

$$y = 4,39518 + 0,4281x$$

probit 5 = 50% peredaman

jika  $y = 5$ , maka :

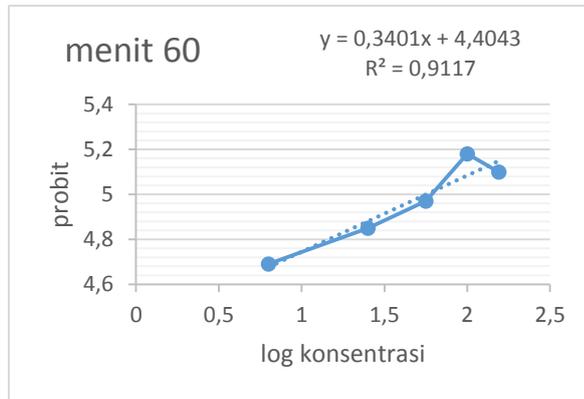
$$5 = 4,39518 + 0,4281x$$

$$x = 1,411$$

Antilog  $x = 25,763$

| menit | konsentrasi | log konsentrasi | inhibisi    |
|-------|-------------|-----------------|-------------|
| 60    | 6,25        | 0,8             | 38,47780127 |
|       | 25          | 1,4             | 44,18604651 |
|       | 56,25       | 1,75            | 49,47145877 |
|       | 100         | 2               | 56,87103594 |
|       | 156,25      | 2,19            | 54,33403805 |

| log konsentrasi | probit |
|-----------------|--------|
| 0,8             | 4,69   |
| 1,4             | 4,85   |
| 1,75            | 4,97   |
| 2               | 5,18   |
| 2,19            | 5,1    |



$$a=4,4043$$

$$b= 0,3401x$$

$$r=0,9117$$

pers. Garis

$$y= a + bx$$

$$y=4,4043 + 0,3401x$$

probit 5 = 50% peredaman

jika  $y = 5$ ,  
maka :

$$5=4,4043 + 0,3401x$$

$$x=1,751$$

Antilog  $x =$  56,36

### Lampiran 8 Perhitungan Sampel Kuersetin

200ppm dalam 10mL

#### **Pengenceran**

$$10 \text{ ppm} = \frac{10\text{ppm}}{200} \times 5 = 0,25\text{mL}$$

$$20 \text{ ppm} = \frac{20\text{ppm}}{200} \times 5 = 0,5\text{mL}$$

$$30 \text{ ppm} = \frac{30\text{ppm}}{200} \times 5 = 0,75\text{mL}$$

$$40 \text{ ppm} = \frac{40\text{ppm}}{200} \times 5 = 1\text{mL}$$

$$50 \text{ ppm} = \frac{50\text{ppm}}{200} \times 5 = 1,25\text{mL}$$

#### **Perhitungan konsentrasi ekstrak dalam labu takar**

$$10 \text{ ppm} = \frac{0,25}{5} \times 10 = 0,5\text{ppm}$$

$$20 \text{ ppm} = \frac{0,5}{5} \times 20 = 2\text{ppm}$$

$$30 \text{ ppm} = \frac{0,75}{5} \times 30 = 4,5\text{ppm}$$

$$40 \text{ ppm} = \frac{1}{5} \times 40 = 8\text{ppm}$$

$$50 \text{ ppm} = \frac{1,25}{5} \times 50 = 12,5\text{ppm}$$

#### **Perhitungan konsentrasi ekstrak dalam kuvet**

$$10 \text{ ppm} = \frac{0,5 \text{ ppm}}{4 \text{ ml}} \times 5 = 0,625 \text{ ppm}$$

$$20 \text{ ppm} = \frac{2 \text{ ppm}}{4 \text{ ml}} \times 5 = 2,5 \text{ ppm}$$

$$30 \text{ ppm} = \frac{4,5 \text{ ppm}}{4 \text{ ml}} \times 5 = 5,62 \text{ ppm}$$

$$40 \text{ ppm} = \frac{8 \text{ ppm}}{4 \text{ ml}} \times 5 = 10 \text{ ppm}$$

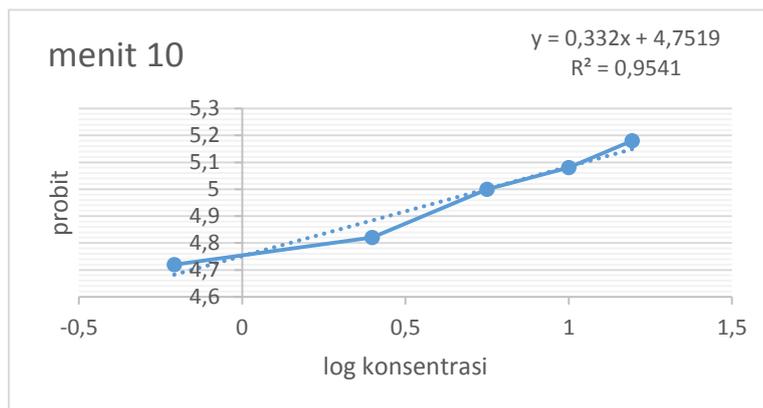
$$50 \text{ ppm} = \frac{12,5 \text{ ppm}}{4 \text{ ml}} \times 5 = 15,62 \text{ ppm}$$

## Lampiran 9 Optimasi Waktu Inkubasi Kuersetin Dengan Probit

| sampel    | menit  | konsentrasi | abs   | %inhibisi |
|-----------|--------|-------------|-------|-----------|
| DPPH      | blanko |             | 0,451 |           |
| kuersetin | 10     | 0,62        | 0,275 | 39,024    |
|           |        | 2,5         | 0,256 | 43,237    |
|           |        | 5,62        | 0,227 | 49,667    |
|           |        | 10          | 0,21  | 53,437    |
|           |        | 15,62       | 0,195 | 56,763    |
|           | 20     | 0,62        | 0,252 | 44,124    |
|           |        | 2,5         | 0,232 | 48,559    |
|           |        | 5,62        | 0,221 | 50,998    |
|           |        | 10          | 0,211 | 53,215    |
|           |        | 15,62       | 0,202 | 55,211    |
|           | 30     | 0,62        | 0,242 | 46,341    |
|           |        | 2,5         | 0,218 | 51,663    |
|           |        | 5,62        | 0,213 | 52,772    |
|           |        | 10          | 0,194 | 55,391    |
|           |        | 15,62       | 0,194 | 56,984    |
|           | 40     | 0,62        | 0,246 | 45,455    |
|           |        | 2,5         | 0,217 | 51,885    |
|           |        | 5,62        | 0,213 | 52,772    |
|           |        | 10          | 0,206 | 54,324    |
|           |        | 15,62       | 0,187 | 58,537    |
|           | 50     | 0,62        | 0,248 | 45,011    |
|           |        | 2,5         | 0,241 | 46,563    |
|           |        | 5,62        | 0,21  | 53,437    |
|           |        | 10          | 0,187 | 58,537    |
|           |        | 15,62       | 0,181 | 59,867    |
|           | 60     | 0,62        | 0,238 | 47,228    |
|           |        | 2,5         | 0,231 | 48,780    |
|           |        | 5,62        | 0,209 | 53,659    |
|           |        | 10          | 0,189 | 58,093    |
|           |        | 15,62       | 0,186 | 58,758    |

| menit | konsentrasi | log konsentrasi | %inhisi   |
|-------|-------------|-----------------|-----------|
| 10    | 0,62        | -0,301          | 39,02439  |
|       | 2,5         | 0,301           | 43,237251 |
|       | 5,62        | 0,653           | 49,667406 |
|       | 10          | 0,903           | 53,436807 |
|       | 15,62       | 1,097           | 56,762749 |

| log konsentrasi | probit |
|-----------------|--------|
| -0,208          | 4,72   |
| 0,398           | 4,82   |
| 0,75            | 5      |
| 1               | 5,08   |
| 1,194           | 5,18   |



$$a = 4,7519$$

$$b = 0,332x$$

$$r = 0,9541$$

pers. Garis

$$y = a + bx$$

$$y = 4,7519 + 0,332x$$

probit 5 = 50% peredaman

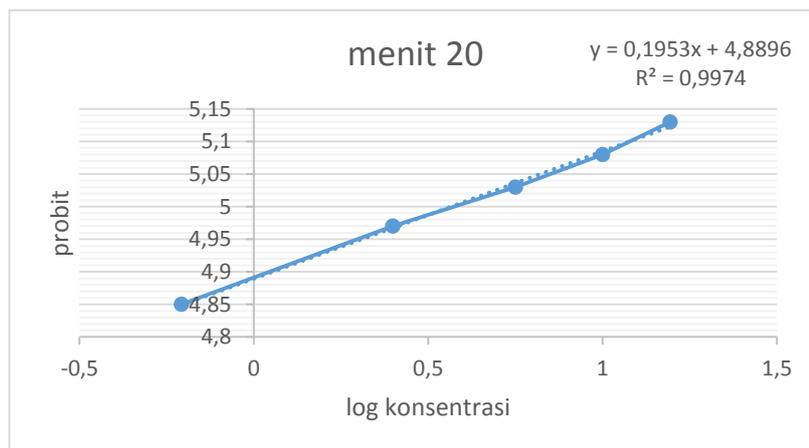
$$\text{jika } y = 5, \quad 5 = 4,7519 +$$

$$\text{maka :} \quad 0,332x$$

$$x = 0,747$$

| menit | konsentrasi | log konsentrasi | inhibisi  |
|-------|-------------|-----------------|-----------|
| 20    | 0,62        | -0,208          | 44,124169 |
|       | 2,5         | 0,398           | 48,558758 |
|       | 5,62        | 0,75            | 50,997783 |
|       | 10          | 1               | 53,215078 |
|       | 15,62       | 1,194           | 55,210643 |

| log konsentrasi | probit |
|-----------------|--------|
| -0,208          | 4,85   |
| 0,398           | 4,97   |
| 0,75            | 5,03   |
| 1               | 5,08   |
| 1,194           | 5,13   |



$$a = 4,9081$$

$$b = 0,1959x$$

$$r = 0,9974$$

pers. Garis  $y = a + bx$   
 $y = 4,9081 + 0,1959x$

probit 5 = 50% peredaman

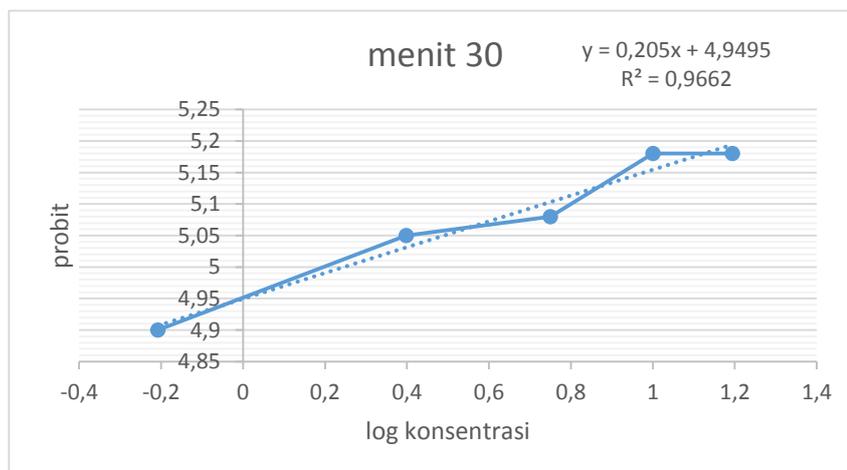
jika  $y = 5$ ,  
 maka :  $5 = 4,9081 + 0,1959x$

$$x=0,565$$

$$\text{Antilog } x = 3,673$$

| menit | konsentrasi | log konsentrasi | inhibisi  |
|-------|-------------|-----------------|-----------|
| 30    | 0,62        | -0,208          | 46,341463 |
|       | 2,5         | 0,398           | 51,662971 |
|       | 5,62        | 0,75            | 52,771619 |
|       | 10          | 1               | 56,984479 |
|       | 15,62       | 1,194           | 56,984479 |

| log konsentrasi | probit |
|-----------------|--------|
| -0,208          | 4,9    |
| 0,398           | 5,05   |
| 0,75            | 5,08   |
| 1               | 5,18   |
| 1,194           | 5,18   |



$$a = 4,9495$$

$$b = 0,205x$$

$$r = 0,9662$$

pers. Garis  $y = a + bx$   
 $y = 0,205x + 4,9495$

probit 5 = 50% peredaman

jika  $y = 5$ , maka

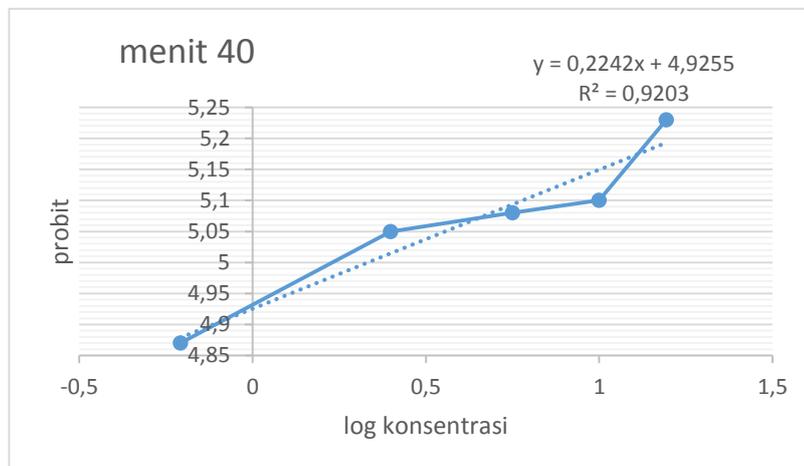
$$5 = 0,205x + 0,2055x$$

$$x = 0,246$$

$$\text{Antilog } x = 1,762$$

| menit | konsentrasi | log konsentrasi | inhibisi  |
|-------|-------------|-----------------|-----------|
| 40    | 0,62        | -0,208          | 45,454545 |
|       | 2,5         | 0,398           | 51,884701 |
|       | 5,62        | 0,75            | 52,771619 |
|       | 10          | 1               | 54,323725 |
|       | 15,62       | 1,194           | 58,536585 |

| log konsentrasi | probit |
|-----------------|--------|
| -0,208          | 4,87   |
| 0,398           | 5,05   |
| 0,75            | 5,08   |
| 1               | 5,1    |
| 1,194           | 5,23   |



$$a = 4,9255$$

$$b = 0,2242x$$

$$r = 0,9201$$

pers. Garis  $y = a + bx$   
 $y = 4,9255 + 0,2242x$

probit 5 = 50% peredaman

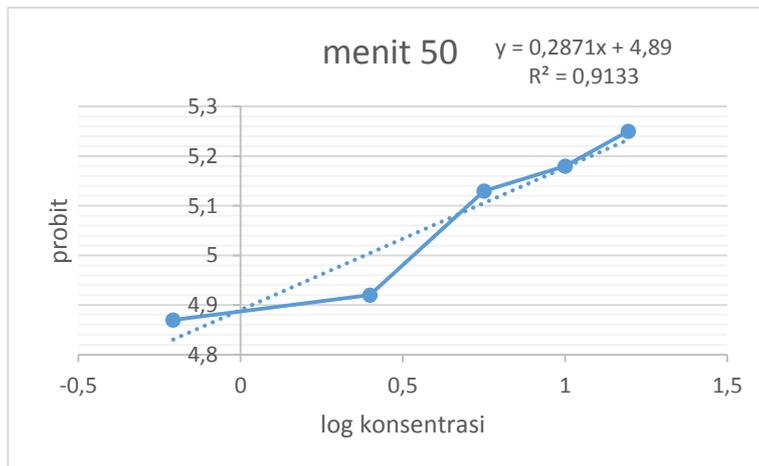
jika  $y = 5$ ,

maka :  $5 = 4,9255 + 0,2242x$   
 $x = 0,332$

Antilog  $x = 2,148$

| menit | konsentrasi | log konsentrasi | inhibisi  |
|-------|-------------|-----------------|-----------|
| 50    | 0,62        | -0,208          | 45,011086 |
|       | 2,5         | 0,398           | 46,563193 |
|       | 5,62        | 0,75            | 53,436807 |
|       | 10          | 1               | 58,536585 |
|       | 15,62       | 1,194           | 59,866962 |

| log konsentrasi | probit |
|-----------------|--------|
| -0,208          | 4,87   |
| 0,398           | 4,92   |
| 0,75            | 5,13   |
| 1               | 5,18   |
| 1,194           | 5,25   |



$a = 4,89$

$b = 0,2871x$

$r = 0,9133$

pers. Garis  $y = a + bx$   
 $y = 4,89 + 0,2871x$

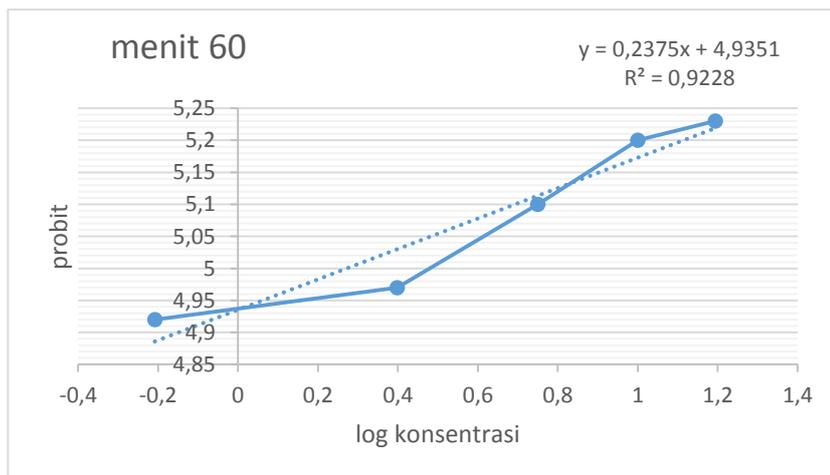
probit 5 = 50% peredaman

jika  $y = 5$ , maka :  $5 = 4,89 + 0,2871x$   
 $x = 0,383$

Antilog  $x = 2,415$

| menit | konsentrasi | log konsentrasi | inhibisi  |
|-------|-------------|-----------------|-----------|
| 60    | 0,62        | -0,208          | 47,228381 |
|       | 2,5         | 0,398           | 48,780488 |
|       | 5,62        | 0,75            | 53,658537 |
|       | 10          | 1               | 58,093126 |
|       | 15,62       | 1,194           | 58,758315 |

| log konsentrasi | probit |
|-----------------|--------|
| -0,208          | 4,92   |
| 0,398           | 4,97   |
| 0,75            | 5,1    |
| 1               | 5,2    |
| 1,194           | 5,23   |



$a = 4,9351$

$b = 0,2375x$

$$r=0,9228$$

pers. Garis

$$y = a + bx$$
$$y = 4,9576 + 0,2375x$$

probit 5 = 50% peredaman

jika  $y = 5$ ,  
maka :

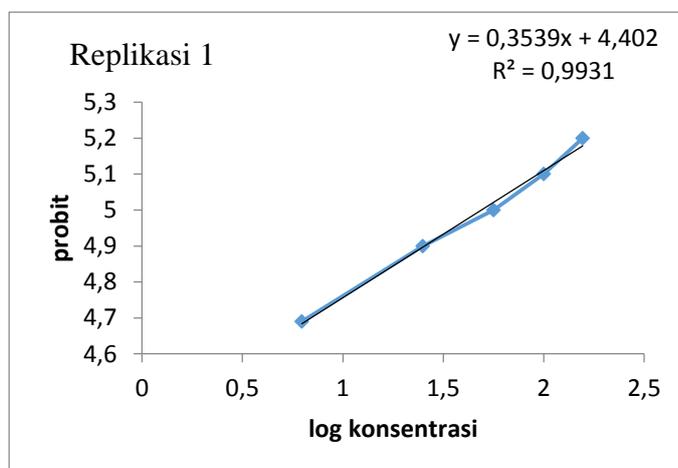
$$5 = 4,9576 + 0,2375x$$
$$x = 0,273$$

Antilog  $x =$  1,875

Lampiran 10 Perhitungan Nilai IC<sub>50</sub> Ekstrak Etanol Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Dengan Replikasi Tiga Kali

| replikasi | konsentrasi | log konsentrasi | inhibisi |
|-----------|-------------|-----------------|----------|
| 1         | 6,25        | 0,796           | 38,974   |
|           | 25          | 1,398           | 47,521   |
|           | 56,25       | 1,75            | 53,675   |
|           | 100         | 2               | 56,239   |
|           | 156,25      | 2,194           | 61,538   |

| log konsentrasi | probit |
|-----------------|--------|
| 0,796           | 4,69   |
| 1,398           | 4,90   |
| 1,75            | 5,00   |
| 2               | 5,10   |
| 2,194           | 5,20   |



$$a=4,402$$

$$b=0,3539x$$

$$r=0,9931$$

pers. Garis

$$y = a + bx$$

$$y = 4,402 + 0,3539x$$

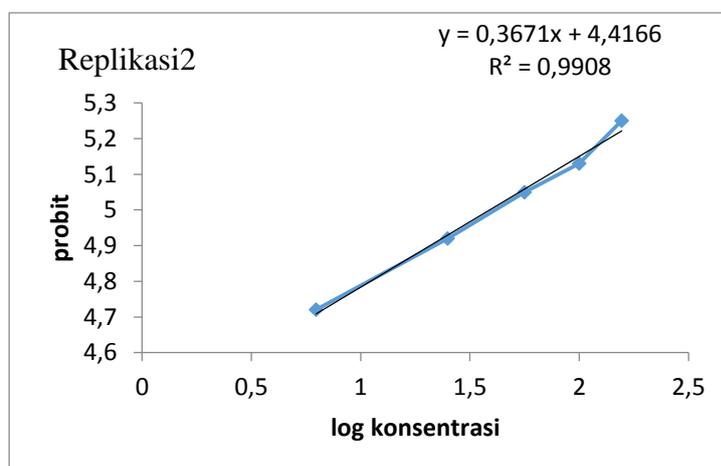
probit 5 = 50% peredaman

jika  $y = 5$ ,  
 maka :  $5 = 4,402 + 0,3539x$   
 $x = 1,541$

Antilog  $x = 34,754$  (sangat kuat)

| replikasi | konsentrasi | log konsentrasi | inhibisi |
|-----------|-------------|-----------------|----------|
| 2         | 25          | 1,4             | 38,632   |
|           | 50          | 1,7             | 47,179   |
|           | 75          | 1,87            | 52,137   |
|           | 100         | 2               | 55,385   |
|           | 125         | 2,1             | 60,171   |

| log konsentrasi | probit |
|-----------------|--------|
| 0,796           | 4,72   |
| 1,398           | 4,92   |
| 1,75            | 5,05   |
| 2               | 5,13   |
| 2,194           | 5,25   |



$a = 4,4166$   
 $b = 0,3671x$   
 $r = 0,9908$

pers. Garis  $y = a + bx$   
 $y = 4,4166 + 0,3671x$

probit 5 = 50% peredaman

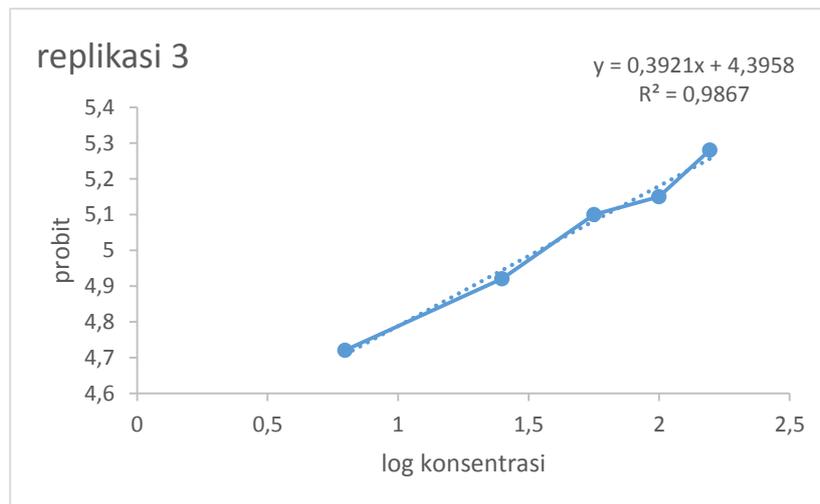
jika  $y = 5$ , maka

$$\begin{aligned} : \quad & 5 = 4,4166 + 0,3671x \\ & x = 1,589 \end{aligned}$$

Antilog  $x = 38,815$  (sangat kuat)

| replikasi | konsentrasi | log konsentrasi | inhibisi |
|-----------|-------------|-----------------|----------|
| 3         | 25          | 1,4             | 38,974   |
|           | 50          | 1,7             | 47,521   |
|           | 75          | 1,87            | 53,675   |
|           | 100         | 2               | 56,239   |
|           | 125         | 2,1             | 61,538   |

| log konsentrasi | probit |
|-----------------|--------|
| 0,796           | 4,72   |
| 1,398           | 4,92   |
| 1,75            | 5,10   |
| 2               | 5,15   |
| 2,194           | 5,28   |



$$a = 4,3958$$

$$b = 0,64x$$

$$r = 0,9867$$

pers. Garis       $y = a + bx$   
                      $y = 4,39580,3921x$

probit 5 = 50% peredaman

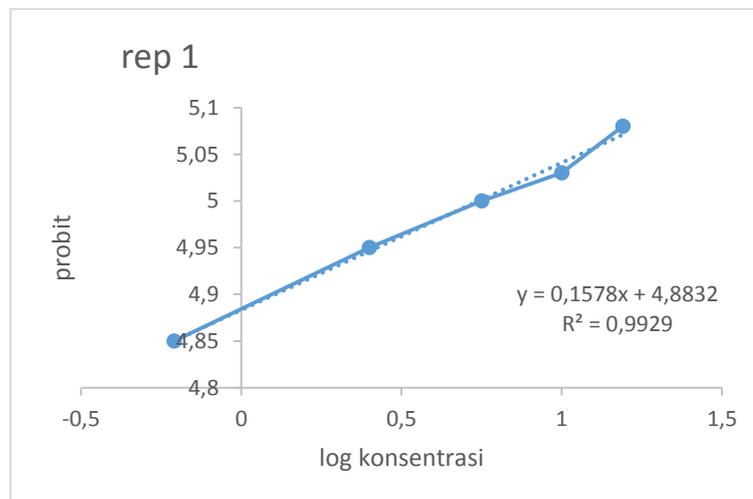
jika  $y = 5$ , maka  
:  
                      $5 = 4,39580,3921x$   
                      $x = 1,541$

Antilog  $x =$       34,754 (sangat kuat)

Lampiran 11 Perhitungan Nilai IC<sub>50</sub> Kuersetin

| menit | konsentrasi | log konsentrasi | %inhibisi |
|-------|-------------|-----------------|-----------|
| rep 1 | 0,62        | -0,21           | 44,094    |
|       | 2,5         | 0,40            | 48,031    |
|       | 5,62        | 0,75            | 49,921    |
|       | 10          | 1,00            | 51,024    |
|       | 15,62       | 1,19            | 52,756    |

| log konsentrasi | probit |
|-----------------|--------|
| -0,21           | 4,85   |
| 0,4             | 4,95   |
| 0,75            | 5,00   |
| 1               | 5,03   |
| 1,19            | 5,08   |



$$a=4,8832$$

$$b=0,1578x$$

$$r=0,9929$$

pers. Garis       $y = a + bx$   
 $y = 4,8832 + 0,1578x$

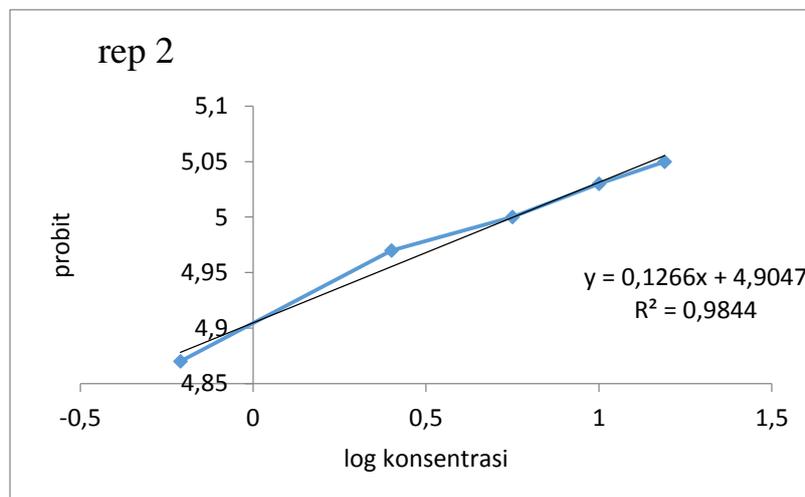
probit 5 = 50% peredaman

jika  $y = 5$ ,  
 maka :  $5 = 4,8832 + 0,4389x$   
 $x = 0,741$

Antilog  $x = 5,508$

| menit | konsentrasi | log konsentrasi | %inhibisi |
|-------|-------------|-----------------|-----------|
| rep 2 | 0,62        | -0,21           | 44,724    |
|       | 2,5         | 0,40            | 49,449    |
|       | 5,62        | 0,75            | 50,394    |
|       | 10          | 1,00            | 51,181    |
|       | 15,62       | 1,19            | 52,441    |

| log konsentrasi | probit |
|-----------------|--------|
| -0,21           | 4,87   |
| 0,4             | 4,97   |
| 0,75            | 5      |
| 1               | 5,03   |
| 1,19            | 5,05   |



$a = 4,9047$   
 $b = 0,1266x$   
 $r = 0,9844$

pers. Garis  $y = a + bx$   
 $y = 4,9047 + 0,1266x$

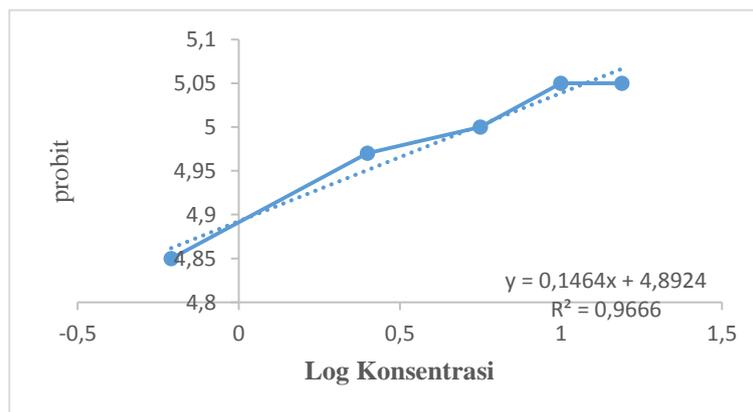
probit 5 = 50% peredaman

jika  $y = 5$ , maka :  $5 = 4,9047 + 0,1266x$   
 $x = 0,753$

Antilog  $x = 5,662$

| menit | konsentrasi | log konsentrasi | %inhibisi |
|-------|-------------|-----------------|-----------|
| rep 3 | 0,62        | -0,21           | 44,567    |
|       | 2,5         | 0,4             | 48,819    |
|       | 5,62        | 0,75            | 50,236    |
|       | 10          | 1               | 52,126    |
|       | 15,62       | 1,19            | 52,283    |

| log konsentrasi | probit |
|-----------------|--------|
| -0,21           | 4,85   |
| 0,4             | 4,97   |
| 0,75            | 5      |
| 1               | 5,05   |
| 1,19            | 5,05   |



$a = 4,8924$   
 $b = 0,1464x$   
 $r = 0,9666$

pers. Garis  $y = a + bx$   
 $y = 4,8924 +$   
 $0,1464x$

probit 5 = 50% peredaman

jika  $y = 5$ ,  
maka :  $5 = 4,8924 + 0,1464x$   
 $x = 0,736$

Antilog  $x = 5,445$

*Lampiran 12 Nilai absorbansi dan %Inhibisi Kuersetin Dengan Replikasi 3x*

| <b>Kuersetin</b> |                    |                   |                   |
|------------------|--------------------|-------------------|-------------------|
| <b>Replikasi</b> | <b>Konsentrasi</b> | <b>Absorbansi</b> | <b>% Inhibisi</b> |
| <b>Blanko</b>    |                    | 0,635             |                   |
| R1               | 0,62               | 0,355             | 44,094            |
|                  | 2,5                | 0,33              | 48,031            |
|                  | 5,62               | 0,318             | 49,921            |
|                  | 10                 | 0,311             | 51,024            |
|                  | 15,62              | 0,3               | 52,756            |
| R2               | 0,62               | 0,351             | 44,724            |
|                  | 2,5                | 0,321             | 49,449            |
|                  | 5,62               | 0,315             | 50,394            |
|                  | 10                 | 0,31              | 51,181            |
|                  | 15,62              | 0,302             | 52,441            |
| R3               | 0,62               | 0,352             | 44,567            |
|                  | 2,5                | 0,325             | 48,819            |
|                  | 5,62               | 0,316             | 50,236            |
|                  | 10                 | 0,304             | 52,126            |
|                  | 15,62              | 0,303             | 52,283            |

*Lampiran 13 Nilai absorbansi dan %Inhibisi Ekstrak Dengan Replikasi 3x*

| <b>Ekstrak Biji Kopi Robusta</b> |                    |                   |                   |
|----------------------------------|--------------------|-------------------|-------------------|
| <b>Replikasi</b>                 | <b>Konsentrasi</b> | <b>Absorbansi</b> | <b>% Inhibisi</b> |
| <b>Blanko</b>                    |                    | 0,585             |                   |
| R1                               | 6,25               | 0,357             | 38,974            |
|                                  | 25                 | 0,307             | 47,521            |
|                                  | 56,25              | 0,271             | 53,675            |
|                                  | 100                | 0,256             | 56,239            |
|                                  | 156,25             | 0,225             | 61,538            |
| R1                               | 6,25               | 0,359             | 38,632            |
|                                  | 25                 | 0,309             | 47,179            |
|                                  | 56,25              | 0,28              | 52,137            |
|                                  | 100                | 0,261             | 55,385            |
|                                  | 156,25             | 0,233             | 60,171            |
| R1                               | 6,25               | 0,357             | 38,974            |
|                                  | 25                 | 0,307             | 47,521            |
|                                  | 56,25              | 0,271             | 53,675            |
|                                  | 100                | 0,256             | 56,239            |
|                                  | 156,25             | 0,225             | 61,538            |

## Lampiran 14 Tabel Probit

Table 3.2 Transformation of percentages to probits

| %  | 0    | 1    | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9    |
|----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 0  | —    | 2.67 | 2.95 | 3.12 | 3.25 | 3.36 | 3.45 | 3.52 | 3.59 | 3.66 |
| 10 | 3.72 | 3.77 | 3.82 | 3.87 | 3.92 | 3.96 | 4.01 | 4.05 | 4.08 | 4.12 |
| 20 | 4.16 | 4.19 | 4.23 | 4.26 | 4.29 | 4.33 | 4.36 | 4.39 | 4.42 | 4.45 |
| 30 | 4.48 | 4.50 | 4.53 | 4.56 | 4.59 | 4.61 | 4.64 | 4.67 | 4.69 | 4.72 |
| 40 | 4.75 | 4.77 | 4.80 | 4.82 | 4.85 | 4.87 | 4.90 | 4.92 | 4.95 | 4.97 |
| 50 | 5.00 | 5.03 | 5.05 | 5.08 | 5.10 | 5.13 | 5.15 | 5.18 | 5.20 | 5.23 |
| 60 | 5.25 | 5.28 | 5.31 | 5.33 | 5.36 | 5.39 | 5.41 | 5.44 | 5.47 | 5.50 |
| 70 | 5.52 | 5.55 | 5.58 | 5.61 | 5.64 | 5.67 | 5.71 | 5.74 | 5.77 | 5.81 |
| 80 | 5.84 | 5.88 | 5.92 | 5.95 | 5.99 | 6.04 | 6.08 | 6.13 | 6.18 | 6.23 |
| 90 | 6.28 | 6.34 | 6.41 | 6.48 | 6.55 | 6.64 | 6.75 | 6.88 | 7.05 | 7.33 |
| —  | 0.0  | 0.1  | 0.2  | 0.3  | 0.4  | 0.5  | 0.6  | 0.7  | 0.8  | 0.9  |
| 99 | 7.33 | 7.37 | 7.41 | 7.46 | 7.51 | 7.58 | 7.65 | 7.75 | 7.88 | 8.09 |



## UNIVERSITAS dr. SOEBANDI

FAKULTAS ILMU KESEHATAN DAN FAKULTAS EKONOMI DAN BISNIS

Jl. Dr Soebandi No. 99 Jebelre, Telp/Fax: (0331) 483536,

E-mail : [info@iainkekesoebandibanda.ac.id](mailto:info@iainkekesoebandibanda.ac.id) / <http://www.iainkekesoebandi.ac.id>

### LEMBAR KONSULTASI PEMBIMBINGAN PROPOSAL SKRIPSI/TUGAS AKHIR PROGRAM STUDI SI FARMASI UNIVERSITAS dr. SOEBANDI

Nama Mahasiswa : Halimatus Zahroh

NIM : 18040040

Judul : UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL BIJI KOPI ROBUSTA (*Coffea Canephora*) DENGAN

METODE DPPH (1,1-Diphenyl-2-picryl-Hydrazil)

| No | Tanggal          | Materi yang Dikonsumsi dan Masukan Pembimbing   | TTD Pembimbing Utama  | No | Tanggal    | Materi yang Dikonsumsi dan Masukan Pembimbing   | TTD Pembimbing Anggota  |
|----|------------------|---|---|----|------------|---|---|
| 1. | 22 November 2021 | Pengajuan Judul   |  | 1  | 26/11/2021 | 1. Pembinaan bab I<br>2. Penulisan masalah<br>3. Penulisan Judul<br>4. Pengajuan singkatan<br>5. melengkapi singkatan |  |
| 2. | 24/11/2021       | 1. Pembinaan bab I<br>2. Keaslian penulisan masalah<br>3. Penulisan masalah<br>4. Pengajuan penulisan |  | 2. | 14/12/2021 | 1. konsultasi bab II<br>2. Revisi bab I   |  |

Lampiran 15 Lembar Konsultasi



## UNIVERSITAS dr. SOEBANDI

FAKULTAS ILMU KESEHATAN DAN FAKULTAS EKONOMI DAN BISNIS

Jl. Dr. Soebandi No. 99 Jember, Telp/Fax. (0331) 483336,

E-mail : [info@stikessoebandi.ac.id](mailto:info@stikessoebandi.ac.id); <http://www.stikessoebandi.ac.id>

| No | Tanggal    | Materi yang Dikonsumsi dan Masukan Pembimbing | TTD Pembimbing Utama | No | Tanggal    | Materi yang Dikonsumsi dan Masukan Pembimbing | TTD Pembimbing Anggota |
|----|------------|---|----------------------|----|------------|---|------------------------|
| 3. | 7/12/2021  | 1. konsultasi bab 2<br>2. revisi bab 1        |                      | 3. | 16/12/2021 | revisi bab 1<br>konsultasi bab 2              |                        |
| 4. | 18/02/2022 | revisi bab 1<br>revisi bab 2                  |                      | 4. | 10/12/2021 | revisi bab 2<br>konsultasi bab 3              |                        |
| 5. | 02/12/2021 | konsultasi Bab 3<br>revisi Bab 2              |                      | 5. | 22/12/2021 | revisi bab 3 dan bab 2                        |                        |
| 6. | 14/01/2022 | konsultasi Bab 4<br>revisi Bab I, 2, 3        |                      | 6. | 20/12/2021 | konsultasi Bab 4                              |                        |



## UNIVERSITAS dr. SOEBANDI

FAKULTAS ILMU KESEHATAN DAN FAKULTAS EKONOMI DAN BISNIS

Jl. Dr. Soebandi No. 99 Jember, Telp/Fax: (0331) 483336,

E-mail: info@stikesdrsoebandi.ac.id / fbsdr - http://www.stikesdrsoebandi.ac.id

| No | Tanggal        | Materi yang Dikonsumsi dan Masukan Pembimbing    | TTD Pembimbing Utama | No | Tanggal        | Materi yang Dikonsumsi dan Masukan Pembimbing                | TTD Pembimbing Anggota |
|----|----------------|--|----------------------|----|----------------|--|------------------------|
| 7. | 24 / 01 / 2022 | 1. Revisi Bab 1, 2, 3, 4,<br>2. Perubahan Judul. |                      | 7. | 26 / 01 / 2022 | 1. Revisi Bab 1, 2, 3, 4<br>2. Pengayaan dan perubahan Judul |                        |
| 8. | 23 / 01 / 2022 | Revisi bab 1, 2, 3, 4.                           |                      | 8. | 28 / 01 / 2022 | Revisi Bab 4.  |                        |
|    |                |  |                      |    |                |  |                        |



## UNIVERSITAS dr. SOEBANDI

FAKULTAS ILMU KESEHATAN DAN FAKULTAS EKONOMI DAN BISNIS  
 Jl. Dr. Soebandi No. 99 Jember, Telp/Fax: (0331) 483536,  
 E-mail : info@atibsoebandibandi.ac.id Website : <http://www.atibsoebandibandi.ac.id>

### LEMBAR KONSULTASI PEMBIMBINGAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI UNIVERSITAS dr. SOEBANDI

Nama Mahasiswa : Haimatus Zahroh

NIM : 18040040

Judul : UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL Biji KOPROBUSTA (*Coffea Canephora*) DENGAN

METODE DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl)

| No | Tanggal         | Materi yang Dikonsultasikan dan Masukan Pembimbing  | TTD Pembimbing Utama | No | Tanggal           | Materi yang Dikonsultasikan dan Masukan Pembimbing                      | TTD Pembimbing Anggota |
|----|-----------------|---|----------------------|----|-------------------|---|------------------------|
| 1  | 22 Agustus 2022 | 1. Hasil optimasi pada kuerstein, (G. Inhibisi dan Khasi Leo)<br>2. Penggunaan analisis Proxidi Straining |                      | 1  | 22 Agustus 2022   | Konsultasi Hari 1 Struktur dan Optimasi waktu inkubasi pada kuerstein   |                        |
| 2  | 24 Agustus 2022 | 1. Hasil optimasi kuerstein yang telah direvisi<br>2. Hasil optimasi etilak dan diraklitan                |                      | 2  | 02 September 2022 | Konsultasi hasil dan penulisan hasil optimasi, revisi penulisan skripsi |                        |



## UNIVERSITAS dr. SOEBANDI

FAKULTAS ILMU KESEHATAN DAN FAKULTAS EKONOMI DAN BISNIS

Jl. Dr. Soebandi No. 99, Jember, Telp/Fax: (0331) 483536,

E-mail: [info@unsoeb.ac.id](mailto:info@unsoeb.ac.id), [lib@unsoeb.ac.id](mailto:lib@unsoeb.ac.id), [hr@unsoeb.ac.id](mailto:hr@unsoeb.ac.id)

### LEMBAR KONSULTASI PEMBIMBINGAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI UNIVERSITAS dr. SOEBANDI

Nama Mahasiswa : Halimatus Zahroh

NIM : 18040040

Judul : Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Biji Kopi Robusta (*Coffea Canephora*) Dengan

METODE DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl)

| No | Tanggal         | Materi yang Dikonsultasikan dan Masukan Pembimbing                           | TTD Pembimbing Utama | No | Tanggal           | Materi yang Dikonsultasikan dan Masukan Pembimbing | TTD Pembimbing Anggota |
|----|-----------------|--|----------------------|----|-------------------|--|------------------------|
| 3  | 26 Agustus 2022 | Hasil optimasi waktu inkubasi pada etanol + prelor                           |                      | 3  | 13 September 2022 | Hasil pengujian Antioksidan dan kes                |                        |
| 4  | 24 Agustus 2022 | Hasil optimasi etanol dan konsentrasi + prelor ditambah pada menit 40 dan 50 |                      | 4  | 18 September 2022 | Konsentrasi 50 & 5-7                               |                        |



## UNIVERSITAS dr. SOEBANDI

FAKULTAS ILMU KESEHATAN DAN FAKULTAS EKONOMI DAN BISNIS

Jl. Dr Soebandi No. 99 Jember, Telp/Fax. (0331) 483536,

E-mail : info@atkeid.soebandi.ac.id Website : http://www.atkeid.soebandi.ac.id

### LEMBAR KONSULTASI PEMBIMBINGAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI UNIVERSITAS dr. SOEBANDI

Nama Mahasiswa : Halmatus Zahroh

NIM : 18040040

Judul : UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL BIJI KOPI ROBUSTA (*Coffea Canephora*) DENGAN

METODE DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl)

| No | Tanggal           | Materi yang Dikonsultasikan dan Masukan Pembimbing                             | TTD Pembimbing Utama | No | Tanggal           | Materi yang Dikonsultasikan dan Masukan Pembimbing | TTD Pembimbing Anggota |
|----|-------------------|--|----------------------|----|-------------------|--|------------------------|
| 5  | 12 September 2022 | 1. Pengujian antioksidan ekstrak bawersan<br>2. Hasil eco yang telah diteliti. |                      | 5  | 20 September 2022 | Revisi Bab 5-7                                     |                        |
| 6  | 14 September 2022 | 1. Konsultasi Bab 5-7<br>2. Revisi Pendahuluan                                 |                      | 6  | 22 September 2022 | Revisi Pendahuluan                                 |                        |



## UNIVERSITAS dr. SOEBANDI

FAKULTAS ILMU KESEHATAN DAN FAKULTAS EKONOMI DAN BISNIS  
 Jl. Dr. Soebandi No. 99 Jember, Telp/Fax: (0331) 483536,  
 E-mail : [info@stikesdrsoebandi.ac.id](mailto:info@stikesdrsoebandi.ac.id) Website : <http://www.stikesdrsoebandi.ac.id>

### LEMBAR KONSULTASI PEMBIMBINGAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI UNIVERSITAS dr. SOEBANDI

Nama Mahasiswa : Halmatus Zahroh

NIM : 18040040

Judul : UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL BILI KOPRI ROBUSTA (*Coffea Canephora*) DENGAN  
 METODE DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl)

| No | Tanggal           | Materi yang Dikonsultasikan dan Masukan Pembimbing | TTD Pembimbing Utama | No | Tanggal           | Materi yang Dikonsultasikan dan Masukan Pembimbing | TTD Pembimbing Anggota |
|----|-------------------|--|----------------------|----|-------------------|--|------------------------|
| 7  | 19 September 2022 | 1. Revisi Bab 5-7<br>2. Konon Hasi abstrak         |                      | 7  | 24 September 22   | Revisi Pembahasan konsultasi abstrak               |                        |
| 8  | 24 September 2022 | Revisi Abstrak                                     |                      | 8  | 26 September 2022 | revisi Abstrak.                                    |                        |