

UJI AKTIFITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 70% BIJI KOPI ROBUSTA (*COFFEA ROBUSTA L.*) DI KUDUS DENGAN METODE DPPH

Galih Kurniawan^{a*}, Chabibah^b, Riana Putri Rahmawati^c, Fahrudin Arif^d, Fitri Apriliyani^e

^{abcde}Universitas Muhammadiyah Kudus, Jalan Ganesha 1 Purwosari, Kudus, Indonesia

Email : Galih@umkudus.ac.id

Abstrak

Antioksidan memiliki kapasitas untuk melindungi organisme terhadap serangan radikal bebas dan mengurangi dampak buruknya. Indonesia memiliki beragam tanaman yang menunjukkan kemampuan antioksidan. Kopi Robusta yang secara ilmiah dikenal dengan nama *Coffea Robusta L* merupakan tanaman yang terkenal dengan kemampuan antioksidannya karena kandungan alkaloid, flavonoid, polifenol, saponin, dan tanin. Kemampuan antioksidan pada kopi Robusta diduga berkaitan dengan adanya senyawa flavonoid dan polifenol. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kemampuan antioksidan ekstrak etanol 70% yang diperoleh dari biji kopi Robusta. Penelitian ini memerlukan penyelidikan empiris yang menganalisis sifat-sifat fitokimia secara kualitatif melalui pengujian. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% dievaluasi menggunakan teknik DPPH (1,1 difenil -2-pikrilhidrazil). Ekstrak diuji pada konsentrasi 25, 50, 100, 200, dan 400 ppm, dengan vitamin C sebagai bahan acuan. Aktivitas antioksidan dievaluasi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk memastikan nilai IC50, yang berfungsi sebagai ukuran hasil aktivitas antioksidan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% biji kopi menunjukkan aktivitas antioksidan sebesar 47,77 ppm, sedangkan aktivitas antioksidan vitamin C relatif lebih rendah yaitu 17,07 ppm. Nilai IC50 yang diperoleh dari uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% biji kopi Robusta menunjukkan derajat aktivitas antioksidan yang signifikan.

Kata Kunci: Ekstrak Kopi Robusta (*Coffea robusta L*), DPPH, Antioksidan

Abstract

Antioxidants has the capacity to safeguard the organism against assaults by free radicals and mitigate their adverse consequences. Indonesia possesses a diverse range of plants that exhibit antioxidant capabilities. Robusta coffee, scientifically known as Coffea Robusta L, is a plant that is recognised for its antioxidant capabilities due to the presence of alkaloids, flavonoids, polyphenols, saponins, and tannins. The antioxidant capabilities of Robusta coffee are thought to be associated with the presence of flavonoid and polyphenol compounds. This study aimed to evaluate the antioxidant capabilities of a 70% ethanol extract obtained from Robusta coffee beans. This research entails an empirical investigation that qualitatively analyses the attributes of phytochemicals via testing. The antioxidant activity of the 70% ethanol extract was evaluated using the DPPH (1,1 diphenyl -2-picrylhydrazyl) technique. The extract was tested at concentrations of 25, 50, 100, 200, and 400 ppm, with vitamin C serving as the reference ingredient. The antioxidant activity was evaluated by employing a UV-Vis spectrophotometer to ascertain the IC50 value, which serves as a measure of the antioxidant activity outcomes. The results indicated that the 70% ethanol extract of coffee beans exhibited an antioxidant activity of 47.77 ppm, whereas the antioxidant activity of vitamin C was comparatively lower at 17.07 ppm. The IC50 value derived from the antioxidant activity assay of the 70% ethanol extract of Robusta coffee beans indicates a significant degree of antioxidant activity.

Keywords: Robusta Coffee Extract (*Coffea robusta L*), DPPH, Antioxidant

I. PENDAHULUAN

Paparan radiasi ultraviolet (UV) dalam waktu lama merangsang produksi radikal bebas, yang berpotensi membahayakan kulit.

Radikal bebas adalah molekul yang sangat reaktif yang memiliki elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Sistem kekebalan tubuh menjadi tidak mencukupi

akibat penyebab seperti stres, radiasi, asap rokok, dan pencemaran lingkungan, yang menyebabkan peningkatan jumlah radikal bebas. Akibatnya, tubuh membutuhkan tambahan antioksidan eksternal untuk melawan serangan radikal bebas yang terus menerus (Putri et al., 2019).

Antioksidan merupakan senyawa yang mempunyai kemampuan menghambat, menangkal, dan membasmi proses-proses yang disebabkan oleh radikal bebas. Antioksidan adalah senyawa kimia yang melindungi unsur biologis, seperti lipid, protein, vitamin, dan DNA, dengan mencegah kerusakan atau perubahan warna akibat oksidasi (Silvia et al., 2016).

Antioksidan menawarkan manfaat besar bagi kesehatan seseorang. Antioksidan adalah senyawa yang dapat mendonorkan elektronnya kepada radikal bebas tanpa mengganggu fungsinya, sehingga mengganggu reaksi berantai radikal bebas. Senyawa radikal bebas memiliki elektron yang tidak berpasangan pada kulit terluarnya, sehingga menyebabkan senyawa tersebut secara aktif mencari perolehan elektron dari jaringan tubuh yang terdiri dari sel. Radikal bebas, ketika memasuki tubuh, menyebabkan kerusakan pada sel, protein, enzim, dan akhirnya nukleus, tempat berlangsungnya sintesis DNA. Kerusakan sel dapat memicu berbagai penyakit, seperti penyakit jantung koroner, kanker, katarak, dan gangguan degenerative (Wibawa et al., 2020).

Antioksidan berperan sebagai mekanisme pertahanan utama dalam tubuh kita dalam melindungi tubuh dari kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal menjaga kesehatan fisik yang optimal. Antioksidan menangkal atau menstabilkan radikal bebas sebelum menyerang sel. Antioksidan sangat penting untuk menjaga kesehatan seluler dan sistemik. Radikal bebas biasanya berkontribusi terhadap perkembangan sebagian besar penyakit. Namun pembentukan radikal bebas dalam tubuh kita dapat dikendalikan oleh antioksidan endogen. Tingkat antioksidan yang tidak mencukupi dalam tubuh kita dapat menyebabkan penumpukan bahaya radikal bebas, yang menyebabkan konsekuensi kesehatan yang besar. Antioksidan terdapat

dalam berbagai zat, seperti vitamin C, vitamin E, atau berbagai sumber makanan dan minuman, termasuk minuman kopi (Hasyim Ibroham et al., 2022).

Berbagai laporan penelitian telah dilakukan mengenai efek kopi. Salah satu laporan yang dibuat oleh Farhaty (2017) menyoroti dampak buruk kopi, sementara penelitian lain menunjukkan bahwa kopi dapat memberikan efek menguntungkan bagi kesehatan. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa kopi memiliki sejumlah besar polifenol, yang secara signifikan berkontribusi terhadap sifat antioksidannya. Kopi mengandung polifenol dan melanoid yang menunjukkan sifat antioksidan kuat. Senyawa polifenol terdapat pada kopi, khususnya pada biji kopi Robusta dan Arabika. Polifenol memiliki sifat antioksidan yang berkontribusi terhadap perlindungan penyakit kardiovaskular, kanker, dan osteoporosis. Selain itu, mereka diyakini memiliki peran dalam pencegahan penyakit neurodegeneratif dan diabetes mellitus (Suena & Antari, 2020).

Senyawa polifenol ditandai dengan adanya beberapa gugus fenol. Tumbuhan menghasilkan turunan kimia fenolik sebagai metabolit sekunder primernya. Kehadiran fenol dan polifenol dalam tanaman memberikan pengaruh besar terhadap kesejahteraan secara keseluruhan dan dapat mengurangi kemungkinan berkembangnya penyakit kronis dan degeneratif. Bahan kimia fenolik memiliki efek antioksidan, antikanker, antivirus, dan antibakteri (Putri et al., 2019).

Alkaloid, tanin, saponin, dan polifenol ditemukan dalam biji kopi Robusta. Dua senyawa polifenol utama yang ditemukan dalam kopi adalah asam klorogenat dan asam caffeic, yang masing-masing menyumbang sekitar 90% dari semua fenol yang ditemukan dalam kopi. (Pristiana et al., 2017). Konsentrasi senyawa fenolik pada biji kopi Robusta adalah 9,0 gram per 100 gram. Temuan penelitian menunjukkan bahwa asam kloro-reganat menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat, bersama dengan aktivitas antijamur, antivirus, antibakteri, dan anti-inflamasi (Putri et al., 2019).

Metode DPPH umumnya digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan ekstrak biji kopi dan ekstrak tumbuhan lainnya karena korelasinya dengan kuantifikasi radikal bebas. Pendekatan ini mengukur metrik yang dikenal sebagai IC50, yang mengacu pada konsentrasi dimana penghambatan terjadi. Teknik ini mengkuantifikasi jumlah molekul radikal tak terikat *2,2-difenil-1-pikrilhidrazil* dengan memasukkannya ke dalam berbagai jumlah senyawa uji, dan selanjutnya menganalisis data eksperimen yang diperoleh (Wigati et al., 2019).

Manfaat utama dari pendekatan ini terletak pada keserbagunaannya, karena DPPH dapat digunakan untuk bereaksi dengan zat apa pun dan memiliki kemampuan untuk mendeteksi antioksidan dengan konsentrasi rendah sekalipun. Konsentrasi awal DPPH harus diatur untuk mencapai hasil di bawah 1 (50 - 100 μM). Degradasi molekul DPPH rentan terjadi dengan cepat dan memerlukan penanganan yang cermat. Penilaian aktivitas antioksidan melibatkan reduksi radikal bebas *1,1-difenil-2-pikrilhidrazil* (DPPH) dan dievaluasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis. (Wigati et al., 2019).

Tujuan penelitian ini adalah menganalisis komposisi kimia dan mengevaluasi sifat antioksidan biji kopi Robusta dengan menggunakan metode DPPH.

II. LANDASAN TEORI

Penelitian ini melibatkan dua variabel, yaitu variabel bebas adalah ekstrak etanol yang berasal dari biji kopi robusta, sedangkan variabel terikatnya adalah aktivitas antioksidan.

A. Ekstrak Etanol Kopi Robusta

Kopi Robusta, yang secara ilmiah dikenal sebagai *coffea canephora*, merupakan tanaman perkebunan populer yang banyak ditanam di Indonesia. Kopi Robusta memiliki rasa pahit yang khas dan sedikit asam, serta memiliki kandungan kafein yang jauh lebih tinggi dibandingkan kopi Arabika. Ekstrak etanol kopi Robusta diperoleh dengan mengekstraksi biji kopi Robusta dengan menggunakan etanol sebagai pelarut. Ekstrak

ini mengandung berbagai bahan kimia bermanfaat, seperti polifenol, kafein, dan triglisserida (Dwi Nugroho, 2014).

Polifenol adalah jenis antioksidan yang melindungi sel-sel tubuh dari radikal bebas. Radikal bebas, molekul yang mudah menguap, dapat menyebabkan kanker, penyakit kardiovaskular, dan stroke (Mangiwa & Maryuni, 2019).

Ekstrak etanol kopi Robusta dapat mengandung kadar polifenol berkisar antara 10% hingga 15%. Ekstrak etanol kopi Robusta mengandung bahan kimia polifenol seperti katekin, kafein, dan asam klorogenat. Kafein adalah bahan kimia psikostimulan yang memiliki kemampuan untuk meningkatkan kewaspadaan, konsentrasi, dan memori. Kafein memiliki kemampuan untuk meningkatkan laju metabolisme tubuh dan memperlancar proses oksidasi lemak. Ekstrak etanol kopi Robusta dapat mengandung konsentrasi kafein berkisar antara 2,5% hingga 4% (Mangiwa & Maryuni, 2019).

Ekstrak etanol kopi robusta menunjukkan efek antioksidan yang kuat. Ia memiliki kapasitas untuk melindungi struktur seluler dari kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas. Konstituen aktif yang berasal dari tumbuhan yang diekstraksi dilarutkan menggunakan pelarut. Pelarut yang ideal harus memenuhi beberapa persyaratan, termasuk keterjangkauan dan aksesibilitas, stabilitas, netralitas dalam reaksi, kurangnya volatilitas dan sifat mudah terbakar, selektivitas (yaitu, hanya menarik zat efektif yang diperlukan), tidak adanya gangguan pada zat aktif, dan kepatuhan terhadap peraturan. Etanol adalah contoh pelarut tersebut (Mulyadi et al., 2019).

Etanol yang sering disebut etil alkohol memiliki rumus kimia $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ atau $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ dengan titik didih $78,4^\circ\text{C}$. Etanol adalah zat transparan dan mudah menguap yang mampu menyatu dengan air. Jumlahnya adalah (Mulyadi et al., 2019a). Etanol encer 70%, sering disebut alkohol encer, adalah larutan yang terdiri dari campuran etanol dan air. Larutannya dibuat dengan menggabungkan 73,7 ml etanol dengan air hingga mencapai volume total 100 ml. Ia memiliki konsentrasi minimum 68,0%

dan konsentrasi maksimum 69,2% b/b C₂H₆O, yang setara dengan konsentrasi minimum 69,9% dan konsentrasi maksimum 70,8% v/v C₂H₆O. Etanol memiliki rentang konsentrasi 92,3% b/b hingga 93,8% b/b, yang setara dengan rentang konsentrasi 94,9% v/v hingga 96,0% v/v, C₂H₆O, pada suhu 15,56o. Karena sifat polarnya, pelarut polar dipilih untuk ekstraksi senyawa fenolik. Cairan tersebut berwujud transparan, mudah menguap, tidak berwarna, berbau khas, menimbulkan sensasi terbakar jika dicicipi, dan mudah terbakar. Pemanfaatan pelarut etanol 70% menawarkan keuntungan karena tidak beracun dan tidak berbahaya. Etanol digunakan karena kesesuaiannya untuk mengekstraksi antioksidan yang dimaksudkan untuk diaplikasikan pada produk makanan. Kelemahan yang melekat dalam penggunaan etanol sebagai pelarut adalah kecenderungannya untuk mudah larut dalam air, serta kemampuannya untuk melarutkan banyak unsur lain seperti karbohidrat, resin, dan gom (Hakim & Saputri, 2020).

B. Aktivitas Antioksidan Biji Kopi Robusta

Antioksidan adalah senyawa pemberi elektron. Antioksidan dalam sudut pandang biologis adalah senyawa memiliki kemampuan melawan efek negatif oksidan yang terjadi pada tubuh manusia. Antioksidan memiliki fungsi sebagai pendonor satu elektronnya kepada senyawa oksidan yang merupakan senyawa utama pencetus oksidasi pada sel sehingga oksidan dapat dihambat. Imunitas tubuh sangat dipengaruhi oleh keseimbangan senyawa antioksidan dan oksidan. Kondisi keseimbangan tersebut berperan dalam menjaga integritas dan berfungsinya membran lipid, protein sel, dan asam nukleat, serta mengontrol transduksi sinyal dan ekspresi gen dalam sel imun. Kekurangan zat antioksidan yang berupa vitamin C, vitamin E, Zn, dan glutathion pada konsentrasi rendah hingga tinggi, sangat berpengaruh terhadap respon imun (Yashin et al., 2013).

Antioksidan dilihat dari sudut pandang kimia merupakan senyawa pemberi elektron (electron donor). Antioksidan bekerja dengan cara memberikan satu elektronnya kepada

senyawa oksigen untuk menghentikan aktivitas senyawa oksidan (Suena & Antari, 2020). Tubuh membutuhkan antioksidan untuk melindungi dirinya dari radikal bebas, yang dalam jumlah tertentu dapat menghambat atau memperlambat kerusakan yang disebabkan oleh proses oksidasi. (Molyneux, 2004).

DPPH, juga dikenal sebagai *2,2-difenil-1-trinitrofenilhidrazin*, adalah radikal bebas persisten yang berbentuk kristal ungu pada suhu kamar. Hal ini sering digunakan untuk menilai kemanjuran antioksidan dari berbagai bahan kimia atau ekstrak yang berasal dari sumber alami. DPPH mudah mengambil elektron atau radikal hidrogen, menghasilkan pembentukan senyawa diamagnetik yang stabil. Metode DPPH adalah pendekatan yang cepat, tidak rumit, dan hemat biaya untuk menilai kemampuan antioksidan dengan memanfaatkan radikal tak terikat *2,2-difenil-1-trinitrofenilhidrazin* (DPPH). Teknik ini umumnya digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan senyawa yang berfungsi sebagai pemulung radikal bebas atau donor hidrogen. Ini juga digunakan untuk mengukur pembentukan kompleks antara radikal bebas dan antioksidan. Metode DPPH dapat diterapkan pada material padat dan cair. (Mulyadi et al., 2019).

Teknik DPPH digunakan untuk menilai kemanjuran antioksidan. Pendekatan ini menghasilkan data mengenai respon bahan kimia yang diteliti terhadap radikal stabil. Senyawa DPPH menunjukkan tingkat serapan yang tinggi pada panjang gelombang tertentu 517 nm, menghasilkan warna ungu tua yang berbeda secara visual. Proses penangkapan radikal bebas menghasilkan pasangan elektron, yang menyebabkan hilangnya warna. Tingkat penghilangan warna berbanding lurus dengan jumlah elektron yang ditangkap. Bila larutan DPPH digabungkan dengan senyawa lain yang mampu menyumbangkan atom hidrogen, maka akan mengalami reduksi sehingga mengakibatkan bentuk DPPH berkurang dan terjadi perubahan warna ungu. Temuan pengujian DPPH diinterpretasikan menggunakan metrik IC₅₀, yang mewakili konsentrasi larutan substrat yang

menyebabkan penurunan aktivitas DPPH sebesar 50%. Nilai IC50 dapat ditentukan dengan melakukan analisis regresi linier dengan menggunakan konsentrasi sampel sebagai variabel bebas (sumbu x) dan persentase penghambatan sebagai variabel terikat (sumbu y), sehingga diperoleh persamaan $Y = bx + a$. Nilai IC50 yang lebih rendah menunjukkan tingkat aktivitas antioksidan yang lebih tinggi.

Dengan menggunakan analisis regresi linier, nilai IC50 dapat dihitung dengan menggunakan konsentrasi sampel sebagai variabel bebas (sumbu x) dan % penghambatan sebagai variabel terikat (sumbu y). Dengan demikian, persamaan $Y = bx + a$ diperoleh. Harga IC50 berbanding terbalik dengan kemampuan antioksidan zat atau 16 senyawa tersebut. Tingkat aktivitas antioksidan yang lebih tinggi ditunjukkan oleh nilai IC50 yang lebih rendah. (Lestari, 2014).

Metode DPPH menawarkan beberapa keuntungan, termasuk kesederhanaan teknis, pelaksanaan yang cepat, dan ketergantungan eksklusif pada spektrofotometer UV-Vis. Jumlahnya adalah (Lestari, 2014). Metode DPPH mudah digunakan, cepat, presisi tinggi, dan sangat cocok untuk diaplikasikan pada pelarut organik, khususnya alkohol. Kontrol positif yang umum digunakan meliputi asam askorbat (vitamin C) dan α -tokoferol (Lestari, 2014).

III. METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen yang menggunakan metode DPPH untuk menganalisis dan menilai kandungan fitokimia yang terdapat pada ekstrak biji kopi Robusta. Variabel penelitian ini terdiri dari variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol yang ditetapkan sebesar 70%. Variabel terikat dinilai dengan menilai aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH.

Proses maserasi digunakan untuk menghasilkan ekstrak biji kopi. Proses pembuatan ekstrak melibatkan penggabungan 150 gram bubuk biji kopi dengan 300 ml pelarut etanol 70% dalam gelas kimia.

Diawetkan dalam ruangan tertutup dan terlindung dari sinar matahari langsung. Selanjutnya campuran disaring dengan menggunakan kertas saring atau kain flanel, dilanjutkan dengan pemekatan menggunakan evaporator pada suhu sekitar 500°C hingga diperoleh ekstrak kental.

Analisis flavonoid dilakukan dengan melarutkan beberapa sampel dalam 5 ml etanol 70%, dilanjutkan dengan penambahan magnesium dan asam klorida 2%. Jika warnanya berubah menjadi oranye-merah, hal ini menunjukkan adanya kandungan flavonoid yang baik. Analisis tanin dilakukan dengan menggabungkan beberapa sampel dengan 5 ml $FeCl_3$. Kehadiran tanin akan ditandai dengan perubahan warna menjadi hijau atau biru kehitaman. Proses evaluasi saponin melibatkan penempatan sampel dalam tabung reaksi, menambahkan 5 ml air suling, dan mengocoknya dengan kuat. Selanjutnya, pantau dengan cermat perubahan yang terjadi. Adanya saponin ditunjukkan dengan terbentuknya busa.

Analisis polifenol dilakukan dengan memasukkan 5 ml larutan Fehling dan selanjutnya dilakukan pemanasan. Jika hasilnya menunjukkan rona ungu atau merah bata, hal ini menunjukkan adanya polifenol, yang harus diukur pada panjang gelombang 517 nm.

Aktivitas antioksidan dinilai menggunakan spektrofotometer UV-Vis, dan hasilnya diinterpretasikan berdasarkan nilai IC50 yang diperoleh.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak biji kopi mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin, dan polifenol.

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Biji Kopi Robusta (*Coffea Robusta L.*)

Uji Fitokimia	Pereaksi	Warna	ket
Flavonoid	Mg (s) + HCl pekat	Berwarna jingga kemerahan	+
Tanin	$FeCl_3$	Berwarna hijau atau biru kehitaman	+

Uji Fitokimia	Pereaksi	Warna	ket
Saponin	Aquadest	Terbentuk busa	+
Polifenol	Larutan Fehling dan dipanaskan	Ungu atau merah bata	+

Adanya kandungan flavonoid pada ekstraknya ditunjukkan dengan munculnya warna jingga jika bereaksi dengan logam magnesium dan asam klorida (Dwiani & Rahman, 2023). Pada pengujian flavonoid, reaksi antara logam Mg dan HCl akan menghasilkan gas H₂ yang diamati berupa terbentuknya gelembung-gelembung. Magnesium (Mg) dan asam klorida (HCl) bereaksi secara kimia untuk mereduksi cincin benzena. Komponen tanin ekstrak menunjukkan warna khas hijau kehitaman jika direaksikan dengan reagen FeCl₃ 1%. Warna yang dihasilkan merupakan senyawa tanin Fe yang menampilkan rona hijau tua. Senyawa ini tercipta melalui interaksi antara tanin yang diekstraksi dari sumbernya dan ion Fe³⁺ yang ada dalam reagen FeCl₃. Ekstraknya mengandung komponen saponin yang menghasilkan busa ketika dilarutkan dalam air panas dan dikocok. Busa dihasilkan melalui interaksi kelompok hidrofobik dan udara. Molekul saponin memiliki gugus hidrofobik yang mampu berikatan dengan udara (Mangiwa & Maryuni, 2019).

Uji polifenol dilakukan dengan memasukkan 5 ml larutan Fehling dan selanjutnya dilakukan pemanasan. Investigasi menghasilkan hasil yang baik yang menunjukkan adanya flavonoid, yang bermanifestasi sebagai pengembangan warna ungu (oranye). Analisis komponen flavonoid pada ekstrak biji kopi Robusta memberikan hasil positif yang ditunjukkan dengan adanya perubahan warna menjadi ungu (oranye) selama pemanasan. Temuan ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menggunakan teknik fitokimia untuk menilai kandungan flavonoid biji kopi Robusta sangrai (Mangiwa & Maryuni, 2019).

Metode uji aktivitas antioksidan DPPH digunakan untuk mengukur nilai aktivitas antioksidan dalam penyelidikan ini. Metode ini dipilih karena sederhana, mudah, selektif, cepat, dan sensitif. Selain itu, untuk menilai kinerja antioksidan senyawa

alami, hanya diperlukan sampel kecil. Akibatnya, teknik ini secara luas digunakan untuk menilai kemampuan senyawa untuk memberikan elektron sebagai donor. (Muna, 2022).

Prinsip dari metode uji aktivitas Kuantifikasi antioksidan ini dicapai dengan menangkap radikal DPPH secara efektif menggunakan bahan kimia yang memiliki sifat antioksidan, memanfaatkan spektrofotometri UV-Vis. Metode ini memungkinkan penentuan dan ekspresi nilai aktivitas antioksidan dalam nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ yang lebih rendah menunjukkan tingkat aktivitas antioksidan yang lebih tinggi. Besarnya rona ungu pada DPPH semakin berkurang seiring berjalannya waktu. Menurunnya nilai serapan DPPH menandakan terjadinya penyerapan radikal DPPH oleh Ekstrak Etanol 70% Biji Kopi Robusta. Nilai IC₅₀ digunakan untuk mengukur kemanjuran antioksidan ekstrak etanol 70% yang berasal dari biji kopi Robusta. Nilai IC₅₀ ditentukan dengan mensubstitusi nilai y dari persamaan regresi linier yang merepresentasikan hubungan antara konsentrasi larutan uji dengan persen penurunan DPPH dengan nilai 50. Substitusi ini memungkinkan kita menghitung nilai x IC₅₀. Nilai IC₅₀ yang lebih rendah berarti daya peredam yang lebih tinggi. Besar kecilnya aktivitas antioksidan ditentukan oleh Konsentrasi Inhibisi yang mengacu pada konsentrasi suatu sampel yang mampu mereduksi radikal bebas DPPH sebesar 50%. Nilai IC₅₀ ditentukan dengan mengukur derajat penghambatan radikal DPPH pada berbagai konsentrasi larutan sampel (Lia, 2012).

Temuan penelitian ini menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ ekstrak etanol 70% yang berasal dari biji kopi menunjukkan sifat antioksidan. Nilai IC₅₀ yang diperoleh dari tiga kali ulangan adalah sebagai berikut: ulangan 1; 66,25 µg/mL, replikasi 2; 38,60 µg/mL, dan replikasi 3; 38,46 g/mL. Nilai rata-rata IC₅₀ ditetapkan sebesar 47,77 µg/mL. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak sangat kuat karena melebihi ambang batas 50 ppm. Menurut kutipan penelitian lain, tingkat aktivitas antioksidan yang lebih tinggi

dikaitkan dengan nilai IC₅₀ yang lebih rendah. Kapasitas antioksidan dianggap sangat kuat pada 50 ppm, kuat pada 50–100 ppm, sedang pada 101–150 ppm, dan lemah pada lebih dari 150 ppm. (Wahyuni, 2015).

Table 2. Nilai IC₅₀ Pengujian Aktivitas Antioksidan biji kopi robusta

Pers. Regresi	Nilai R ²	IC ₅₀ (ppm)
Y= - 0,003 x + 0,532	0,995	66,25
Y= - 0,004 x + 0,520	0,909	38,60
Y= -0,004 x + 0,857	0,924	38,46
Rata-rata		47,77 (sangat kuat)

Senyawa flavonoid memberikan pengaruh paling signifikan terhadap nilai IC₅₀. Hal ini disebabkan karena kandungan senyawa flavonoid pada tumbuhan umumnya terdapat dalam bentuk glikosida dan tidak pernah ditemukan dalam bentuk tersendiri maupun dalam bentuk aglikon flavonoid. Oleh karena itu, untuk menguji flavonoid, sebaiknya dilakukan pemecahan glikosida yang melekat pada flavonoid sebelum mempertimbangkan kerumitan glikosida yang mungkin ada pada ekstrak awal (Suen & Antari, 2020).

Biji kopi tidak hanya mengandung bahan kimia flavonoid, tetapi juga komponen saponin dan tanin, yang semuanya memiliki kualitas antioksidan. Bahan kimia aktif dalam ekstrak yang memiliki kemampuan menangkap radikal biasanya beroperasi sebagai donor atom hidrogen. Akibatnya, radikal DPPH (hidrazil) menangkap atom hidrogen ini, menyebabkannya berubah menjadi bentuk netral (hidazin). Radikal bebas DPPH menunjukkan sensitivitas terhadap cahaya, oksigen, dan pH, namun tetap stabil dalam keadaan radikalnya, sehingga memungkinkan pengukuran antioksidan.

Solusi komparatif yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan vitamin C. Vitamin C sering digunakan sebagai acuan dalam uji aktivitas antioksidan. Vitamin C, juga dikenal sebagai asam askorbat, adalah senyawa yang larut dalam air yang memiliki kemampuan berinteraksi secara kimia dengan sebagian besar radikal bebas dan oksidan

yang ada di dalam tubuh (Wibawa et al., 2020).

Menurut temuan penelitian ini, vitamin C memiliki sifat antioksidan yang kuat.

Tabel 3. menyajikan hasil IC₅₀ untuk uji komparatif aktivitas antioksidan vitamin C.

Pers. Regresi	Nilai R ²	IC ₅₀ (ppm) / µg/mL
Y= -0,016 x + 0,993	0,976	30,63
Y= -0,133 x + 0,925	0,962	3,69
Y= -0,029 x + 0,955	0,970	16,91
Rata-rata		17,07 (sangat kuat)

Vitamin C dipilih sebagai perbandingan dalam metode ini karena sifat antioksidannya yang kuat dan penggunaannya luas di masyarakat. Zat yang biasa digunakan sebagai standar acuan untuk mengukur antioksidan antara lain vitamin E, asam askorbat, BHA, BHT, dan trolox. Di antara lima perbandingan tersebut, vitamin C adalah yang paling umum digunakan. Vitamin C mempunyai kemampuan untuk secara langsung memerangkap radikal bebas oksigen, dengan atau tanpa bantuan katalis enzim. Ia memiliki reaktivitas yang lebih tinggi terhadap molekul oksigen reaktif dibandingkan dengan konstituen lainnya. Vitamin C juga melindungi makromolekul penting dari kerusakan oksidatif (Cahyani, 2015).

Berdasarkan analisis perbandingan larutan uji mengandung etanol 70%. Larutan etanol 70% terdiri dari alkohol murni, juga dikenal sebagai etanol, yang menunjukkan polaritas. Penggunaan ekstrak bubuk atau ekstrak etanol 70% yang mengandung komponen polifenol dan flavonoid dapat menghasilkan aglikon atau glikosida. Senyawa ini memiliki kemampuan antioksidan dan penangkal radikal bebas yang lebih unggul dibandingkan dengan glikosida flavonoid.

Uji aktivitas antioksidan ekstrak biji kopi Robusta dan pembanding Vitamin C menghasilkan data aktivitas antioksidan yang hampir sama pada tingkat kekuatan antioksidannya.

V. KESIMPULAN

Ekstrak etanol biji kopi *Coffea Robusta* L. menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat, di atas 50 ppm, dibuktikan dengan nilai IC50 sebesar 47,77 µg/ml.

DAFTAR PUSTAKA

- Cahyani, Y. N. (2015). PERBANDINGAN KADAR FENOL TOTAL DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL DAUN KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*) DAN ARABIKA (*Coffea arabica*).
- Dwiani, A., & Rahman, S. (2023). Kualitas kimia, organoleptik, dan aktivitas antioksidan kopi robusta (*Coffea canephora*) dengan penambahan bubuk daun kelor.
- Dwi Nugroho, dan. (2014). Mutu fisik dan citarasa kopi Arabika yang disimpan buahnya sebelum di-pulping. In *Pelita Perkebunan* (Vol. 30, Issue 2).
- Hakim, A. R., & Saputri, R. (2020). NARRATIVE REVIEW: OPTIMASI ETANOL SEBAGAI PELARUT SENYAWA FLAVONOID DAN FENOLIK.
- Hasyim Ibroham, M., Jamilatun, S., & Dyah Kumalasari, I. (2022). A REVIEW: POTENSI TUMBUHAN-TUMBUHAN DI INDONESIA SEBAGAI ANTIOKSIDAN ALAMI. <http://jurnal.umj.ac.id/index.php/semnaslit>
- Lia, P. I. (2012). UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN *Antidesma neurocarpum* Miq. DENGAN METODE 1,1-DIFENIL-2-PIKRILHIDRAZIL (DPPH) DAN IDENTIFIKASI GOLONGAN SENYAWA KIMIA DARI FRAKSI TERAKTIF.
- Mangiwa, S., & Maryuni, A. E. (2019). Skrining Fitokimia dan Uji Antioksidan Ekstrak Biji Kopi Sangrai Jenis Arabika (*Coffea arabica*) Asal Wamena dan Moanemani, Papua. *JURNAL BIOLOGI PAPUA*, 11(2), 103–109. <https://doi.org/10.31957/jbp.925>
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity.
- Mulyadi, M., Nur, I., & Iba, W. (2019a). Uji Fitokimia Ekstrak Bahan Aktif Rumput Laut *Sargassum* sp. JSiPi (Jurnal Sains Dan Inovasi Perikanan) (Journal of Fishery Science and Innovation), 3(1). <https://doi.org/10.33772/jsipi.v3i1.7567>
- Mulyadi, Nur, I., & Iba, W. (2019b). Uji Fitokimia Ekstrak Bahan Aktif Rumput Laut *Sargassum* sp. Phytochemical Test of Seaweed Extract *Sargassum* sp. Mulyadi 1)*, Indriyani Nur 2), Wa Iba 3). <https://doi.org/10.33772/jsipi.v3n1>
- Muna, L. (2022). Aktivitas antioksidan ekstrak air daun kelor (*Moringa oleifera*) dengan metode DPPH serta analisis kualitatif kandungan metabolit sekunder. *Sasambo Journal of Pharmacy*, 3(2), 91–96. <https://doi.org/10.29303/sjp.v3i2.182>
- Putri, A. F., Arumsari, A., & Rusnadi. (2019). Prosiding Farmasi Pembedingan Aktivitas Antioksidan Kopi Robusta (*Coffea Canephora* Pierre Ex A. Froehner) dan Kopi Luwak Robusta (*Coffea Canephora* Pierre Ex A. Froehner) dengan Metode Dpph (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil).
- Silvia, D., Katharina, K., Hartono, S. A., Anastasia, V., & Susanto, Y. (2016). PENGUMPULAN DATA BASE SUMBER ANTIOKSIDAN ALAMI ALTERNATIF BERBASIS PANGAN LOKAL DI INDONESIA. In *Surya Octagon Interdisciplinary Journal of Technology* (Vol. 1, Issue 2).
- Suena, N. D., & Antari, N. U. (2020). UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN MASERAT AIR BIJI KOPI (*Coffea canephora*) HIJAU PUPUAN DENGAN METODE DPPH UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN MASERAT AIR BIJI KOPI (*Coffea canephora*) HIJAU PUPUAN DENGAN METODE DPPH

(2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) (Vol. 6, Issue 2).

- Wahyuni, I. R. (2015). VALIDASI METODE ANALISIS UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK N-HEKSAN, ETIL ASETAT, ETANOL 70% UMBI TALAS UNGU (*Colocasia esculenta* L. Schott) DENGAN METODE DPPH, CUPRAC DAN FRAP SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VISh.
- Wibawa, J. C., Wati, L. H., & Arifin, M. Z. (2020). Mekanisme Vitamin C Menurunkan Stres Oksidatif Setelah Aktivitas Fisik. *JOSSAE: Journal of Sport Science and Education*, 5(1), 57. <https://doi.org/10.26740/jossae.v5n1.p57-63>
- Wigati, E. I., Pratiwi, E., Nissa, T. F., & Utami, N. F. (2019). UJI KARAKTERISTIK FITOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BIJI KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora* Pierre) DARI BOGOR, BANDUNG DAN GARUT DENGAN METODE DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). *FITOFARMAKA: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 8(1), 53–59. <https://doi.org/10.33751/jf.v8i1.1172>
- Yashin, A., Yashin, Y., Wang, J. Y., & Nemzer, B. (2013). Antioxidant and antiradical activity of coffee. In *Antioxidants* (Vol. 2, Issue 4, pp. 230–245). MDPI. <https://doi.org/10.3390/antiox2040230>