

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)

Evi Indah Wigati*, Esti Pratiwi, Trisni Fatwatun Nissa dan Novi Fajar Utami
Program Studi Farmasi, FMIPA, Universitas Pakuan, PO Box 452 Bogor 16143,
West Java, Indonesia

*E-mail: evhy_indah@yahoo.com

Diterima : 20 April 2018

Direvisi : 24 Mei 2018

Disetujui: 02 Juni 2018

ABSTRAK

Kopi robusta mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, kafein dan fenol. Senyawa fenol pada kopi memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Biji kopi robusta yang ditanam di daerah Bandung, Bogor dan Garut, Jawa Barat dikenal memiliki ciri dan citarasa berbeda yang khas dan unik. Perbedaan jumlah kandungan senyawa kimia dari suatu tumbuhan disebabkan oleh perbedaan agroekologi (iklim dan ketinggian tempat). Daerah Pangalengan (Bandung) memiliki ketinggian 817 mdpl, Cariu (Bogor) memiliki ketinggian 680 mdpl dan Cikeris (Garut) memiliki ketinggian 900 mdpl. Tujuan dari penelitian ini untuk menentukan karakteristik fitokimia dan aktivitas antioksidan pada biji kopi robusta *roasting* yang ditanam di ketiga daerah tersebut. Karakteristik fitokimia dilakukan secara kualitatif dan aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Hasil uji karakteristik fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak biji kopi robusta Bandung, Bogor dan Garut mengandung senyawa alkaloid, flavanoid, saponin dan tanin. Ekstrak kopi robusta Bandung, Bogor dan Garut menunjukkan aktifitas antioksidan yang berbeda nyata berdasarkan hasil uji statistik analisis variansi dengan nilai IC_{50} masing-masing dicapai pada konsentrasi 55,13 ppm, 56,48 ppm, dan 54,14 ppm. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak kopi robusta dari Garut memiliki kadar antioksidan paling tinggi dibandingkan dengan aktifitas antioksidan dari kopi robusta Bandung dan Bogor.

Kata kunci: Kopi robusta, aktifitas antioksidan, metode DPPH

THE PHYTOCHEMICAL CHARACTERISTIC AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF ROBUSTA COFFEE BEAN (*Coffea canephora* Pierre) FROM BANDUNG, BOGOR AND GARUT BY DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) METHOD

ABSTRACT

Robusta coffee contains alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, caffeine and phenols. Phenol compounds in coffee have activity as an antioxidant. Robusta coffee beans grown in the area of Bandung, Bogor and Garut, West Java is known to have a unique characteristics and distinctive flavors. The difference in chemical characteristics of plant compounds is caused by the agroecological differences (climate and altitude). Pangalengan area (Bandung) has a height of 817 AMSL, Cariu (Bogor) has a height of

680 AMSL mdpl and Cikeris (Garut) has a height of 900 AMSL mdpl. The purpose of this study was to determine the phytochemical characteristics and antioxidant activity of robusta roasting coffee beans grown in these three areas. Phytochemical characteristics were performed qualitatively and antioxidant activity was performed by DPPH method (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). The results of phytochemical characteristics test showed that the extract of robusta coffee bean from Bandung, Bogor and Garut contain alkaloid, flavanoid, saponin and tannin. The extract of robusta coffee from Bandung, Bogor and Garut showed significantly different antioxidant activity based on results of variance analysis statistical test with IC₅₀ value of each achieved at concentrations of 55.13 ppm, 56.48 ppm, and 54.14 ppm. It can be concluded that robusta coffee extract from Garut has the highest antioxidant level compared with antioxidant activity of robusta coffee from Bandung and Bogor.

Keywords : *Coffea canephora*, antioxidant activity, DPPH method

PENDAHULUAN

Kopi merupakan bahan minuman yang terkenal di seluruh dunia maupun di Indonesia. Kopi yang berbentuk bubuk maupun seduhannya memiliki aroma dan citarasa yang khas yang tidak dimiliki oleh bahan minuman lainnya (Ridwansyah, 2003). Umumnya tanaman kopi ditanam di daerah yang memiliki bulan kering maksimum 3 per tahun dan curah hujan pada kisaran 1500-3500 mm per tahun. Untuk tanaman kopi jenis robusta yang memiliki ciri berdaun lebar dan tipis, biasanya ditanam di ketinggian 40-900 meter dpl dan suhu rata-rata 15-25°C (Hulupi dan Martini, 2013). Ada beberapa daerah di Jawa Barat, yang biasa ditanami kopi robusta yaitu daerah Pangalengan (Bandung) pada ketinggian 817 mdpl, Cariu (Bogor) pada ketinggian 680 mdpl dan Cikeris (Garut) pada ketinggian 900 mdpl. Perbedaan letak geografis dari suatu tumbuhan dapat menyebabkan perbedaan jumlah kandungan metabolit sekunder yang dihasilkan tumbuhan tersebut (Kardono, 2003).

Biji kopi robusta diketahui mengandung senyawa alkaloid, tanin, saponin dan polifenol (Chairgulprasert,

2016). Senyawa polifenol yang paling banyak terkandung pada kopi adalah asam klorogenat dan asam kafeat. Jumlah asam klorogenat mencapai 90% dari total fenol yang terdapat pada kopi (Yusmarini, 2011). Senyawa fenolik yang terkandung dalam biji kopi robusta adalah asam klorogenat sebesar 9,0 gram/100 gram. Hasil penelitian menunjukkan bahwa asam klorogenat memiliki aktivitas antioksidan yang cukup kuat (Herawati dan Sukohar, 2013), juga bersifat sebagai antifungi, antivirus, antiinflamasi dan antibakteri (Amiliyah *et al.*, 2015).

Aktivitas antioksidan dari ekstrak kopi maupun ekstrak tanaman lainnya umumnya diuji menggunakan metode pengukuran radikal bebas dengan DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Pada metode ini parameter yang diukur adalah IC₅₀. Metode ini mengukur konsentrasi senyawa yang dibutuhkan untuk menghambat 50% aktivitas senyawa radikal bebas 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil menggunakan satu seri konsentrasi senyawa uji, kemudian menginterpretasikan data eksperimental tersebut (Dehpour *et al.*, 2009).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah botol gelap (botol coklat), *Vaccum Dryer*, tanur, krus, oven, spektrofotometer UV-Vis, dan alat gelas.

Bahan-bahan yang digunakan adalah biji kopi robusta (*roasting*) dari Bogor, Bandung, dan Garut, etanol 96%, petroleum eter pekat, metanol, etil asetat pekat, serbuk Zn, HCl 2 N, HCl pekat, serbuk Mg, Aquadest, pereaksi Bouchardat, pereaksi Mayer, amonia pekat, eter, etanol 80%, gelatin, NaCl, FeCl₃, DPPH dan Vitamin C.

Roasting dan Ekstraksi Kopi Robusta

Biji kopi robusta dari Bogor, Bandung, dan Garut di *roasting* atau disangrai pada suhu 105°C, kemudian dihaluskan hingga menjadi serbuk simplisia kopi. Masing-masing serbuk simplisia hasil *roasting* ditimbang 200 gram kemudian dimasukkan dalam botol gelap. Cairan pengekstraksi etanol 96% sebanyak 200 mL dimasukkan kedalam botol gelap, dibiarkan 18 jam, kemudian ditambahkan kedalam botol berisi serbuk kopi hingga seluruh serbuk kopi terendam. Botol kopi ditutup rapat dan ditanpaungkan selama satu malam sambil dilakukan pengadukan sesering mungkin. Campuran kemudian disaring dan residu direndam kembali dengan cairan pengekstraksi yang baru. Filtrat dikumpulkan kemudian dikeringkan menggunakan *Vaccum Dryer* hingga diperoleh ekstrak kering.

Uji Fitokimia Ekstrak

Uji fitokimia dilakukan terhadap ekstrak kopi robusta meliputi identifikasi kehadiran senyawa-senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, flavonoid dan tanin menggunakan Metode Hanani (2015).

Identifikasi Alkaloid

Ekstrak ditimbang 500 mg lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Selanjutnya ditambahkan 1 ml HCl 2N dan 9 mL air dan dipanaskan di atas penangas air selama 15 menit, kemudian didinginkan dan disaring sehingga menghasilkan filtrat atau larutan ekstrak. Filtrat selanjutnya digunakan untuk mengidentifikasi alkaloid sebagai berikut:

1. Filtrat diteteskan pada kaca arloji kemudian ditambahkan 2 tetes reagen Bouchardat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan coklat sampai hitam.
2. Filtrat diteteskan pada kaca arloji kemudian ditambahkan 2 tetes reagen Mayer. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna putih.
3. Filtrat diteteskan pada kaca arloji kemudian ditambahkan 2 tetes reagen Dragendroff. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan jingga coklat.

Hasil lebih dipastikan dengan mengocok sisa filtrat dengan amoniak pekat sebanyak 3 ml dan 10 ml campuran eter-kloroform (3:1). Fase organik dipisahkan, ditambahkan natrium sulfat dan disaring, larutan diteteskan pada kaca arloji, diuapkan dan ditambahkan 2-3 tetes HCL 2N, kemudian ditambahkan pereaksi alkaloid (Dragendroff, Mayer dan Bouchardat).

Identifikasi Saponin

Sebanyak 0,5 gram ekstrak ditimbang lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 10 mL air panas lalu didinginkan. Setelah dingin, tabung reaksi dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Senyawa saponin ditunjukkan dengan terbentuknya busa yang stabil dengan penambahan asam klorida.

Identifikasi Flavanoid

Ditimbang 2 gram ekstrak, dikocok dengan diklorometan selama 15 menit, kemudian disaring. Filtrat diuapkan hingga kering. Residu dilarutkan dalam metanol 50%, jika perlu dengan pemanasan di atas penangas air, kemudian ditambahkan se-dikit logam magnesium atau serbuk seng dan 5-6 tetes asam klorida pekat dan kemudian dipanaskan beberapa menit di atas penangas air. Warna hijau biru yang timbul menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

Identifikasi Tanin

Sebanyak 2 gram ekstrak diekstraksi dengan etanol 80% (30 mL) selama 15 menit, kemudian disaring. Filtrat yang didapat diuapkan diatas penangas. Ditambahkan aquadest panas pada sisa penguapan dan diaduk, setelah dingin larutan disentrifugasi. Dipisahkan cairan atas dengan cara dekantasi, filtrat yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk mengidentifikasi senyawa tanin sebagai berikut:

1. Filtrat ditambahkan larutan 10% gelatin. Terbentuknya endapan putih menunjukkan hasil positif senyawa tanin.
2. Filtrat ditambahkan larutan NaCl-gelatin (larutan 1% gelatin dalam 10% NaCl dengan perbandingan 1:1). Ter-bentuknya endapan menunjukkan hasil positif senyawa tanin.
3. Filtrat ditambahkan larutan 3% besi (III) klorida, hasil positif senyawa tanin ditunjukkan dengan timbulnya warna hijau biru hingga kehitaman.

Uji Aktivitas Antioksidan

Pembuatan Larutan

- a. Larutan *DPPH* 1 mM

Serbuk *DPPH* ditimbang tepat 39,432 mg, kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL. Dilarutkan dengan metanol p.a hingga batas (sebelumnya labu ukur sudah dilapisi oleh alumunium foil).

- b. Larutan blanko

Dipipet sebanyak 1 ml larutan *DPPH* 1 mM, ditambahkan metanol p.a sampai 10 ml, kemudian dihomogenkan. Larutan blanko diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit (labu ukur dibungkus alumunium foil).

- c. Larutan standar induk vitamin C 100 ppm

Ditimbang 100 mg asam askorbat lalu dimasukkan kedalam labu ukur 100 ml, kemudian dilarutkan dengan metanol p.a sampai batas (1000 ppm). Untuk mendapatkan larutan induk vitamin C 100 ppm, dilakukan dengan cara memipet 10 mL vitamin C (1000 ppm) dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL dan dilarutkan dengan metanol sampai pada batas 100 ppm (Purnamasari, 2015).

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Dipipet metanol p.a kurang lebih 8 mL kemudian ditambahkan 1 mL larutan *DPPH* 1 mM lalu diencerkan sampai batas dengan metanol p.a pada labu ukur 10 mL dan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 500-600 nm (se-belumnya labu ukur sudah dilapisi alumunium foil) (Purnamasari, 2015).

Penentuan Waktu Inkubasi Optimum

Dipipet sebanyak 1 mL larutan induk standar vitamin C 100 ppm kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL. Ditambahkan kurang lebih 4 mL

metanol p.a dan 1 mL larutan *DPPH* 1 mM. Lalu diencerkan dengan metanol p.a sampai tanda batas dan dihomogenkan. Serapan diukur pada panjang gelombang maksimum dan diukur pada waktu 10, 20, 30, 40, 50 dan 60 menit sehingga didapat waktu serapan optimum yang stabil (sebelumnya labu ukur sudah dilapisi aluminium foil) (Purnamasari, 2015).

Pembuatan Deret Larutan Standar Vitamin C

Dalam labu ukur 10 mL dibuat deret standar asam askorbat dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm dari larutan induk 100 ppm. Ditambahkan 1 mL larutan *DPPH* 1 mM dan diencerkan dengan metanol p.a hingga tanda batas. Diinkubasi pada waktu inkubasi optimum dan diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Purnamasari, 2015).

Pembuatan Variasi Larutan Uji

Pembuatan variasi larutan uji dibuat dengan terlebih dahulu membuat larutan induk 1000 ppm yaitu dengan melarutkan 50 mg ekstrak kopi robusta. Masing-masing dimasukkan kedalam labu ukur 50 mL, kemudian dilarutkan dengan metanol p.a sampai tanda batas. Deret standar dibuat dengan konsentrasi 5, 10, 20, 40, 80 dan 100 ppm dari larutan induk kedalam labu ukur 10 mL. Ditambahkan 4 mL metanol p.a dan 1 mL larutan *DPPH* 1 mM dan diencerkan menggunakan metanol p.a hingga tanda batas dan homogenkan. Deret larutan uji didiamkan selama waktu optimum pada suhu kamar. Diukur absorban pada panjang gelombang maksimum (sebelumnya labu ukur sudah dilapisi aluminium foil) (Purnamasari, 2015).

Pengujian Antioksidan Dengan Metode *DPPH*

Deret larutan uji, deret larutan kontrol positif vitamin C dan blanko diukur serapan pada spektrofotometer dengan panjang gelombang maksimum yang diperoleh. Nilai IC_{50} (*Inhibitor Concentration*) 50 diperoleh dari potongan garis an-tara 50% daya hambat dengan sumbu konsentrasi menggunakan per-samaan linier ($y = bx + a$), dimana $y = 50$ dan x menunjukkan IC_{50} (Molyneux, 2004).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kopi robusta dari daerah Bandung, Bogor, dan Garut menghasilkan rendemen ekstrak kering dengan berat berbeda-beda yaitu dari 200 gram serbuk simplisia kopi robusta diperoleh rendemen ekstrak kering masing-masing 10,80%, 9,99% dan 12,81%. Serbuk simplisia yang dihasilkan sedikit kasar, berwarna cokelat tua, berbau aromatik khas kopi, memiliki rasa pahit. Sedangkan ekstrak kering yang dihasilkan memiliki tekstur sedikit lengket, berwarna cokelat tua dan berbau bau aromatik khas kopi.

Rata-rata kadar air serbuk simplisia kopi robusta dari Bandung sebesar 3,18%, Bogor sebesar 2,39% dan Garut sebesar 3,68%. Hasil uji kadar abu yang diperoleh dari biji kopi robusta Bandung adalah sebesar 9,80%, Bogor sebesar 13,15% dan Garut sebesar 7,29%. Data-data ini menunjukkan bahwa kadar air dan kadar abu serbuk kopi asal Bandung, Bogor dan Garut memenuhi syarat sebagai biji kopi sangrai menurut Badan Standar Nasional Indonesia (1992).

Karakteristik Fitokimia

Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa kopi robusta *roasting* mengandung golongan senyawa alkaloid, tanin, saponin dan flavanoid. Hal ini sesuai

dengan penelitian Chairgulprasert (2016) yang menyatakan bahwa komponen kimia pada kopi robusta adalah alkaloid, tanin, saponin, flavanoid dan terpenoid.

Tabel 1. Kandungan Fitokimia Serbuk Ekstrak Kopi Robusta Dari Bandung, Bogor dan Garut

Nama Bahan	Golongan Senyawa Kimia			
	Alkaloid	Tanin	Saponin	Flavanoid
Bandung	+	+	+	+
Bogor	+	+	+	+
Garut	+	+	+	+

Keterangan : + = Positif mengandung senyawa tersebut

Analisis alkaloid ekstrak biji kopi robusta Bandung, Bogor dan Garut menunjukkan hasil yang positif. Pengujian ini dilakukan dengan pereaksi Bouchardat dengan timbulnya endapan coklat dan pereaksi Dragendroff dengan adanya endapan coklat. Timbulnya endapan karena adanya penggantian ligan nitrogen pada alkaloid yang memiliki pasangan elektron bebas menggantikan ion iodo dalam pereaksi yang digunakan (Hanani, 2015).

Analisis tanin pada ekstrak biji kopi robusta Bandung, Bogor dan Garut menghasilkan warna hijau kecoklatan yang dilakukan dengan penambahan pereaksi FeCl₃. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak biji kopi robusta positif mengandung senyawa tanin yang merupakan tanin terkondensasi. Selain FeCl₃ digunakan gelatin 1% dan NaCl 10% yang ditandai dengan terbentuknya endapan putih yang menunjukkan bahwa sampel mengandung tanin. Hal tersebut menunjukkan bahwa sifat tanin dapat mengendapkan protein (Hanani, 2015).

Analisis senyawa saponin pada ekstrak biji kopi robusta Bandung, Bogor dan Garut dilakukan dengan mengocok

kuat sampel dengan akuades selama 30 detik hingga terbentuk buih stabil dengan penambahan HCl 2 N. Saponin pada umumnya berada dalam bentuk glikosida, sehingga mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air (Hanani, 2015).

Analisis senyawa flavanoid pada ekstrak biji kopi robusta Bandung, Bogor dan Garut menghasilkan hasil yang positif karena terjadinya perubahan warna menjadi merah setelah ditambahkan serbuk Magnesium. Hasil ini menunjukkan adanya senyawa flavanoid pada sampel. Perubahan warna menjadi merah karena terjadi reduksi oleh asam klorida dan magnesium (Hanani, 2015).

Aktivitas Antioksidan

Prinsip metode DPPH adalah penangkapan elektron bebas dari senyawa radikal yang menyebabkan berkurangnya intensitas warna radikal DPPH dari warna ungu menjadi kuning (Dehpour *et al.*, 2009). Aktivitas antioksidan ekstrak kopi dari Bandung, Bogor dan Garut dapat dilihat dari nilai IC₅₀ pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai IC₅₀ Ekstrak Kopi Robusta dari Bogor, Bandung dan Garut

Asal Jenis Ekstrak	IC ₅₀ (ppm)
Bandung	55,13 ± 0,28 ^a
Bogor	55,13 ± 0,28 ^a
Garut	54,14 ± 0,11 ^c

Dari tabel diatas dapat diketahui bahwa ekstrak kopi dari Garut memiliki aktifitas antioksidan paling tinggi dibandingkan dengan ekstrak kopi dari Bandung dan Bogor. Perbedaan aktifitas antioksidan dari masing-masing ekstrak kopi tersebut dapat secara langsung ataupun tidak langsung dipengaruhi oleh zat aktif metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tumbuhan (Coomes & Allen, 2007 dan Irwanto, 2006). Produksi metabolit sekunder pada tumbuhan dipengaruhi oleh beberapa hal termasuk iklim dan ketinggian tempat tanam. Berdasarkan penelitian Fatchurrozak *et al.* (2013) menyatakan bahwa ketinggian tempat tumbuh berpe-ngaruh pada kandungan vitamin C dan aktivitas antioksidan *Carica pus-bescens* di dataran tinggi Dieng.

Analisis data statistik dengan menggunakan SPSS 16.0 menyatakan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak biji kopi ronbusta Bandung, Bogor dan Garut berbeda nyata dengan tingkat pengaruh 96,7% yang ditunjukkan dengan nilai p-value < 0,05%. Uji lanjut dengan metode Duncan menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan biji kopi robusta Bandung, Bogor dan Garut saling berbeda nyata. Perbedaan tingkat antioksidan dari ketiga jenis kopi ini terjadi berkaitan dengan tinggi tempat tanam yaitu kopi robusta yang ditanam di daerah Bandung dengan ketinggian 817 mdpl, Bogor 680 mdpl dan Garut 900 mdpl.

KESIMPULAN

Karakteristik fitokimia ekstrak biji kopi robusta Bandung, Bogor dan Garut mengandung senyawa kimia yang sama, yaitu alkaloid, flavanoid, tanin dan saponin. Aktivitas antioksidan ekstrak biji kopi robusta Garut memiliki IC₅₀ sebesar 54,14 ppm paling tinggi dibandingkan dengan ekstrak biji kopi robusta Bandung dan Bogor.

REFERENSI

- Amiliyah, R., A. Sumono & Hidayati, L. 2015. Deformasi plastis nilon termoplastik setelah direndam dalam ekstrak biji kopi robusta. *Jurnal Pustaka Kesehatan*. 3(1): 117-121.
- Badan Standar Nasional Indonesia. 1992. *Kopi Instan*. SNI 01-2983-1992. Jakarta.
- Chairgulprasert, V. & K. Kittiya. (2017). Preliminary phytochemical screening and antioxidant of robusta coffee blossom. *Thammasat International Journal of Science and Technology*. Thailand. 22(1) : 1-8.
- Coomes, D.A., & R.B. Allen. 2007. Effects of size, competition and altitude on tree growth. *J. Ecol.* 95: 1084-1097.
- Dehpour A.A., M.A. Ebrahimzadeh, S.F. Nabavi & S.M. Nabavi. 2009. Antioxidant activity of methanol extract of *Ferulla*

- assafoetida* and its essential oil composition. *Grasas Aceites*. 60(4): 405-412.
- Fatchurrozak, S & Sugiyarto. 2013. Pengaruh ketinggian tempat terhadap kandungan vitamin C dan zat antioksidan pada buah *Carica pubescens*. *El-Vivo*. 1(1): 24-31.
- Ridwansyah. 2003. Pengolahan kopi. Skripsi. Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Hanani, E. 2015. *Analisis Fitokimia*. ECG. Jakarta.
- Herawati, H. Dan Sukohar, A. 2013. Pengaruh Asam Klorogenat Kopi Robusta Lampung Terhadap Ekspresi *Cyclin D1* dan *Caspase 3* pada Cell Lines HEP-G2. *Seminar Nasional Sains dan Teknologi V*. Lampung: Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
- Hulupi R, Martini E. 2013. *Pedoman Budidaya dan Pemeliharaan Tanaman Kopi di Kebun Campur*. World Agroforestry Centre (ICRAF) Southeast Asia Regional Program. Bogor, Indonesia
- Irwanto. 2006. Pengaruh perbedaan naungan terhadap pertumbuhan semai *Shorea sp.* di persemaian. Tesis. Jurusan Ilmu-Ilmu Pertanian, Sekolah Pascasarjana, UGM. Yogyakarta.
- Kardono, L. B. S., Artanti, N., Dewiyanti, I. D., Basuki, T., Padmawinata, K. 2003. *Selected Indonesian Medical Plants: Monographs and Description Volume 1*. Jakarta. Gramedia
- Molyneux, P. 2004. The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *J. Sci. Technol.* 26(2): 211- 219.
- Purnamasari, A. 2015. Uji toksisitas, aktivitas antioksidan dan penentuan kadar flavonoid total ekstrak etanol 70% propolis serta serbuk nanopropolis. *Skripsi*. Program Studi Farmasi, Universitas Pakuan. Bogor.
- Yusmarini. 2011. Senyawa polifenol pada kopi: pengaruh pengolahan, metabolisme dan hubungannya dengan kesehatan. *Jurnal SAGU*. 10(2): 22-30.