



**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENGHAMBATAN ENZIM ALFA-
GLUKOSIDASE NANOKITOSAN TERISI EKSTRAK KOPI YANG
DITAMBAH SURFAKTAN TWEEN 80**

SKRIPSI

Oleh

Hilda Imamatul Hariroh

NIM 151710101096

**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2020**



**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENGHAMBATAN ENZIM ALFA-
GLUKOSIDASE NANOKITOSAN TERISI EKSTRAK KOPI YANG
DITAMBAH SURFAKTAN TWEEN 80**

SKRIPSI

*diajukan guna memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan program sarjana
di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember*

oleh

Hilda Imamatul Hariroh

NIM 151710101096

**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2020**

HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Allah SWT sebagai tanda syukur atas limpahan rahmatNya yang telah memberikan kesempurnaan akal, petunjuk, serta kemudahan sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik;
2. Ibu dan Ayah, Aa', Rafa Rafi serta sanak saudara tercinta atas semangat dan do'anya yang tidak pernah putus;
3. Bangsa dan negara tempat ku berpijak dan mengabdikan diri;
4. Para pemuda yang punya cita-cita besar sebagai manusia berpendidikan yang berharap dapat memajukan bangsa ini;
5. Guru-guruku sedari TK Al Hidayah 83, MI 29 Miftahul Ulum, SMPN 1 Ambulu, MAN 1 Jember, yang telah mendidikku dengan sabar;
6. Dosen-dosen yang telah meluangkan waktu untuk membagi ilmu dan membimbingku dengan penuh kesabaran;
7. Almamater Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember;
8. Teman-teman THP C 2015 dan seluruh kawan seperjuanganku di Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember.

MOTO

*“Barang siapa yang bersungguh sungguh, sesungguhnya kesungguhan tersebut
untuk kebaikan dirinya sendiri”*

*(QS. Al-Ankabut ayat 6)**

“Kesuksesan adalah buah dari usaha-usaha kecil yang diulang hari demi hari.”

HALAMAN PERNYATAAN

Saya Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Hilda Imamatul Hariroh

NIM : 151710101096

Judul : **Aktivitas Antioksidan dan Penghambatan Enzim Alfa Glukosidase Nanokitosan Terisi Ekstrak Kopi yang Ditambah Surfaktan Tween 80**

menyatakan dengan sesungguhnya karya ilmiah tersebut adalah benar-benar hasil karya saya sendiri. Sepanjang pengetahuan saya, tidak terdapat karya yang ditulis atau diterbitkan orang lain pada institusi manapun, kecuali sebagai acuan atau kutipan dengan mengikuti tata penulisan karya ilmiah yang lazim. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Yang menyatakan

Hilda Imamatul Hariroh

NIM 151710101096

SKRIPSI

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENGHAMBATAN ENZIM ALFA-
GLUKOSIDASE NANOKITOSAN TERISI EKSTRAK KOPI YANG
DITAMBAH SURFAKTAN TWEEN 80**

oleh

Hilda Imamatul Hariroh

NIM 151710101096

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. Puspita Sari, S.TP., M.Ph.

Dosen Pembimbing Anggota : Dr. Maria Belgis S.TP., M.P

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Aktivitas Antioksidan dan Penghambatan Enzim Alfa-Glukosidase Nanokitosan Terisi Ekstrak Kopi yang Ditambah Surfaktan Tween 80” karya Hilda Imamatul Hariroh, NIM 151710101096 telah diuji dan disahkan pada :

Hari, tanggal : Senin, 20 Januari 2020

Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember

Pembimbing Utama,

Pembimbing Anggota,

Dr. Puspita Sari, S.TP., M.Ph
NIP. 197203011998022001

Dr. Maria Belgis S.TP., M.P
NIDN. 760016850

Tim Penguji:

Ketua,

Anggota,

Dr. Ir. Jayus
NIP. 196805161992031004

Prof. Dr. Yuli Witono S.TP., M.P
NIP. 196912121998021001

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember

Dr. Siswoyo Soekarno, S.TP, M.Eng
NIP. 196809031994031009

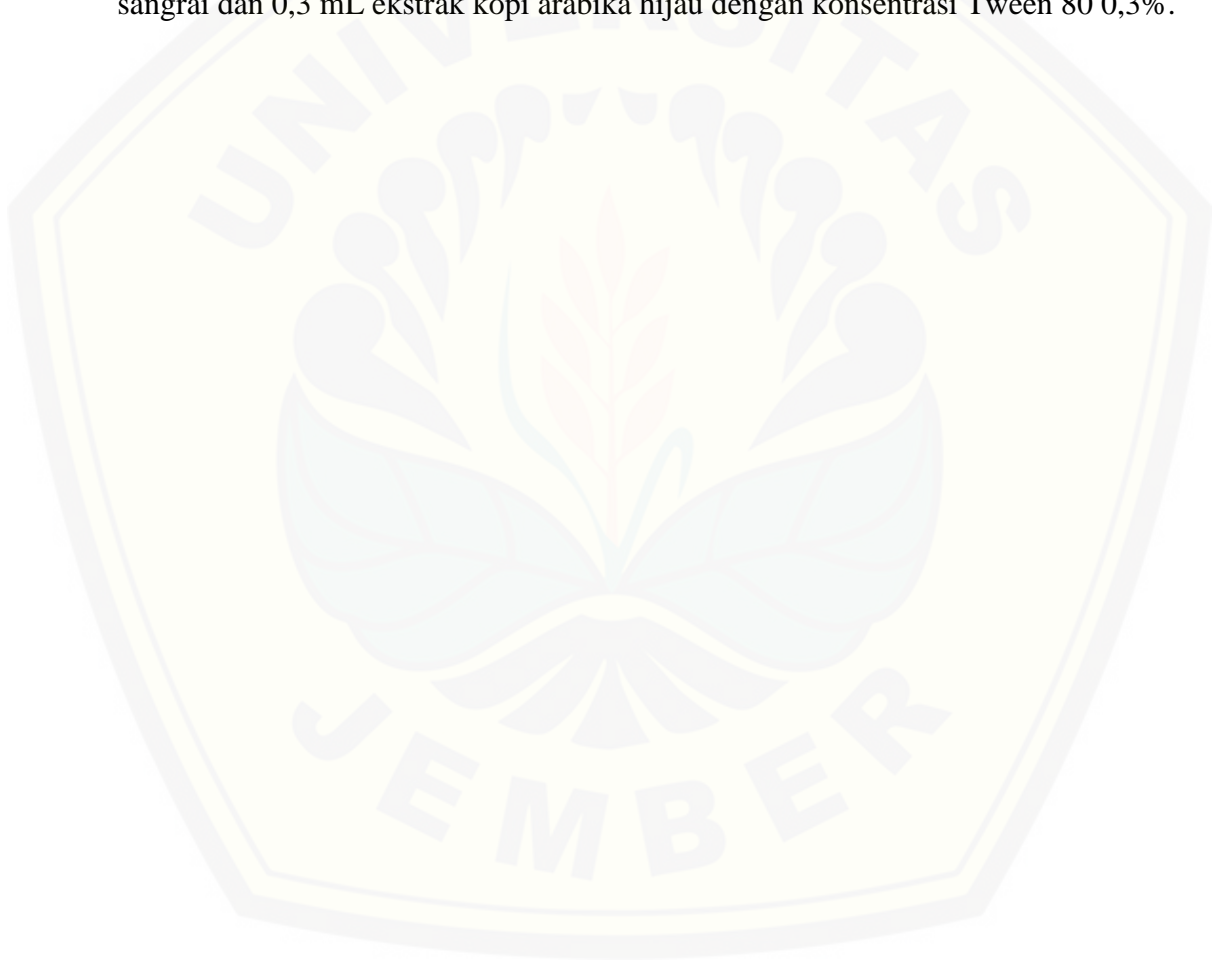
RINGKASAN

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENGHAMBATAN ENZIM ALFA-GLUKOSIDASE NANOKITOSAN TERISI EKSTRAK KOPI YANG DITAMBAH SURFAKTAN TWEEN 80; Hilda Imamatul Hariroh, 151710101096; 2020: 84 halaman; Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Kopi merupakan salah satu komoditi perkebunan terbesar di dunia. Kopi banyak ditemui dalam bentuk minuman diantaranya kopi sangrai dan kopi hijau. Minuman kopi dapat menjadi produk minuman fungsional karena mengandung senyawa fenolik yang tinggi terutama asam klorogenat. Senyawa fenolik terutama asam klorogenat yang terdapat pada kopi memiliki potensi sebagai antioksidan. Selain itu, senyawa fenolik juga dilaporkan memiliki kemampuan untuk menghambat enzim alfa-glukosidase. Ketersediaan senyawa fenolik yang ada pada kopi perlu dilakukan modifikasi teknologi sehingga dapat meningkatkan bioavailabilitasnya. Metode nanoenkapsulasi diharapkan dapat meningkatkan bioavailabilitas dari senyawa kopi sehingga dapat menghasilkan bioavailabilitas yang baik. Salah satu metode yang dapat digunakan dalam pembuatan nanoenkapsulasi adalah metode gelasi ionik dengan menggunakan bahan penyalut kitosan. Tripolifosfat digunakan sebagai agen penyambung silang dan Tween 80 digunakan sebagai bahan penstabil. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim alfa glukosidase nanokitosan terisi ekstrak kopi dalam berbagai variasi jumlah penambahan ekstrak kopi dan konsentrasi Tween 80.

Penelitian dilakukan dalam empat tahapan yaitu (1) ekstraksi biji kopi Arabika hijau dan kopi Robusta sangrai, (2) karakterisasi ekstrak kopi meliputi total padatan terlarut, pH, melanoidin, polifenol dan aktivitas antioksidan (metode DPPH), (3) sintesis nanopartikel terisi ekstrak kopi, (4) pengujian polifenol, melanoidin, aktivitas antioksidan (metode DPPH, FRAP, dan Radikal-OH) dan penghambatan enzim alfa glukosidase nanokitosan terisi ekstrak kopi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta sangrai memiliki kandungan total polifenol berkisar antara 0,380 – 0,670 mg GAE/mL, pigmen coklat melanoidin berkisar antara 0,424 – 0,820 (AU), aktivitas antioksidan yang diuji dengan metode DPPH berkisar antara 0,048 – 0,081 mmol TE/mL, metode FRAP berkisar antara 0,081 – 0,181 mmol TE/mL, metode radikal OH berkisar antara 0,011 – 0,024 mmol TE/mL, penghambatan enzim alfa glukosidase memiliki nilai berturut-turut 34,601 dan 28,332 %. Nanokitosan terisi ekstrak kopi arabika hijau kandungan total polifenol berkisar antara 0,440 – 0,894 mg GAE/mL, aktivitas antioksidan yang diuji dengan metode DPPH berkisar antara 0,059 – 0,117 mmol TE/mL, metode FRAP berkisar antara 0,105 – 0,283 mmol TE/mL, metode radikal OH berkisar antara 0,013 – 0,034 mmol TE/mL, penghambatan enzim alfa glukosidase nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta sangrai 0,15 mL dengan konsentrasi Tween 80 0 dan 0,3% berturut-turut 34, 601 dan 28,332 %, sedangkan pada nanokitosan terisi ekstrak kopi

arabika hijau 0,3 mL dan konsentrasi Tween 80 0 dan 0,3% memiliki nilai berturut-turut 92,867% dan 89,833%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan Tween 80 berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan dan tidak berpengaruh terhadap aktivitas penghambatan enzim alfa-glukosidase nanokitosan terisi ekstrak kopi baik kopi sangrai maupun kopi hijau. Aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim alfa glukosidase yang terdapat pada nanokitosan terisi ekstrak kopi dengan konsentrasi Tween 0% memiliki nilai yang lebih tinggi dibandingkan dengan nanokitosan terisi ekstrak kopi dengan penambahan Tween 80 konsentrasi 0,2 dan 0,3%. Formulasi nanokitosan terisi ekstrak kopi yang dapat dipilih karena memiliki karakteristik fisik yang baik, memiliki kandungan aktivitas antioksidan, dan dapat menghambat enzim alfa glukosidase yakni pada nanokitosan terisi ekstrak kopi dengan penambahan 0,15 mL ekstrak kopi robusta sangrai dan 0,3 mL ekstrak kopi arabika hijau dengan konsentrasi Tween 80 0,3%.



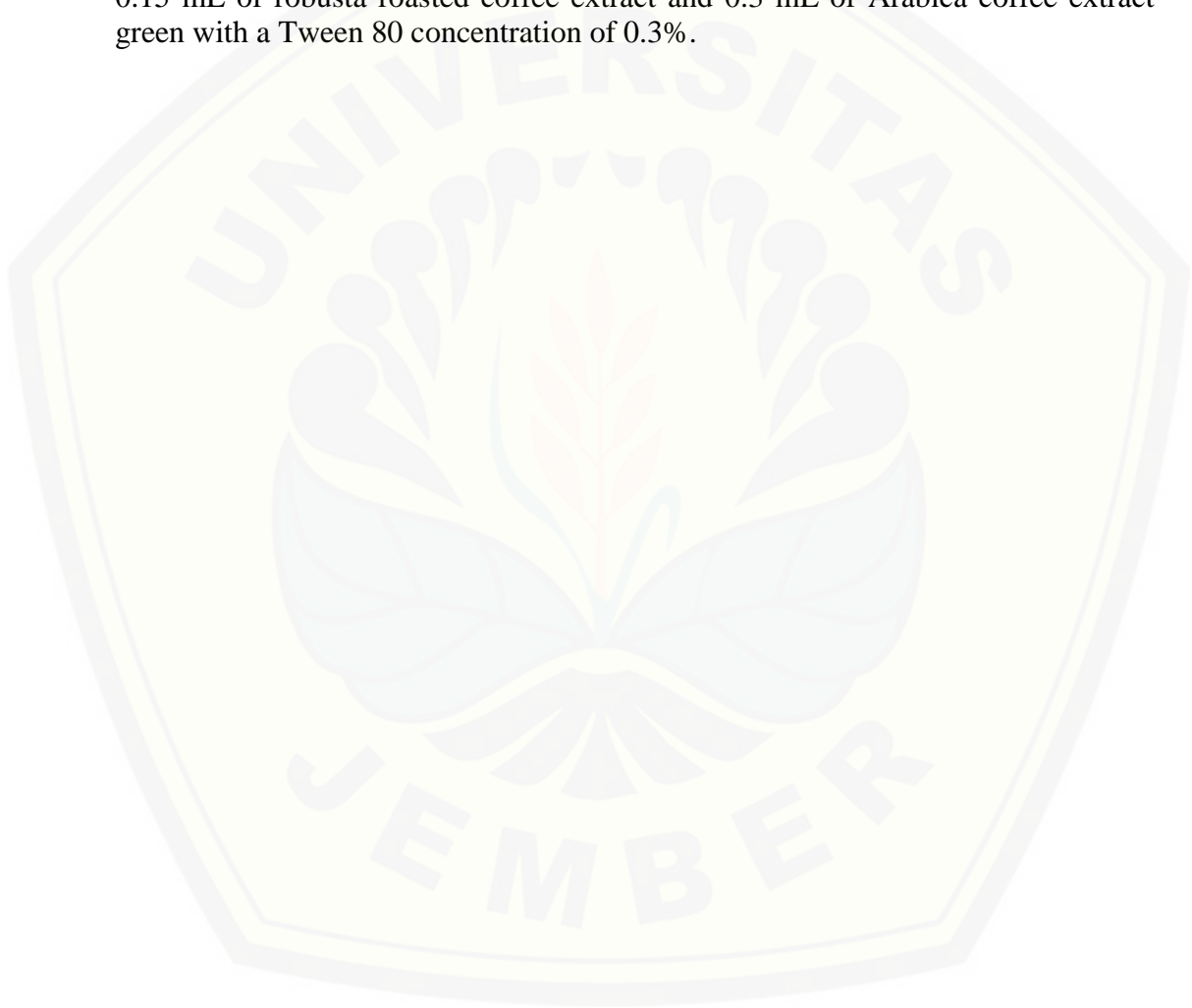
SUMMARY

Antioxidant Activity And Alfa-Glucosidase Inhibition By Nano Chitosan Encapsulated Coffee Extract With The Addition Of Tween 80; Hilda Imamatul Hariroh, 151710101096; 2029: 84 pages; Department of Agricultural Technology Agricultural Technology Faculty University of Jember.

Coffee is one of the largest plantation commodities in the world. Coffee is mostly found in the form of beverages including roasted coffee and green coffee. Coffee drinks can be a functional beverage product because they contain high phenolic compounds, especially chlorogenic acid. Phenolic compounds, especially chlorogenic acid found in coffee have the potential as an antioxidant. In addition, phenolic compounds are also reported to have the ability to inhibit the enzyme alpha-glucosidase. The availability of phenolic compounds in coffee needs to be modified by technology so that it can improve its bioavailability. Nanoencapsulation method is expected to increase the bioavailability of coffee compounds so that it can produce good bioavailability. One method that can be used in making nanoencapsulation is an ionic gelation method using chitosan coating material. Tripolyphosphate is used as a cross-linking agent and Tween 80 is used as a stabilizer. The purpose of this study was to determine the antioxidant activity and inhibition of the alpha glucosidase enzyme nanocitosan filled with coffee extract in various variations in the amount of coffee extract addition and Tween 80 concentration.

The study was conducted in four stages, namely (1) extraction of green Arabica coffee beans and Robusta roasted coffee, (2) characterization of coffee extracts including total dissolved solids, pH, melanoidin, polyphenols and antioxidant activity (DPPH method), (3) synthesis of nanoparticles filled with extract extracts coffee, (4) testing of polyphenols, melanoidin, antioxidant activity (DPPH, FRAP, and Radical-OH methods) and inhibition of nanocytosan alpha-glucosidase enzymes filled with coffee extracts. The results showed that nanocitosan filled with robusta roasted coffee extract had a total polyphenol content ranging from 0.380 to 0.670 mg GAE / mL, melanoidin brown pigment ranged from 0.424 to 0.820 (AU), antioxidant activity tested by DPPH method ranged from 0.048 to 0.081 mmol TE / mL, FRAP method ranged from 0.081 to 0.181 mmol TE / mL, the OH radical method ranged between 0.011 to 0.024 mmol TE / mL, inhibition of alpha glucosidase enzymes had values of 34.601 and 28.332%, respectively. Nanocitosan filled with green arabica coffee extract content of total polyphenols ranged from 0.440 to 0.894 mg GAE / mL, the antioxidant activity tested by DPPH method ranged from 0.059 to 0.117 mmol TE / mL, FRAP method ranged from 0.105 to 0.283 mmol TE / mL, the method OH radicals ranged from 0.013 to 0.034 mmol TE / mL, inhibition of alpha glucosidase nanocitosan enzymes filled with 0.15 mL robusta roasted coffee extract with concentrations of Tween 80 0 and 0.3% respectively 34, 601 and 28.332%, while in nanokitosan filled green arabica coffee extract 0.3 mL and Tween 80 0 and 0.3% concentrations have values of 92.867% and 89.833%,

respectively. The results showed that the addition of Tween 80 had an effect on antioxidant activity and had no effect on the inhibitory activity of the alpha-glucosidase nanocitosan enzymes filled with coffee extracts both roasted and green coffee. Antioxidant activity and inhibition of the alpha glucosidase enzyme contained in nanocitosan filled with coffee extract with a concentration of 0% Tween has a higher value compared to nanocitosan filled with coffee extract with the addition of Tween 80 concentrations of 0.2 and 0.3%. Nanocitosan formulation filled with coffee extract that can be selected because it has good physical characteristics, has antioxidant activity content, and can inhibit the alpha glucosidase enzymes in the nanocitosan filled coffee extract with the addition of 0.15 mL of robusta roasted coffee extract and 0.3 mL of Arabica coffee extract green with a Tween 80 concentration of 0.3%.



PRAKATA

Segala puji bagi Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Aktivitas Antioksidan Dan Penghambatan Enzim Alfa-Glukosidase Nanokitosan Terisi Ekstrak Kopi dengan Penambahan Surfaktan Tween 80”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari adanya kerjasama, motivasi, dan bantuan dari berbagai pihak secara langsung maupun tidak langsung. Segenap kerendahan hati pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak berikut:

1. Dr. Siswoyo Soekarno, M.Eng selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember;
2. Dr. Ir. Jayus selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember;
3. Dr.Puspita Sari, S.TP., M.Ph selaku dosen pembimbing utama, Dr. Maria Belgis S.TP., M.P selaku dosen pembimbing anggota yang telah banyak meluangkan waktu, pikiran, perhatian untuk memberikan bimbingan;
4. Dr. Ir. Jayus selaku dosen penguji utama dan Prof. Dr. Yuli Witono S.TP., M.P selaku dosen penguji anggota atas kecermatan dan ketelitian sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan lebih sempurna;
5. Bapak Ardiyan Masahid S.TP., M.P selaku dosen pembimbing akademik yang selalu memberikan ilmu serta bimbingan selama menjadi mahasiswa;
6. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian (Balitbangtan) yang mendani penelitian ini melalui program Penelitian Kerja sama Penelitian, Pengkajian, dan Pengembangan Pertanian Strategis (KP4S) dengan ketua Dr. Puspita Sari, S.TP., M.Ph;
7. Segenap dosen Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember yang telah memberikan ilmu dan pengalaman;

8. Segenap teknisi laboratorium di Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember yang telah memberikan ilmu dan pengalaman kepada penulis;
9. Ibu, Ayah dan seluruh keluarga terhebat yang tak pernah lelah mendoakan, memberikan motivasi serta dukungannya baik materil maupun moril;
10. Teman-teman seperjuangan proyek penelitian Kristina, Safira, Putri, Fetty, Lusi, Say, Dewi dan Firas yang telah berbagi suka dan duka yang bermakna selama penelitian berlangsung hingga skripsi dapat diselesaikan dengan baik;
11. Mba maisaroh, mba Fita, mba Wulan, dan mba Hujjah yang sudah mau dengerin keluh kesah, memberikan waktu luang untuk membantu;
12. Manusia-manusia ajaib Aqe, Ambar, Ang, Seno, Yasa, Situn, Lutfi, Lufi, Afina dan Dani yang selalu memberi semangat dan memotivasi.
13. Keluarga THPC 2015 yang saling berbagi pengalaman serta memberikan motivasi untuk tetap bersemangat dalam suasana suka duka yang indah;
14. Semua pihak yang turut memberikan dukungan dan membantu dalam pelaksanaan penelitian skripsi sehingga dapat terselesaikan dengan baik.

Besar harapan penulis agar skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak dalam mengembangkan ilmu pengetahuan. Penulis menyadari bahwa masih terdapat kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dan bermanfaat guna kesempurnaan skripsi ini. Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini membawa manfaat dan menambah pengetahuan bagi pembaca.

Jember, 20 Januari 2020

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
SUMMARY	ix
PRAKATA	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Kopi (<i>Coffea sp</i>)	4
2.1.1 Jenis-jenis Kopi.....	4
2.1.2 Kandungan Kimia Biji Kopi	5
2.2 Nanopartikel	8
2.2.1 Definisi Nanopartikel	8
2.2.2 Metode Pembuatan Nanopartikel.....	9
2.3 Tween 80	11
2.4 Antioksidan	11
2.4.1 Definisi Antioksidan	11

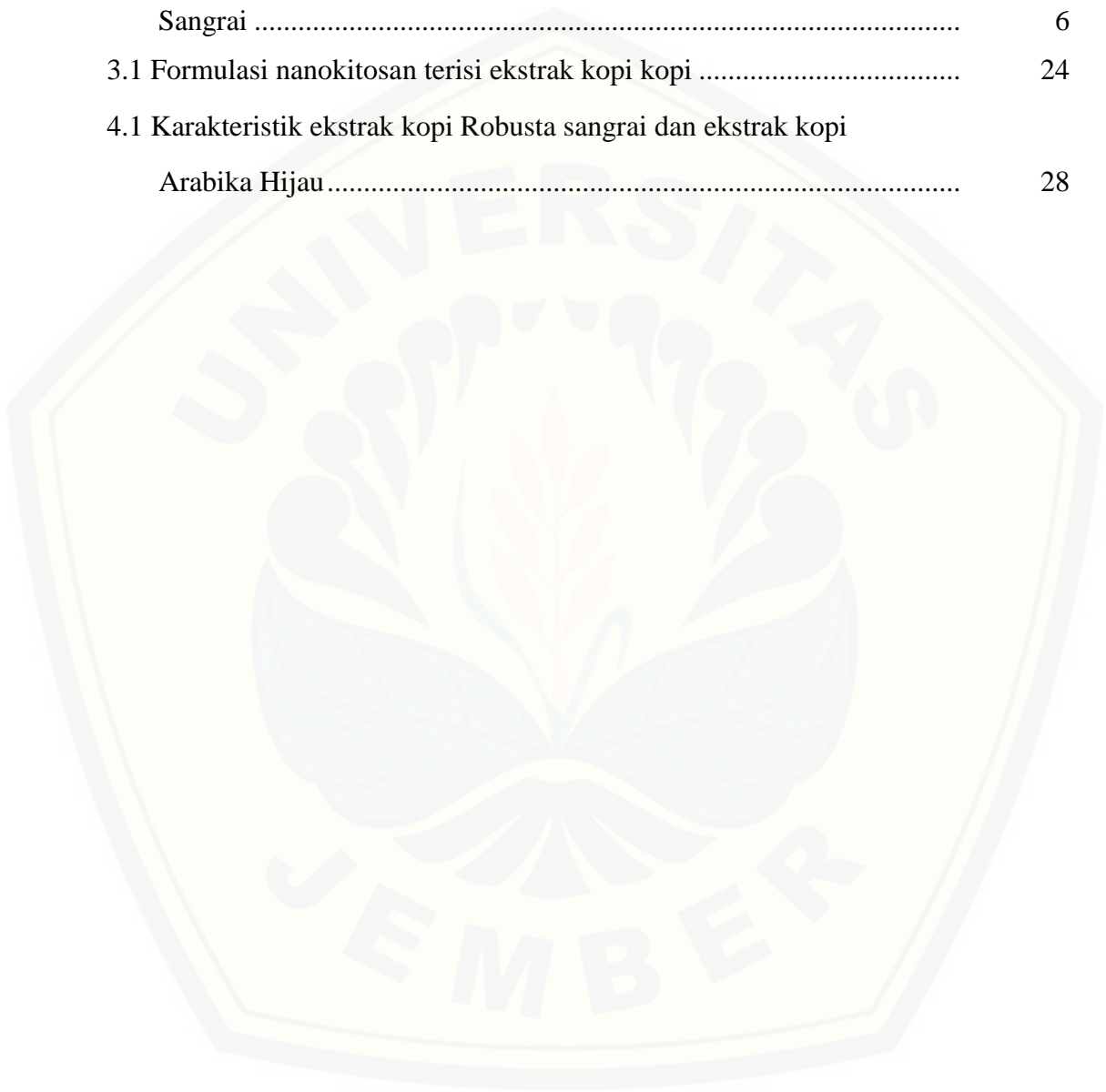
2.4.2 Antioksidan pada Kopi.....	13
2.4.3 Pengujian Aktivitas Antioksidan.....	15
2.5 Enzim Alfa glukosidase.....	17
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	20
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	20
3.2 Bahan dan Alat Penelitian	20
3.2.1 Alat Penelitian	20
3.3 Metode Penelitian	20
3.3.1 Rancangan Penelitian	20
3.3.2 Ekstraksi Kopi Robusta Sangrai.....	21
3.3.3 Ekstraksi Kopi Arabika Hijau	22
3.3.4 Pembuatan Nanokitosan Terisi Ekstrak Kopi	22
3.3.5 Formulasi nanokitosan terisi ekstrak kopi.....	23
3.4 Parameter Pengamatan	24
3.4.1 pH.....	24
3.4.2 Total Padatan Terlarut.....	24
3.4.3 Pengujian Pigmen Coklat Melanoidin	24
3.4.4 Kandungan Total Polifenol	24
3.4.5 Aktivitas Antioksidan.....	25
3.4.6 Pengujian Penghambatan Enzim Alfa Glukosidase	26
3.5 Analisis Data	26
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	27
4.1 Karakteristik Ekstrak Kopi	27
4.2 Total Polifenol.....	29
4.3 Kandungan Pigmen Coklat Melanoidin.....	32
4.4 Aktivitas Antioksidan	34
4.4.1 Aktivitas Antioksidan Metode DPPH	34
4.4.2 Antioksidan Metode FRAP	37
4.4.3 Aktivitas Antioksidan Metode Radikal OH	41
4.5 Penghambatan Enzim alfa-Glucidase.....	44
BAB 5. PENUTUP.....	47
5.1 Kesimpulan	47

5.2 Saran	47
DAFTAR PUSTAKA	48



DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Kandungan kopi Robusta dan Arabika sebelum dan sesudah di Sangrai	6
3.1 Formulasi nanokitosan terisi ekstrak kopi kopi	24
4.1 Karakteristik ekstrak kopi Robusta sangrai dan ekstrak kopi Arabika Hijau.....	28



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Proses gelasi ionik antara kitosan dan TPP.....	10
2.2 Reaksi <i>crosslink</i> antara kitosan dan TPP.....	11
2.3 Struktur senyawa asam klorogenat.....	15
3.1 Ekstraksi kopi robusta sangrai.....	22
3.2 Ekstraksi kopi arabika hijau.....	23
3.3 Pembuatan nanokitosan terisi ekstrak kopi.....	21
4.1 Ekstrak Pekat Kopi.....	28
4.2 Kandungan total polifenol nanokitosan terisi ekstrak kopi.....	31
4.3 Kandungan melanoidin nanokitosan terisi ekstrak kopi.....	34
4.4 Aktivitas antioksidan metode DPPH nanokitosan terisi ekstrak kopi.....	37
4.5 Aktivitas antioksidan metode FRAP nanokitosan terisi ekstrak kopi.....	40
4.6 Aktivitas antioksidan metode OH radikal nanokitosan terisi ekstrak kopi	43
4.7 Aktivitas Penghambatan alfa glukosidase nanokitosan terisi ekstrak Kopi.....	46

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Data Karakteristik Ekstrak Biji Kopi Arabika Hijau dan Robusta Sangrai.....	60
B. Data Hasil Analisis Kandungan Polifenol Nanokitosan Terisi Ekstrak Kopi.....	61
C. Data Hasil Analisis Kandungan Pigmen Coklat Melanoidin Nanokitosan Terisi Ekstrak Kopi.....	68
D. Data Hasil Aktivitas Antioksidan Metode DPPH Nanokitosan Terisi Ekstrak Kopi.....	73
E. Data Hasil Analisis Aktivitas Antioksidan Metode FRAP Nanokitosan Terisi Ekstrak Kopi.....	78
F. Data Hasil Analisis Aktivitas Antioksidan Metode OH-Radikal Nanokitosan Terisi Ekstrak Kopi.....	81
G. Data Hasil Analisis Penghambatan Enzim Alfa Glukosidase Nanokitosan Terisi Ekstak Kopi.....	83

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kopi merupakan salah satu komoditi perkebunan terbesar di dunia. Kopi banyak ditemui dalam bentuk minuman diantaranya kopi sangrai dan kopi hijau. Kopi sangrai dihasilkan dari biji kopi yang telah disangrai dan kopi hijau dihasilkan dari biji kopi tanpa adanya proses penyangraian. Kedua jenis minuman kopi tersebut dapat menjadi produk minuman fungsional karena mengandung senyawa fenolik yang tinggi terutama asam klorogenat (Hecimovic *et al.*, 2011). Menurut Ruiz *et al.* (2007), komponen fenolik seperti asam klorogenat memiliki peran dalam menyumbangkan aktivitas antioksidan pada kopi.

Antioksidan berfungsi sebagai senyawa yang mampu menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul reaktif sehingga mampu mencegah kerusakan sel (Winarsi, 2007). Selain sebagai antioksidan, senyawa fenolik juga mampu menghambat enzim alfa glukosidase (Lee *et al.*, 2008). Penelitian yang dilakukan Kwon *et al.* (2006) memberikan informasi bahwa senyawa fenolik memiliki daya hambat enzim alfa glukosidase. Enzim alfa-glukosidase memecah karbohidrat menjadi glukosa pada saluran pencernaan sehingga dapat meningkatkan kadar gula darah (Subroto, 2006). Inhibitor enzim alfa-glukosidase bekerja dengan menghambat kerja enzim-enzim pencernaan yang mencerna karbohidrat sehingga absorpsi glukosa ke dalam darah menjadi lebih lambat (Muchid., 2005). Berdasarkan uraian di atas menunjukkan bahwa senyawa fenolik memiliki potensi sebagai antioksidan sekaligus sebagai penghambat enzim alfa-glukosidase.

Ketersediaan senyawa fenolik yang ada pada kopi sebagai antioksidan dan inhibitor enzim alfa glukosidase perlu dilakukan modifikasi teknologi karena umumnya senyawa polifenol bersifat tidak stabil terhadap pengaruh lingkungan sehingga akan berpengaruh terhadap bioavailabilitas di dalam tubuh (Sulistyo *et al.*, 2008). Salah satu modifikasi teknologi yang diharapkan dapat meningkatkan bioavailabilitas senyawa kopi yaitu dengan penggunaan teknologi nanoenkapsulasi. Menurut Kailaku *et al.*, (2003), penerapan teknologi

nanoenkapsulasi dapat meningkatkan kestabilan senyawa bioaktif sehingga dapat menghasilkan bioavailabilitas yang baik. Salah satu metode yang dapat digunakan dalam nanoenkapsulasi adalah metode gelasi ionik. Metode gelasi ionik merupakan metode penyambungan silang antara polielektrolit yang bermuatan positif dengan polianion yang bermuatan negatif sehingga terbentuk membran kompleks polielektrolit (Mohanraj, 2006).

Pembuatan nanopartikel dengan metode gelasi ionik banyak dilakukan menggunakan penyalut kitosan. Kitosan digunakan sebagai bahan penyalut karena memiliki beberapa kelebihan yaitu bersifat biokompatibel, biodegradabel, tidak beracun, dan dapat membentuk matriks yang dapat mengendalikan pelepasan senyawa bioaktif (Prabaharan, 2008). Tripolifosfat merupakan salah satu polianion yang banyak digunakan karena memiliki sifat *food grade*, lebih aman, dan tidak menimbulkan efek samping (Ningsih *et al.*, 2017). Reaksi sambung silang secara ionik terjadi antara ion tripolifosfat (polianion) dan gugus amin – NH₃⁺ (kation) kitosan (Ko S dan Lee SC, 2010). Penelitian mengenai sintesis nanokitosan terisi ekstrak kopi menggunakan metode gelasi ionik telah dilakukan diantaranya pada penelitian Hujjah (2018) dan Tyas (2018) tentang karakterisasi sifat fisik dan kimia nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta sangrai dan arabika hijau. Penerapan metode gelasi ionik pada pembuatan nanokitosan terisi ekstrak kopi memiliki kelemahan yaitu stabilitas senyawa polifenol yang rendah, terbentuk agregasi antara kitosan dan senyawa bioaktif kopi sehingga membentuk endapan. Cara yang dapat dilakukan untuk meningkatkan stabilitas nanokitosan terisi ekstrak kopi yaitu dengan penggunaan surfaktan untuk meningkatkan kestabilan dari nanokitosan terisi ekstrak kopi. Surfaktan yang biasa digunakan yaitu Tween 80 yang bersifat non toksik. Penggunaan surfaktan tersebut disebabkan karena tween 80 merupakan salah satu surfaktan yang dapat berperan untuk mencegah terjadinya gumpalan yang mengakibatkan terbentuknya pengendapan partikel (Sugita *et al.*, 2010). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi Tween 80 terhadap aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim alfa glukosidase nanokitosan terisi ekstrak kopi.

1.2 Rumusan Masalah

Kopi memiliki senyawa aktif yang berpotensi sebagai antioksidan seperti senyawa polifenol terutama asam klorogenat. Senyawa polifenol juga diketahui memiliki potensi sebagai inhibitor enzim alfa glukosidase. Senyawa polifenol yang terdapat pada kopi mudah mengalami kerusakan sehingga perlu ditingkatkan bioavailabilitasnya, salah satunya dengan teknologi nanoenkapsulasi menggunakan metode gelasi ionik dengan bahan penyalut kitosan. Beberapa penelitian sebelumnya menyatakan bahwa suspensi nanokitosan memiliki kelemahan yaitu dapat membentuk agregasi antara kitosan dan senyawa bioaktif kopi, sehingga perlu dilakukan penambahan Tween 80 yang berperan untuk mencegah terbentuknya agregasi. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi Tween 80 terhadap aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim alfa glukosidase nanokitosan terisi ekstrak kopi.

1.3 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi Tween 80 terhadap aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim alfa glukosidase nanokitosan terisi ekstrak kopi.

1.4 Manfaat

Manfaat penelitian sebagai berikut:

1. Menambah nilai ekonomis produk kopi.
2. Alternatif diversifikasi produk minuman kopi sebagai minuman fungsional.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kopi (*Coffea sp*)

2.1.1 Produktivitas Biji Kopi

Tanaman kopi tumbuh subur di daerah tropis dan subtropis Amerika Tengah dan Selatan, Afrika, dan Asia Tenggara terutama pada daerah dengan iklim sesuai (Schenker et al., 2002). Brazil menjadi negara produsen dan eksportir terbesar biji kopi di dunia diikuti Vietnam, Kolumbia, Indonesia, dan Ethiopia, sedangkan USA, Jerman, Jepang, Italia, dan Perancis menjadi negara konsumen terbesar di dunia (ICO, 2016). Indonesia sebagai negara penghasil kopi terbesar keempat di dunia memiliki angka produktivitas yang terus meningkat pada tiga tahun terakhir yaitu pada tahun 2015-2017 berturut-turut 639,41; 639,30; dan 637,53 ton (Direktorat Jenderal Perkebunan, 2017). Banyaknya kopi Indonesia yang di ekspor dari tahun 1980 hingga 2015 bersifat fluktuatif namun cenderung mengalami peningkatan. Tahun 1980 ekspor kopi mencapai 238,66 ton dengan nilai 656 juta US\$ dan meningkat hingga 2015 menjadi 502,02 ton dengan nilai 1,19 juta US\$ (Kementrian Pertanian, 2015).

2.1.2 Jenis-jenis Kopi

Jenis kopi yang banyak dikembangkan di Indonesia adalah kopi robusta (*Coffea canephora*) dan arabika (*Coffea arabica*) (Veronika, 2008). Kopi jenis arabika memiliki keunggulan diantaranya beraroma harum dan cita rasa yang unggul (Ibrahim et al., 2012). Ciri-ciri kopi arabika secara umum yaitu memiliki aroma yang menyerupai aroma campuran bunga dan buah, memiliki cita rasa yang asam dan lebih lembut dibandingkan dengan kopi robusta, memiliki rasa yang sedikit lebih pahit, dan tekstur biji lebih halus dibanding dengan kopi robusta. Kopi robusta memiliki ciri-ciri secara umum yaitu memiliki rasa yang lebih pahit, memiliki aroma yang khas dan sedikit ada aroma manis dan teksturnya lebih kasar dibandingkan dengan kopi arabika (Anggara et al., 2011). Kopi jenis robusta memiliki keunggulan yaitu lebih tahan terhadap beberapa penyakit dan hama tanaman sehingga dapat menghasilkan jumlah produksi yang lebih banyak dibandingkan dengan kopi arabika.

Berdasarkan proses pengolahannya terdapat dua jenis kopi yang kini banyak dikonsumsi oleh masyarakat, yaitu kopi sangrai dan kopi hijau. Kopi hijau (*green coffee*) merupakan jenis olahan biji kopi yang diperoleh dari proses ekstraksi biji kopi yang belum melalui proses penyangraian. Proses penyangraian dapat menguraikan kandungan asam klorogenat menjadi senyawa volatil dan melanoidin. Menurut Malkapuram *et al.* (2016), kopi hijau memiliki manfaat bagi kesehatan diantaranya sebagai antidiabetes dan anti obesitas. Efek sinergis dari senyawa bioaktif yang terdapat pada biji kopi terbukti dapat mengurangi penyerapan karbohidrat dari saluran pencernaan (Samadi *et al.*, 2015).

2.1.3 Kandungan Kimia Biji Kopi

Kandungan kimia kopi tergantung dari varietas dan proses pengolahan yang dilakukan serta faktor-faktor lain seperti lingkungan tempat tumbuh, tingkat kematangan dan kondisi penyimpanan. Biji kopi mengandung beberapa komponen kimia diantaranya yaitu kafein, asam klorogenat, trigonelin, karbohidrat, lemak, asam amino, asam organik, aroma volatil dan mineral dapat menghasilkan efek yang menguntungkan dan membahayakan bagi kesehatan (Higdon dan Frei, 2006). Senyawa kimia pada biji kopi dapat dibedakan atas senyawa volatil dan non volatil. Senyawa volatil adalah senyawa yang mudah menguap terutama jika terjadi kenaikan suhu. Senyawa volatil yang berpengaruh terhadap aroma kopi antara lain golongan aldehid, keton dan alkohol, sedangkan senyawa non volatil yang berpengaruh terhadap mutu kopi antara lain kafein, asam klorogenat, hidrokarbon alifatik, asam, alkohol, tiol, furan, piro, piridin, quinin, fenol (asam alifatik) dan amin aromatik (Ramanaviciene *et al.*, 2003). Kandungan biji kopi sebelum dan sesudah disangrai disajikan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Kandungan kopi Robusta dan Arabika sebelum dan sesudah di sangrai (g/100g bahan)

Komponen	Kopi Arabika Hijau	Kopi Arabika Sangrai	Kopi Robusta Hijau	Kopi Robusta Sangrai
Sukrosa	6-9	4,2-tr	0,9-4,0	1,6-tr
Gula Pereduksi	0,1	0,3	0,4	0,3
Polisakarida	34-44	31-33	48-55	37
Lignin	3	3	3	3
Pektin	2	2	2	2
Protein	10-11	7,5-10	10-11	7,5-10
Asam amino bebas	0,5	Tidak terdeteksi	0,8-1	Tidak terdeteksi
Kafein	0,9-1,3	1,1-1,3	1,5-2,5	2,4-2,5
Trigonelin	0,6-0,2	1,2-0,2	0,6-0,7	0,7-1,3
Asam Nikotinic	-	0,016-0,026	-	0,014-0,025
Minyak kopi (trigliserida, sterol/tokoferol)	15-17	17	7-10	11
Diterpen	0,5-1,2	0,9	0,2-0,8	0,2
Mineral	3-4,2	4,5	4,4-4,5	47
Asam Klorogenat	4,1-7,9	1,9-2,5	6,1-11,3	3,3-3,8
Asam alifatik	1,0	1,6	1	1,6
Asam kuinat	0,4	0,8	0,4	1
Melanoidin	-	25	-	25

Sumber : Farhaty (2017)

Kandungan kimia biji kopi dipengaruhi antara lain oleh jenis dan varietas kopi, lingkungan tempat tumbuh, tingkat kematangan, kondisi penyimpanan, dan proses pengolahan (Clarke dan Markae, 1987). Kopi mengandung senyawa polifenol yang cukup besar. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Wiranata (2016) biji kopi (*green bean*) mengandung senyawa polifenol sebesar 13,18 g GAE/100 g. Penelitian Naidu *et al.* (2008) menunjukkan bahwa kandungan total polifenol tertinggi pada biji kopi atau *green bean* arabika dan robusta berturut-turut sebesar 32,19 dan 31,71% sedangkan kandungan asam klorogenat biji kopi arabika dan robusta berturut-turut 30,19 dan 29,71%. Hal ini menunjukkan bahwa asam klorogenat merupakan komponen fenolik yang mendominasi pada biji kopi (Ayelign *et al.*, 2013). Menurut Mursu *et al.* (2005) kandungan asam klorogenat yang terdapat pada biji kopi mencapai 90% dari total senyawa fenol lain yang

terdapat pada kopi. Asam klorogenat yang terkandung pada biji kopi robusta memiliki perbedaan dengan asam klorogenat yang terkandung dalam biji kopi arabika. Biji kopi robusta memiliki kandungan yang lebih tinggi dibandingkan dengan kopi biji lainnya yakni mencapai 6,1-11,3 mg per g biji kopi (Farah, 2012). Perbedaan kandungan asam klorogenat tidak hanya didasarkan pada jenis biji saja, namun adanya beberapa faktor seperti adanya pemanasan atau penyangraian biji kopi hijau juga akan mempengaruhi tinggi rendahnya kandungan asam klorogenat tersebut. Biji kopi akan mengalami perubahan secara fisik maupun kimia saat dilakukan proses penyangraian. Menurut Yusianto (2014), selama penyangraian sebagian besar asam klorogenat akan menjadi asam kafeat dan asam kuintat. Banyak penelitian yang melaporkan bahwa dengan dilakukannya proses penyangraian, asam klorogenat dapat terurai menjadi derivat fenol dan dapat menyebabkan nilai kandungannya menjadi berkurang di dalam biji kopi tersebut (Moon *et al.*, 2009). Hal ini diperkuat dengan pernyataan Farah dan Carmen (2006), bahwa proses penyangraian yang dilakukan pada biji kopi juga dapat menyebabkan asam *dicaffeoylquinic* (diCQA) mengalami hidrolisis menjadi mono ester dan asam kafein namun pada proses ini fenol yang bersifat volatil meningkat.

Proses penyangraian pada suhu di atas 180-200⁰C dapat menyebabkan perubahan besar dalam komposisi kimia dan aktivitas biologis kopi sebagai akibat dari hasil reaksi *Maillard* dan *Strecker*. Senyawa yang menyebabkan rasa sepat atau rasa asam seperti tanin dan asam asetat akan hilang dan sebagian lainnya akan bereaksi dengan asam amino membentuk senyawa melanoidin yang memberikan warna coklat (Panggabean, 2011). Melanoidin merupakan komponen produk akhir reaksi maillard yang memiliki berat molekul tinggi atau HMW (*high molecule weight*), pembentuk warna coklat, polimer nitrogen, dan dibentuk oleh reaksi gula dengan protein/asam amino (Moreira *et al.*, 2012). Mekanisme pembentukan senyawa melanoidin pada kopi telah dibahas oleh Moreira *et al.* (2012) yang merangkum tiga mekanisme pembentukan. Pertama, melanoidin dibentuk melalui reaksi polimerisasi (via reaksi polikondensasi) dari

produk-produk reaksi Maillard dengan berat molekul rendah atau LMW (*low molecule weight*) seperti furan dan pirol. Kedua, teori Hofmann yang mengusulkan bahwa melanoidin merupakan hasil cross-linking antara produk Maillard LMW dengan protein via reaksi rantai samping asam amino seperti lisin, arginin, dan sistein. Ketiga, teori yang menyebutkan bahwa kerangka melanoidin dibangun dari produk degradasi gula yang dibentuk pada awal tahap reaksi Maillard dan dipolimerisasi oleh kondensasi aldol.

2.2 Nanopartikel

2.2.1 Definisi Nanopartikel

Nanopartikel sebagai dispersi partikel padat memiliki ukuran berkisar 10-1000 nm (Mohanraj dan Chen, 2006). Nanopartikel memiliki sifat yang baik karena adanya peningkatan luas permukaan yang dapat meningkatkan reaktivitas maupun kekuatan partikel (Thassu *et al.*, 2009). Sistem penghantaran obat dalam bentuk nanopartikel telah menunjukkan potensi yang sangat besar dibidang biologi, kesehatan dan aplikasi dalam bidang pangan (Martien *et al.*, 2012). Sebagai sistem penghantar obat, nanopartikel memiliki beberapa keuntungan yaitu (1) ukuran dan sifat permukaan yang mudah diatur, (2) mengontrol pelepasan zat aktif, (3) mengurangi efek samping zat aktif (Rawat *et al.*, 2006).

Bahan yang digunakan dalam pembuatan nanopartikel berupa polimer dan penaut silang/*crosslinker* (Rachmania, 2011). Polimer yang biasa digunakan dalam pembuatan nanopartikel yaitu gelatin, amilum, kitosan dan natrium alginat (Soppimath *et al.*, 2011). Polimer yang digunakan dalam proses sintesis nanopartikel yang baik harus bersifat biodegradabel dan biokompatibel. Polimer yang digunakan diharapkan dapat terserap oleh tubuh dalam saluran pencernaan (Wu *et al.*, 2005). Kitosan merupakan polimer yang paling banyak digunakan karena memiliki beberapa sifat ideal sebagai polimer pembawa untuk nanopartikel, seperti memiliki sifat biodegradabel dan biokompatibel dan non toksik (Prusty, 2009). Wu *et al.* (2005) juga melaporkan bahwa nanopartikel dari bahan polimer biodegradabel dan biokompatibel seperti kitosan merupakan bahan

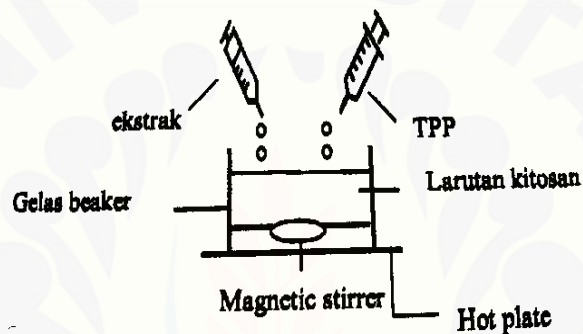
yang baik sebagai pembawa obat untuk sistem penghantaran karena nanopartikel akan terjerap secara utuh di dalam saluran pencernaan setelah masuk ke dalam tubuh. Nanopartikel mempunyai kelebihan yaitu lebih mudah untuk berikatan dengan sel dibandingkan dengan molekul yang mempunyai ukuran lebih besar, sehingga nanopartikel banyak digunakan sebagai penghantar untuk obat yang mengandung komponen bioaktif (Wilczewska *et al.*, 2012).

2.2.2 Metode Pembuatan Nanopartikel

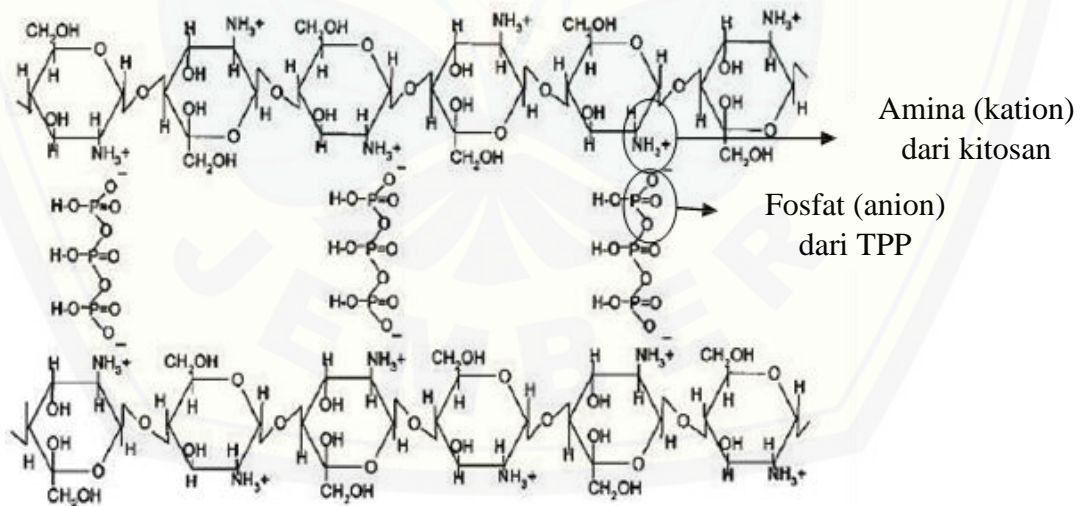
Metode yang digunakan mempengaruhi beberapa faktor dalam pembuatan nanopartikel. Nanopartikel dapat dibuat dengan beberapa metode antara lain metode dispersi polimer, polimerisasi monomer dan gelas ionik (Mohanraj dan Chen, 2006). Penggunaan teknik dispersi polimer dapat dilakukan menggunakan beberapa metode yaitu evaporasi pelarut dan difusi pelarut. Metode evaporasi, polimer dan obat dilarutkan dalam pelarut organik, kemudian diemulsikan dalam larutan yang mengandung surfaktan untuk membentuk emulsi minyak dalam air (o/w), setelah larutan stabil kemudian pelarut organik diuapkan (Zambaux *et al.*, 1998). Metode polimerisasi, monomer dipolimerisasi hingga membentuk ukuran nanopartikel dalam larutan, kemudian dipisahkan dari penstabil dan surfaktan menggunakan ultracentrifugasi dan partikel disuspensikan dalam bentuk surfaktan yang isotonis (Zhang *et al.*, 2010). Metode selanjutnya yaitu metode gelas ionik yang sangat sederhana dan mudah dilakukan serta telah berkembang luas dan banyak penelitian menggunakan metode gelas ionik (Racovita *et al.*, 2009).

Metode sintesis nanopartikel yang paling sering digunakan yaitu metode gelas ionik karena metode ini paling mudah dilakukan (Mohanraj dan Chen, 2006). Metode gelas ionik dilakukan dengan mencampurkan fase cair yang mengandung kitosan dan tripolifosfat (Wu *et al.*, 2008). Prinsip pembentukan partikel pada metode gelas ionik antara gugus amina pada kitosan yang bermuatan positif dengan polianion yang bermuatan negatif membentuk intermolekul tiga dimensi (Agnihotri, 2004). Salah satu contoh penerapan metode gelas ionik adalah pembuatan nanopartikel kitosan dengan cara mencampurkan

polimer kitosan dengan polianion TPP yang menghasilkan interaksi antara muatan positif pada gugus amino kitosan dengan gugus negatif TPP (Irianto, 2011). Banyak penelitian yang telah membuktikan bahwa penggunaan kitosan sebagai agen penyalut yang sangat baik. Namun, kitosan bersifat rapuh, sehingga perlu dimodifikasi. Penelitian nanopartikel kitosan termodifikasi umumnya menggunakan senyawa pengikat silang dan surfaktan dalam metode pembuatan gelasi ionik (Wahyono, 2010). Proses gelasi ionik antara kitosan dan TPP disajikan pada Gambar 2.1 dan ilustrasi *crosslink* antara kitosan dan STPP pada Gambar 2.2.



Gambar 2.1 Proses gelasi ionik antara kitosan dan TPP (Racovita *et al.*, 2009).



Gambar 2.2 Reaksi *crosslink* antara kitosan dan TPP (Longmi *et al.*, 1999)

2.3 Tween 80

Tween 80 atau Polysorbate 80 merupakan ester oleat dari sorbitol yang berupa cairan kental berwarna kuning (Rowe, Sheskey, dan Quinn, 2009). Tween 80 merupakan salah satu surfaktan yang biasa digunakan dalam proses enkapsulasi karena bersifat nontoksik. Surfaktan (*surface active agent*) atau zat aktif permukaan adalah senyawa organik yang memiliki komposisi struktur satu atau lebih ekor non polar hidrofobik yang terhubung dengan sebuah polar bagian kepala sebagai hidrofilik. Surfaktan dapat menurunkan tegangan permukaan air dengan memutus ikatan hidrogen pada permukaan air dengan ekor hidrofobiknya terentang menjauhi permukaan air. Pada dasarnya karakteristik surfaktan merupakan manifestasi dari rasio antara bagian hidrofilik dan hidrofobik sebagai *hydrophile lipophile balance* atau HLB (Jaya, 2010).

Penggunaan Tween 80 sebagai surfaktan telah dilakukan pada beberapa penelitian enkapsulasi yang dilakukan oleh Trisnawati (2014) dimana dengan adanya penambahan surfaktan Tween 80 dapat meningkatkan presentase efisiensi enkapsulasi dan kestabilan dari nanopartikel. Pachuau (2009) menyatakan bahwa penggunaan surfaktan tween 80 sebagai emulsifier untuk menyatukan kitosan dan alginat. Surfaktan dapat membentuk lapisan yang baik di sekeliling permukaan kapsul, sehingga aglomerasi alginat-kitosan dapat berkurang dan karena itu efisiensinya cenderung meningkat. Tween 80 merupakan molekul yang mengabsorpsi pada permukaan butiran yang terbentuk selama homogenasi dan membentuk membran protektif yang menjaga butiran agar tidak terjadi agregasi.

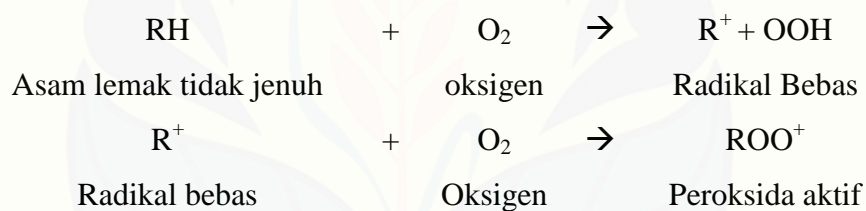
2.4 Antioksidan

2.4.1 Definisi Antioksidan

Menurut Winarsi (2011) senyawa antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (*electron donors*). Secara biologis, pengertian antioksidan adalah senyawa yang mampu menangkal atau meredam dampak negatif oksidan dalam tubuh. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa

dihambat. Menurut Kumalaningsih (2007), antioksidan adalah senyawa yang mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya dengan cuma-cuma kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas.

Mekanisme antioksidan dalam menghambat oksidasi atau menghentikan reaksi berantai pada radikal bebas dapat disebabkan oleh empat macam mekanisme reaksi, yaitu pelepasan hidrogen dari antioksidan, pelepasan elektron dari antioksidan, adisi lemak ke dalam cincin aromatik pada antioksidan, pembentukan senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari antioksidan. Apabila dalam suatu asam lemak yang terdapat dalam minyak tidak mengandung senyawa antioksidan, maka peroksidan aktif akan berikatan dengan ikatan rangkap lengkap. Berbeda apabila jika ada penambahan senyawa antioksidan, maka peroksida aktif akan bereaksi dengan antioksidan tersebut sehingga pembentukan radikal bebas dapat dihentikan.



Mekanisme kerja senyawa antioksidan (Winarti, 2010)

Tubuh manusia memiliki sistem pertahanan endogen terhadap serangan radikal bebas ketika proses metabolisme sel normal dan peradangan. Antioksidan yang menangkal radikal bebas menunjukkan pengurangan resiko terhadap beberapa penyakit kronis (Rohmatussolihat, 2009). Jumlah radikal bebas dapat bertambah oleh beberapa faktor seperti stres, radiasi, asap rokok, polusi udara, sehingga membutuhkan asupan antioksidan lebih dari luar untuk menjaga serangan radikal bebas (Rohdiana, 2001).

Antioksidan berdasarkan mekanisme reaksinya dibagi menjadi tiga macam yaitu antioksidan primer, sekunder dan tersier:

- a. Antioksidan Primer merupakan zat atau senyawa yang dapat menghentikan reaksi berantai pembentukan radikal bebas yang melepaskan hidrogen. Reaksi

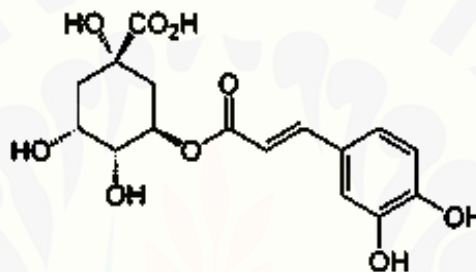
antioksidan primer terjadi pemutusan rantai radikal bebas yang sangat reaktif, kemudian diubah menjadi senyawa stabil atau tidak reaktif. Antioksidan ini dapat berperan sebagai donor hidrogen atau CB-D (*chain breaking donor*) dan dapat berperan sebagai akseptor elektron atau CB-A (*chain breaking acceptor*) (Triyem, 2010).

- b. Antioksidan Sekunder merupakan senyawa yang dapat mencegah kerja dan menangkap dari reaksi radikal bebas berantai sehingga tidak terjadi kerusakan yang lebih besar (Kumalaningsih, 2008). Antioksidan sekunder diantaranya adalah vitamin E, vitamin C, beta karoten, flavonoid dan sebagainya (Triyem, 2010).
- c. Antioksidan Tersier, kelompok antioksidan tersier meliputi sistem enzim DNA-Repair dan metionin sulfoksida reduktase. Enzim-enzim ini berperan dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat reaktivitas radikal bebas. Kerusakan DNA yang terinduksi senyawa radikal bebas dicirikan oleh rusaknya *single* dan *double strand* baik gugus non-basa maupun basa (Winarsi, 2007). Contoh dari antioksidan tersier seperti jenis enzim metionin sulfoksida reduktase yang dapat memperbaiki DNA dalam inti sel. Enzim tersebut bermanfaat sebagai bahan untuk memperbaiki DNA bagi seseorang yang menderita kanker (Kumalaningsih, 2008).

2.4.2 Antioksidan pada Kopi

Kopi mengandung senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan. Menurut Castelnovo *et al.* (2012), kandungan senyawa polifenol dalam kopi dapat menjadi sumber antioksidan yang dapat mencegah berbagai macam penyakit akibat efek radikal bebas. Jenis polifenol yang terkandung dalam kopi antara lain asam klorogenat, asam kafeat, asam koumarat, asam ferulat dan asam sinapat (Hecimovic *et al.*, 2011). Menurut Lee *et al.* (2008) jenis polifenol yang mendominasi pada kopi yaitu asam klorogenat. Hasil penelitian Rice *et al.* (1999), kopi robusta sebanyak 200 mL mengandung 70-350 mg asam klorogenat, sedangkan dalam kopi arabika sebanyak 70-200 mg. Aktivitas antioksidan pada kopi bekerja pada ROS (*Reactive Oxygen Species*) sehingga akan menurunkan

beberapa resiko yang disebabkan oleh ROS tersebut. Asam klorogenat merupakan antioksidan yang berguna untuk mengurangi efek kerusakan sel akibat radikal bebas dan pendorong metabolisme yang meminimalkan pelepasan glukosa berlebihan dari hati ke dalam darah. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa asam klorogenat memiliki potensi efek kesehatan termasuk kemampuan untuk mengurangi risiko diabetes tipe dua (Van Dijk *et al.*, 2009), mengurangi risiko penyakit kardiovaskular (Mubarak *et al.*, 2012), dan perbaikan dalam fungsi kognitif (Cropley *et al.*, 2012). Struktur senyawa asam klorogenat disajikan pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3. Struktur senyawa asam klorogenat

Beberapa senyawa yang terdapat pada kopi diantaranya asam klorogenat dan kafein diketahui memiliki fungsi sebagai antimutagenik, antikanker dan adanya aktivitas antioksidan yang bekerja pada ROS (*Reactive Oxygen Spesies*). ROS dapat menyebabkan iskemia dan kerusakan pada usus (Sato *et al.*, 2011). Kafein dan asam klorogenat dilakukan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Nilai EC_{50} yang dihasilkan kafein sebesar 21,41 ppm sedangkan asam klorogenat sebesar 5,86 ppm. Nilai EC_{50} merupakan parameter yang digunakan untuk menunjukkan aktivitas antioksidan yang memberikan penghambatan 50%. Nilai EC_{50} yang rendah menunjukkan bahwa suatu zat mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi. Nilai EC_{50} kafein lebih tinggi dibandingkan dengan asam klorogenat sehingga dapat disimpulkan bahwa asam klorogenat mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan kafein. Hal ini disebabkan karena asam klorogenat mempunyai banyak

gugus hidroksil yang berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan (Sukohar *et al.*, 2011).

Senyawa yang memiliki sifat antioksidan pada biji kopi juga terbentuk pada saat dilakukannya proses penyangraian (Bailey dan Won, 1992). Selama terjadinya proses penyangraian akan menghasilkan produk reaksi maillard non volatil yaitu melanoidin yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan (Borrelli *et al* (2002). Penelitian yang dilakukan oleh Kurniawan (2017) didapatkan bahwa melanoidin pada kopi sebagai produk dari proses penyangraian kurang mampu berkontribusi terhadap peningkatan aktivitas antioksidan. Vignoli *et al.* (2011) menjelaskan bahwa senyawa melanoidin tidak berpengaruh secara langsung terhadap potensial antioksidan pada minuman. Sacchetti *et al.* (2009) meneliti pengaruh fraksi fenolik kopi robusta hijau dan fraksi non fenolik (termasuk melanoidin) terhadap aktivitas antioksidan menggunakan metode ABTS (asam 2,2-azino-bis 3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat). Penelitian diperoleh bahwa fraksi non fenolik tidak terlalu berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan. Antioksidan fraksi fenolik adalah $166,9 \pm 5,4 \mu\text{mol TE/mL}$ sedangkan fraksi non fenolik hanya $27,7 \pm 6,7 \mu\text{mol TE/mL}$. Semakin tinggi suhu penyangraian didapatkan nilai aktivitas antioksidan yang semakin menurun, hal ini berkaitan dengan adanya penurunan dari kandungan polifenol.

2.4.3 Pengujian Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan berbagai metode yang masing-masing memiliki mekanisme kerja maupun penghambatan yang berbeda. Pengujian antioksidan dapat dilakukan secara *in vitro* maupun *in vivo*. Pada pengujian *in vitro*, analisis dapat dilakukan secara kimiawi dengan beberapa metode seperti metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), FRAP (*ferric reducing antioxidant power*) dan penghambatan radikal hidroksil (OH^\cdot).

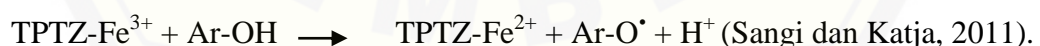
a. Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Pengujian aktivitas antioksidan metode DPPH merupakan metode sangat sederhana untuk mengukur kemampuan antioksidan dalam menangkal radikal bebas. Senyawa penangkal radikal bebas yang direaksikan dengan larutan DPPH

dan metanol akan mereduksi radikal DPPH dengan mendonasikan atom hidrogen. Donasi atom hidrogen pada radikal DPPH tersebut akan membentuk difenilpikrilhidrazin (non radikal). Adanya mekanisme penangkapan radikal tersebut ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna ungu dari DPPH ke jingga kekuningan (warna golongan pikril) pada senyawa difenilpikrilhidrazin. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 514 nm. Berkurangnya intensitas warna ini menggambarkan penurunan konsentrasi DPPH yang menyebabkan penurunan absorbansinya dibandingkan dengan absorbansi kontrol yang tidak diberi senyawa uji yang diperkirakan mempunyai aktivitas antiradikal (Noviana *et al.*, 2007).

b. Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

Metode FRAP dapat menentukan aktivitas antioksidan berdasarkan kemampuan senyawa untuk mereduksi ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} . Kekuatan aktivitas antioksidan suatu senyawa dianalogikan dengan kemampuan mereduksi suatu senyawa (Halvorsen *et al.*, 2002). Reaksi dengan senyawa antioksidan akan membuat kompleks TPTZ- Fe^{3+} yang merupakan senyawa radikal menjadi suatu produk yang lebih stabil, sehingga tidak dapat bereaksi dengan komponen seluler. Pada reaksi tersebut, senyawa antioksidan akan mendonorkan elektron kepada kompleks TPTZ- Fe^{3+} yang kemudian tereduksi menjadi TPTZ- Fe^{2+} . Hasil reaksi tersebut ditandai dengan adanya perubahan warna dari ungu violet menjadi biru keunguan. Senyawa antioksidan yang telah mendonorkan satu elektronnya akan menjadi suatu senyawa radikal, tetapi bersifat lebih stabil karena kemampuannya beresonansi. Reaksi antara TPTZ- Fe^{3+} dan senyawa antioksidan sebagai berikut :



c. Radikal Hidroksil

Metode pengujian aktivitas antioksidan metode radikal hidroksil merupakan senyawa yang paling reaktif dan berbahaya bagi tubuh (Shi *et al.*, 1992). Radikal hidroksil buka produk primer proses biologis, melainkan berasal dari H_2O_2 dan O_2 (Kartikasari, 2015). Radikal hidroksil akan bereaksi dengan 2-

deoksiribosa dan membentuk malonaldehid. Adanya malonaldehid dapat diidentifikasi dengan asam tiobarbiturat (TBA) yang akan berubah warna menjadi merah muda, sehingga dapat ditetapkan secara spektrofotometri (Halliwell *et al.*, 1999). Menurut Halliwell *et al.* (1987) radikal hidroksil dapat merusak tiga jenis senyawa penting untuk mempertahankan integritas sel yaitu:

- 1) Asam lemak tak jenuh (PUFA) yang merupakan komponen penting fosfolipid penyusun membran sel
- 2) DNA yang merupakan piranti genetik dari sel
- 3) Protein yang berperan penting sebagai enzim, reseptor, antibodi, pembentuk matriks, dan sitodkeleton.

Prinsip dari metode ini adalah menghasilkan radikal hidroksil melalui reaksi feton yaitu reaksi antara kompleks besi-EDTA dengan H_2O_2 karena keberadaan asam askorbat. Radikal hidroksil yang terbentuk akan menyerang deoksiribosa ketika campuran dipanaskan pada kondisi asam sehingga terbentuk malonaldehid (MDA) yang terdeteksi ketika bereaksi dengan TBA (asam tiobarbiturat) ditandai dengan terbentuknya warna merah (Halliwell *et al.*, 1987). Aktivitas antioksidan didasarkan pada kemampuan senyawa antioksidan dalam bahan pangan untuk bereaksi dengan radikal hidroksil dan mengurangi warna merah.

2.5 Enzim Alfa glukosidase

2.5.1 Definisi Enzim Alfa glukosidase

Enzim alfa glukosidase atau dengan nama lain α -D-glukosida glukohidrolase merupakan enzim yang berperan dalam sel usus halus mamalia. Enzim tersebut merupakan enzim kunci pada proses akhir pemecahan karbohidrat. Enzim tersebut mengkatalis hidrolisis terminal residu glukosa non pereduksi yang berikatan α -1,4 pada berbagai substrat dan dihasilkan α -D-glukosa. Alfa glukosidase menghidrolisis ikatan α -glikosidik pada oligosakarida dan α -D-glikosida (Gao *et al.*, 2007). Fungsi alfa glukosidase dalam sistem pencernaan di usus sebagai katalis tahap terakhir dalam proses pemecahan karbohidrat.

Karbohidrat kompleks pada proses pencernaan akan dicerna oleh berbagai enzim pencernaan yang terdapat pada usus halus, termasuk enzim alfa glukosidase yang merupakan enzim karbohidrolase yang bekerja mengkatalis pelepasan alfa-glukosa (Zhang *et al.*, 2007). Glukosa yang dilepas tersebut nantinya akan diabsorpsi pada lumen usus halus dan masuk ke dalam sirkulasi darah sehingga dapat menyebabkan hiperglikemia *postprandial* dan berujung pada DM tipe 2 (Luo *et al.*, 2012).

2.5.2 Penghambatan Enzim Alfa Glukosidase

Inhibitor alfa glukosidase merupakan salah satu agen antidiabetik yang bekerja dengan cara menghambat kerja enzim alfa glukosidase. Pengurangan penyerapan karbohidrat dari makanan oleh usus merupakan sebuah pendekatan terapeutik bagi hiperglikemia *postprandial*. Polisakarida kompleks akan dihidrolisis oleh enzim amilase menjadi dekstrin dan dihidrolisis lebih lanjut menjadi glukosa oleh enzim alfa glukosidase sebelum memasuki sirkulasi darah melalui penyerapan epitelum. Inhibitor enzim amilase dan alfa glukosidase sintesis seperti akarbose telah banyak digunakan untuk penanganan pasien diabetes tipe II namun obat ini juga dilaporkan menyebabkan berbagai efek samping (Feng *et al.*, 2011) sehubungan dengan hal tersebut banyak usaha yang dilakukan untuk menemukan jenis inhibitor dari sumber alami untuk mengobati diabetes.

Banyak penelitian telah membuktikan bahwa senyawa fitokimia memiliki kemampuan untuk menghambat kerja enzim alfa glukosidase, seperti senyawa dari golongan alkaloid (Patel *et al.*, 2012), triterpenes (Lai *et al.*, 2012) dan flavonoid (Wang *et al.*, 2010). Penghambatan aktivitas alfa glukosidase oleh berbagai senyawa fenolik juga telah banyak dijelaskan dalam literatur, dimana disebutkan bahwa alfa glukosidase secara efektif dihambat oleh flavonol (Lee *et al.*, 2008), luteleon myricetin, dan quercetin (Tadera *et al.*, 2006). Penelitian yang dilakukan oleh (Obloh *et al.*, 2015) mengenai aktivitas penghambatan enzim alfa glukosidase dan alfa amilase juga menunjukkan bahwa senyawa asam klorogenat memiliki efek antioksidan dan efek penghambatan terhadap aktivitas alfa amilase

dan alfa glukosidase secara *in vitro*. Penghambatan enzim alfa glukosidase merupakan salah satu pendekatan terapeutik untuk menurunkan kadar glukosa darah *postprandial* (Manaharan *et al.*, 2011) karena dengan dihambatnya kerja enzim alfa glukosidase, maka dapat menunda penguraian oligosakarida dan disakarida menjadi monosakarida (Shinde *et al.*, 2008) sehingga senyawa yang dapat menghambat kerja enzim alfa glukosidase tersebut dapat digunakan sebagai obat oral untuk pasien DM tipe 2. Penghambatan enzim α -glukosidase dapat menggunakan akarbosa, miglitol, dan voglibosa yang diketahui mampu mengurangi hiperglikemia setelah makan melalui penghambatan kerja enzim pencernaan karbohidrat dan menunda absorpsi glukosa (Hsieh *et al.* 2010). Penggunaan obat ini biasa digunakan untuk penyakit diabetes mellitus tipe 2.

Pengujian aktivitas penghambatan enzim alfa glukosidase dapat dilakukan dengan cara *in vitro* dan *in vivo*. Pengujian secara *in vitro* banyak dilakukan dengan metode spektrofotometer dengan menggunakan panjang gelombang 400 nm. Pengujian ini menggunakan pseudo-substrat, seperti pnitrofenil- α -D-glukopiranosida (p-NPG) dan enzim α - glukosidase. Daya hambat terhadap aktivitas enzim alfa glukosidase dipelajari secara pseudosubstrat dengan mengetahui kemampuan sampel untuk menghambat reaksi hidrolisis glukosa pada substrat p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (pNPG). Setelah mengalami hidrolisis substrat akan terhidrolisis menjadi α -D-glukosa dan p-nitrofenol yang berwarna kuning. Warna kuning yang dihasilkan oleh p-nitrofenol menjadi indikator kemampuan inhibitor untuk menghambat reaksi yang terjadi. Semakin besar kemampuan inhibitor untuk menghambat maka produk yang dihasilkan semakin sedikit atau warna larutan setelah inkubasi lebih cerah dibandingkan dengan larutan tanpa inhibitor (Sugiwati, 2005).

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Analisis Terpadu, Laboratorium Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember. Pelaksanaan penelitian dilakukan pada bulan Juni - Desember 2018 dilanjutkan Juni - Juli 2019.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan adalah neraca analitik ohaus (Mettler Toledo), *rotary evaporator* (Buchi, Jerman), pompa vakum, *magnetic stirrer* (Meline MS300HS), pengayak, penangas air (Medline MS300HS, Jerman), mikropipet (Gilson), sentrifuse, refraktometer (Atago, Japan), pH meter (Schott, Detschland, Germany), vortex (VM-300 Taiwan), *sprektofotometer* UV-VIS (Genesys 10, USA), Epoch BioTek microplate reader dan alat-alat gelas.

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah kopi Robusta dan Arabika yang diperoleh dari distributor kopi di Jember. Bahan kimia yang digunakan meliputi kitosan, asam asetat, sodium tripolipospat, metanol, akuades, asam galat, Na_2CO_3 , reagen *follin ciocalteau*, trolox, HCl, TPTZ (2,4,6-Tripyridyl-S-triazine), $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, sodium asetat trihydrate, buffer fosfat, TBA (2-Thiobarbituric acid), TCA (Trichloroacetic acid), asam askorbat, H_2O_2 , deoksiribosa, iron ammonium sulfat, DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), enzim alfa glukosidase, *p-nitrofenil-a-Dglukopiranosida* (Sigma-Aldrich, USA), dan Buffer kalium fosfat.

3.3 Metode Penelitian

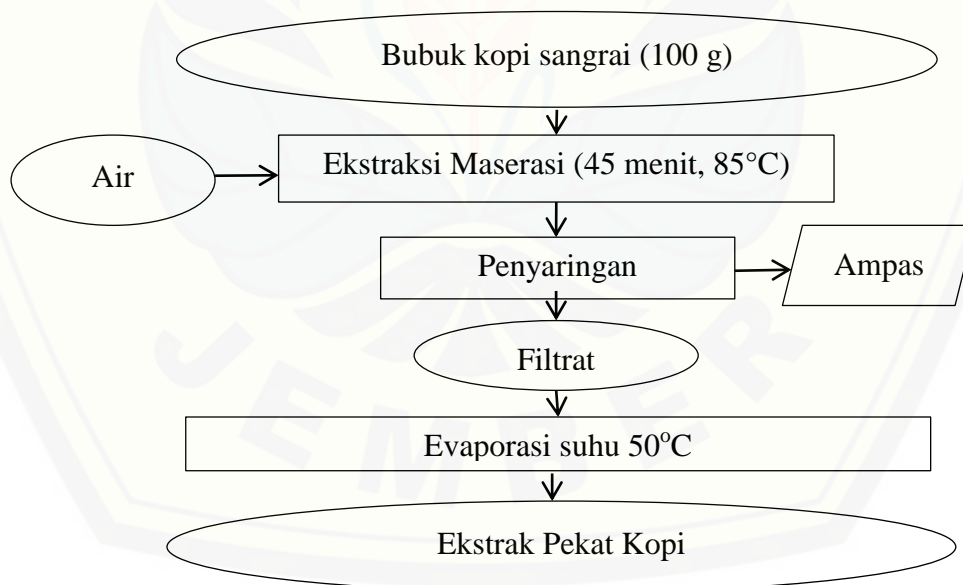
3.3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini berupa penelitian laboratorium yang terdiri dari tahapan ekstraksi, sintesis nanopartikel terisi ekstrak kopi, dan pengujian karakteristik

kimia ekstrak kopi dan nanokitosan terisi ekstrak kopi. Pengujian karakteristik kimia ekstrak kopi robusta sangrai dan arabika hijau meliputi pH, derajat brix, kandungan melanoidin, kandungan polifenol, dan aktivitas antioksidan DPPH. Pengujian nanokitosan terisi ekstrak kopi meliputi kandungan polifenol, kandungan melanoidin, aktivitas antioksidan dan pengujian penghambatan enzim alfa glukosidase.

3.3.2 Ekstraksi Kopi Robusta Sangrai

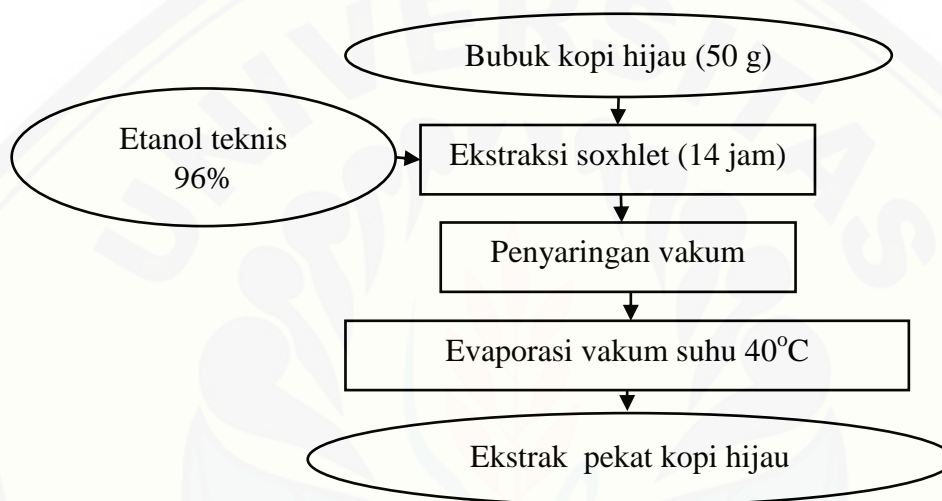
Ekstraksi kopi robusta sangrai mengacu pada metode yang dilakukan oleh Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia (2013). Bubuk kopi sangrai sebanyak 100 g diekstraksi dengan metode penyeduhan menggunakan air dengan suhu 85°C selama 45 menit dengan pengadukan. Kopi yang telah diseduh disaring dilanjutkan dengan proses evaporasi secara vakum pada suhu 50°C, sehingga diperoleh ekstrak pekat. Ekstrak pekat kopi disimpan pada suhu -20°C. Diagram alir pembuatan ekstrak kopi nanopartikel dari kopi sangrai dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Ekstraksi Kopi Robusta sangrai

3.3.3 Ekstraksi Kopi Arabika Hijau

Ekstraksi kopi arabika hijau mengacu pada metode yang dilakukan oleh Tyas (2018). Bubuk kopi arabika hijau sebanyak 50 g diekstraksi soxhlet dengan menggunakan etanol teknis 96%. Ekstraksi dilakukan selama 14 jam dan ekstrak yang dihasilkan lalu dilakukan penghilangan pelarut etanolnya menggunakan alat evaporator vakum pada suhu 40°C. Diagram alir pembuatan ekstrak kopi nanopartikel dari kopi hijau dapat dilihat pada Gambar 3.2

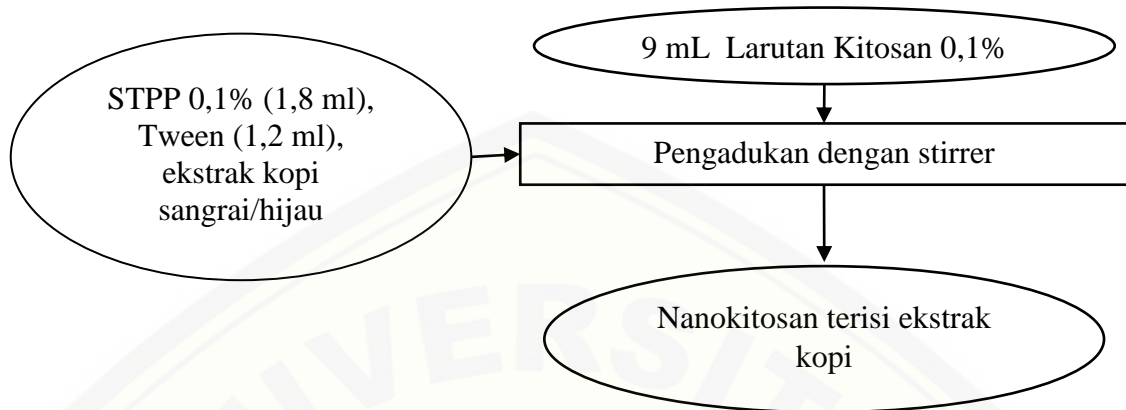


Gambar 3.2 Ekstraksi kopi arabika hijau

3.3.4 Pembuatan Nanokitosan Terisi Ekstrak Kopi

Pembuatan nanokitosan terisi ekstrak kopi dilakukan dengan metode gelasi ionik mengikuti metode Alishahi *et al.* (2011) dengan modifikasi. Nanopartikel kitosan digunakan sebagai penyalut ekstrak kopi yang dibuat dengan mencampurkan larutan kitosan 0,1%; sodium tripolipospat (STPP) 0,1%; Tween 80 0,1; 0,2; 0,3% dan ekstrak kopi. Larutan STPP 0,1 % dan Tween 0,1; 0,2; 0,3% dilarutkan dalam larutan kitosan 0,1% dan dicampurkan menggunakan *magnetic stirrer*. Larutan ditambahkan ekstrak kopi robusta sangrai sebanyak 0,1 dan 0,15 mL atau ekstrak kopi arabika hijau 0,1; 0,2; 0,3 mL dan diaduk menggunakan *stirrer*. Larutan yang dihasilkan merupakan suspensi nanopartikel terisi ekstrak

kopi. Diagram alir sintesis nanopartikel terisi ekstrak kopi dapat dilihat pada Gambar 3.3.



Gambar 3.3 Pembuatan nanokitosan terisi ekstrak kopi

3.3.5 Formulasi nanokitosan terisi ekstrak kopi

Nanokitosan terisi ekstrak kopi dibuat dengan formulasi yang telah ditentukan sesuai Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Formulasi nanokitosan terisi ekstrak kopi

Formula	Volume Ekstrak Kopi (mL)	Konsentrasi Tween 80 (%)
Nanokitosan terisi ekstrak kopi sangrai		
S0,1T0	0,1	0
S0,1T0,2		0,2
S0,1T0,3		0,3
S0,15T0	0,15	0
S0,15T0,2		0,2
S0,15T0,3		0,3
Nanokitosan terisi ekstrak kopi hijau		
H0,1T0	0,1	0
H0,1T0,2		0,2
H0,1T0,3		0,3
H0,2T0	0,2	0
H0,2T0,2		0,2
H0,2T0,3		0,3
H0,3T0,0	0,3	0
H0,3T0,2		0,2
H0,3T0,3		0,3

3.4 Parameter Pengamatan

3.4.1 pH

Pengukuran pH mengacu pada metode AOAC (1995). Alat pH-meter digunakan untuk mengukur pH ekstrak kopi Robusta sangrai dan ekstrak kopi arabika hijau. Alat pH meter distandarisasi terlebih dahulu dengan buffer pH 4 dan 7. Pengukuran dilakukan dengan mencelupkan elektroda pH meter yang sudah distandarisasi ke dalam sampel cair.

3.4.2 Total Padatan Terlarut

Analisis total padatan ekstrak kopi robusta sangrai dan arabika hijau mengacu pada metode Mukaromah *et al.* (2010). Total padatan terlarut diukur menggunakan *hand-held refractometer* ukuran 0-32 (% Brix) dan dipresentasikan sebagai (% Brix). Prosedur pengukurannya yaitu sampel diteteskan pada kaca sensor yang ada pada alat dan angka brix dibaca pada alat.

3.4.3 Pengujian Pigmen Coklat Melanoidin

Ekstrak kopi Robusta sangrai dan nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta sangrai yang berwarna coklat) diukur pada panjang gelombang 420 nm menggunakan spektrofotometer. Kandungan pigmen coklat melanoidin dinyatakan sebagai nilai absorbansi (AU) (Bartel *et al.* 2015).

3.4.4 Kandungan Total Polifenol

Pengujian kandungan total polifenol sesuai dengan metode *folin ciocalteu* seperti yang dijabarkan dalam penelitian Singleton *et al.* (1965). Larutan ekstrak sebanyak 0,05 mL ditambahkan akuades hingga mencapai volume 1 mL, selanjutnya reagen *folin ciocalteu* ditambahkan sebanyak 0,5 mL dan divortex lalu didiamkan selama 5 menit. Sebanyak 1 mL Na_2CO_3 (7%) ditambahkan dalam larutan dan di vortex. Campuran dibiarkan berada dalam ruangan gelap selama 60 menit. Pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 765 nm menggunakan UV-VIS spektrofotometer. Kandungan senyawa polifenol dihitung menggunakan kurva standar yang dibuat dari asam galat pada beberapa konsentrasi dan kandungan senyawa polifenol dinyatakan dalam mg asam galat per mL (mg GAE/mL), GAE=Gallic acid equivalent.

3.4.5 Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH radikal, metode FRAP, dan scavenging radikal hidroksil (OH•).

a. Metode DPPH (*2,2-diphenil 1-piclylhydazyl*)

Aktivitas antioksidan dianalisis berdasarkan pada kemampuan senyawa bioaktif polifenol menangkap radikal bebas DPPH sesuai metode Yamaguchi *et al.* (1998). Sampel ekstrak sebanyak 0,05 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi larutan DPPH (300 μ M) sebanyak 3 mL lalu ditambahkan 2,95 mL metanol. Tabung reaksi di vortex dan didiamkan selama 30 menit. Absorbansi diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam Trolox Equivalent Antioxidant Capacity/TEAC (mmol TE/mL), TE = trolox equivalent.

b. Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

Penentuan aktivitas antioksidan metode FRAP dilakukan sesuai dengan metode Benzie dan Strain (1996). Larutan stok yang disiapkan meliputi 300 mM buffer asetat pH 3,6; 10 mM larutan TPTZ di dalam 40 mM HCl, dan 20 mM larutan FeCl₃.6H₂O. Larutan FRAP dibuat dengan mencampur 25 mL buffer asetat; 2,5 mL larutan TPTZ dan 2,5 mL larutan FeCl₃.6H₂O, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit. Sampel sebanyak 0,05 mL sampel direaksikan dengan 2950 μ L larutan FRAP selama 30 menit dalam keadaan gelap dan dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 593 nm. Kurva standar dibuat pada beberapa konsentrasi trolox. Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam mmol TE/mL, TE = trolox equivalent.

c. Metode Scavenging Radikal OH•

Penentuan aktivitas antioksidan metode *Scavenging* radikal hidroksil (OH•) diuji berdasarkan metode deoksiribosa (Halliwell *et al.*, 1987). Larutan sampel dari beberapa konsentrasi dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 690 μ L deoxyribose 2,5 mM (dalam 10 mM buffer fosfat pH 7,4) 100 μ L campuran EDTA (1,04 mM)-*iron ammonium sulfat* (1,0 M), 200 μ L asam askorbat (1 mM) dan 50 μ L H₂O₂ (0,1 M), lalu di vortex. Campuran diinkubasi

pada penangas air suhu 37° C selama 10 menit, kemudian ditambahkan 1 mL TCA (2,8%) dan 0,5 mL TBA (1%). Campuran dipanaskan pada penangas air berisi air mendidih selama 8 menit lalu didinginkan. Campuran diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 532 nm. Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam mmol TE/mL, TE = trolox equivalen. Kurva standar dibuat dalam beberapa konsentrasi trolox.

3.4.6 Pengujian Penghambatan Enzim Alfa Glukosidase

Pengujian penghambatan aktivitas enzim alfa glukosidase dilakukan berdasarkan metode dari (Sancheti *et al*, 2009). Uji penghambatan alfa glukosidase dilakukan menggunakan 50 µl sampel, 10 µl buffer kalium fosfat 0,1M (pH), 25 µl larutan alfa glukosidase (0,8 U/mL) dan 25 µl P-nitrofenil α-D-glukopiranosida 10 mM dalam buffer kalium fosfat 0,1M pH 7. Campuran tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 37° C selama 30 menit. Reaksi dihentikan dengan menambahkan 100 µl Na₂CO₃, 0,1 M. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 410 nm menggunakan *microplate reader*. Kontrol pada pengujian ini yaitu buffer yang digunakan menggantikan sampel. Persentase penghambatan dapat diketahui menggunakan rumus:

$$\% \text{ Penghambatan} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100$$

3.5 Analisis Data

Data hasil penelitian dihitung rata-rata dan standar deviasi, kemudian dianalisis dengan uji ANOVA – *Two Way* (SPSS 15) pada data polifenol, melanoidin, antioksidan (metode DPPH, FRAP, dan Radikal Hidroksil) dan uji ANOVA – *One Way* (SPSS 15) pada data penghambatan enzim alfa glukosidase dilanjutkan dengan uji Duncan ($p \leq 0,05$) jika terdapat hasil yang beda nyata.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan Tween 80 berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan dan tidak berpengaruh terhadap aktivitas penghambatan enzim alfa-glukosidase nanokitosan terisi ekstrak kopi baik kopi sangrai maupun kopi hijau. Aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim alfa glukosidase yang terdapat pada nanokitosan terisi ekstrak kopi dengan konsentrasi Tween 0% memiliki nilai yang lebih tinggi dibandingkan dengan nanokitosan terisi ekstrak kopi dengan penambahan Tween 80 konsentrasi 0,2 dan 0,3%. Formulasi nanokitosan terisi ekstrak kopi yang dapat dipilih karena memiliki karakteristik fisik yang baik, memiliki kandungan aktivitas antioksidan, dan dapat menghambat enzim alfa glukosidase yakni pada nanokitosan terisi ekstrak kopi dengan penambahan 0,15 mL ekstrak kopi robusta sangrai dan 0,3 mL ekstrak kopi arabika hijau dengan konsentrasi Tween 80 0,3%.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh masa simpan nanokitosan terisi ekstrak kopi terhadap aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim alfa glukosidase.

DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2005. *Official Method of Analysis*.
- Agbor, G.A., Vinson, J.A., & Donnelly, P.E. 2014. Folin-Ciocalteu Reagent for Polyphenolic Assay. *Intl. J. Food Sci. Nutr. Diet.* 3(8): 147-156.
- Agnihotri, S.A., Mallikarjuna, N.N., Aminabhavi, T.M. 2004. Recent Advances on Chitosan-Based Micro- and Nanoparticles in Drug Delivery. *J Control Release.* 100(1): 5-28.
- Alishahi, A., Mirvaghevi, A., Tehrani, M.R., Farahmand, H., Shojaosadati, S.A., Dorkoosh, F.A., and Elsabee, M.Z. 2011. Shelf life and Delivery Enhancement of Vitamin C Using Chitosan Nanoparticles. *J Food Chemistry* 126 : 935–940.
- Andrade CD, Henares JA, Morales FJ. 2005. Assessing the antioxidant activity of melanoidins from coffee brews by different antioxidant methods. *J. Agric. Food Chem.* 5:7832-7836
- Anggara, Anies, Marini, Sri. 2011. *Kopi Si Hitam Menguntungkan : Budi Daya dan Pemasaran*. Yogyakarta : Penerbit Cahaya Atma Pustaka.
- Attia, Shafie, Mohamed Ali dan Hadeel Hamdy Mohammed Fayek. 2013. Formulation and Evaluation of Betamethasone Sodium Phosphate Loaded Nanoparticles for Ophthalmic Delivery. *J. Clin Exp Ophthalmol.* 4 (2), 1-11.
- Ayalign, A. dan Sabally, K. 2013. Determination of Chlorogenic Acids (CGA) in Coffee Beans using HPLC. *American Journal of Research Commucation* Vol 1 (2).
- Azizah AH, Wee KC, Azizah O, Azizah M. 2009. Effect of boiling and stir frying on total phenolics, carotenoids, and radical scavanging activity of pumpkins (*Curcubia maschato*). *Int. Food Res. J.* 16: 45-51
- Bailey, M.E., Won. U.K. 1992. *Maillard Reaction and Lipid Oxidation*. Di dalam: Angelo AJS. *Lipid Oxidation in Food*. ACS symposium series. New York: August 25-30.
- Bartel, M., Chen, W.X., R. Bardhan, C. Perez-Torres, R.G. Pautler, N.J. Halas, A. Joshi. 2015. A Molecularly Targeted Theranostic Probe for Ovarian Cancer. *Molecular Cancer Therapeutics.* 9:1028-1038

- Basuki T, Indah DD, Nina A, Kardono LBS. 2002. Evaluasi Aktivitas Daya Hambat Enzim α -Glukosidase dari Ekstrak Kulit Batang, Daun, Bunga dan Buah Kemuning [*Murraya Paniculata* (L.) Jack.]. Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXI; 2002 Maret 27-28; Fakultas Farmasi Universitas Surabaya; Surabaya, Indonesia. Surabaya (ID): Hlm 314-318
- Bellesia, Andrea dan Tagliazucchi, D. 2014. Cocoa brew inhibits in vitro α -glucosidase activity: The role of polyphenols and high molecular weight compounds. Department of Life Sciences, University of Modena and Reggio Emilia, Via Amendola, 2 — Pad. Besta, 42100 Reggio Emilia, Italy
- Benzie, I.F. dan Strain, J.J. 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 239: 70-76.
- Borrelli RC, Visconti A, Mennella C, Anese M, Fogliano V. 2002. Chemical characterization and antioxidant properties of coffee melanoidins. *J. Agric. Food Chem.* 50:6527-6533.
- Borrelli, R. C., Visconti, A., Menella, C., Anese, M., dan Fogliano, V. 2002. Chemical Characterization and Antioxidant Properties of Coffee Melanoidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 : 22, 6527 – 6533.
- Castelnuovo, A.D., Giuseppe, R.D., Iacoviello, L., & Gaetano, G.D. 2012. Consumption of Cocoa, Tea and Coffee and Risk Cardiovascular Disease. *European Journal of Internal Medicine*. 23(1): 15-25.
- Cicco. N, and Vincenzo. L., 2011. The Influence of Initial Carbonate Concentration on the Folin-Ciocalteu Micro-Method for the Determination of Phenolics with Low Concentration in the Presence of Methanol: A Comparative Study of Real-Time Monitored Reactions. *American Journal of Analytical Chemistry*. 2: 840-848.
- Clarke, R. J. dan Macrae, R. 1987. *Coffee Chemistry. Volume 1*. London and New York : Elsevier Applied Science.
- Clifford, M.N. dan K.C. Willson. 1985. *Coffee Botany Biochemistry and Production of Beans and Beverage*. The AVI Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut.
- Demarco LM, Fischer S, Henle T. 2011. High molecular weight coffee melanoidins are inhibitors for matrix metalloproteases. *J. Argic Food Chem* 59 (21): 11417-11420. Doi: 10.1021/jf02778w

- Devasagayam TP, Kamat JO, Moham H, Kesevan PC. 1996. Caffeine as an antioxidant; inhibition of lipid peroxidation induced by reactive oxygen species. *Biochem. Biophys. Acta* 1281(1):63-70.
- Dhianawaty, Diah dan Ruslin. 2015. Kandungan Total Polifenol dan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Metanol Akar *Imperata cylindrica* (L) Beauv. (Alang-alang). *Jurnal*. Bandung: Universitas Padjajaran Bandung.
- Farah, Adriana dan Carmen M. 2006. D.Phenolic Coumpounds in Coffee. *Braz. Journal Plant Physiol.* 18 (1) : 23-36
- Farah, Adriana. 2012. *Coffe: Emerging Health Effects and Disease Prevention, First Edition*. John Willey & Sons, Inc and Institute of Food Technologists (USA) : Willey-Blackwell Publishing Ltd.
- Farhaty, N. 2017. Tinjauan Kimia dan Aspek Farmakologi Senyawa Asam Klorogenat Pada Biji Kopi. *Jurnal Farmaka*. 4(3): 1-19.
- Feng J, Yang X.W., Wang R.F. 2011. Bio-Assay Guided Isolation and Identification of A-Glucosidase Inhibitors From The Leaves Of *Aquilaria Sinensis*. *Phytochemistry* 72: 242-247.
- Fulder, S. 2004. *The Miracle of Green Tea for Your Daily Intake*, diterjemahkan oleh Trisno Rahayu Wilujeng. 23. Jakarta: Prestasi Pustaka.
- Gutteridge, J.M.C. 1984. Oxygen Toxicity, Oxygen Radicals, Transition Metals and Disease. *Biochemi. J.* 218: 1-14.
- Halliwell, B., dan Gutteridge, J.M.C. 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*. New York: Oxford University Press. 3: 23, 36-49, 53-60, 106- 206, 264-271, 366.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., Arouma, O.I., 1987. The Deoxyribose Method: A Simple Test Tube Assay for The Determination of Rate Constants for Reactions of Hydroxyl Radicals. *Anal. Biochem.* 165, 215-219.
- Halvorsen, B. L., K. Holte, M. C. W. Myhrstad, I. Barikmo, E. Hvattum, S. F. Reberg, A. B. Wold, K. Haffner, H. Baugerod, L. F. Andersen, O. Moskaug, D. R. Jacobs, dan R. Blomhoff. 2002. A Systematic Screening of Total Antioxidant In Dietary Plants. *Journal of Nutrition*. 132 : 461-471.
- Havsteen BH. 2002. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol Ther.* 96(2-3):67-202
- Hecimovic, I, Cvitanovic, A. B., Horzic, D., and 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.

- Higdon, J.V., Frei, B. 2006. Coffee and Health: A Review of Recent Human Research. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46:101–123.
- Hsieh PC et al. 2010. Activities of antioxidants, α -glukosidase inhibitors and aldose reductase inhibitors of the aqueous extracts of four *Flemingia* species in Taiwan. *Botanical Studies* 51: 293-302.
- Ibrahim, M. S. D., Sudarsono, Rubiyo, dan Syafaruddin. 2012. Pengaruh Komposisi Media Terhadap Pembentukan Kalus Menuju Induksi Embrio Somatik Kopi Arabika (*Coffea arabica*). *Buletin Riset Tanaman Rempah dan Aneka Tanaman Industri*. 3 (1): 13-22.
- Irianto, K. 2011. *Mikrobiologi: Menguk Dunia Mikroorganisme* Jilid 2. Bandung: CV. Yrama Widya.
- Jaya I. 2010. Aplikasi konvergensi nanoteknologi-bioengineering untuk peningkatan perolehan minyak. Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknologi Minyak dan Gas Bumi. M & E 8, No.1
- Kailaku, S.I., Ira, M., Andi, N.A. 2013. Formulation of Nanocapsulated Catechin with Chitosan as Encapsulation Material. *Procedia Chemistry* 9 (2014), 235-241.
- Karadag, Ayse, Beraat Ozcelik , Sanim Saner. 2009. Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities. *Food Analytical Methods*. Vol. 2 :41-60
- Ko S, Lee SC. 2010. Effect on nanoliposomes on the Stabilization of Incorporated Retinol. *Journal Biotechnology* 9: 6158-6161
- Kumalaningsih, S. 2008. Antioksidan, Sumber dan Manfaatnya. *Antioxidant Center Online*. Diunduh pada Tanggal 9 Mei 2017.
- Kumalaningsih, Sri. 2007. *Antioksidan Alami*. Surabaya: Trubus Agrisari.
- Kuntari, Carla. 2007. Uji Aktivitas Penangkapan Radikal Hidroksil oleh Ekstrak Etanol The Hijau dan The Hitam dengan Metode Deoksiribosa. *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma.
- Kurniawan, M.F. 2017. Kajian Metabolomik Peranan Fenolik Dan Melanoidin Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kopi Robusta Dan Arabika Asal Indonesia. *Tesis*. Bogor: IPB.
- Lai, Y.C., Chen, C.K., Tsay, S.F., Lee, S.S. 2012. Triterpenes as alpha-glucosidase Inhibitors from *Fagus hayatae*. *Phytochemistry* 74: 206-211. DOI: 10. 1016/j.phytochem. 2011.09.016.

- Lee S.S., Lin H.C, Chen C.K. 2008. Acylated Flavonol Monorhamnosides A-Glucosidase Inhibitors, From *Machilus Phillipinensis*. *Phytochemistry* 69 2347-2353.
- Longmi, F., Shin, S.S., Tsung, B.W., Shiang, F.J., Sung, T.L., Kai, T.L.1999. Chitosan-Polyelectrolyte Complexation for the Preparation of Gel Beads and Controlled Release of Anticancer Drug. II. Effect of pH- Dependent Ionic Crosslinking or Interpolymer Complex Using Tripolyphosphate or Polyphosphate as Reagent. *J. Of App. Polymer Science*, Vol 74.
- Malkapuram, S.,Venkataraman, K., Tongaonkar, R., Taran, S., Kolla, L., and Rajagopalan, L. 2016. Green Coffee Extract Protects H9C2 Cardiomyocytes from Doxorubicin Induced Apoptosis. *J. of Medical Plants*, 10: 89-97.
- Manaharan, T., Appleton, D., Cheng, H., dan Palanisamy, U. 2011. Flavonoids isolated from *Syzygium aqueum* leaf extract as potential antihyperglycaemic agents. *Food Chemistry*.
- Mohanraj, V. J., Chen Y. 2006. Nanoparticle. A Review. *J Pharmaceut Res* 5:561-573.
- Moon, Joon-Kwan., Hyui Sun Y., Takayuki S. 2009. Role of Roasting Condition in the Level of Chlorogenic Acid Content in Coffee Beans: Correlation with Coffee Acidity. *Journal Agric. Food Chem.* ; 57(12):5365-5369
- Moreira AS, Nunes FM, Domingues MR, Coimbra MA. 2012. Coffee melanoidins: structures, mechanisms of formation and potential health impacts. *Food Funct.* 3:903-915.
- Muchid. 2005. *Pharmaceutical Care untuk Penyakit Diabetes Mellitus*. Jakarta (ID): Direktorat Bina farmasi Komunitas dan Klinik Direktorat Jenderal Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan Departemen Kesehatan RI.
- Mukaromah, U. Susetyorini, S.H., Aminah, S. 2010. Kadar Vitamin C, Mutu Fisik, pH dan Mutu Organoleptik Sirup Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) Berdasarkan Cara Ekstraksi. *Jurnal Pangan dan Gizi*. Vol 1(1):43-51
- Mulato, S., dan Lestari, H. 2006. Kandungan Kafein, Asam Klorogenat, dan Trigonelin Kopi biji (*Coffea canephora*) Varietas Robusta dalam Proses Dekafeinasi dengan Sistem Pengukusan-Pelarutan. *Agrosains*, 18 (3) : 343-347
- Murray RK, Daryl KG, Victor WR. 2009. *Biokimia Harper Edisi 27*. Nanda Wulandari, penerjemah; Jakarta: EGC. Terjemahan dari *Harper's Illustrated of Biochemistry, 27th ed.*

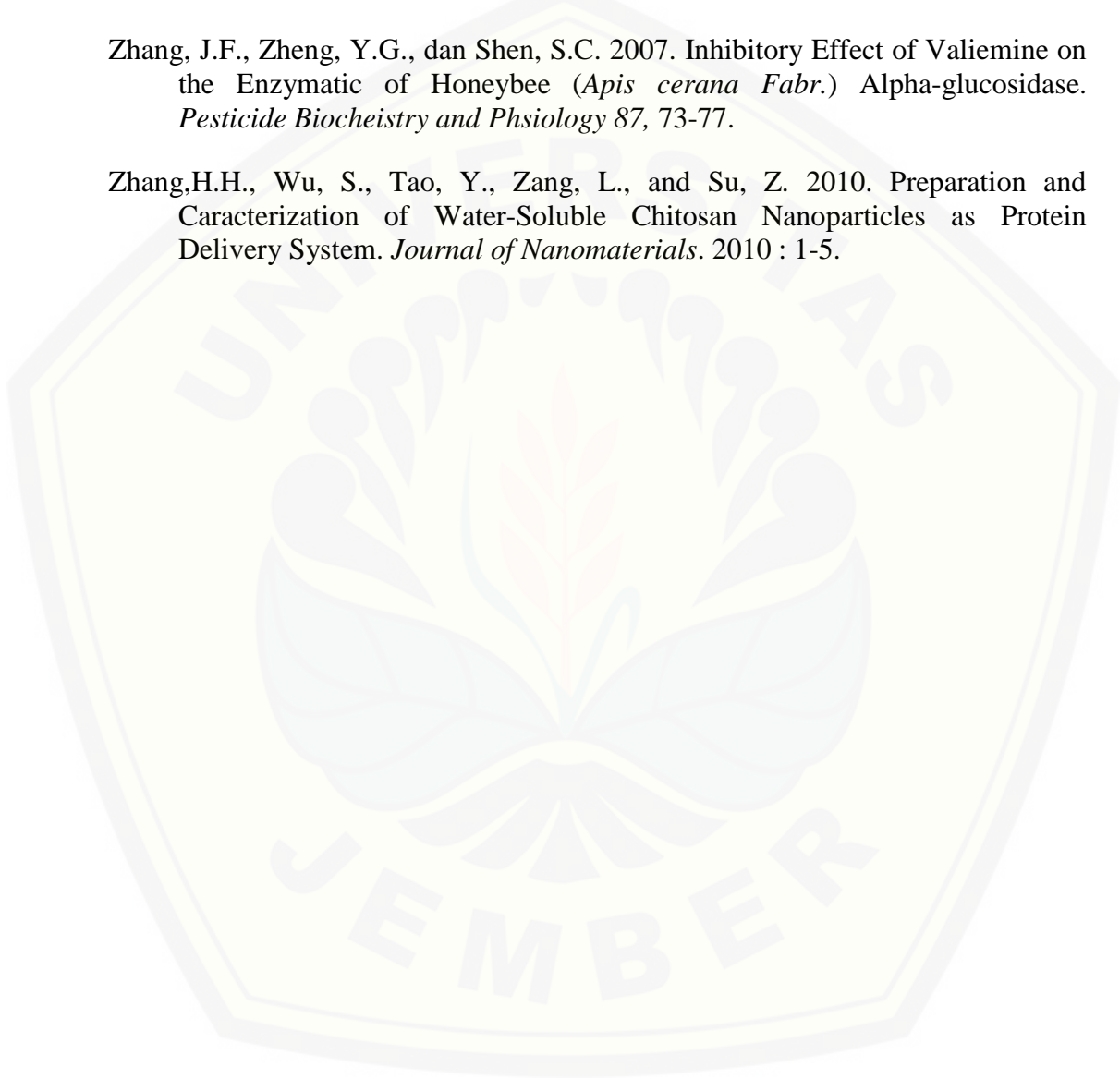
- Ningsih, N., Yasni, S., dan Yuliani, S. 2017. Sintesis Nanopartikel Ekstrak Kulit Manggis Merah dan Kajian Sifat Fungsional Produk Enkapsulasinya. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Noviana, Supardjan dan Nurrochmad Arief. 2007. Uji Aktivitas Penangkapan Radikal 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil (DPPH) oleh Heksagamavunon-1 (HGV-1). *Pharmacol*. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.
- Oboh, G., Agunleyu, O.M. Adefagha, S.A., Akinyemi, A.J., dan Ademiluyi, A.O. 2015. Caffeic and chlorogenic acids inhibit key enzymes linked to type 2 diabetes (in vitro): a comparative study. *Journal Basic Clin Physiol Pharmacol*; 26(2): 165-170
- Ozcan, T., Akpinar-Bayizit, A., Yilmaz-Ersan, L., Delikanli, B. 2014. Phenolics in Human Health. *Intr. J. Chem. Of Engineer. & Appl.* 5 (5): 393-396
- Pachauu, Laldusanga dan Bhaskar Mazumder. 2009. A Study on The Effects of Different Surfactants on Ethylcellulose Microspheres. *International Journal of Pharm Tech Research*.
- Panggabean, Edy. 2011. *Buku Pintar Kopi*. Jakarta Selatan: PT Agro Media Pustaka hlm 124-132.
- Patel, D.K., R. Kumar., D. Laloo, and S. Hemalatha. 2012. Diabetes mellitus: an Overview on its Pharmacological Aspects and Reported Medicinal Plants Having Antidiabetic Activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 91(7): 411-420.
- Permana. 2003. Antioksidative Constituents of Heotis Difusi Wild. *Natural Product Sciences*. 9 (1), 7-9.
- Perrone, D., A. Farah, dan C. M. Donangelo. 2012. Influence of Coffee Roasting on the Incorporation of Phenolic Compounds into Melanoidins and their Relationship with Antioxidant Activity of the Brew. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60 : 4265-4275.
- Prasad N. P. Yang, B. Dong, X. Jiang G. Zhang, H. Xie H. Jiang Y. 2009. Flavonoid Contents and Antioxidant Activities from Cinnamomum sp. *Journal Innovative Food Science and Emerging Technologies* 10: 627- 632.
- Pusat penelitian kopi dan kakao indonesia. 2013. <http://iccri.net/pengolahan-kopi/>. Diakses 13 April 2018.
- Rachmania, D. 2011. Karakteristik Nano Kitosan Cangkang Udang Vannamei (*Litopanaeus vannamei*) dengan Metode Gelasi Ionik. *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan., Institut Pertanian Bogor, Bogor, 24-26.

- Racovita, S., Vasilium, S., Popa, M., Luca, C. 2009. Polysaccharides Based on Micro-and Nanoparticles Obtained by Ionic Gelation and Their Application as Drug Delivery Systems. *Revue Roumaine de Chimie*. 54(9): 709-718.
- Ramanaviciene, Almira, Mostovojus, Voktoras, Bachmatova, Iriana, dan Ramanavicius. 2003. Anti-bacterial Effect on Caffeine on Eschericia coli and Pseudomonas Florescens. *Journal Acta Medica Lituania*. 10(4): 185-188.
- Rice, dan Philip. L. 1999. *Stress & Health*. 3rd ed. Pasific Grove : Books/Cole Publishing Company. U.K.
- Rohdiana, D., 2001, Aktivitas Daya Tangkap Radikal Polifenol Dalam Daun Teh, *Majalah Jurnal Indonesia*,12.
- Rohmatussolihat. 2009. Antioksidan, Penyelamat Sel-Sel Tubuh Manusia. *Bio Trends* Vol.4 No 1.
- Rosiyana, An-Nisa. 2012. Aktivitas Antioksidan dan Penghambatan Enzim α -Glukosidase Ekstrak dan Nanopartikel Ekstrak Kulit Kayu Mahoni. *Skripsi*. Bogor: IPB.
- Ruiz G, Lake DS, Ames JM. 2007. In vitro antioxidant activity of coffee compounds and their metabolites. *J. Agric. Food Chem*. 55:6962-6969.
- Sacchetti G, di Mattia C, Pittia P, Mastrocola D. 2009. Effect of roasting degree, equivalent thermal effect and coffee type on the radical scavenging activity of coffee brews and their phenolic fraction. *Journal Food Eng*. 90:74-80
- Saika S, Mahanta Cl. 2013. Effect of steaming, boiling, and microwaves cooking on the total phenolics, flavonoids, and antioxidant properties of different vegetables of Assam, India. *IJFANS*. 2 (3): 47-53
- Samadi M, Mohammadshahi M, Haidari F. 2015. Green coffee bean extract as a weight loss supplement. *Journal Nutritional Disorders and Therapy*. 5: 4.
- Sanchetti, S., Sancheti, S., and Seo, S.Y. 2009. Chanemeles Sinensis: A Potent alpha and Beta Glucosidase Inhibitor. *American Journal of Pharmacology and Toxicology* 4 (1): 8-11 2009.
- Sangi, M. S., dan D. G. Katja. 2011. Aktivitas antioksidan pada beberapa rempah-rempah masakan khas Minahasa. *Journal Chemistry Progress*, 4 (2): 66-74.
- Sato, Yuki., Shirou I., Toshimitsu K., Jiro O., Masaki K., Takeshi H. 2011. In Vivo and In Vitro Antioxidant Properties of Chlorogenic Acid and Caffeic Acid. *International Journal of Pharmaceutics*. 403(1-2): 136-138.

- Shi, L., & Gunasekaran, S. 2008. Prepaton of Pectin-ZnO Nanocomposite. *Nanoscale Res. Lett.* 3:491-495.
- Shinde, J., Taldone, T., Barletta, M., Kunaparaju, N., Bo, H., Kumar, S. 2008. Alpha Glucosidase inhibitory activity activity of *Syzygium Cumini* (Linn) Skeels seed kernel In vitro and in Goto-Kakizaki (GK) rats. *Carbohydrate Research* 343, 1278-1281.
- Singleton, V. and J.A. Rossi. 1965. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-phosphotungstic Acid Reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16(3):144-158.
- Subroto MA. 2006. *Ramuan Herbal untuk Diabetes Melitus*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Sugita, P., Naphaleni, Kurniati, M., dan Wukirsari, T. 2010. Enkapsulasi Ketoprofen dengan Kitosan-Alginat Berdasarkan Jenis Dan Ragam Konsentrasi Tween 80 dan Span 80. *Makara Sains, Vol. 14. 2*. Bogor: Intitut Pertanian Bogor.
- Sugiwati S. 2005. Aktivitas antihiperqlikemik dari ekstrak buah mahkota dewa [*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.] sebagai inhibitor alfa glukosidase in vitro dan in vivo pada tikus putih. *Tesis*. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor
- Sulistyo, J. dan Handayani, R. 2008. Sintesis Senyawa Falvonoid alfa Glikosida secara Reaksi Transglikosilasi Enzimatik dan Aktivitasnya sebagai Antioksidan. *Biodiversitas* Volume 9, Nomor 1
- Sutarsi, Elisa, R., Taruna, I. 2016. Penentuan Tingkat Sangrai Kopi Berdasarkan Sifat Fisik Kimia Menggunakan Mesin Penyangrai Tipe Rotari. *Prosiding Seminar Nasional APTA*.306-312.
- Tadera, K., Minami, Y., Takamatsu, K., Matsuoka, T. 2006. Inhibition af Alpha Glucosidase and Alpha amylase by Flavonoids, *J. Nutr Sci Vitaminol* 52: 149-153. DOI: 10. 3177/jnsv. 52.149.
- Titto, R. 1985. Constituens for the Analysis of Certain Phenolics. *Journal Agriculture, Food Chemical.* 91 : 571 – 577.
- Trisnawati, A.R. dan Cahyaningrum S.E. 2014. Enkapsulasi Pirazinamid Menggunakan Alginat-Kitosan dengan Variasi Konsentrasi Penambahan Surfaktan Tween 80. *Journal of Chemistry*. Surabaya: UNESA.
- Triyem. 2010. Aktivitas Antioksidan Dari Kulit Batang Manggis Hutan. *Tesis*. Depok: Universitas Indonesia

- Tyas, F.N. 2018. Enkapsulasi Ekstrak Biji Kopi Arabika dalam Nanopartikel Kitosan Tripolipospat dengan Metode Gelasi Ionik. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.
- Veronika, Silvia. 2008. Produksi, Konsumsi, Harga Dan Ekspor Kopi Indonesia Ke Negara Tujuan Ekspor Utama di Asia, Amerika dan Eropa. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Vignoli JA, Bassoli DG, Benassi MT. 2011. Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: The influence of processing conditions and raw material. *Food Chemistry*. 124:863-868.
- Wahyono D. 2010. Ciri nanopartikel kitosan dan pengaruhnya pada ukuran partikel dan efisiensi penyaluran ketoprofen. *Tesis*. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Wang HY, Qian H, Yao WR. 2011. Melanoidins produced by the Maillard reactios: Structure of biological activity. *Food Chemistry*. 128: 573- 584
- Widyastuti, Niken. 2010. Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode CUPRAC, DPPH, dan FRAP serta Korelasinya dengan Fenol dan Flavonoid pada Enam Tanaman. Bogor: Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Wilczewska, Agneizka. W. 2012. Nanoparticles as drug delivery systems. *Jurnal Review*. Institute of Pharmacology Polish Academy of Sciences.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Winarsi, H. 2011. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Kanisius: Yogyakarta
- Winarti, S. 2010. *Makanan Fungsional.Eds I*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Wiranata, Rozi. 2016. Pengaruh Tingkat Penyangraian Terhadap Karakteristik Fisik Dan Kimia Kopi Robusta (*Coffea Canephora*. L). *Skripsi*.
- Wu, Y., Yang, W., Wang, C., Hu, J., Fu, S.. 2005. Chitosan Nanoparticles as a Novel Delivery System for Ammonium Glycyrrhizinate. *Int J Pharm* 295 (1-2). 235-245.
- Yamaguchi, T., Takamura, H., Matoba, T., Terao, J. 1998. HPLC Method for Evaluation of the free Radical-scavenging Activity of Foods by Using 1,1-Diphenyl-2-pirilhydrazyl, *Biosci. Biotechnol. Biosci Biotechnol Biochem*. 62 (6), 1201-1204.

- Yusianto., Dwi N. 2014. *Mutu Fisik dan Citarasa Kopi Arabika yang Disimpan Buahnya Sebelum di-Pulping*. Pelita Perkebunan.; 30(2) : 137-158
- Zambaux, M., Bonneaux, F., Gref, R., Maincent, P., Dellacherie, E., Alonso, M., Labrude, P. & Vigeron, C. 1998, Influences of Experimental Parameters on the Characteristic of Poly(Lactic Acid) Nanoparticles Prepared by Double Emulsion Method. *J Controlled Release*. 50: 31-40.
- Zhang, J.F., Zheng, Y.G., dan Shen, S.C. 2007. Inhibitory Effect of Valiimine on the Enzymatic of Honeybee (*Apis cerana Fabr.*) Alpha-glucosidase. *Pesticide Biocheistry and Phsiology* 87, 73-77.
- Zhang,H.H., Wu, S., Tao, Y., Zang, L., and Su, Z. 2010. Preparation and Characterization of Water-Soluble Chitosan Nanoparticles as Protein Delivery System. *Journal of Nanomaterials*. 2010 : 1-5.



LAMPIRAN A. Data Karakteristik Ekstrak Biji Kopi Arabika Hijau dan Robusta Sangrai

A.1 Total padatan terlarut

Sampel	Ulangan	Nilai Brix	Rata2	Stdev
Sangrai	1	31	31	0
	2	31		
	3	31		
Hijau	4	23	23	0
	5	23		
	6	23		

A.2 Total Keasaman (pH)

Sampel	Ulangan	Nilai pH	Rata-rata	Stdev
Sangrai	1	6,14	6,180	0,036
	2	6,21		
	3	6,19		
Hijau	4	5,81	5,790	0,020
	5	5,77		
	6	5,79		

A.3 Kandungan total polifenol

Sampel	Ulangan	Total Polifenol (mg GAE/mL)	Rata-rata	Stdev
sangrai	1	42,456	41,241	1,133
	2	41,054		
	3	40,214		
hijau	1	47,340	47,313	0,083
	2	47,380		
	3	47,220		

A.4 Aktivitas antioksidan

Sampel	Ulangan	mmol TE/mL	Rerata	Stdev
Sangrai	1	10,285	10,279	0,049
	2	10,226		
	3	10,325		
Hijau	4	12,275	12,194	0,095
	5	12,217		
	6	12,089		

LAMPIRAN B. Data Hasil Analisis Kandungan Polifenol Nanokitosan Terisi Ekstrak Kopi

B.1. Kandungan total polifenol nanokitosan terisi ekstrak kopi Robusta Sangrai

Volume ekstrak kopi (mL)	Tween 80 (%)	Formula	Ulangan	Total Polifenol (mg GAE/mL)	Rata-rata	Stdev
0	0	S0,1T0	1	0,420	0,415	0,0054
			2	0,416		
			3	0,409		
0,1	0,2	S0,2T0,2	1	0,399	0,396	0,0065
			2	0,400		
			3	0,388		
0,3	0,3	S0,3T0,3	1	0,379	0,380	0,0013
			2	0,379		
			3	0,381		
0	0	S0,15T0	1	0,666	0,670	0,0086
			2	0,680		
			3	0,665		
0,15	0,2	S0,15T0,2	1	0,563	0,577	0,0170
			2	0,571		
			3	0,596		
0,3	0,3	S0,15T0,3	1	0,560	0,561	0,0006
			2	0,561		
			3	0,560		

B.2 Tabel Normalitas

	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Standardized Residual for Polifenol	,124	18	,200(*)	,966	18	,717

B.6. Kandungan total polifenol nanokitosan terisi ekstrak kopi Arabika Hijau

Volume ekstrak kopi (mL)	Tween 80 (%)	Formula	Ulangan	Total Polifenol (mg GAE/mL)	Rata-rata	Stdev
0,1	0	H0,1T0	1	0,477	0,473	0,0051
			2	0,467		
			3	0,476		
	0,2	H0,1T0,2	1	0,446	0,445	0,0030
			2	0,441		
			3	0,447		
	0,3	H0,1T0,3	1	0,430	0,440	0,0086
			2	0,445		
			3	0,444		
0,2	0	H0,2T0	1	0,676	0,671	0,0046
			2	0,671		
			3	0,667		
	0,2	H0,2T0,2	1	0,646	0,647	0,0009
			2	0,648		
			3	0,646		
	0,3	H0,2T0,3	1	0,641	0,642	0,0005
			2	0,642		
			3	0,642		
0,3	0	H0,3T0	1	0,893	0,894	0,0103
			2	0,904		
			3	0,884		
	0,2	H0,3T0,2	1	0,868	0,870	0,0061
			2	0,865		
			3	0,876		
	0,3	H0,3T0,3	1	0,851	0,856	0,0049
			2	0,856		
			3	0,861		

B.7. Tabel Normalitas

	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Standardized Residual for Polifenol	,148	27	,136	,976	27	,755

B.8. Tabel Homogenitas

F	df1	df2	Sig.
2,100	8	18	,091

B.9 Tabel Uji Anova

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	,802(a)	8	,100	3104,578	,000
Intercept	11,748	1	11,748	363756,995	,000
Ekstrak	,796	2	,398	12330,448	,000
Tween80	,006	2	,003	86,396	,000
Ekstrak * Tween80	9,48E-005	4	2,37E-005	,734	,581
Error	,001	18	3,23E-005		
Total	12,551	27			
Corrected Total	,803	26			

B.10 Tabel Uji Duncan

Ekstrak	N	Subset		
		1	2	3
H0,1	9	,45256		
H0,2	9		,65322	
H0,3	9			,87311
Sig.		1,000	1,000	1,000

Tween80	N	Subset		
		1	2	3
T0,3	9	,64578		
T0,2	9		,65367	
T0	9			,67944
Sig.		1,000	1,000	1,000

Eksrakx Tween80	N	Subset for alpha = .05						
		1	2	3	4	5	6	7
H0,1T0,3	3	,43967						
H0,1T0,2	3	,44467						
H0,1T0	3		,47333					
H0,2T0,3	3			,64167				
H0,2T0,2	3			,64667				
H0,2T0	3				,67133			
H0,3T0,3	3					,85600		
H0,3T0,2	3						,86967	
H0,3T0	3							,89367
Sig.		,295	1,000	,295	1,000	1,000	1,000	1,000

LAMPIRAN C. Data Hasil Analisis Kandungan Pigmen Coklat Melanoidin Nanokitosan Terisi Ekstrak Kopi

C.1 Pigmen coklat melanoidin nanokitosan terisi ekstrak kopi Robusta sangrai

Volume ekstrak kopi (mL)	Tween 80 (%)	Formula	Ulangan	Nilai Melanoidin (mg GAE/mL)	Rata-rata	Stdev
0	0	S0,1T0	1	0,515	0,535	0,0298
			2	0,570		
			3	0,522		
0,1	0,2	S0,2T0,2	1	0,444	0,453	0,0205
			2	0,439		
			3	0,477		
0,3	0,3	S0,3T0,3	1	0,423	0,424	0,0043
			2	0,420		
			3	0,428		
0	0	S0,15T0	1	0,812	0,820	0,0093
			2	0,819		
			3	0,830		
0,15	0,2	S0,15T0,2	1	0,770	0,773	0,0046
			2	0,778		
			3	0,770		
0,3	0,3	S0,15T0,3	1	0,715	0,711	0,0037
			2	0,708		
			3	0,710		

C.2 Tabel Normalitas

	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
Standardized Residual for Melanoidin	,148	18	,200(*)	,971	18	,812

C.3 Tabel Homogenitas

F	df1	df2	Sig.
2,112	5	12	,134

LAMPIRAN D. Data Hasil Analisis Kandungan Antioksidan DPPH Nanokitosan Terisi Ekstrak Kopi

D.1 Tabel Hasil Pengukuran Kandungan Antioksidan DPPH Nanokitosan Terisi Ekstrak Kopi Sangrai

Volume ekstrak kopi (mL)	Tween 80 (%)	Formula	Ulangan	Total Polifenol (mg GAE/mL)	Rata-rata	Stdev
0,1	0	S0,1T0	1	0,420	0,415	0,0054
			2	0,416		
			3	0,409		
	0,2	S0,2T0,2	1	0,399	0,396	0,0065
			2	0,400		
			3	0,388		
	0,3	S0,3T0,3	1	0,379	0,380	0,0013
			2	0,379		
			3	0,381		
0,15	0	S0,15T0	1	0,666	0,670	0,0086
			2	0,680		
			3	0,665		
	0,2	S0,15T0,2	1	0,563	0,577	0,0170
			2	0,571		
			3	0,596		
	0,3	S0,15T0,3	1	0,560	0,561	0,0006
			2	0,561		
			3	0,560		

D.2 Tabel Normalitas

	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Standardized Residual for DPPH	,168	18	,194	,949	18	,406

D.3 Tabel Homogenitas

F	df1	df2	Sig.
2,044	5	12	,144

D.4 Tabel Uji Anova

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	,003(a)	5	,001	136,012	,000
Intercept	,072	1	,072	19178,882	,000
Ekstrak	,002	1	,002	600,059	,000
Tween80	,000	2	,000	37,471	,000
Ekstrak * Tween80	1,91E-005	2	9,56E-006	2,529	,121
Error	4,53E-005	12	3,78E-006		
Total	,075	18			
Corrected Total	,003	17			

D.5 Tabel Uji Duncan

Konsentrasi Tween 80	N	Subset		
		1	2	3
T0,3	6	,05833		
T0,2	6		,06400	
T0	6			,06800
Sig.		1,000	1,000	1,000

EkstrakxTween80	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
S0,1T0,3	3	,04800				
S0,1T0,2	3		,05333			
S0,1T0	3		,05533			
S0,15T0,3	3			,06867		
S0,15T0,2	3				,07467	
S0,15T0	3					,08067
Sig.		1,000	,232	1,000	1,000	1,000

D.6 Tabel Hasil Pengukuran Kandungan Antioksidan DPPH Nanokitosan Terisi Ekstrak Kopi Arabika Hijau

Volume ekstrak kopi (mL)	Konsentrasi Tween 80 (%)	Formula	Ulangan	Aktivitas Antioksidan (mmol TE/mL)	Rata-rata	Stdev
0,1	0	H0,1T0	1	0,066	0,064	0,0012
			2	0,063		
			3	0,064		
	0,2	H0,1T0, 2	1	0,058	0,061	0,0038
			2	0,065		
			3	0,059		
	0,3	H0,1T0, 3	1	0,057	0,059	0,0025
			2	0,059		
			3	0,062		
0,2	0	H0,2T0	1	0,082	0,084	0,0038
			2	0,082		
			3	0,088		
	0,2	H0,2T0, 2	1	0,081	0,081	0,0007
			2	0,081		
			3	0,082		
	0,3	H0,2T0, 3	1	0,080	0,080	0,0011
			2	0,080		
			3	0,082		
0,3	0	H0,3T0	1	0,115	0,117	0,0023
			2	0,119		
			3	0,118		
	0,2	H0,3T0, 2	1	0,115	0,114	0,0006
			2	0,113		
			3	0,114		
	0,3	H0,3T0, 3	1	0,114	0,113	0,0006
			2	0,113		
			3	0,113		

D.7 Tabel Normalitas

	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Standardized Residual for DPPH	,095	27	,200(*)	,980	27	,869

D.8 Tabel Homogenitas

F	df1	df2	Sig.
1,804	8	18	,142

D.9 Tabel Uji Anova

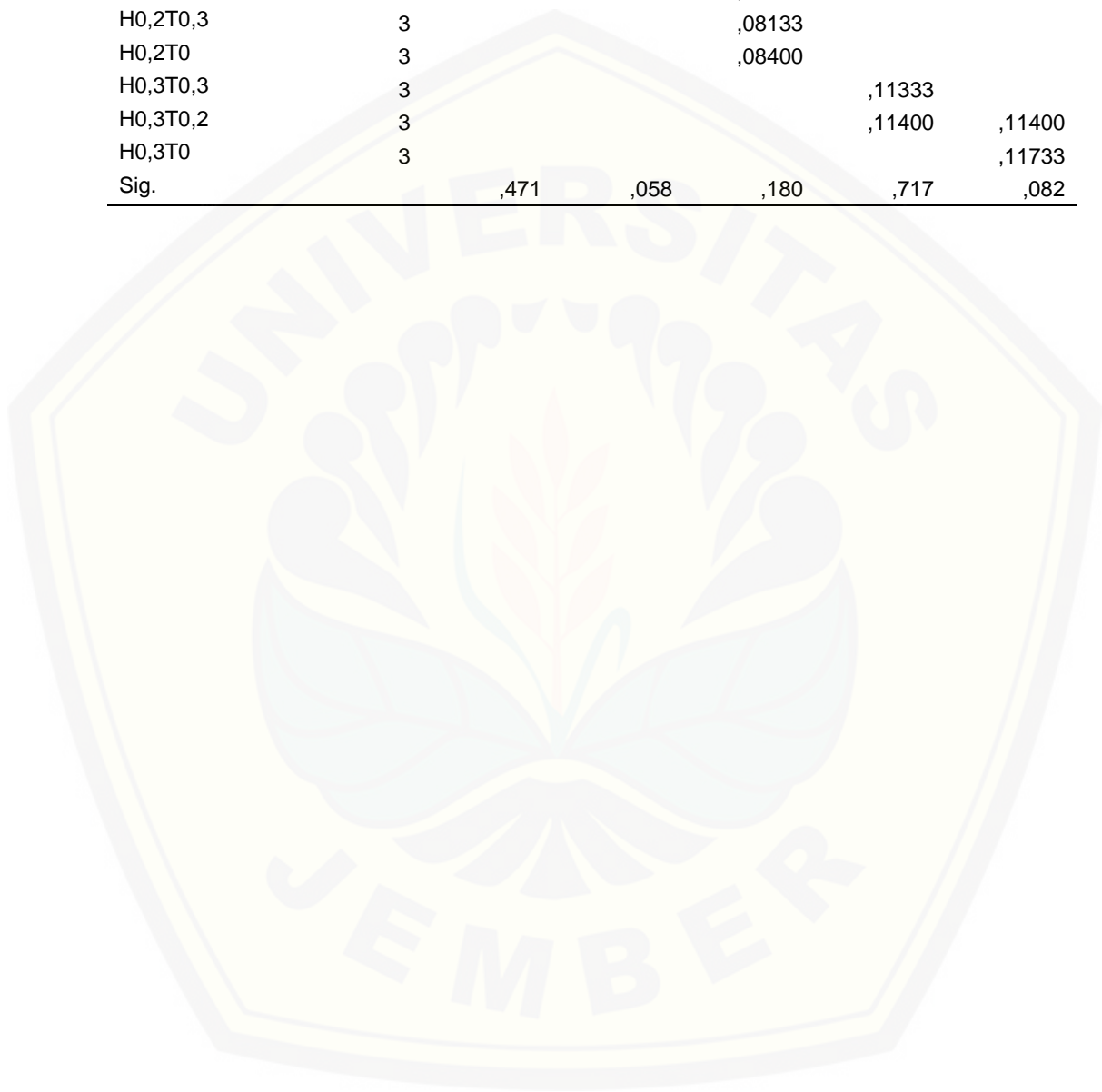
Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	,013(a)	8	,002	333,628	,000
Intercept	,201	1	,201	40713,752	,000
Ekstrak	,013	2	,007	1326,188	,000
Tween80	7,79E-005	2	3,89E-005	7,902	,003
Ekstrak * Tween80	4,15E-006	4	1,04E-006	,211	,929
Error	8,87E-005	18	4,93E-006		
Total	,214	27			
Corrected Total	,013	26			

D.5 Tabel Uji Duncan

Ekstrak	N	Subset		
		1	2	3
H0,1	9	,06144		
H0,2	9		,08222	
H0,3	9			,11489
Sig.		1,000	1,000	1,000

Tween 80	N	Subset	
		1	2
T0,3	9	,08467	
T0,2	9	,08533	
T0	9		,08856
Sig.		,532	1,000

EkstrakxTween	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
H0,1T0,3	3	,05933				
H0,1T0,2	3	,06067	,06067			
H0,1T0	3		,06433			
H0,2T0,2	3			,08133		
H0,2T0,3	3			,08133		
H0,2T0	3			,08400		
H0,3T0,3	3				,11333	
H0,3T0,2	3				,11400	,11400
H0,3T0	3					,11733
Sig.		,471	,058	,180	,717	,082



LAMPIRAN E. Data Hasil Analisis Aktivitas Antioksidan Metode FRAP Nanokitosan Terisi Ekstrak Kopi

E.1 Aktivitas antioksidan metode FRAP nanokitosan terisi ekstrak kopi Robusta Sangrai

Volume ekstrak kopi (mL)	Konsentrasi Tween 80 (%)	Formula	Ulangan	Aktivitas Antioksidan (mmol TE/mL)	Rata-rata	Stdev
0,1	0	S0,1T0	1	0,091	0,094	0,0031
			2	0,096		
			3	0,096		
0,1	0,2	S0,2T0,2	1	0,079	0,083	0,0035
			2	0,083		
			3	0,086		
0,1	0,3	S0,3T0,3	1	0,083	0,081	0,0016
			2	0,081		
			3	0,080		
0,15	0	S0,15T0	1	0,176	0,181	0,0047
			2	0,183		
			3	0,185		
0,15	0,2	S0,15T0,2	1	0,173	0,173	0,0003
			2	0,172		
			3	0,172		
0,15	0,3	S0,15T0,3	1	0,171	0,171	0,0025
			2	0,168		
			3	0,173		

E.2 Tabel Normalitas

	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Standardized Residual for FRAP	,169	18	,190	,948	18	,400

E.3 Tabel Homogenitas

F	df1	df2	Sig.
2,170	5	12	,126

E.4 Tabel Uji Anova

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	,036(a)	5	,007	828,056	,000
Intercept	,306	1	,306	35340,410	,000
Ekstrak	,035	1	,035	4082,077	,000
Tween80	,000	2	,000	28,737	,000
Ekstrak * Tween80	6,33E-006	2	3,17E-006	,365	,701
Error	,000	12	8,67E-006		
Total	,342	18			
Corrected Total	,036	17			

E.5 Tabel Uji Duncan

Tween 80	N	Subset	
		1	2
T0,3	6	,12600	
T0,2	6	,12750	
T0	6		,13783
Sig.		,395	1,000

EkstrakxTween80	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
S0,1T0,3	3	,08133			
S0,1T0,2	3	,08267			
S0,1T0	3		,09433		
S0,15T0,3	3			,17067	
S0,15T0,2	3			,17233	
S0,15T0	3				,18133
Sig.		,589	1,000	,501	1,000

E.6 Aktivitas antioksidan metode FRAP nanokitosan terisi ekstrak kopi Arabika Hijau

Volume ekstrak kopi (mL)	Tween 80 (%)	Formula	Ulangan	Aktivitas Antioksidan (mmol TE/mL)	Rata-rata	Stdev
0,1	0	H0,1T0	1	0,130	0,126	0,0036
			2	0,124		
			3	0,123		
	0,2	H0,1T0, 2	1	0,110	0,110	0,0012
			2	0,108		
			3	0,110		
	0,3	H0,1T0, 3	1	0,106	0,105	0,0012
			2	0,104		
			3	0,106		
0,2	0	H0,2T0	1	0,194	0,195	0,0014
			2	0,195		
			3	0,197		
	0,2	H0,2T0, 2	1	0,181	0,182	0,0008
			2	0,181		
			3	0,183		
	0,3	H0,2T0, 3	1	0,185	0,181	0,0030
			2	0,179		
			3	0,181		
0,3	0	H0,3T0	1	0,285	0,283	0,0023
			2	0,285		
			3	0,281		
	0,2	H0,3T0, 2	1	0,281	0,282	0,0012
			2	0,281		
			3	0,283		
	0,3	H0,3T0, 3	1	0,285	0,279	0,0093
			2	0,284		
			3	0,268		

E.7 Tabel Normalitas

	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Standardized Residual for FRAP	,104	27	,200(*)	,967	27	,530

E.8 Tabel Homogenitas

F	df1	df2	Sig.
1,247	8	18	,329

E.9 Tabel Uji Anova

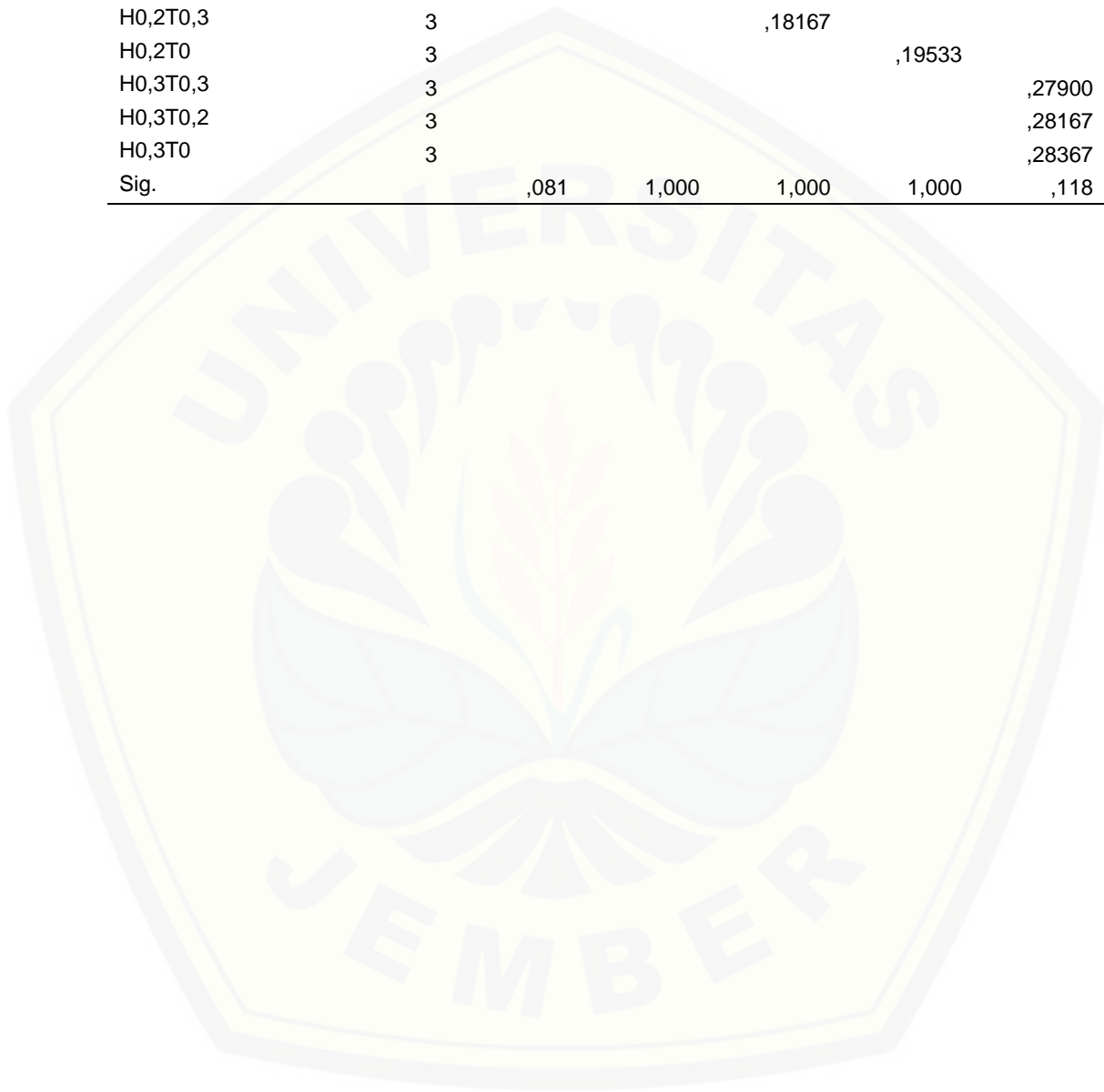
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	,128(a)	8	,016	1463,595	,000
Intercept	1,014	1	1,014	92514,490	,000
Ekstrak	,127	2	,064	5805,125	,000
Tween80	,001	2	,000	38,233	,000
Ekstrak * Tween80	,000	4	6,04E-005	5,512	,004
Error	,000	18	1,10E-005		
Total	1,143	27			
Corrected Total	,129	26			

E.10 Tabel Uji Duncan

Ekstrak	N	Subset		
		1	2	3
H0,1	9	,11378		
H0,2	9		,18622	
H0,3	9			,28144
Sig.		1,000	1,000	1,000

Tween80	N	Subset	
		1	2
T0,3	9	,18867	
T0,2	9	,19122	
T0	9		,20156
Sig.		,119	1,000

EkstrakxTween80	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
H0,1T0,3	3	,10533				
H0,1T0,2	3	,11033				
H0,1T0	3		,12567			
H0,2T0,2	3			,18167		
H0,2T0,3	3			,18167		
H0,2T0	3				,19533	
H0,3T0,3	3					,27900
H0,3T0,2	3					,28167
H0,3T0	3					,28367
Sig.		,081	1,000	1,000	1,000	,118



LAMPIRAN F. Data Hasil Analisis Aktivitas Antioksidan Metode OH-Radikal Nanokitosan Terisi Ekstrak Kopi

F.1 Aktivitas antioksidan metode OH-Radikal nanokitosan terisi ekstrak kopi Robusta Sangrai

Volume ekstrak kopi (mL)	Tween 80 (%)	Formula	Ulangan	Aktivitas Antioksidan (mmol TE/mL)	Rata-rata	Stdev
0,1	0	S0,1T0	1	0,015	0,015	0,0006
			2	0,014		
			3	0,015		
	0,2	S0,2T0,2	1	0,012	0,012	0,0006
			2	0,011		
			3	0,012		
	0,3	S0,3T0,3	1	0,011	0,011	0,0003
			2	0,011		
			3	0,011		
0,15	0	S0,15T0	1	0,025	0,024	0,0031
			2	0,026		
			3	0,020		
	0,2	S0,15T0,2	1	0,021	0,021	0,0001
			2	0,021		
			3	0,021		
	0,3	S0,15T0,3	1	0,020	0,020	0,0003
			2	0,020		
			3	0,020		

F.2 Tabel Normalitas

	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Standardized Residual for RadikalOH	,154	18	,200(*)	,965	18	,707

F.3 Tabel Homogenitas

F	df1	df2	Sig.
,904	5	12	,509

F.4 Tabel Uji Anova

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	,000(a)	5	8,09E-005	9,757	,001
Intercept	,005	1	,005	567,374	,000
Ekstrak	,000	1	,000	43,250	,000
Tween80	7,60E-005	2	3,80E-005	4,583	,033
Ekstrak * Tween80	1,09E-007	2	5,45E-008	,007	,993
Error	9,95E-005	12	8,29E-006		
Total	,006	18			
Corrected Total	,001	17			

F.5 Tabel Uji Duncan

	N	Subset
Tween80		1
T0,3	6	,01550
T0,2	6	,01633
T0	6	,01917
Sig.		,057

	N	Subset for alpha = .05	
EkstrakxTween		1	2
S0,1T0,3	3	,01100	
S0,1T0,2	3	,01167	
S0,1T0	3	,01467	
S0,15T0,3	3		,02000
S0,15T0,2	3		,02100
S0,15T0	3		,02367
Sig.		,136	,136

F.6 Aktivitas antioksidan metode OH-Radikal nanokitosan terisi ekstrak kopi Arabika hijau

Volume ekstrak kopi (mL)	Formula		Ulangan	Aktivitas Antioksidan (mmol TE/mL)	Rata-rata	Stdev
	Tween 80 (%)					
0,1	0	H0,1T0	1	0,016	0,016	0,0001
			2	0,016		
			3	0,016		
	0,2	H0,1T0,2	1	0,014	0,014	0,0004
			2	0,014		
			3	0,015		
	0,3	H0,1T0,3	1	0,013	0,013	0,0004
			2	0,013		
			3	0,013		
0,2	0	H0,2T0	1	0,024	0,025	0,0006
			2	0,025		
			3	0,026		
	0,2	H0,2T0,2	1	0,021	0,022	0,0022
			2	0,021		
			3	0,025		
	0,3	H0,2T0,3	1	0,019	0,020	0,0008
			2	0,020		
			3	0,021		
0,3	0	H0,3T0	1	0,033	0,034	0,0008
			2	0,034		
			3	0,035		
	0,2	H0,3T0,2	1	0,030	0,030	0,0006
			2	0,029		
			3	0,030		
	0,3	H0,3T0,3	1	0,028	0,028	0,0002
			2	0,028		
			3	0,028		

F.7 Tabel Normalitas

	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Standardized Residual for RADIKALOH	,167	27	,052	,954	27	,274

F.8 Tabel Homogenitas

F	df1	df2	Sig.
,843	8	18	,578

F.9 Tabel Uji Anova

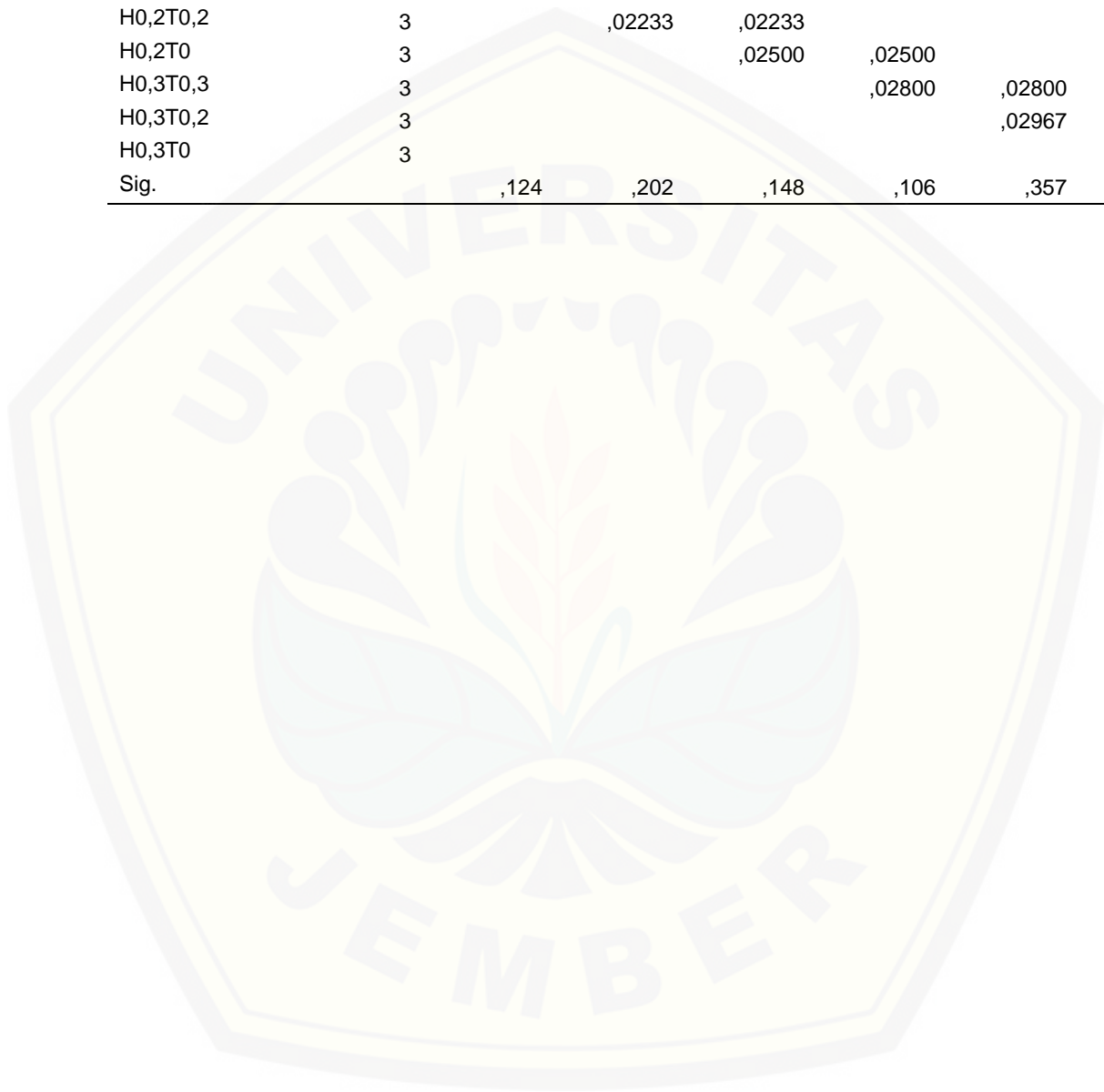
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	,001(a)	8	,000	34,198	,000
Intercept	,014	1	,014	2924,198	,000
Ekstrak	,001	2	,001	125,151	,000
Tween80	9,99E-005	2	4,99E-005	10,698	,001
Ekstrak * Tween80	8,81E-006	4	2,20E-006	,472	,756
Error	8,40E-005	18	4,67E-006		
Total	,015	27			
Corrected Total	,001	26			

F.10 Tabel Uji Duncan

Ekstrak	N	Subset		
		1	2	3
H0,1	9	,01444		
H0,2	9		,02244	
H0,3	9			,03056
Sig.		1,000	1,000	1,000

Tween 80	N	Subset	
		1	2
T0,3	9	,02033	
T0,2	9	,02211	
T0	9		,02500
Sig.		,098	1,000

EkstrakxTween	N	Subset for alpha = .05					
		1	2	3	4	5	6
H0,1T0,3	3	,01300					
H0,1T0,2	3	,01433					
H0,1T0	3	,01600					
H0,2T0,3	3		,02000				
H0,2T0,2	3		,02233	,02233			
H0,2T0	3			,02500	,02500		
H0,3T0,3	3				,02800	,02800	
H0,3T0,2	3					,02967	
H0,3T0	3						,03400
Sig.		,124	,202	,148	,106	,357	1,000



LAMPIRAN G. Data Hasil Analisis Penghambatan enzim alfa gluksidase Nanokitosan Terisi Ekstrak Kopi

G.1 Penghambatan enzim alfa gluksidase nanokitosan terisi ekstrak kopi

Volume ekstrak kopi (mL)	Tween 80 (%)	Formula	Ulangan	%Penghambatan	Rata-rata	Stdev
0,15	0	S0,15T0	1	29,64	34,601	7,013
			2	39,56		
	0,3	S0,15T0,3	1	18,46	28,332	13,956
			2	38,20		
0,3	0	H0,3T0	1	87,12	92,867	8,131
			2	98,62		
	0,3	H0,3T0,3	1	84,53	89,833	7,493
			2	95,13		

G.2 Tabel Normalitas

Tests of Normality							
	Sampel	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statisti c	df	Sig.	Statisti c	Df	Sig.
Penghambatan	S0.15T0	.175	3	.	1.000	3	1.000
	S0.15T0. 3	.175	3	.	1.000	3	1.000
	H0.3T0	.175	3	.	1.000	3	1.000
	H0.3T0. 3	.175	3	.	1.000	3	1.000

a. Lilliefors Significance Correction

G.3 Tabel Homogenitas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.458	3	8	.719

G.4 Tabel Uji Anova

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10831.471	3	3610.490	78.844	.000
Within Groups	366.342	8	45.793		
Total	11197.813	11			

G.5 Tabel Uji Duncan

Sampel	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
S0.15T0.3	3	28.330	
S0.15T0	3	34.600	
H0.3T0.3	3		89.830
H0.3T0	3		92.870
Sig.		.289	.597