

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI BIJI KOPI ROBUSTA
(*Coffea canephora P.*) BERDASARKAN PERBEDAAN EKOLOGI DATARAN
TINGGI DI PULAU JAWA**

Novi Fajar Utami^{*}, Nhadira Nhestricia, Sri Maryanti,
Tien Tisya, Siti Maysaroh
Program Studi Farmasi FMIPA, Universitas Pakuan, PO Box 452 Bogor 16143,
West Java, Indonesia
^{*}E-mail: novi.utami@unpak.ac.id

Diterima : 12 Februari 2018

Direvisi : 02 Maret 2018

Disetujui : 13 Juni 2018

ABSTRAK

Biji kopi robusta mengandung senyawa polifenol yang bermanfaat sebagai antioksidan. Antioksidan dapat menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara mencegah terbentuknya radikal bebas. Perbedaan agroekologi (iklim dan ketinggian tempat tumbuh) dari suatu tumbuhan dapat menyebabkan perbedaan jumlah kandungan senyawa kimia. Pada penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak biji kopi robusta yang tumbuh di berbagai daerah di Pulau Jawa meliputi Provinsi Jawa Barat (Bogor, Kuningan, Sumedang), Provinsi Jawa Tengah (Temanggung, Boyolali, Wonosobo), dan Provinsi Jawa Timur (Jombang, Malang, dan Kediri). Tujuan dari penelitian ini untuk mendapatkan potensi aktivitas antioksidan tertinggi dari biji kopi robusta yang dipengaruhi oleh perbedaan ekologi dataran tinggi dari sembilan daerah di Pulau Jawa dengan metode *DPPH* (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) dan digunakan vitamin C sebagai kontrol positif. Aktivitas antioksidan biji kopi robusta Provinsi Jawa Barat (Bogor, Kuningan, Sumedang memiliki IC_{50} sebesar 62,04 ppm, 59,94 ppm 52,24 ppm), Provinsi Jawa Tengah (Temanggung, Boyolali, Wonosobo memiliki IC_{50} sebesar 50,18 ppm, 9,88 ppm 42,63 ppm), dan Provinsi Jawa Timur (Jombang, Malang, dan Kediri memiliki IC_{50} sebesar 76,59 ppm, 37,47 ppm 42,77 ppm). Aktivitas antioksidan ekstrak kopi robusta Wonosobo paling kuat dibandingkan kopi robusta dari sembilan daerah lainnya di Pulau Jawa.

Kata kunci : *Coffea canephora*, Pulau Jawa, Ekologi, antioksidan

**ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST FROM ROBUSTA COFFEE SEEDS (*Coffea
canephora P.*) BASED ON HIGH FLAT ECOLOGY DIFFERENCES
IN JAVA ISLAND
ABSTRACT**

Robusta coffee beans contain polyphenol compounds which are useful as antioxidants. Antioxidants can inactivate the development of oxidation reactions, by preventing the formation of free radicals. Agroecological differences (climate and altitude of growing) of a plant can cause differences in the amount of chemical compounds. In this study, the antioxidant activity of robusta coffee bean extract which grows in various regions of Java includes the West Java Province (Bogor, Kuningan, Sumedang), Central Java Province (Temanggung, Boyolali, Wonosobo), and East Java Province (Jombang, Malang), and Kediri). The purpose of this study was to obtain the

highest potential antioxidant activity from robusta coffee beans which were influenced by highland ecological differences from nine regions in Java Island using DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method and used vitamin C as a positive control. Antioxidant activity of Robusta coffee beans of West Java Province (Bogor, Kuningan, Sumedang has IC₅₀ of 62.04 ppm; 59.94 ppm and 52.24 ppm), Central Java Province (Temanggung, Boyolali, Wonosobo has IC₅₀ of 50.18 ppm; 9.88 ppm and 42.63 ppm), and East Java Province (Jombang, Malang, and Kediri have IC₅₀ of 76.59 ppm; 37.47 ppm and 42.77 ppm). The antioxidant activity of Wonosobo Robusta coffee extract is the strongest compared to Robusta coffee from nine other regions in Java.

Key word : *Coffea canephora*, Java Island, Ecologi, antioxidant

PENDAHULUAN

Kopi merupakan bahan minuman yang terkenal tidak hanya di Indonesia tetapi juga terkenal di seluruh dunia yang kaya akan senyawa aktif seperti asam nikotinat, trigonelin, asam quinolinat, asam tanat, asam pirogalat, dan khususnya kafein. Kopi mengandung asupan mineral, antara lain memberikan hingga 8% dari kebutuhan harian unsur Krom dan merupakan salah satu sumber penting dari unsur Magnesium, yaitu 63,7 mg/cangkir (100 mL), dan juga merupakan sumber penting dari polifenol, diantaranya asam kafeat, asam klorogenat, asam kumarat, asam ferulat, dan asam sinapat (Hecimovic, *et al*, 2011).

Kopi yang tumbuh di iklim istimewa dan ideal, serta memiliki rasa yang unik merupakan hasil dari karakteristik dan komposisi tanah tempat kopi-kopi tersebut ditanam. Kondisi lingkungan tumbuh kopi robusta di setiap daerah beragam sehingga menghasilkan mutu dan citarasa yang berbeda antara satu dengan lainnya. Semakin tinggi daerah penanamannya, kopi tumbuh lebih lambat dan menghasilkan buah kopi yang lebih padat dan lebih beraroma (Da-Matta *et al.*, 2007). Avelino *et al* (2005) menemukan kopi yang tumbuh pada elevasi lebih tinggi mempunyai komponen senyawa kimia lebih banyak dibanding kopi yang tumbuh pada elevasi

lebih rendah. Selain itu, kopi tersebut mempunyai aroma, *body*, *acidity*, dan *preference* yang lebih baik.

Berdasarkan penelitian Bettina dan Lothar (2006) menyatakan bahwa biji kopi robusta memiliki kandungan polifenol yang tinggi yang berperan penting sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidan dapat menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara terbentuknya radikal bebas. Aktivitas antioksidan pada biji kopi robusta yang ditanam di satu daerah dengan daerah yang lainnya memiliki karakteristik yang berbeda-beda sesuai dengan usia tanaman yang digunakan, waktu panen, lingkungan tempat tumbuh atau ekologi dataran tinggi.

Oleh karena itu, perlu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan yang paling baik pada biji kopi robusta yang dilihat berdasarkan perbedaan ekologi dataran tinggi di Pulau Jawa terutama di Provinsi Jawa Barat (Bogor, Kuningan, Sumedang), Provinsi Jawa Tengah (Temanggung, Boyolali, Wonosobo), dan Provinsi Jawa Timur (Jombang, Malang, dan Kediri) dimana belum banyak dikenal masyarakat dan dilakukan penelitian.

Tujuan penelitian ini adalah menentukan karakteristik fitokimia dan aktivitas antioksidan yang paling baik dari ekstrak biji kopi robusta berdasarkan perbedaan ekologi dataran tinggi di Pulau

Jawa dengan metode *DPPH*. Pengujian aktivitas antioksidan dari sembilan daerah di Pulau Jawa dapat digunakan sebagai acuan masyarakat dalam memanfaatkan dan mengembangkan potensi kopi robusta dari daerahnya.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni 2017 sampai dengan Mei 2018 di Laboratorium Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan, Bogor.

Alat

Alat yang digunakan adalah botol gelap (botol coklat), ayakan 40 mesh, timbangan digital (AND G-120[®]), *moisture balance* (AND MX 50[®]), oven, tanur (Ney[®]), *Vaccum Dryer*, seperangkat alat spektrofotometer UV-Vis (Optizen[®]) serta alat-alat gelas.

Bahan

Bahan yang dibutuhkan adalah biji kopi robusta, etanol 96%, petroleum eter pekat, metanol p.a, etil asetat pekat, serbuk Zn P, HCl 2 N, HCl pekat, serbuk Mg P, air suling, Bouchardat LP, Mayer LP, amonia pekat P, eter P, etanol 80%, gelatin, NaCl, FeCl₃.

METODE

Uji Organoleptik

Deskripsi organoleptik serbuk dan ekstrak kopi robusta adalah pengamatan bentuk, warna, bau dan rasa dari kopi (Depkes, 2008).

Pembuatan ekstrak

Serbuk simplisia ditimbang 200 gram kemudian dimasukkan dalam botol gelap. Cairan pengestraksi etanol 96% sebanyak 2 L dimasukkan kedalam botol gelap, direndam selama 6 jam pertama

sambil sesekali diaduk, kemudian didiamkan selama 18 jam. Dipisahkan maserat dengan cara filtrasi. Diulangi proses penyarian sebanyak tiga kali dengan jenis dan pelarut yang sama. Filtrat dikumpulkan kemudian dikeringkan dengan menggunakan *Vaccum Dryer* hingga diperoleh ekstrak kering (Kemenkes RI, 2013). Dilakukan pengulangan 2 kali.

Uji Fitokimia Ekstrak

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. Larutan diteteskan pada kaca arloji dan masing-masing ditambah dengan pereaksi alkaloid (Dragendroff, Mayer dan Bouchardat). Filtrat dipakai untuk percobaan berikut :

1. Filtrat diteteskan pada kaca arloji kemudian ditambahkan 2 tetes reagen Bouchardat. Hasil positif dengan terbentuknya endapan coklat sampai hitam.
2. Filtrat diteteskan pada kaca arloji kemudian ditambahkan 2 tetes reagen Mayer. Hasil positif dengan terbentuknya endapan berwarna putih.
3. Filtrat diteteskan pada kaca arloji kemudian ditambahkan 2 tetes reagen Dragendroff. Hasil positif dengan terbentuknya endapan jingga coklat (Hanani, 2015).

Identifikasi saponin

Sebanyak 0,5 gram ekstrak ditimbang lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 10 mL air panas lalu didinginkan, dikocok kuat-kuat selama 10 detik akan menghasilkan busa

yang stabil dengan penambahan asam klorida.. (Hanani, 2015).

Identifikasi Flavonoid

Ditimbang 2 gram ekstrak dikocok dengan diklorometan selama 15 menit, kemudian disaring. Filtrat diupkan hingga kering. Residu dilarutkan dalam metanol 50%, jika perlu dengan pemanasan di atas penangas air, kemudian ditambahkan sedikit logam magnesium atau serbuk seng dan 5-6 tetes asam klorida pekat, kemudian dipanaskan beberapa menit di atas penangas air. Warna yang timbul diamati (Hanani, 2015).

Identifikasi Senyawa Tanin

Sebanyak 2 gram ekstrak diekstraksi dengan etanol 80% (30 mL) selama 15 menit, kemudian disaring. Filtrat yang didapat diuapkan di atas penangas. Ditambahkan aquadest panas pada sisa penguapan dan diaduk, setelah dingin larutan disentrifugasi. Dipisahkan cairan atas dengan cara dekantasi dan larutan digunakan sebagai larutan percobaan yang akan digunakan dalam pengujian berikut :

1. Filtrat ditambahkan larutan 10% gelatin, akan terdapat endapan putih
2. Filtrat ditambahkan NaCl-gelatin (larutan 1% gelatin dalam 10% NaCl dengan perbandingan 1:1). Terdapat endapan
3. Filtrat ditambahkan larutan 3% besi (III) klorida, terjadi warna hijau biru hingga kehitaman (Hanani, 2015)

Uji Aktivitas Antioksidan (DPPH (1,1 difenil-2-pikrihidrazil))

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 aluminium 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 sekitar 25-30°C (suhu kamar) selama 30 menit (labu ukur dibungkus aluminium 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 (sebelumnya labu ukur sudah dilapisi aluminium 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

Dibuat deret standar asam askorbat dengan konsentrasi 2;4;6;8 dan 10 ppm dari larutan induk 100 ppm dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL. 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 absorbansi pada panjang gelombang maksimum (sebelumnya labu ukur sudah dilapisi aluminium foil).

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 presentase hambatan DPPH dihitung menggunakan nilai IC (Inhibitor Concentration) 50 diperoleh dari potongan garis antara 50% daya hambat dengan sumbu konsentrasi menggunakan persamaan linier ($y = bx + a$), dimana $y = 50$ dan x menunjukkan IC_{50} (Molyneux, 2004).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik serbuk kopi robusta yang telah disangrai memiliki serbuk agak kasar, warna cokelat, rasa pahit dan bau aromatik yang khas.

Hasil Uji Fitokimia

Ekstrak biji kopi robusta dari sembilan daerah di Pulau Jawa mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin hal ini sesuai dengan penelitian.

Hasil Aktivitas Antioksidan

Penetapan hasil aktivitas antioksidan dilakukan terlebih dahulu dengan penetapan panjang gelombang maksimum yang diukur pada 500-600nm diperoleh hasil 517nm. Kemudian dilakukan penetapan waktu inkubasi optimum yang dilakukan selama 60 menit dan diperoleh pada menit ke 30. Selanjutnya dilakukan uji penghambatan deret terhadap DPPH dengan konsentrasi 2,4,6,8 dan 10 ppm sehingga diperoleh persamaan linear $y = 8,4377x + 5,699$ dengan nilai $R^2 = 0,9924$. Aktivitas antioksidan biji kopi robusta Provinsi Jawa Barat (Bogor, Kuningan, Sumedang dengan ketinggian 680 mdpl, 800 mdpl, 900 mdpl dan memiliki IC_{50} sebesar 62,04 ppm, 59,94 ppm 52,24 ppm), Provinsi Jawa Tengah (Temanggung, Boyolali, Wonosobo dengan ketinggian 620 mdpl, 599 mdpl, 800 mdpl serta

memiliki IC_{50} sebesar 50,18 ppm, 9,88 ppm 42,63 ppm), dan Provinsi Jawa Timur (Jombang, Malang, dan Kediri dengan ketinggian 700 mdpl, 500 mdpl, 720 mdpl dan memiliki IC_{50} sebesar 76,59 ppm, 37,47 ppm 42,77 ppm).

Hal ini dikarenakan perbedaan ekologi tempat tumbuh yang berbeda sehingga diperoleh hasil yang berbeda. Ekstrak biji kopi robusta Wonosobo memperoleh aktivitas paling kuat dibandingkan dengan sembilan daerah lainnya di Pulau Jawa. Selanjutnya dilakukan uji analisis data dan dilanjutkan dengan uji metode Duncan menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada ketiga ekstrak biji kopi robusta tersebut.

KESIMPULAN

Aktivitas antioksidan biji kopi robusta Provinsi Jawa Barat (Bogor, Kuningan, Sumedang memiliki IC_{50} sebesar 62,04 ppm, 59,94 ppm 52,24 ppm), Provinsi Jawa Tengah (Temanggung, Boyolali, Wonosobo memiliki IC_{50} sebesar 50,18 ppm, 9,88 ppm 42,63 ppm), dan Provinsi Jawa Timur (Jombang, Malang, dan Kediri memiliki IC_{50} sebesar 76,59 ppm, 37,47 ppm 42,77 ppm). Aktivitas antioksidan ekstrak kopi robusta Wonosobo paling kuat dibandingkan kopi robusta dari sembilan daerah lainnya di Pulau Jawa.

REFERENSI

Da-Matta, F.M., Ronchi, C.P., Maestri, M., & Barros, R.S. 2007. Ecophysiology of Coffee Growth and Production. *Braz. J. Plant Physiol.*, 19(4), 485-510.

Avelino, J., Barboza, B., Araya, J. C., Fonseca, C., Davrieux, F., Guyot, B. & Cilas, C. 2005. Effect of

Slope Expore, Altitude adn Yield on Coffee Quality In Two Altitude Terroirs of Costa Rica, Orosi an Sanata Maria de Dota. . *Sci. Food and Agric.* 9(85) : 1869 – 1876.

- Departemen Kesehatan RI. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi I. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Direktorat Pengawas Obat Tradisional. Jakarta.
- Bettina, C. & Lothar W. Kroh. Antioxidant activity of coffee brews. 2006. *Springers – Verlag.* 14(6) : 496 – 474.
- Hanani, E. 2015. *Analisis Fitokimia*. ECG. Jakarta. Hal. 85
- Hecimovic, I., Cvitanovic, A.B., Horzic, D. & Komes, D. 2011. Comparative study of polyphenols and caffeine in different coffee varieties affected by the degree of roasting. *Food Chemistry.* 129:3. 991 –1000.
- Kemenkes Kesehatan Republik Indonesia. 2013. *Farmakope Herbal Indonesia, Edisi I*. Jakarta. : Direktorat Jenderal Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan.
- 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*. Bogor : Program Studi Farmasi, Universitas Pakuan.