

Artikel Penelitian

Pengaruh Temperatur Roasting Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora* Pierre) terhadap Nilai IC₅₀

Riwayat artikel:
Diterima: 24 Desember 2022
Direvisi: 3 Februari 2023
Diterbitkan: 6 Februari 2023

Robi'atul Adawiyah¹, Diana Lady Yunita Handoyo^{1*}, Burhanudin Gasim Soka^{1*}, Sri Nur Atiqah¹, FX Haryanto Susanto²

Kata kunci:
Coffea canephora;
Hibridisasi;
Nilai IC₅₀

Reactive radical molecules can cause various molecular damage to the body and cause various diseases. Therefore, a lot of research is carried out regarding free radicals and antioxidants. Robusta coffee beans (*Coffea canephora*) are thought to have strong antioxidant activity by reducing free radical activity in the body. The purpose of this study is to analyze the antioxidant activity of robusta coffee bean extract as a result of hybridization with the DPPH method (1,1- diphenyl-2-picrylhydrazyl). Extraction was performed using the maceration technique with methanol as a solvent. The concentrations used in the antioxidant activity test of robusta coffee bean extract resulting from hybridization started from 5; 10; 20; 30; 40; 45; and 50 ppm, and control was used. The spectrophotometer was used for absorbance gauges with a wavelength of 516 nm. The smallest antioxidant activity measurement result (IC₅₀) is a sample of Robusta Lanang Coffee with a light roasting temperature of 32,484 µg / mL. The smaller the IC₅₀ value, the greater the antioxidant ability because only with a small concentration it has been able to reduce DPPH free radicals by 50%. Anova analysis and LSD test showed that H₀ was rejected and H₁ was accepted which indicates that there was an influence of antioxidant activity in differences in temperature roasting from various types of robusta coffee hybridization results with the DPPH method.



Copyright: © 2022 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Kopi merupakan komoditas perkebunan dengan nilai pasar yang relatif besar dibandingkan tanaman perkebunan lainnya, kopi merupakan sumber devisa negara yang signifikan [1]. Indonesia merupakan produsen kopi terbesar keempat di dunia setelah negara Brazil, Vietnam, dan Kolombia. Sekitar 67% dari keseluruhan adalah produksi kopi [2]. Dua jenis utama kopi yang dibudidayakan di Indonesia yaitu kopi Robusta (*Coffea canephora*) serta kopi Arabika (*Coffea arabica*) [3]. Menurut data Badan Pusat Statistik Jawa Timur tahun 2016, Kabupaten Malang merupakan daerah penghasil kopi terbesar di Jawa Timur dengan total produksi 8.809 ton yang

terdiri dari 8.455 ton kopi robusta dan 354 ton kopi arabika. Kabupaten Bondowoso yang dikenal dengan republik kopi dengan hasil perkebunan kopi arabika dengan total produksi sebesar 4.310 ton. Kabupaten Banyuwangi dikenal dengan kampung kopi dengan hasil perkebunan kopi robusta dengan total produksi 4.135 ton biji kopi. Jumlah produksi kopi didominasi oleh hasil dari perkebunan kopi rakyat yang luas [4]. Kopi Robusta ini memiliki rasa yang pahit dan cenderung lebih kuat dari kopi Arabika yang memiliki rasa sedikit asam [5].

Tanaman kopi akan tumbuh subur di lokasi yang sesuai, daun hijau tua yang tumbuh saling

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Ibrahimy, Situbondo, Jawa Timur

²Program Studi Farmasi, Universitas Ma Chung, Malang

Email: lady.dianayunita@gmail.com, gasimsoka@ibrahimiy.ac.id

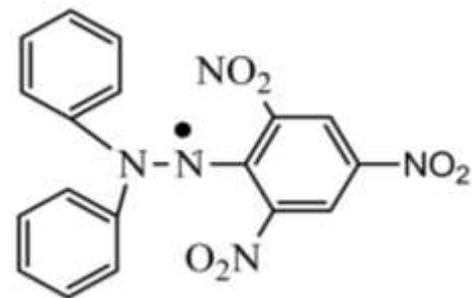
membelakangi dan berpasangan. Sementara buahnya tumbuh di sepanjang cabang tanaman, dibutuhkan sekitar satu tahun untuk buah kopi matang, dan bunganya berwarna putih dan beraroma [6]. Daun berwarna hijau gelap, bentuk pangkal meruncing, ujung tangkai tumpul, pertulangan daun menyirip, panjang daun sekitar 15-40 cm dengan lebar 7-30 cm, susunan daun memiliki 10-12 pasang urat daun, bentuk tepi daun berombak, permukaan daun berlekuk, daun berhadapan pada batang, cabang dan ranting. Akarnya berbentuk tunggang dan dangkal. Batang berkayu, tegak, berwarna putih keabu-abuan, terdiri dari 2 macam tunas (produktif dan legitim). Bunga muncul di ketiak daun terdiri dari 3 sampai 5 bakal bunga. Pada setiap daun sekitar 12-15 bunga, ukuran bunga kecil, berwarna puih, mahkota bunga berbau harum, pada bunga setelah dewasa, mahkota dan kelopak akan terjadi penyerbukan yang nantinya akan menjadi bakal buah kopi. Bunga kopi akan matang sampai buah sekitar 8-11 bulan. Buah kopi terletak pada bagian bawah cabang, yang tumbuh dari 2 bakal biji, berbentuk bulat, daging buah terdiri dari 3 bagian yaitu lapisan kulit bagian luar, lapisan daging dan lapisan kulit tanduk. Biji kopi berbentuk bulat telur, bertekstur keras serta berwarna kotor atau coklat [6].

Biji kopi robusta diketahui mengandung senyawa alkaloid, tanin, saponin dan polifenol [7]. Senyawa polifenol yang paling banyak terkandung pada kopi adalah asam klorogenat dan asam kafenat. Jumlah asam klorogenat mencapai 90% dari total fenol yang terdapat pada kopi. Senyawa fenolik yang terkandung dalam biji kopi robusta adalah asam klorogenat sebesar 9,0 gram/100 gram [8]. Biji kopi robusta secara alami mengandung berbagai jenis senyawa *volatile*, seperti aldehida, furufural, keton, *alcohol*, ester asam format dan asam asetat. Selain senyawa *volatile* dalam biji kopi juga mengandung kafein, senyawa fenolik, trigonelline dan asam klorogenik yang dilaporkan memiliki aktivitas antimikroba [9].

Zat antioksidan adalah bahan kimia donor elektron. Antioksidan bertindak dengan memberikan salah satu elektronnya sedemikian rupa sehingga ada elektron dalam senyawa oksidan. Antioksidan di perlukan oleh tubuh untuk melindungi efek berbahaya dari radikal bebas [10]. Bahan kimia antioksidan adalah molekul yang dibutuhkan oleh

tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan melindungi sel normal, protein, dan lipid dari bahaya yang di sebabkan oleh radikal bebas. Zat ini memiliki struktur yaitu sebuah molekul yang dapat dengan bebas memberikan elektron ke molekul radikal bebas tanpa di rugikan berfungsi penuh dan mampu memutus rantai reaksi radikal bebas [11].

Analisis senyawa antioksidan dapat di lakukan secara *in vitro* (di luar sel) maupun *in vivo* (di dalam sel). Kapasitas antioksidan eksogen dapat di nilai secara *in vitro*, sedangkan aktivitas antioksidan endogen dapat ditentukan secara *in vivo*. Spektroskopi UV-Vis dapat di gunakan untuk analisis aktivitas antioksidan secara *in vivo* dapat di uji dengan DPPH menggunakan ELISA dan imunohistokimia [11].



Gambar 1. Rumus Kimia DPPH

Mentransfer elektron atau radikal *hydrogen* ke DPPH, antioksidan dapat menangkap karakteristik radikal bebas dari senyawa tersebut. Molekul organik DPPH mengandung nitrogen yang tidak stabil dan penyerapan pada panjang gelombang maksimum (maks) adalah 517 nm dan warnanya ungu gelap. Jika semua elektron dalam DPPH dihilangkan, warna larutan akan berubah berpasangan dari absorpsinya berkisar dari ungu tua sampai kuning cemerlang dan panjang gelombang maksimal 517 nm akan hilang. Spektrofotometer dapat digunakan untuk mengukur perubahan warna terhadap konsentrasi. Berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH menyebabkan penurunan intensitas warna, hal ini terjadi ketika suatu bahan memperoleh elektron, dan antioksidan mencegah elektron ini beresonansi [10].

Aktivitas antioksidan pada biji kopi robusta yang ditanam dengan perkawinan silang di daerah Banyuwangi sehingga memiliki 4 jenis hibridisasi yang berbeda yaitu antara lain kopi robusta *konoga*, kopi robusta *Togosari*, kopi robusta *Kleres* dan kopi

robusta *Lanang*. Namun tidak banyak orang yang mengerti, bahwa kopi Robusta itu sendiri memiliki ciri khas, serta perbedaan jenis aspek masing-masing meskipun dalam 1 jenis kopi yang sama [5]. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan paling tinggi pada biji kopi Robusta yang dilihat berdasarkan perbedaan hibridisasi dan *temperature* pada waktu penyangraian (*roasting*) di Kelurahan Gombengsari (Kabupaten Banyuwangi).

Hasil dan Pembahasan

Simplisia biji kopi robusta hasil hibridisasi (*Coffea caniphora* Pierre) diekstraksi dengan metode maserasi dan menggunakan pelarut metanol. Metode maserasi merupakan suatu metode ekstraksi dengan proses peredaman bahan dengan pelarut yang sesuai dengan senyawa aktif yang akan diambil tanpa adanya proses pemanasan. Kelebihan menggunakan metode maserasi yaitu proses ekstraksi paling sederhana yang tidak memerlukan perlakuan panas, sangat ideal untuk ekstraksi bahan kimia termolabil [12]. Hasil ekstraksi biji kopi robusta hibridisasi dapat dilihat pada hasil Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Ekstrak Biji Kopi Robusta *Hibridisasi*

No	Sampel	Rendemen (%)	Spesifikasi FHI III
1	Togosari <i>Dark</i>	7,00	
2	Konoga <i>Dark</i>	5,95	
3	Lanang <i>Dark</i>	7,14	
4	Togosari <i>Medium</i>	5,55	
5	Konoga <i>Medium</i>	5,31	>7,3
6	Lanang <i>Medium</i>	5,44	
7	Togosari <i>Light</i>	6,15	
8	Konoga <i>Light</i>	5,50	
9	Lanang <i>Light</i>	4,30	

Persen rendemen dihitung dengan tujuan untuk mengetahui kandungan senyawa yang terkandung dalam ekstrak, apabila semakin tinggi % rendemen, semakin tinggi pula kandungan senyawanya. Hasil tabel 1 menunjukkan bahwa rendemen ekstrak tertinggi pada semua sampel ekstrak biji kopi robusta hibridisasi diperoleh dengan temperatur *roasting* dengan perlakuan *Dark* dengan suhu 210-220 °C, *Medium* dengan suhu 195 – 210 °C, dan *Light* dengan suhu 185-195 °C. Hasil tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi suhu perlakuan maka semakin tinggi rendemen yang diperoleh hingga tercapai suhu dan waktu optimum.

Chairunnisa dkk., (2019) menjelaskan bahwa suhu yang semakin tinggi dapat menyebabkan gerakan partikel ke pelarut semakin cepat karena suhu mempengaruhi nilai koefisien transfer masa dari suatu komponen [13]. Kenaikan suhu juga menyebabkan permeabilitas sel semakin lemah sehingga memudahkan *methanol* sebagai pelarut untuk mengekstrak zat aktif pada bahan sehingga rendemen yang diperoleh semakin tinggi.

Pengujian skrining fitokimia dilakukan pada masing-masing ekstrak biji kopi robusta hibridisasi (*Coffea canephora* Pierre). Tujuan dilakukan pengujian skrining fitokimia yaitu untuk mengetahui senyawa *organic* makhluk hidup mengenai struktur kimia, biosintesis, metabolisme, penyebaran dan aktifitas biologinya. Hasil pengujian skrining fitokimia pada penelitian ini menunjukkan bahwa masing-masing ekstrak biji kopi robusta hibridisasi positif mengandung senyawa flavonoid dan polifenol. Hasil skrining fitokimia disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia

No.	Sampel	Hasil Identifikasi		Ket.
		Flavonoid	Polifenol	
1	Togosari <i>Dark</i>	Merah	Hijau	+
2	Konoga <i>Dark</i>	Merah Pucat	Hijau Kehitaman	+
3	Lanang <i>Dark</i>	Merah	Hijau Kehitaman	+
4	Togosari <i>Medium</i>	Merah	Hijau Kehitaman	+
5	Konoga <i>Medium</i>	Merah	Hijau Kehitaman	+
6	Lanang <i>Medium</i>	Merah	Hijau Kehitaman	+
7	Togosari <i>Light</i>	Merah	Hijau Kehitaman	+
8	Konoga <i>Light</i>	Merah	Hijau Kehitaman	+
9	Lanang <i>Light</i>	Merah	Hijau Kehitaman	+

Uji aktivitas antioksidan ekstrak kopi robusta hasil dari hibridisasi dilakukan dengan metode DPPH. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari biji kopi robusta hasil dari hibridisasi dengan perbedaan temperatur *roasting*. Metode uji aktivitas antioksidan dengan DPPH dipilih karena metode DPPH adalah metode sederhana, mudah, cepat dan peka serta

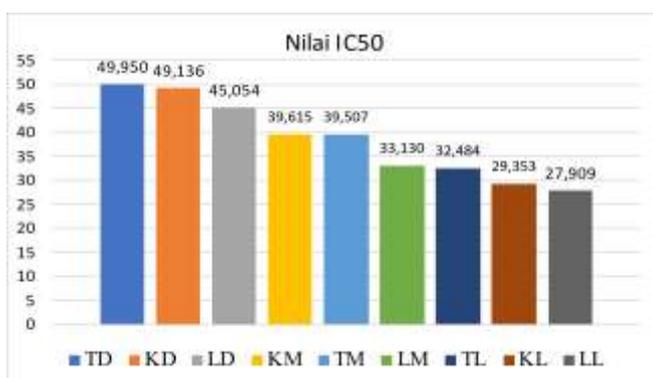
hanya memerlukan sedikit sampel untuk dapat mengevaluasi aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam.

Semakin tinggi konsentrasinya maka semakin tinggi pula % DPPH yang dihasilkan atau dapat dikatakan semakin tingginya konsentrasi menunjukkan adanya peningkatan aktivitas antioksidan atau peningkatan peredaman radikal bebas. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Moniung dkk. (2022) dalam penelitiannya yang menyatakan bahwa semakin besar konsentrasi sampel maka akan semakin kecil nilai absorbansi yang didapat [14]. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang ditambahkan berdampak pada persentase inhibisi yang semakin meningkat. Dalam hal ini absorbansi yang diperoleh semakin rendah yang menunjukkan semakin banyak radikal bebas yang dihambat.

Berdasarkan Tabel 3 suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat jika IC_{50} -nya bernilai kurang dari 50. Maka semakin rendah nilai IC_{50} maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya [10]. Hasil dari IC_{50} yang diperoleh dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Nilai IC_{50}

Sampel	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Nilai IC_{50} ppm (Irianti dkk. 2017)	Intensitas
LL	27,9094		
KL	29,3530		
TL	32,4838		
LM	33,1302		
TM	39,5067	<50	Sangat Kuat
KM	39,6152		
LD	45,0539		
TD	49,9502		
KD	49,1363		



Gambar 2. Grafik nilai IC_{50} aktivitas antioksidan pada ekstrak biji kopi robusta *hibridisasi* pada sampel *Light*, *Medium* dan *Dark* dari lokasi Gombengsari, Banyuwangi.

Berdasarkan hasil pada Tabel 3 dan Gambar 2, menunjukkan bahwa ekstrak kopi robusta hasil hibridisasi mengandung aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} yang cenderung turun pada temperature roasting yang lebih tinggi. Hal ini disebabkan karena proses penyangraian akan mendegradasi senyawa yang dapat menghasilkan senyawa baru yang penyumbang antioksidan, dan dengan meningkatnya temperatur *roasting* senyawa yang baru terbentuk akan terpecah kemabli atau berikatan dengan senyawa lain, sehingga terjadi penurunan aktivitas antioksidan. Pada temperature roasting *Light* (185-195°C) aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan dengan biji kopi dengan temperatur *roasting* yang tinggi, karena pada proses penyangraian akan mendegradasi senyawa yang dapat membentuk senyawa baru penyumbang antioksidan dan sering bertambahnya temperature penyangraian senyawa terbentuk akan terpecah lagi atau berikatan dengan senyawa lain sehingga aktivitas antioksidan akan menurun. Hal ini sejalan dengan penelitian [15] menyatakan bahwa aktivitas antioksidan beberapa sampel meningkat selama proses roasting meningkatkan aktivitas antioksidan pada beberapa sampel karena adanya komponen baru yang terbentuk yaitu melanoidin yang mampu meningkatkan aktivitas antioksidan pada kopi. Kopi yang di *roasting* mengandung jumlah melanoid yang lebih besar dibandingkan dengan biji kopi tanpa *roasting*. Penggunaan suhu yang semakin tinggi menyebabkan aktivitas antioksidan menurun. Penelitian Husniati (2021) menyatakan bahwa proses *roasting* terus menerus pada kopi memberikan penurunan jumlah total polifenol, dan memberikan dampak degradasi polifenol yang ada dan pembentukan produk yang kurang stabil dan mudah menguap [16].

Analisis data yang diperoleh dari penelitian ini menggunakan program *IBM Statistical Product of Service Solution* (SPSS) 26.0 untuk *Windows* dengan tingkat kepercayaan 95% ($P=0,05$). Yang diperoleh hasil yaitu H_0 ditolak dan H_1 diterima kareda ada pengaruh terhadap aktivitas antioksidan dari berbagai jenis sediaan ekstrak biji kopi robusta hibridisasi serta ada pengaruh aktivitas antioksidan

dari berbagai perlakuan temperature selama proses *roasting*.

Kesimpulan

Aktivitas antioksidan ekstrak biji kopi robusta hasil hibridisasi diperoleh nilai IC₅₀ yaitu yang paling rendah adalah sampel Kopi robusta *Lanang Light* 27,909 µg/mL; *Konoga Light* 29,3530 µg/mL; *Togosari Light* 32,484 µg/mL; *Lanang Medium* 33,130 µg/mL; *Togosari Medium* 39,507 µg/mL; *Konoga Medium* 39,615 µg/mL; *Lanang Dark* 45,054 µg/mL; *Konoga Dark* 49,136 µg/mL dan yang paling tinggi adalah sampel kopi robusta *Togosari Dark* 49,950 µg/mL yang menunjukkan bahwa sifat aktivitas antioksidan yaitu sangat kuat (<50 µg/mL). Temperatur *roasting* dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan, dengan nilai IC₅₀ yang paling rendah dari semua sampel yaitu pada temperatur *roasting Light* (185-195 °C) dan yang paling tinggi yaitu pada temperature *roasting Dark* (210-220 °C).

METODE PENELITIAN

1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini merupakan penelitian analitik eksperimental dengan desain studi eksperimen murni (*True Experiment*). Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Botani Farmasi Prodi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Ibrahimy, Situbondo, selama 3 bulan dari bulan Juni sampai bulan Agustus 2022.

2. Alat

Alat yang digunakan penelitian ini antara lain alat *roasting*, *stopwatch*, nampan, plastik siper untuk penyimpanan, penggiling, *thermometer*, *digital kets PM650*, cawan, spektrofotometer UV-Vis, timbangan analitik, kuvet, kulkas, kertas saring, *ball filler*, vial, oven, dan seperangkat alat gelas (*Pyrex*).

3. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Kopi Robusta Konoga, Kopi Robusta Togo Sari, dan Kopi Robusta Lanang yang berasal dari Kelurahan Gombengsari, Kabupaten Banyuwangi, Metanol p.a, Metanol teknis, DPPH (sigma-Aldrich), Kuersetin, Aluminium foil, Aquades, NaNO₃, AlCl₃, NaOH, FeCl₃.

4. Preparasi Biji Kopi Robusta Hibridisasi

Pemetikan biji kopi robusta yang berwarna merah, Biji kopi mentah akan dikelompokkan sesuai warna

dan kualitasnya. Kemudian, kopi akan digiling, lalu dijemur kurang lebih sekitar 4 sampai 5 hari untuk mencapai kadar air pada kopi hingga 12,5%. Palper/ pengupasan kulit kering. Biji kopi akan disangrai dengan temperatur pada sampel F1 *Light*, F2 *Medium* dan F3 *Dark* dari sampel Kopi Robusta Konoga, Kopi Robusta Togo Sari, dan Kopi Robusta Lanang dan diperhatikan pengolahannya sehingga tidak akan merusak kualitas kopi, biji kopi disimpan ditempat sejuk dan tertutup maksimal 7 hari.

5. Ekstraksi Biji Kopi Robusta Hibridisasi

Masing-masing kopi robusta hasil *roasting* ditimbang 150 gram kemudian dimasukkan dalam toples. Cairan pengekstraksi metanol sebanyak 1:5 dimasukkan kedalam toples, peredaman dilakukan selama 3 kali 24 jam. Seluruh ekstrak cair yang diperoleh dipekatkan dengan rotary evaporator pada temperatur 40°C, hingga diperoleh ekstrak kental.

Perhitungan rendemen ekstrak dapat dihitung dengan rumus persamaan dibawah ini:

$$\frac{\text{Bobot ekstrak yang diperoleh (g)}}{\text{Bobot simplisia awal yang ditimbang (g)}} \times 100$$

6. Skrining Fitokimia

Identifikasi Flavonoid

Ekstrak 0,01 gram dilarutkan dalam labu ukur 10 mL dengan pelarut metanol teknis hingga tanda batas. Sampel diambil 0,5 mL direaksikan dengan 2 mL aquades dan 0,15 mL NaNO₂ 5% kemudian didiamkan selama 6 menit. Sebanyak 0,15 mL AlCl₃ 10% ditambahkan kedalam larutan, kemudian didiamkan Kembali selama 6 menit. Sampel direaksikan dengan 2 mL NaOH 4%, kemudian diencerkan dengan aquades hingga volume 5 mL dan didiamkan 15 menit, apabila terjadi perubahan warna merah, merah muda, jingga/ orange, dan ungu menunjukkan positif mengandung senyawa flavonoid, dilakukan secara triplo.

Identifikasi Tanin/Polifenol

Ekstrak 0,01gram dilarutkan dalam labu ukur 10 mL dengan pelarut metanol teknis hingga tanda batas. Sampel diambil 0,5 mL direaksikan dengan 2 mL aquades, kemudian ditambahkan 10 tetes larutan FeCl₃ 1% apabila terjadi perubahan warna hijau atau biru tua menunjukkan positif mengandung polifenol, dilakukan secara triplo.

Uji Aktivitas Antioksidan

Analisis aktivitas antioksidan terdiri dari 3 tahap, yaitu pembuatan larutan DPPH 60 ppm, persiapan sampel dan kuarsetin, serta pengujian. pertama pembuatan larutan DPPH 60 ppm dilakukan dengan cara DPPH ditimbang sebanyak 12 mg, dilarutkan dalam metanol p.a sampai tanda batas labu ukur 100 mL, dikocok hingga homogen, sehingga didapatkan larutan DPPH 120 ppm, disimpan dibotol yang gelap dan untuk setiap pengujian dibuat yang baru. Diambil 25 ml larutan DPPH 120 ppm dan dilarutkan kedalam 50 mL metanol p.a didalam labu ukur sehingga didapatkan larutan DPPH 60 ppm. Pembuatan DPPH dilakukan didalam ruang gelap dan dilindungi dengan aluminium foil. Kedua persiapan sampel dan kuarsetin dilakukan dengan cara menimbang Pembuatan variasi larutan sampel dan pembanding (kuersetin) dibuat dengan terlebih dahulu membuat larutan dengan konsentrasi 100 ppm yaitu dengan menimbang 10 mg dilarutkan dengan metanol p.a sampai 100 mL, kemudian dilarutkan dengan metanol p.a sampai tanda batas. Semua sampel dan pembanding dibuat deret standar dengan konsentrasi 5, 10, 20, 30, 40, 45, dan 50 ppm dari larutan induk 100 ppm kedalam labu ukur 10 mL, dilarutkan dengan metanol p.a sampai tanda batas, masing-masing konsentrasi dibuat 7 kali pengulangan. Selanjutnya larutan diinkubasi selama 30 menit dan diukur serapannya pada Panjang gelombang maksimum dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis (sebelumnya labu ukur sudah dilapisi aluminium foil). Ketiga, uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan instrument spektrofotometer UV-Vis. Tiap deret larutan uji, deret larutan kontrol positif (Kueretin) dan blanko diambil sebanyak 1 mL dan ditambahkan 2 mL larutan DPPH 60 ppm. Pindahkan ke tabung reaksi yang sudah ditutupi aluminium foil, kemudian diinkubasi selama 30 menit dihitung sejak penambahan larutan DPPH pada sampel yang dilakukan pada masing-masing konsentrasi dan diamati pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh. Setelah didapatkan absorbansi maka dihitung aktivitas peredaman radikal bebas dengan menggunakan persamaan [17]:

$$\%DPPH_{Sca} = \left\{ \frac{(Abs Samp - Abs Nc)}{Abs PC - Abs NC} \right\} \times 100$$

7. Analisis Data

Data hasil analisis diolah dan dianalisis menggunakan program *Microsoft Excel* dan program *SPSS IBM 26*.

Daftar Pustaka

1. Marhaenanto, B., D.W. Soedibyo, and M. Farid, *Penentuan Lama Sangrai Kopi Berdasarkan Variasi Derajat Sangrai Menggunakan Model Warna Rgb Pada Pengolahan Citra Digital (Digital Image Processing)*. 2015(02): p. 102-111%V 9.
2. Kadarwati Budiharjono, W.M.F., *Strategi Peningkatan Produksi Kopi Robusta (Coffea L.) Di Desa Pentingsari, Kecamatan Cangkringan, Kabupaten Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta*. Jurnal Ilmiah Mahasiswa Agroinfo Galuh, 2020. 7(2).
3. Rahma Yulia, A.Z.A., Deddi Prima Putra, *Analisis Kadar Kofein Kopi Luwak Dengan Variasi Jenis Kopi, Spesies Luwak Dan Cara Pengolahan Dengan Metoda TIC Scanner*. Jurnal Sains Farmasi & Klinis, 2016. 2(2).
4. Mochamad Hafezd As'ad, J.M.M.A., *Faktor Yang Mempengaruhi Preferensi Konsumen Kedai Kopi Modern Di Bondowoso*. 2020(2): p. 182-199.
5. Pokdarwis, *Buku Panduan Wisata Edukasi Pertanian & Peternakan. Banyuwangi*. 2021: Pokdarwis Pres.
6. Umar Hafidz Asy'ari Hasbullah, Y.N., Eko Sutrisno, Lismaini, Marulam MT Simarmata, Nurhayati, Laela Nur Rokhmah, Jajuk Herawati, Ryan Budi Setiawan, Deyvie Xyzquolyna, M. Khoiron Ferdiansyah, Novia Anggraeni, Badrul Ainy Dalimunthe, *Kopi Indonesia*. 2021: Yayasan Kita Menulis.
7. Evi Indah Wigati, E.P., Trisni Fatwatu Nissa, Novi Fajar Utami, *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, 2018. 8(1).
8. H Herawati, A.S. *Pengaruh Asam Klorogenat Kopi Robusta Lampung Terhadap Ekspresi Cyclin D1 Dan Caspase 3 Pada Cell Lines HEP-G2*. in *Seminar Nasional Sains Dan Teknologi V*. 2013. Lampung: Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
9. Amiliyah, R., A. Sumono, and L. Hidayati, *Deformasi Plastik Nilon Termoplastik Setelah Drendam Dalam Ekstrak Biji Kopi Robusta (Plastic Deformation of Thermoplastic Nylon After Immersed In Robusta Coffee Bean Extract)*. 2015(1): p. 117-121%V 3.
10. Tanti T Irianti, S., Sindu Nuranto, M Kuswandi, *Antioksidan*. 2017: Universitas Gadjah mada.
11. Parwata, I.M.O.A., *Antioksidan*. 2016: Program Pascasarjana Universitas Udayana.
12. Nugroho, A., *Buku Ajar Teknologi Bahan Alam*. 2017: Lambung Mangkurat University Press.
13. Chairunnisa, S., N.M. Wartini, and L. Suhendra, *Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (Ziziphus mauritiana L.) sebagai Sumber Saponin*. 2019(4): p. 551-560%V 7.
14. Moniung, P., M. Singkoh, and R. Butarbutar, *Potensi Alga Halymenia durvillei Sebagai Sumber Antioksidan Alami*. JURNAL BIOS LOGOS, 2022. 12(1): p. 39-45.
15. Priftis, A., et al., *Comparison of antioxidant activity between green and roasted coffee beans using molecular methods*. Mol Med Rep, 2015. 12(5): p. 7293-302.
16. Husniati, H., *Kajian : Karakterisasi Senyawa Aktif Dalam Kopi Robusta Sebagai Antioksidan*. Majalah Tegri, 2020. 12(2).

17. de Menezes, B.B., et al., *A critical examination of the DPPH method: Mistakes and inconsistencies in stoichiometry and IC50 determination by UV-Vis spectroscopy*. *Analytica Chimica Acta*, 2021. 1157: p. 338398.