



**PENETAPAN KADAR POLIFENOL DAN UJI AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN PADA ANEKA SAJIAN MINUMAN KOPI ROBUSTA
(*Coffea canephora*) MENGGUNAKAN METODE DPPH**

SKRIPSI

Oleh:

RENOVA RIZKA PUTRI

NIM 132210101057

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2017



**PENETAPAN KADAR POLIFENOL DAN UJI AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN PADA ANEKA SAJIAN MINUMAN KOPI ROBUSTA
(*Coffea canephora*) MENGGUNAKAN METODE DPPH**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Farmasi (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh :

RENOVA RIZKA PUTRI

NIM 132210101057

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2017

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT yang selalu memberikan petunjuk, rahmat, hidayah, tuntunan, dan kemudahan;
2. Mama Ika Pujiati dan Ayah H. Gunawan yang telah memberikan semangat, motivasi, dukungan tiada henti serta Opa Supinah, Adik Dwiky, Adik Nabilla dan Adik Thomas yang selalu menjadi penyemangat dan selalu mendoakan kakak;
3. Ibu Indah Purnama Sary, S.Si., M.Farm., Apt selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt selaku Dosen Pembimbing Anggota yang senantiasa sabar membimbing penulis;
4. Ibu Nia Kristiningrum, S.Farm.,M.Farm., Apt dan Ibu Dewi Dianasari S.Farm., M. Farm., Apt selaku Dosen Penguji yang dengan penuh kesabaran memberikan masukan kepada penulis;
5. Almamater tercinta Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTTO

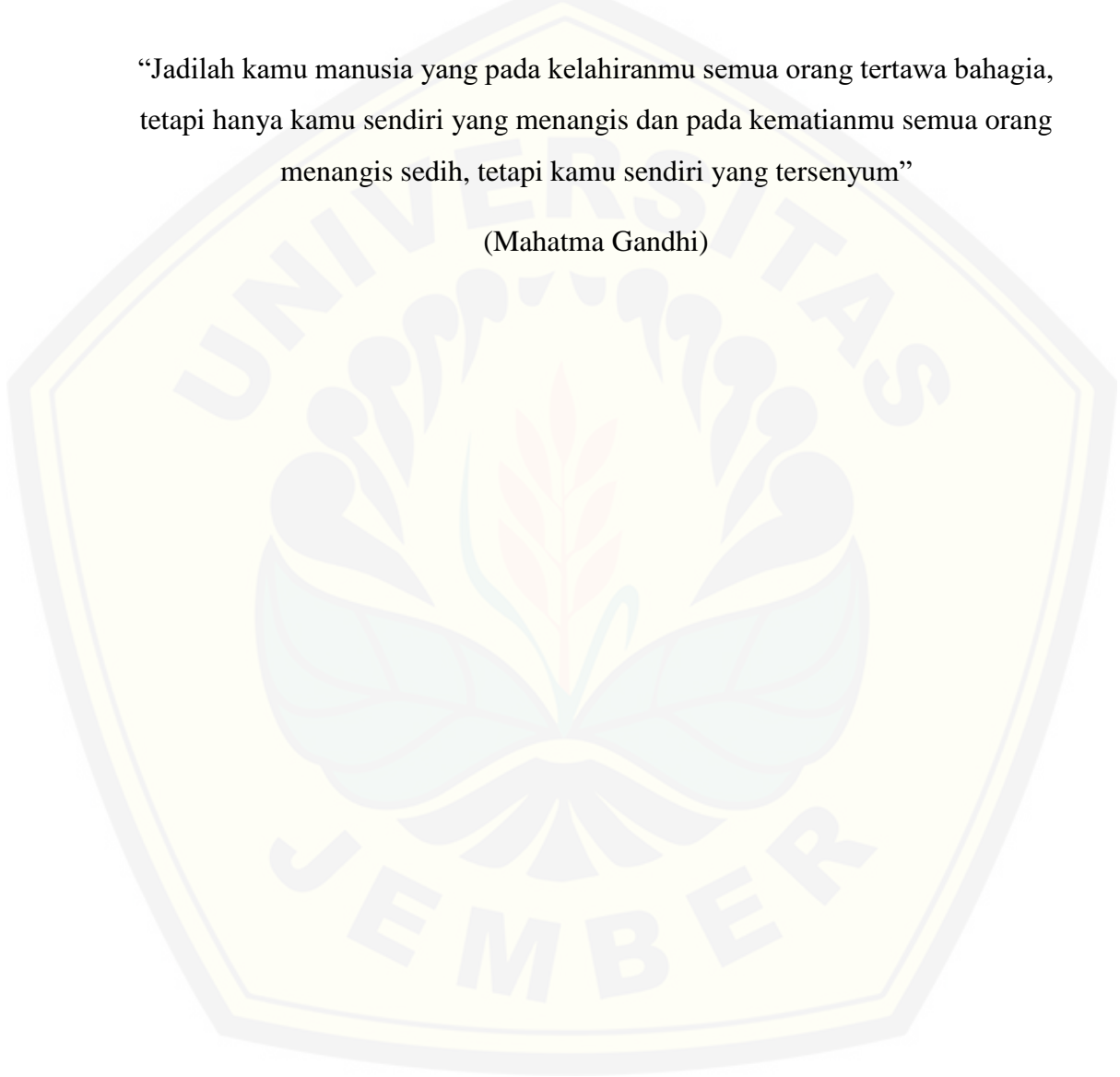
(اللّٰهُ سَبِيْلٌ فِىْ فُهُوَ الْعِلْمِ طَلَبِ فِىْ جَ خَرَمَنْ)

“Barang siapa keluar untuk mencari ilmu maka dia berada di jalan Allah”

(HR.Turmudzi)

“Jadilah kamu manusia yang pada kelahiranmu semua orang tertawa bahagia, tetapi hanya kamu sendiri yang menangis dan pada kematianmu semua orang menangis sedih, tetapi kamu sendiri yang tersenyum”

(Mahatma Gandhi)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Renova Rizka Putri

NIM : 132210101057

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Penetapan Kadar Polifenol dan Uji Aktivitas Antioksidan Pada Aneka Sajian Minuman Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Menggunakan Metode DPPH” adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 26 April 2016
Yang menyatakan,

Renova Rizka Putri
NIM 132210101057

SKRIPSI

**PENETAPAN KADAR POLIFENOL DAN UJI AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN PADA ANEKA SAJIAN MINUMAN KOPI ROBUSTA
(*Coffea canephora*) MENGGUNAKAN METODE DPPH**

Oleh

Renova Rizka Putri

NIM 132210101057

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Indah Purnama Sary, S.Si., M.Farm., Apt.

Dosen Pembimbing Anggota : Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt.

PENGESAHAN

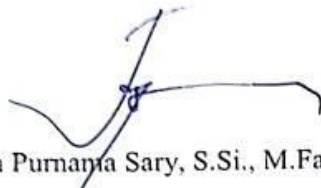
Karya ilmiah Skripsi berjudul "Penetapan Kadar Polifenol dan Uji Aktivitas Antioksidan Pada Aneka Sajian Minuman Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Menggunakan Metode DPPH" telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Rabu, 26 April 2017

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Penguji:

Pembimbing Utama,



Indah Purnama Sary, S.Si., M.Farm., Apt.
NIP 198304282008122004

Pembimbing Pendamping,



Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm.
NIP 197604142002122001

Penguji I,



Nia Kristiningrum, S.Farm., M.Farm., Apt.
NIP 198204062006042001

Penguji II,



Dewi Dianasari, S.Farm., M.Farm., Apt.
NIP 198712082014042002

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,



Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm.
NIP 197604142002122001

RINGKASAN

Penetapan Kadar Polifenol Dan Uji Aktivitas Antioksidan Pada Aneka Sajian Minuman Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Menggunakan Metode DPPH; Renova Rizka Putri, 132210101057; 2017: 121 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Radikal bebas secara terus menerus terbentuk melalui proses metabolisme sel normal, peradangan, kekurangan gizi, dan akibat respon terhadap pengaruh dari luar tubuh, seperti asap kendaraan bermotor, asap pabrik, asap rokok, makanan, dan juga radiasi ultraviolet (UV). Radikal bebas yang berlebih dapat memicu timbulnya berbagai macam penyakit, seperti penyakit autoimun, kerusakan sel atau jaringan, penyakit degeneratif, seperti kardiovaskular, kanker, aterosklerosis, dan juga osteoporosis. Senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan dapat mencegah terjadinya reaksi oksidasi radikal bebas. Antioksidan berfungsi untuk menstabilkan dengan melengkapi kekurangan elektron dari radikal bebas sehingga menghambat terjadinya reaksi berantai. Beberapa penelitian menyebutkan tanaman yang memiliki aktivitas antioksidan adalah tanaman kopi dengan kandungan senyawa polifenol tinggi. Dalam kategori minuman, salah satu sumber antioksidan dari polifenol terbesar adalah minuman dari bahan kopi.

Di Indonesia kebiasaan minum kopi sudah dari zaman nenek moyang dan kini menjadi minuman favorit di dunia. Jenis kopi yang banyak dibudidayakan yakni kopi robusta (*Coffea canephora*) karena saat ini lebih dari 90% area pertanaman kopi di Indonesia terdiri atas kopi robusta. Banyak orang mengkombinasikan minuman kopi dengan penambahan gula, krimer, dan susu. Penelitian mengenai penetapan kadar polifenol dan aktivitas antioksidan pada aneka sajian minuman kopi robusta perlu dilakukan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan bermakna kadar polifenol dan aktivitas antioksidan pada aneka sajian minuman kopi robusta.

Tahapan penelitian yang dilakukan adalah pembuatan larutan sampel, penetapan kadar polifenol, pengukuran aktivitas antioksidan, dan uji statistik. Pembuatan larutan sampel dibuat dengan cara menyeduh aneka sajian minuman

kopi dengan air panas dengan suhu 85°C lalu disaring untuk mendapatkan larutan sampel. Penetapan kadar polifenol menggunakan metode pewarnaan reagen Folin-Ciocalteu dengan asam galat sebagai pembanding. Metode pengujian aktivitas antioksidan yang digunakan adalah DPPH dengan vitamin C sebagai kontrol positif. Apabila hasil data homogen dan normal, maka akan diuji statistik menggunakan *one way anova* yang dilanjutkan uji *post hoc* (LSD).

Hasil penelitian menunjukkan, kadar polifenol yang paling tinggi adalah sampel minuman kopi dengan penambahan gula+krimer sebesar $55,687 \pm 0,231$ mg GAE/g bubuk kopi, diikuti sampel minuman kopi dengan penambahan gula+susu sebesar $52,822 \pm 0,129$ mg GAE/g bubuk kopi, minuman kopi murni sebesar $52,206 \pm 0,436$ mg GAE/g bubuk kopi, dan yang terkecil minuman kopi dengan penambahan gula $50,352 \pm 0,326$ mg GAE/g bubuk kopi. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan (IC_{50}) yang paling kecil adalah sampel minuman kopi+gula+krimer $38,776 \pm 0,145$ $\mu\text{g/ml}$, kopi+gula+susu $49,603 \pm 0,359$ $\mu\text{g/ml}$, kopi murni $51,872 \pm 0,158$ $\mu\text{g/ml}$, dan kopi+gula $54,449 \pm 0,371$ $\mu\text{g/ml}$. Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin besar kemampuan antioksidannya karena hanya dengan konsentrasi yang kecil telah mampu meredam radikal bebas DPPH sebesar 50%.

Analisis anova dan uji LSD menunjukkan bahwa kadar polifenol dari keempat sampel aneka sajian minuman kopi robusta berbeda secara signifikan. Namun sampel minuman kopi murni dan kopi dengan penambahan gula berbeda tidak signifikan. Sedangkan aktivitas antioksidan menunjukkan berbeda pada empat sampel minuman kopi robusta secara signifikan dilihat dari besarnya signifikansi (α) pada uji anova (0,000) lebih kecil dari nilai 1% ($p < 0,01$) dengan tingkat kepercayaan sebesar 99%. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai landasan untuk penelitian lebih lanjut.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Penetapan Kadar Polifenol dan Uji Aktivitas Antioksidan Pada Aneka Sajian Minuman Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Menggunakan Metode DPPH”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan dan penyelesaian skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Allah SWT yang telah memberikan karunia-Nya sehingga kami dapat menyusun dan menyelesaikan tulisan ini;
2. Bapak Bawon Triatmoko, S.Farm., Apt, selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
3. Ibu Indah Purnama Sary, S.Si., M.Farm., Apt selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt selaku Dosen Pembimbing anggota yang senantiasa meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
4. Ibu Nia Kristiningrum, S.Farm.,M.Farm.,Apt dan Ibu Dewi Dianasari S.Farm.,M. Farm.,Apt selaku Dosen Penguji yang memberikan masukan kritik, saran kepada penulis dalam penulisan skripsi ini;
5. Seluruh dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberi banyak ilmu pengetahuan, berbagai pengalaman dan selalu memotivasi penulis selama masa perkuliahan; staff dan karyawan atas segala bantuan yang telah diberikan penulis menjadi mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Jember;
6. Ibu Wayan dan Mbak Hani selaku teknisi Laboratorium Kimia Farmasi yang telah membantu dan membimbing penulis selama penelitian;
7. Orang tua tercinta mama Ika Pujiati dan ayah Hendri Gunawan yang senantiasa memberi doa, kasih sayang, semangat dan motivasi untuk mengiringi perjalanan hidup penulis; adik Dwiky Kharisma Putra, Nabilla Putri, Thomas

Gunzi; opa Supinah dan seluruh keluarga besar penulis yang selalu menjadi penyemangat penulis;

8. Mohamad Fikri Adila, yang senantiasa memberi dukungan, semangat, dan motivasi untuk penulis;
9. Sahabat sekaligus teman serumah “Housemate” Famela, Rizka, dan Selly yang senantiasa selalu menemani dan memberikan semangat selama menjadi mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Jember;
10. Teman kuliah sekaligus sahabat “Barbie”, Putri Efina, Laili, Nisa, Nadia, Fatimah, Lutfia, dan Vabella untuk semua dukungan, semangat, motivasi dan kebersamaan disaat bahagia ataupun susah;
11. Sahabat “Fellow” Tya, Yulanda, Ineke, dan Nadia yang memberikan semangat dan mendengarkan keluh kesah selama penelitian;
12. Rekan kerja sekaligus sahabatku Elsa Dwi, terimakasih atas kerjasamanya saat penelitian dan kebersamaannya selama masa perkuliahan; teman-teman penelitian di bagian Kimia Farmasi (Fiqi, Dini, Putri, Mbak Ekananda, Fitri, Karin, Niken, Riza, Wahyu) terima kasih untuk kebersamaannya saat penelitian;
13. Keluarga Besar Farmasetamol FF UNEJ 2013 yang berjuang bersama untuk mewujudkan cita-cita;
14. Keluarga Besar UKMO Fassenden dan UKSM Essensi Fakultas Farmasi atas semua dukungan, semangat, dan persaudaraan yang indah ini;
15. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu, terima kasih atas segala bantuan dan kerjasamanya.

Penulis juga menerima kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan penulisan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 9 April 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	3
HALAMAN MOTTO	4
HALAMAN PERNYATAAN	5
HALAMAN PEMBIMBING	vi
HALAMAN PENGESAHAN	Error! Bookmark not defined.
RINGKASAN	7
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	12
DAFTAR GAMBAR	15
DAFTAR TABEL	16
DAFTAR PERSAMAAN	17
DAFTAR LAMPIRAN	18
BAB I. PENDAHULUAN	19
1.1 Latar Belakang	19
1.2 Rumusan Masalah	21
1.3 Tujuan Penelitian	21
1.4 Manfaat Penelitian	21
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	23
2.1 Tinjauan Umum Tanaman Kopi	23
2.1.1 Sejarah	23
2.1.2 Klasifikasi kopi robusta (<i>Coffea canephora</i>)	24
2.1.3 Morfologi tanaman kopi robusta (<i>Coffea canephora</i>).....	24
2.1.4 Fitokimia	26
2.2 Tinjauan Umum Gula	27
2.3 Tinjauan Umum Krimer	28
2.4 Tinjauan Umum Susu	28
2.5 Tinjauan Umum Senyawa Polifenol	30
2.6 Tinjauan Umum Radikal Bebas dan Antioksidan	31

2.7	Metode Penetapan Kadar Polifenol dengan Reagen Folin-Ciocalteu	34
2.8	Metode DPPH untuk Pengukuran Aktivitas Antioksidan	35
2.9	Tinjauan Umum Vitamin C	37
2.10	Tinjauan Umum Spektrofotometri UV-Vis.....	38
BAB 3.	METODE PENELITIAN	39
3.1	Jenis Penelitian.....	39
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian.....	39
3.3	Variabel Penelitian.....	39
3.3.1	Variabel bebas	39
3.3.2	Variabel terikat.....	39
3.3.3	Variabel terkontrol	39
3.4	Definisi Operasional.....	40
3.5	Rancangan Penelitian	40
3.5.1	Rancangan percobaan.....	40
3.5.2	Skema penelitian	41
3.6	Bahan dan Alat.....	41
3.6.1	Bahan.....	41
3.6.2	Alat.....	42
3.7	Penetapan Kadar Polifenol	42
3.7.1	Preparasi sampel.....	42
3.7.2	Pembuatan larutan sampel.....	42
3.7.3	Pembuatan larutan baku asam galat	43
3.7.4	Penetapan panjang gelombang maksimum	43
3.7.5	Penentuan waktu inkubasi.....	43
3.7.6	Penetapan kadar.....	43
3.7.7	Perhitungan.....	44
3.8	Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH.....	44
3.8.1	Pembuatan larutan sampel.....	44
3.8.2	Pembuatan larutan vitamin c	44
3.8.3	Pembuatan larutan DPPH.....	45
3.8.4	Penetapan panjang gelombang maksimum DPPH	45

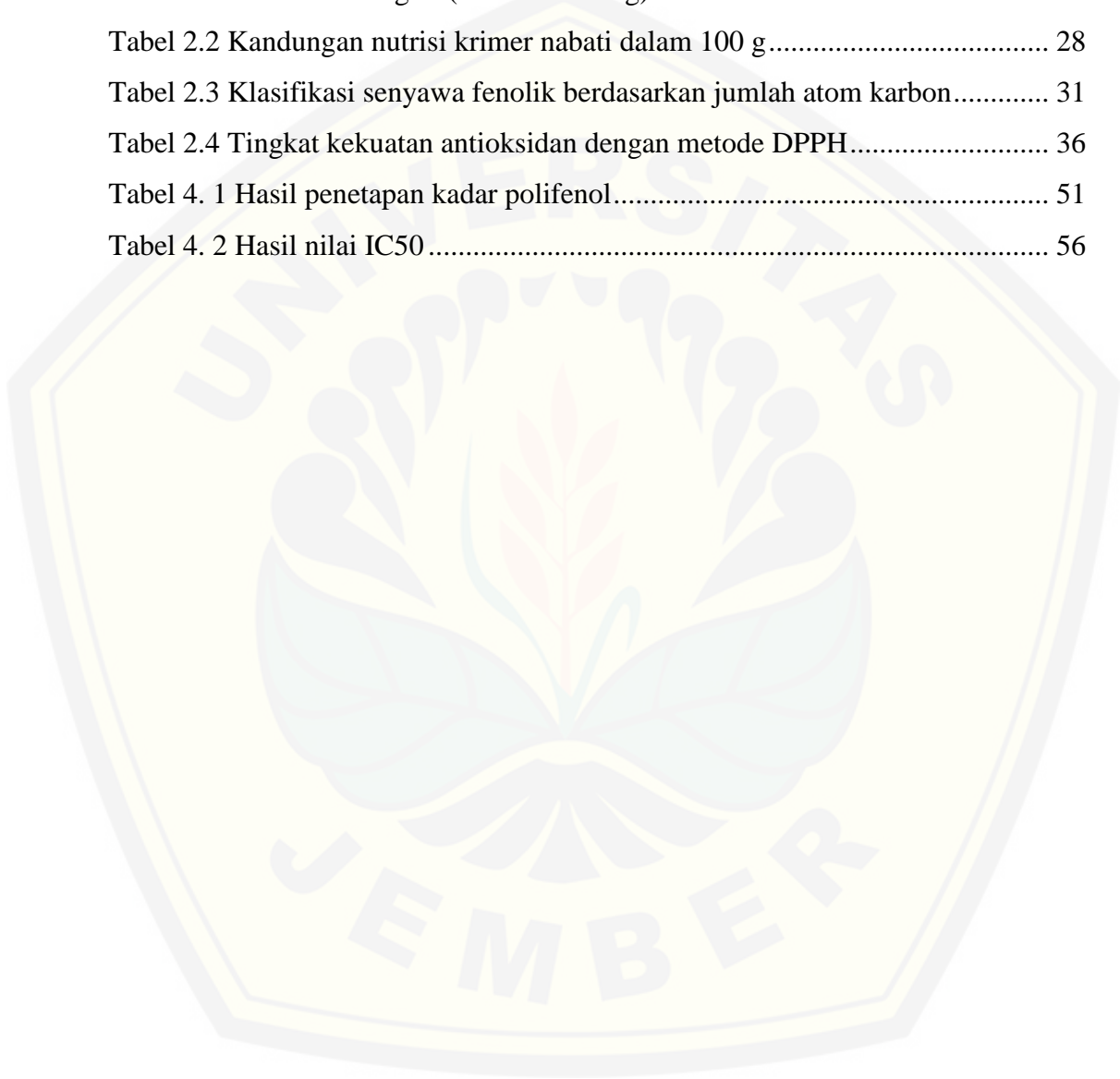
3.8.5	Penentuan waktu inkubasi.....	45
3.8.6	Pengukuran aktivitas antioksidan larutan sampel dan vitamin C.....	45
3.8.7	Perhitungan.....	45
3.9	Analisis Data.....	46
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	47
4.1.	Pembuatan Sampel	47
4.2	Penetapan Kadar Polifenol	47
4.2.1	Pembuatan larutan sampel.....	47
4.2.2	Penentuan panjang gelombang maksimum	47
4.2.3	Penentuan waktu inkubasi.....	48
4.2.4	Penetapan kadar.....	49
4.3	Pengujian Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH.....	53
4.3.1	Penetapan panjang gelombang maksimum	53
4.3.2	Penentuan waktu inkubasi.....	54
4.3.3	Pengukuran aktivitas antioksidan.....	55
BAB 5.	PENUTUP.....	59
5.1	Kesimpulan.....	59
5.2	Saran	59
DAFTAR PUSTAKA		60
LAMPIRAN.....		66

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Morfologi buah kopi robusta (<i>Coffea canephora</i>)	25
Gambar 2.2 Morfologi biji kopi robusta (<i>Coffea canephora</i>).....	25
Gambar 2.3 Kopi bubuk robusta (<i>Coffea canephora</i>).....	26
Gambar 2.4 Struktur kimia fenol.....	30
Gambar 2.5 Struktur kimia asam galat.....	31
Gambar 2.6 Reaksi penghambatan radikal bebas oleh senyawa fenol.....	34
Gambar 2.7 Reaksi reagen Folin-Ciocalteu dengan fenol.....	34
Gambar 2.8 Reduksi DPPH dari senyawa antioksidan	35
Gambar 2.9 Struktur kimia vitamin C.....	38
Gambar 3.1 Skema penelitian	41
Gambar 4. 1 Panjang gelombang maksimum asam galat dan sampel kopi murni	48
Gambar 4. 2 Hubungan antara waktu inkubasi dan absorbansi	49
Gambar 4. 3 Kurva standar asam galat	50
Gambar 4. 4 Spektra panjang gelombang DPPH.....	53
Gambar 4. 5 Hubungan antara waktu dan absorbansi.....	55

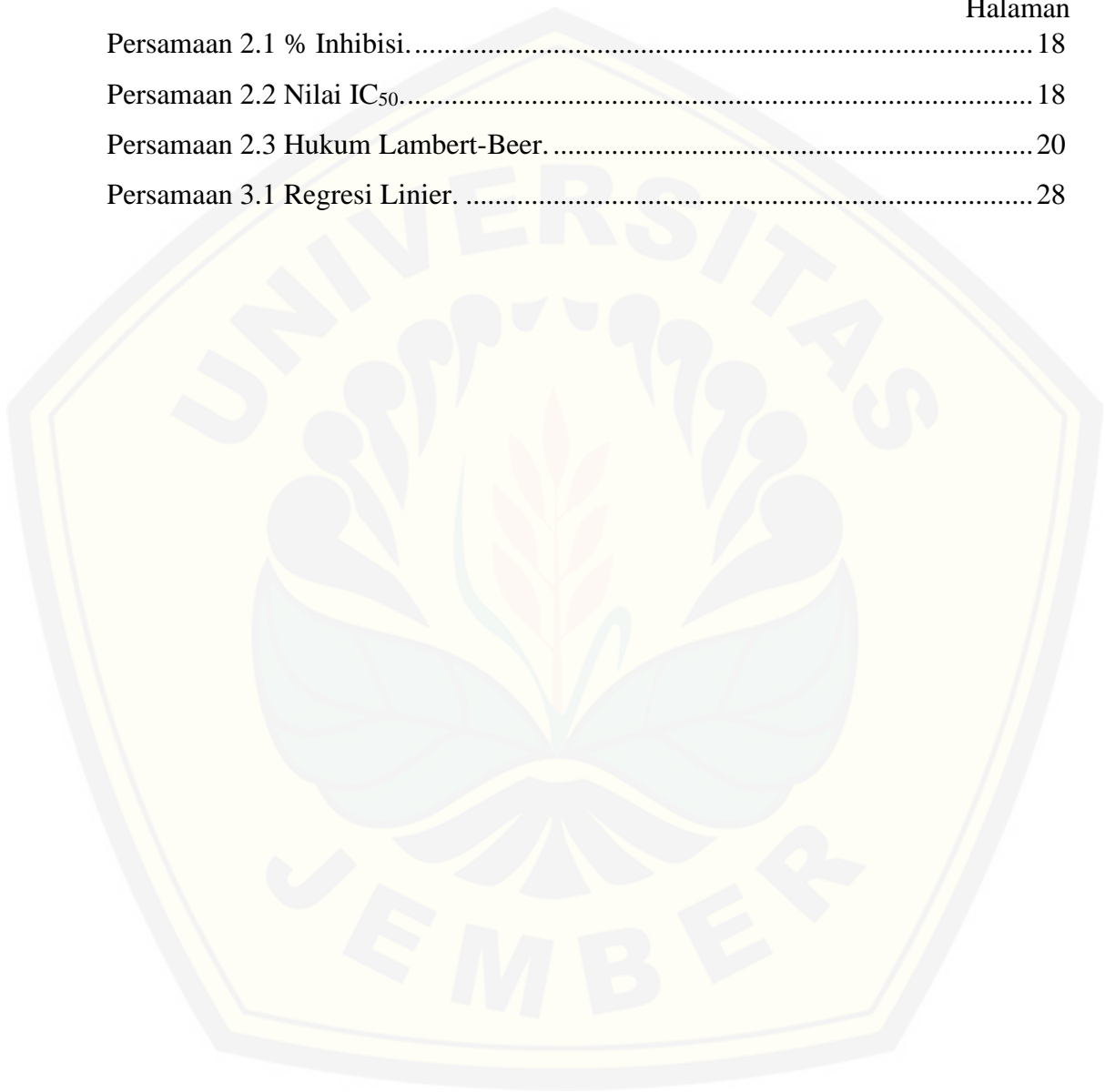
DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Komposisi kimia pada biji kopi Arabika dan Robusta sebelum dan sesudah disangrai (% bobot kering)	26
Tabel 2.2 Kandungan nutrisi krimer nabati dalam 100 g.....	28
Tabel 2.3 Klasifikasi senyawa fenolik berdasarkan jumlah atom karbon.....	31
Tabel 2.4 Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH.....	36
Tabel 4. 1 Hasil penetapan kadar polifenol.....	51
Tabel 4. 2 Hasil nilai IC50	56



DAFTAR PERSAMAAN

	Halaman
Persamaan 2.1 % Inhibisi.....	18
Persamaan 2.2 Nilai IC_{50}	18
Persamaan 2.3 Hukum Lambert-Beer.....	20
Persamaan 3.1 Regresi Linier.....	28



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A. Gambar Larutan Sampel Kopi Murni dengan Penambahan Gula, Gula+Krimmer, dan Gula+Susu	66
Lampiran B. Gambar Penetapan Kadar Polifenol.....	66
Lampiran C. Pembuatan Larutan Pada Penetapan Kadar Fenol Total.....	66
Lampiran D. Pembuatan Larutan Na_2CO_3 7,5 %	67
Lampiran E. Hasil Spektra Penentuan Panjang Gelombang Maksimum dan Waktu Inkubasi Polifenol	67
Lampiran F. Perhitungan Hasil Pengukuran Kadar Polifenol.....	72
Lampiran G. Gambar Pengujian Aktivitas Antioksidan	80
Lampiran H. Perhitungan Bahan Pengujian Aktivitas Antioksidan.....	80
Lampiran I. Pengujian Peredaman Radikal Bebas	87
Lampiran J. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH dan Waktu Inkubasi.....	93
Lampiran K. Hasil Uji Anova dan LSD.....	117

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanpa disadari di dalam tubuh kita terbentuk radikal bebas secara terus menerus melalui proses metabolisme sel normal, peradangan, kekurangan gizi, dan akibat respon terhadap pengaruh dari luar tubuh, seperti asap kendaraan bermotor, asap pabrik, asap rokok, makanan, dan juga radiasi ultraviolet (UV). Radikal bebas merupakan salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif, yang secara umum diketahui sebagai senyawa yang memiliki elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas yang berlebih dapat memicu timbulnya berbagai macam penyakit, seperti penyakit autoimun, kerusakan sel atau jaringan, penyakit degeneratif, seperti kardiovaskular, kanker, aterosklerosis, dan juga osteoporosis (Winarsi, 2007). Dampak negatif radikal bebas dapat diredam dengan pemberian antioksidan.

Senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan dapat mencegah terjadinya reaksi oksidasi radikal bebas. Senyawa ini mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif, sehingga kerusakan sel akan dihambat (Winarsi, 2007). Dalam melindungi tubuh dari serangan radikal bebas, antioksidan berfungsi untuk menstabilkan dengan melengkapi kekurangan elektron dari radikal bebas sehingga menghambat terjadinya reaksi berantai (Dungir, 2012). Senyawa yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan adalah alkaloid, flavonoid, dan polifenol (Zuhra, 2008; Marlina, 2007). Kebanyakan senyawa fenolik menjadi sumber antioksidan yang tersebar diseluruh bagian tumbuhan baik di kayu, biji, bunga, buah, daun, akar, maupun serbuk sari (Sarastani dkk., 2002).

Beberapa penelitian menyebutkan tanaman yang memiliki kandungan senyawa polifenol tinggi adalah tanaman kopi yang berperan penting dalam aktivitas antioksidan (Cämmerer, 2005). Polifenol yang terdapat di dalam kopi antara lain *caffeoylquinic acids* (CQAs), *feruloylquinic acids* (FQAs) dan *dicafeoylquinic acids* (diCQAs). Selain memiliki aktivitas sebagai antioksidan,

polifenol juga dapat mencegah penyakit kanker, kardiovaskuler dan osteoporosis serta berperan dalam pencegahan penyakit neuro degeneratif dan diabetes melitus (Anesini dkk., 2008). Senyawa polifenol merupakan antioksidan yang paling banyak dijumpai dalam asupan makanan sehari-hari. Dalam kategori minuman, salah satu sumber antioksidan dari polifenol terbesar adalah minuman dari bahan kopi (Pellegrini dkk., 2003).

Kopi merupakan salah satu komoditas pertanian utama di Indonesia yang memberikan pendapatan ekspor kepada negara. Indonesia juga merupakan produsen biji kopi terbesar ke-4 di dunia setelah Brazil, Colombia, dan Vietnam (Paramu dan Fathorrozi, 2011). Jenis kopi yang banyak dibudidayakan yakni kopi arabika (*Coffea arabica*) dan robusta (*Coffea canephora*) (Vignoli dkk., 2011). Kopi sebagai produk yang biasa dikonsumsi sebagian orang, tidak terbatas gender dan usia. Di Indonesia kebiasaan minum kopi sudah dari zaman nenek moyang dan kini menjadi minuman favorit di dunia (Pratama dan Ayu, 2016). Banyak orang mengkombinasikan minuman kopi dengan penambahan gula, krimer, dan susu. Mulanya minuman kopi dijual di warung kopi yang identik sebagai tempat berkumpulnya bapak-bapak, namun sekarang menjadi tren dengan banyak dibangunnya kafe yang nyaman sehingga kaum wanita dan anak muda tertarik untuk mengonsumsi minuman kopi (Imamah, 2015).

Peneliti ingin mengetahui kadar polifenol pada aneka sajian minuman kopi murni dengan penambahan gula, gula+krimer, dan gula+susu yang kaitannya dengan aktivitas antioksidan. Hasil penetapan kadar polifenol dan pengujian aktivitas antioksidan kemudian dibandingkan secara statistik yang bertujuan untuk mengetahui apakah ada perbedaan bermakna antara aneka sajian minuman kopi robusta tersebut. Penetapan kadar polifenol dapat ditentukan menggunakan metode pewarnaan dengan reagen Folin-Ciocalteu. Metode pewarnaan ini merupakan metode termudah untuk mengukur kadar polifenol dari produk alami (Agbor dkk., 2005), sedangkan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode radikal 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) karena cepat, sederhana, akurat, tidak relatif mahal, dan mampu mengukur berbagai komponen yang bertindak sebagai radikal bebas atau donor hidrogen (Prakash dkk., 2001).

Mengacu pada uraian tersebut, maka dalam penelitian ini akan dilakukan penetapan kadar polifenol dan penentuan aktivitas antioksidan pada aneka sajian minuman kopi robusta (*Coffea canephora*) menggunakan metode DPPH.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini yaitu sebagai berikut:

- a. Berapakah kadar polifenol pada aneka sajian minuman kopi robusta menggunakan pewarnaan Folin-Ciocalteu ?
- b. Berapakah aktivitas antioksidan nilai *Inhibition Concentration* (IC₅₀) pada aneka sajian minuman kopi robusta menggunakan metode DPPH ?
- c. Apakah ada perbedaan bermakna kadar polifenol pada aneka sajian minuman kopi robusta ?
- d. Apakah ada perbedaan bermakna aktivitas antioksidan pada aneka sajian minuman kopi robusta?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk menjawab beberapa rumusan masalah yaitu sebagai berikut:

- a. Mengetahui kadar polifenol pada aneka sajian minuman kopi robusta menggunakan pewarnaan Folin-Ciocalteu.
- b. Mengetahui aktivitas antioksidan nilai *Inhibition Concentration* (IC₅₀) pada aneka sajian minuman kopi robusta menggunakan metode DPPH.
- c. Mengetahui perbedaan yang bermakna antara kadar polifenol pada aneka sajian minuman kopi robusta.
- d. Mengetahui perbedaan bermakna antara aktivitas antioksidan pada aneka sajian minuman kopi robusta.

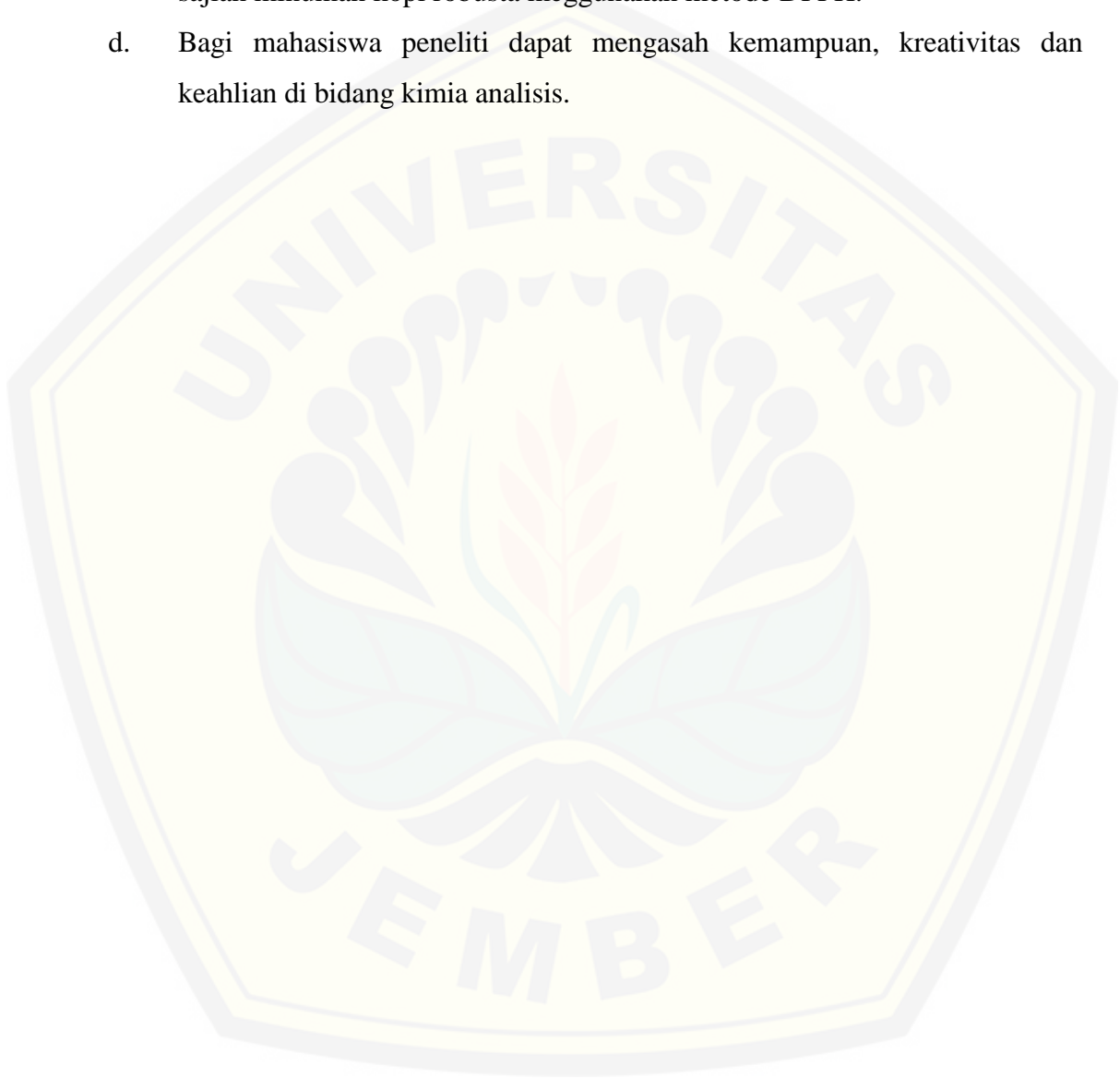
1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini antara lain:

- a. Memberikan pengetahuan tentang metode analisis polifenol yang sederhana,

cepat dan mudah.

- b. Memberikan informasi tentang kadar polifenol pada aneka sajian minuman kopi robusta menggunakan pewarnaan Folin-Ciocalteu.
- c. Memberikan informasi tentang perbedaan aktivitas antioksidan pada aneka sajian minuman kopi robusta menggunakan metode DPPH.
- d. Bagi mahasiswa peneliti dapat mengasah kemampuan, kreativitas dan keahlian di bidang kimia analisis.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Umum Tanaman Kopi

2.1.1 Sejarah

Tanaman kopi berasal dari Negara Ethiopia yaitu di Benua Afrika. Pada abad ke-9, seorang pemuda secara tidak sengaja memakan biji kopi mentah yang didapatkan dari semak belukar dan merasakan adanya perubahan setelah mamakan biji kopi tersebut. Penelitian pada kopi pun dilakukan, ternyata berpotensi sebagai penahan rasa kantuk. Beberapa orang membawa biji kopi dan ditanam di India dan kebangsaan Belanda yang tidak sengaja melihat kemudian tertarik untuk membudidayakannya sehingga biji kopi mulai menyebar ke seluruh Benua Eropa. Kopi mulai terkenal di negara-negara Eropa, seperti Italia, Jerman dan Prancis setelah berdirinya kedai kopi pertama di Inggris sebagai tempat berkumpulnya para pekerja (Panggabean, 2011).

Tanaman kopi mulai menyebar di Indonesia, khususnya Pulau Jawa pada tahun 1700-an. Saat Belanda menjajah di Indonesia, Daerah Pondok Kopi Jakarta merupakan tempat percobaan penanaman pertama kopi jenis arabika, setelah hasilnya baik dikembangkan di Jawa Barat tepatnya di Bogor, Sukabumi, Banten, dan Priangan Timur dengan sistem tanam paksa. Setelah menyebar dilanjutkan berbagai percobaan tanaman kopi di Pulau Jawa, Sumatra, dan Sulawesi. Namun, penyakit karat daun menyerang jenis kopi arabika ini dan Belanda mendatangkan kembali kopi jenis liberika yang produktivitasnya semakin rendah. Oleh karena itu, pada tahun 1900-an jenis kopi robusta didatangkan dari Kongo Afrika yang lebih tahan terhadap penyakit karat daun dan produksinya semakin baik dibandingkan jenis kopi liberika. Seiring dengan perkembangan teknologi, kopi jenis arabika dan robusta dikembangkan sehingga menghasilkan klon unggul (Panggabean, 2011).

Kopi robusta berasal dari hutan-hutan katulistiwa di Afrika, dari pantai barat sampai di Uganda. Kopi ini dapat tumbuh dengan baik antara 10° garis lintang Utara dan Selatan, sampai ketinggian 1.500 mdpl. Pada tahun 1900 kopi robusta tersebar luas di seluruh daerah tropis. Kopi ini dapat tumbuh lebih baik jika ditanam di dataran rendah (AAK, 1988). Kopi robusta (*Coffea canephora*) memiliki syarat

tumbuh mudah, pemeliharaan yang ringan, dan produksinya jauh lebih tinggi dibandingkan kopi arabika. Saat ini lebih dari 90% dari area pertanaman kopi di Indonesia terdiri atas kopi robusta (Syakir, 2010). Kopi merupakan tanaman yang dapat menghasilkan minuman yang diperoleh dari seduhan kopi dalam bentuk bubuk. Kopi bubuk dibuat dengan cara biji kopi yang telah disangrai, digiling atau ditumbuk hingga menyerupai serbuk halus (Hayati dkk., 2012).

2.1.2 Klasifikasi kopi robusta (*Coffea canephora*)

Klasifikasi tanaman kopi menurut *Integrated Taxonomic Information System* (2011) sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Subdivisi	: Spermatophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Gentinales
Famili	: Rubiaceae
Genus	: Coffea
Spesies	: <i>Coffea canephora</i>

2.1.3 Morfologi tanaman kopi robusta (*Coffea canephora*)

Tanaman kopi merupakan kelompok tanaman semak belukar. Tanaman ini jenis tanaman berkeping dua (dikotil) yang memiliki akar tunggang. Pada akar tunggang, terdapat beberapa akar kecil yang tumbuh kesamping sering disebut akar lebar. Pada akar lebar ini tumbuh akar rambut, bulu-bulu akar, dan tudung akar. Bentuk dari daun kopi secara umum seperti telur, terdapat garis ke samping, bergelombang dan meruncing pada ujungnya. Tekstur dan ketebalan daun kopi robusta lebih tebal dibandingkan kopi jenis arabika. Warna daun hijau agak terang. Setiap ketiak daun menghasilkan 8-24 kuntum bunga, kelopak bunga berwarna hijau, mahkota bunga 3-8 helai. Buah kopi yang masih mentah berwarna hijau muda, setelah itu berubah menjadi hijau tua, lalu kuning. Apabila buah kopi sudah matang maka berwarna merah dan merah tua. Ukuran panjang kopi robusta 8-16 mm (Pangabea, 2011). Morfologi buah kopi dapat dilihat pada Gambar 2.1.

Produksi kopi robusta mencapai 800-1200 kg/hektar/tahun. Morfologi biji kopi robusta dapat dilihat pada Gambar 2.2. Karakteristik fisik biji kopi robusta sebagai berikut:

- a. Rendemen kopi robusta lebih tinggi dibandingkan rendemen kopi arabika
 - b. Biji kopi sedikit bulat
 - c. Lengkungan biji tebal
 - d. Garis tengah parit dari atas ke bawah agak rata
 - e. Biji yang sudah diolah, tidak terdapat kulit ari dilekukan atau bagian parit
- (Panggabean, 2011).

Biji kopi setelah disangrai dan digiling dapat menyerupai serbuk halus yang biasa disebut bubuk kopi. Bubuk kopi robusta dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2.1 Morfologi buah kopi robusta (*Coffea canephora*) (Panggabean, 2011)



Gambar 2.2 Morfologi biji kopi robusta (*Coffea canephora*) (Panggabean, 2011)



Gambar 2.3 Kopi bubuk robusta (*Coffea canephora*) (Dokumentasi pribadi)

2.1.4 Fitokimia

Kopi robusta memiliki banyak kandungan kimia pada bijinya seperti karbohidrat, senyawa nitrogen (protein, asam amino bebas, kafein, trigonelin), lemak (minyak kopi, diterpen), mineral, dan polifenol (asam klorogenat) (Farah, 2012). Senyawa-senyawa yang terkandung dalam biji kopi robusta ini memiliki manfaat tertentu seperti asam klorogenat, kafein, trigonelin dan diterpen memiliki peranan penting untuk menghasilkan aroma pada minuman kopi. Banyak komponen kimia pada biji kopi arabika dan robusta sebelum dan sesudah disangrai (Tabel 2.1).

Tabel 2.1 Komposisi kimia pada biji kopi Arabika dan Robusta sebelum dan sesudah disangrai (% bobot kering)

Komponen	Biji Arabika	Sangrai Arabika	Biji Robusta	Sangrai Robusta
Mineral	3,0-4,2	3,5-4,5	4,0-4,5	4,6-5,0
Kafein	9,0-1,2	1,0	1,6-2,4	2,0
Trigonelin	1,0-1,2	0,5-1,0	0,6-0,75	0,3-0,6
Lemak	12,0-18,0	14,5-20,0	9,0-13,0	11,0-16,0
Asam Klorogenat	5,5-8,0	1,2-2,3	7,0-10,0	3,9-4,6
Asam Alifatis	1,5-2,0	1,0-1,5	1,5-1,2	1,0-1,5
Oligosakarida	6,0-8,0	0-3,5	5,0-7,0	0-3,5
Total Polisakarida	50,0-55,0	24,0-39,0	37,0-47,0	-
Asam Amino	2,0	0	-	0
Protein	11,0-13,0	13,0-15,0	-	13,0-15,0
Asam Humat	-	16,0-17,0	-	16,0-17,0

Sumber: Clarke dan Macrae, 1987 dalam Ridwansyah, 2003

2.2 Tinjauan Umum Gula

Gula merupakan komoditas yang strategis dan mempunyai peranan penting di sektor pertanian khususnya sub sektor perkebunan. Gula menjadi kebutuhan pokok masyarakat sebagai bahan pangan dan sumber kalori. Gula digunakan untuk keperluan konsumsi rumah tangga maupun bahan baku industri pangan. Gula mengandung kalori digunakan sebagai sumber energi. Selain itu, gula juga digunakan untuk bahan pengawet dan tidak membahayakan kesehatan (Sugiyanto, 2007). Keberadaan pemanis buatan sampai saat ini belum sepenuhnya dapat menggantikan keberadaan gula pasir (Dachliani, 2006).

Menurut Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia (2015), terdapat berbagai macam gula yaitu sebagai berikut:

a. Gula pasir

Gula kristal putih atau gula pasir adalah gula sukrosa kristal yang diproduksi dari bahan baku tebu atau bit melalui tahapan proses yang meliputi penggilingan, klarifikasi, penguapan, kristalisasi, fugalisasi, pengeringan dan pengemasan.

b. Gula putih lunak

Gula putih lunak atau *soft white sugar* adalah kristal halus gula yang telah dimurnikan dan berwarna putih.

c. Gula merah lunak

Gula merah lunak atau *soft brown sugar* adalah kristal halus gula yang telah dimurnikan dan berwarna coklat terang hingga coklat gelap. Gula merah lunak mengandung sukrosa dan gula invert tidak kurang dari 88%.

d. Gula aren

Gula aren adalah produk yang diperoleh dari pengolahan air nira pohon aren (*Arenga pinnata* Merr). Kadar gula tidak kurang dari 77% dihitung sebagai sakarosa.

2.3 Tinjauan Umum Krimer

Krimer atau krimer nabati (*non dairy creamer*) merupakan produk pengganti susu atau krim yang merupakan produk emulsi lemak dalam air dibuat dari minyak nabati yang dihidrogenasi. Krimer mengandung lemak, protein, karbohidrat. Krimer biasanya dalam bentuk emulsi yang dikeringkan, semprot-kering, dan bubuk (Gardiner, 1977). Umumnya krimer digunakan untuk menambah cita rasa pada minuman ataupun makanan. Penggunaan krimer pada produk kopi instan dengan penambahan gula (*3 in 1 coffee*) menimbulkan lapisan pada proses penyeduhan setelah didiamkan lebih dari 10 menit, yang merupakan kategori *creaming* (Safitri dkk., 2013).

Komposisi krimer mengandung sejumlah nutrisi, seperti karbohidrat, dan lemak yang memiliki manfaat untuk kesehatan (Tabel 2.2). Kelebihan krimer dibandingkan dengan produk susu adalah menggunakan minyak nabati yang artinya tidak mengandung laktosa. Sehingga penggunaan krimer sangat aman untuk penderita *lactose intolerance*. Selain itu bahan baku pembuatan krimer ini lebih murah, umur simpan produk yang lebih panjang, kemudahan dalam penyimpanan, distribusi dan penanganan (Putri dkk., 2016).

Tabel 2.2 Kandungan nutrisi krimer nabati dalam 100 g

Jenis nutrisi	Nilai nutrisi
Energi	500 Kkal
Karbohidrat	50 g
Protein	0 g
Total Lemak	25 g

Sumber :USDA National Nutrient Data Base 2016 (www.ndb.nal.usda.gov)

2.4 Tinjauan Umum Susu

Susu merupakan emulsi lemak dalam air yang mengandung beberapa senyawa terlarut. Protein di dalam susu membuat air dan lemak tidak mudah terpisah. Protein susu sepadan nilainya dengan protein daging, telur, dan terutama kaya akan lisin, yaitu asam amino esensial yang sangat dibutuhkan tubuh. Susu merupakan sumber kalsium, fosfor, dan vitamin A. Kandungan yang terdapat pada susu diantaranya air 87,5%, gula susu (laktosa) 5%, protein 3,5%, dan lemak

3-4% (Widodo, 2004). Menurut Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia (2015), terdapat berbagai macam susu yaitu sebagai berikut:

a. Susu skim bubuk

Susu skim bubuk merupakan produk susu berbentuk bubuk yang diperoleh dengan proses pengeringan susu skim pasteurisasi.

b. Susu bubuk berlemak (*full cream*)

Susu bubuk berlemak (*full cream*) merupakan produk susu berbentuk bubuk yang diperoleh dari susu cair; atau susu hasil pencampuran susu cair dengan susu kental atau krim bubuk; atau susu hasil pencampuran susu cair dengan susu kental atau susu bubuk yang telah dipasteurisasi dan melalui proses pengeringan.

c. Susu bubuk rendah lemak dan susu bubuk kurang lemak

Susu bubuk rendah lemak dan susu bubuk kurang lemak merupakan produk susu berbentuk bubuk yang diperoleh dengan proses pengeringan susu yang sebelumnya telah dipisahkan sebagian lemak susunya dengan alat pemisah krim (*cream separator*); atau susu hasil pencampuran susu cair dengan susu kental atau krim bubuk; atau susu hasil pencampuran susu cair dengan susu kental atau susu bubuk.

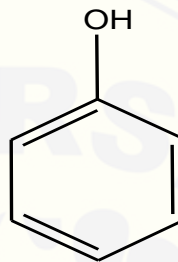
d. Susu kental

Susu kental merupakan produk susu yang diperoleh dengan cara menghilangkan sebagian air dari susu dengan atau tanpa penambahan gula.

Kebiasaan minum susu secara rutin akan memberikan dampak positif bagi kesehatan terutama kesehatan tulang karena susu mengandung kalsium yang sangat bermanfaat untuk pertumbuhan tulang dan mencegah kerapuhan tulang (Mulijanti dan Sugandi, 2010). Selain itu, susu juga bermanfaat untuk menunjang pertumbuhan, meningkatkan kekebalan tubuh, mencegah osteoporosis sehingga susu baik dikonsumsi oleh semua kalangan usia (Ariningsih, 2014).

2.5 Tinjauan Umum Senyawa Polifenol

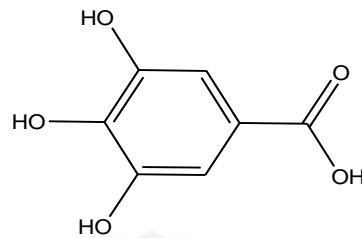
Senyawa-senyawa fenol merupakan senyawa yang memiliki gugus hidroksi yang melekat pada cincin benzena. Nama spesifik dari fenol itu sendiri adalah hidroksi benzena (Solomons, 2011). Struktur kimia dari fenol dapat dilihat pada Gambar 2.4. Polifenol adalah senyawa yang memiliki lebih dari satu gugus fenol (Vemmerris dan Nicholson, 2008).



Gambar 2.4 Struktur kimia fenol (Solomons, 2011)

Polifenol memiliki beberapa aktivitas untuk meningkatkan ketahanan terhadap ultraviolet dengan menangkap radikal bebas. Senyawa polifenol memiliki aktivitas antioksidan yang dapat mencegah berbagai macam penyakit dengan stres oksidatif seperti penyakit kardiovaskular, kanker, penyakit neurodegeneratif (Manach dkk., 2004). Polifenol dapat diperoleh dari asupan makanan yang memiliki substansi bioaktif yang banyak ditemukan pada sayuran, buah-buahan, dan banyak sumber makanan lainnya yang digunakan untuk diet sehari-hari, seperti minyak zaitun, minyak sayur, jus jeruk, cokelat, teh, kopi, anggur dan lain-lain (Apak dkk., 2007).

Salah satu senyawa polifenol yang memiliki aktivitas antioksidan alami yaitu asam galat (asam 3,4,5-trihidroksibenzoat). Asam galat termasuk dalam fenolik yang memiliki aktivitas antioksidan kuat (Vignoli dkk., 2004). Struktur kimia asam galat dapat dilihat pada Gambar 2.5. Terdapat banyak macam senyawa kimia yang tergolong sebagai senyawa fenolik. Salah satu metode yang digunakan untuk mengklasifikasikan adalah dengan berdasarkan jumlah karbon pada molekul (Vemmerris dan Nicholson, 2008). Rincian klasifikasi senyawa fenolik dapat dilihat pada Tabel 2.3. Pada penelitian Clifford dan Balyaya diperoleh data setiap 200 ml cangkir kopi robusta mengandung 70-350 mg asam klorogenat (Clifford, 1999).



Gambar 2.5 Struktur Kimia Asam Galat (Hernawan dan Setyawan, 2003)

Tabel 2.3 Klasifikasi senyawa fenolik berdasarkan jumlah atom karbon

Struktur	Kelas
C6	Fenolik sederhana
C6-C1	Asam fenolat dan senyawa yang berhubungan lainnya
C6-C2	Asetofenon dan asam fenilasetat
C6-C3	Asam sinamat, sinamil aldehyd, dan sinamil alkohol
C15	Kumarin, isokumarin, dan kromon
C15	Flavan
C15	Flavon
C15	Flavanon
C15	Flavanonol
C15	Antosianidin
C15	Antosianin
C30	Biflavonil
C6-C1-C6-C6-C2-C6	Benzofenon, xanton, stilben
C6, C10, C14	Kuinon
C18	Betasianin
Lignan, neolignan	Dimer atau oligomer
Lignin	Polimer
Tanin	Oligomer atau polimer
Phlobaphene	Polimer

Sumber: Vemmerris dan Nicholson, 2008

2.6 Tinjauan Umum Radikal Bebas dan Antioksidan

Radikal bebas merupakan senyawa oksigen yang reaktif yang mempunyai elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas dibentuk di dalam tubuh yang dapat dipengaruhi dari beberapa faktor salah satunya terjadi kebocoran metabolisme pada komponen makanan yang masuk dalam tubuh dan diubah menjadi energi. Didalam tubuh, secara terus-menerus radikal bebas terbentuk melalui proses metabolisme sel

normal, peradangan, kekurangan gizi dan akibat respons terhadap pengaruh dari luar, seperti polusi udara, ultraviolet, asap rokok, dan lain-lain. Dengan meningkatnya usia seseorang dapat meningkatkan pembentukan radikal bebas karena semakin bertambah usia maka sel-sel tubuh mengalami degenerasi, proses metabolisme terganggu dan respon imun juga menurun. Oleh karena itu, tubuh memerlukan antioksidan untuk meredam radikal bebas dan dampak negatifnya (Winarsi, 2007).

Secara teoritis, radikal bebas dapat terbentuk bila terjadi pemisahan ikatan kovalen. Radikal bebas sangat reaktif dalam mendapatkan pasangan elektronnya dan gerakannya yang tidak beraturan dapat menyebabkan kerusakan diberbagai bagian sel. Radikal bebas berperan cukup signifikan dalam terjadinya penyakit degeneratif, antara lain atherosklerosis, katarak, penyakit jantung, kanker, autoimun dan penuaan (Muhilal, 1991). Untuk meredam aktivitas radikal bebas diperlukan antioksidan yang dapat mendonorkan elektronnya kepada molekul radikal bebas, sehingga menghentikan reaksi berantai radikal bebas (Inggrid dan Santoso, 2014).

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (*electron donor*) yang mempunyai berat molekul kecil dan mampu menginaktivasi reaksi oksidasi dengan mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan berikatan dengan radikal bebas dan molekul yang reaktif, sehingga kerusakan sel yang terjadi akan dihambat. Antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua, yaitu enzimatis dan non-enzimatis. Antioksidan enzimatis mencegah terbentuknya radikal bebas baru dan merupakan pertahanan primer terhadap stres oksidatif misalnya superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathion peroksidase (GSH-Px). Sedangkan senyawa non-enzimatis berperan dalam menangkap oksigen serta mencegah terjadinya reaksi berantai. Antioksidan non-enzimatis masih dibagi dalam 2 kelompok yaitu:

- a. Antioksidan larut lemak, antara lain: tokoferol, karotenoid, flavonoid, quinon, dan bilirubin
- b. Antioksidan larut air, antara lain: asam askorbat, asam urat, protein pengikat logam, dan protein pengikat heme (Winarsi, 2007).

Antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua bagian, yaitu antioksidan primer atau alami dan antioksidan sekunder atau sintetis (Ingrid dan Santoso, 2014).

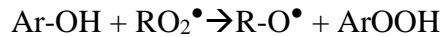
a. Antioksidan primer atau alami

Antioksidan primer meliputi enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase (GSH-Px). Antioksidan primer disebut juga sebagai antioksidan enzimatis. Antioksidan primer dapat memberikan atom hidrogen secara cepat kepada senyawa radikal, kemudian radikal antioksidan yang terbentuk berubah menjadi senyawa yang lebih stabil. Antioksidan primer bekerja dengan cara mencegah pembentukan radikal bebas baru dan mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi kurang reaktif. Enzim-enzim sebagai antioksidan menghambat pembentukan radikal bebas dengan cara memutus reaksi berantai kemudian mengubah menjadi produk yang lebih stabil (Winarsi, 2007).

b. Antioksidan sekunder atau sintetis

Senyawa antioksidan sintetis yang digunakan dalam produk makanan adalah monohidroksi dan polihidroksi senyawa fenol dengan berbagai substituen pada cincinnya. Contoh antioksidan sintetis yaitu, *Butylated hydroxyl anisole* (BHA), *Butylated hydroxyltoluene* (BHT), *Propyl gallate* (PG) dan *metal chelating agent* (EDTA), *Tertiary butyl hydroquinone* (TBHQ), *Nordihydroguaretic acid* (NDGA) (Hamid dkk., 2010).

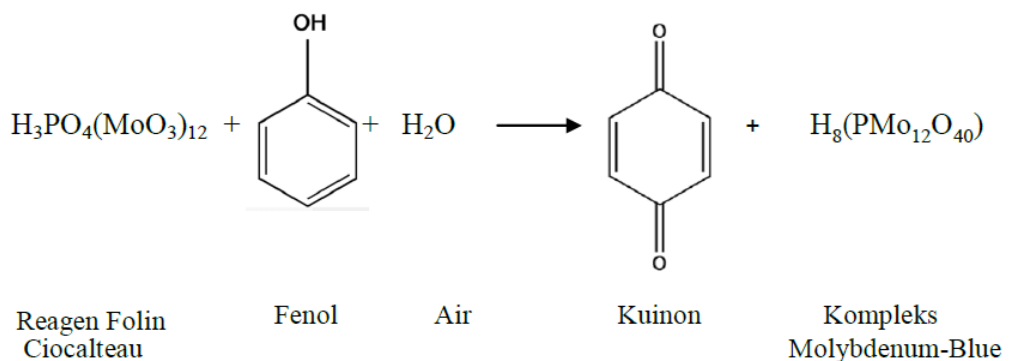
Gugus hidroksi pada senyawa golongan fenol yang memiliki aktivitas antioksidan tersubstitusi pada cincin benzena. Senyawa ini akan menghambat radikal bebas dengan mendonorkan protonnya dan membentuk radikal yang stabil yang disebabkan karena elektron bebas yang terdapat pada radikal distabilkan oleh delokalisasi elektron dengan resonansi cincin aromatik (Tursiman dkk., 2012). Salah satu radikal yang distabilkan oleh fenol yaitu radikal peroksil. Gugus Ar-OH akan menangkap radikal peroksil (RO_2^\bullet) dan membentuk radikal fenoksil ($R-O^\bullet$) yang cenderung kurang reaktif karena elektronnya terlokalisasi di dalam cincin aromatik (Halliwell, 2002). Reaksinya dapat dilihat pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Reaksi penghambatan radikal bebas oleh senyawa fenol

2.7 Metode Penetapan Kadar Polifenol dengan Reagen Folin-Ciocalteu

Uji kandungan polifenol dapat dilakukan dengan metode Folin-Ciocalteu. Reaksi yang terjadi pada metode ini adalah reaksi reduksi oksidasi yang mekanismenya senyawa fenolik mereduksi fosfomolibdat fosfotungstat dalam Folin-Ciocalteu yang membentuk molibdenum berwarna biru (Tursiman dkk., 2012). Prinsip dari metode ini adalah terbentuk senyawa kompleks molibdenum tungsten berwarna biru yang dapat diukur absorbansinya dengan spektrofotometer. Senyawa fenolik bereaksi dengan reagen Folin-Ciocalteu hanya dalam suasana basa agar terjadi disosiasi proton pada senyawa fenolik menjadi ion fenolat. Untuk membuat suasana basa digunakan Na_2CO_3 . Jika pada sampel terdapat konsentrasi senyawa fenolik yang besar maka semakin besar pula ion fenolat mereduksi fosfomolibdat fosfotungstat menjadi kompleks molibdenum tungsten yang ditunjukkan warna biru yang semakin pekat (Alfian dan Susanti, 2012). Reaksi reagen Foin-Ciocalteu dengan fenol dapat dilihat pada Gambar 2.7.



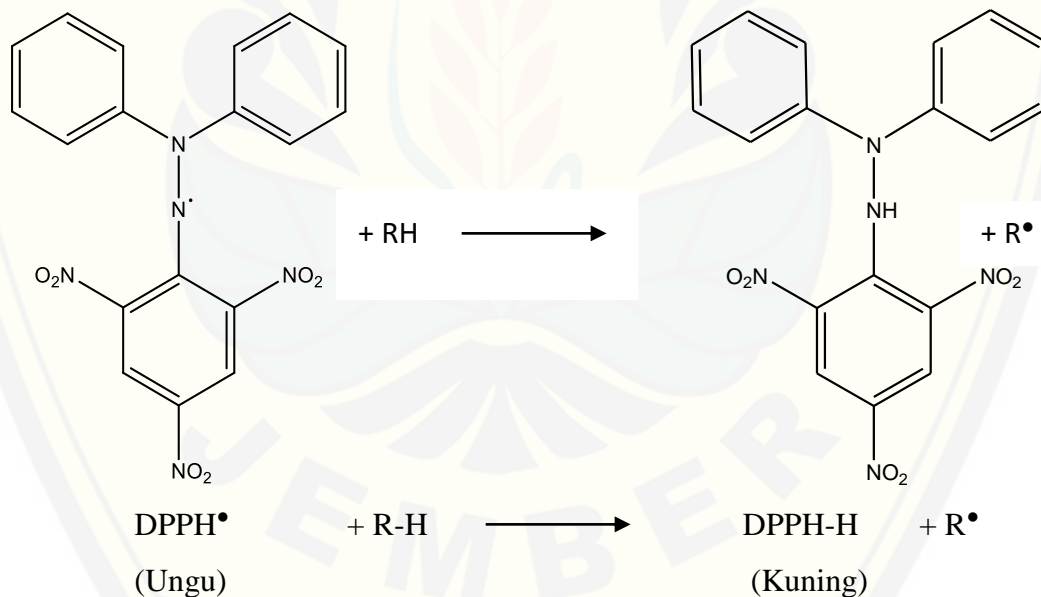
Gambar 2.7 Reaksi reagen Folin-Ciocalteu dengan fenol (Tursiman dkk., 2012)

Metode ini merupakan metode yang relatif cepat, ekonomis, sederhana dan penampakan warna lebih baik (Khoddami dkk., 2013). Pembanding yang digunakan untuk penetapan kadar polifenol ini adalah asam galat. Asam galat termasuk dalam senyawa fenolik dan sebagai antioksidan alami (Williams dkk.,

1995). Pengukuran kandungan polifenol yang memberikan warna biru diukur dengan menggunakan spektrofotometer visibel. Sebelumnya dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum dan waktu inkubasi dari sampel dan standar. Setelah itu dibuat kurva baku standar asam galat yang nantinya hasil pengukuran sampel dimasukkan ke dalam persamaan regresi dari kurva baku.

2.8 Metode DPPH untuk Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Dalam metode ini, DPPH berperan sebagai radikal bebas yang akan diredam oleh antioksidan dari sampel uji (Williams dkk., 1995). DPPH akan ditangkap oleh antioksidan melalui donasi atom hidrogen dari antioksidan sehingga membentuk DPPH-H tereduksi (Molyneux, 2004). Reaksi penangkapan hidrogen oleh DPPH dari zat antioksidan dapat dilihat pada Gambar 2.8.



Gambar 2.8 Reduksi DPPH dari senyawa antioksidan (Prakash dkk., 2001).

DPPH akan bereaksi dengan antioksidan melalui donasi atom hidrogen, reaksi ini menimbulkan warna ungu yang dapat diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang antara 515-520 nm dalam pelarut organik (metanol atau etanol) (Molyneux, 2004). Penambahan antioksidan dengan berbagai konsentrasi akan menghilangkan warna ungu secara bertahap menjadi kuning

sesuai besarnya konsentrasi zat antioksidan. Persen penghambatan meningkat dengan meningkatnya konsentrasi dari sampel (Dephour dkk., 2009). Seperti penelitian yang dilakukan oleh Dudonne dkk (2009), aktivitas peredaman radikal bebas dapat dihitung dengan Persamaan 2.1:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs X} - \text{Abs Y}}{\text{Abs X}} \times 100 \% \dots\dots\dots(2.1)$$

Keterangan:

Abs X = Absorbansi serapan radikal DPPH kontrol pada panjang gelombang dengan absorbansi maksimum.

Abs Y = Absorbansi serapan sampel uji dalam radikal DPPH pada panjang gelombang dengan absorbansi maksimum.

Nilai IC (*Inhibition Concentration*) menunjukkan interpretasi hasil dari persen penangkapan DPPH oleh larutan sampel. Aktivasnya dapat dilihat dari pengurangan intensitas warna ungu DPPH yang sebanding dengan pengurangan konsentrasi larutan DPPH. Penurunan serapan molekul difenil pikrilhidrazil dengan atom hidrogen sampel uji sehingga terbentuk difenil pikrilhidrazin yang bersifat stabil ditandai dengan perubahan warna DPPH dari ungu ke kuning (Zuhra dkk., 2008). IC₅₀ merupakan konsentrasi sampel mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka aktivitas antioksidan semakin besar. Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH dapat dilihat pada Tabel 2.4. Setelah didapatkan persentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi, kemudian ditentukan persamaan $y = a + bx$ dengan perhitungan secara regresi linear dimana konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$) sebagai sumbu x dan persentase inhibisi (%) sebagai sumbu y. Nilai IC₅₀ dihitung menggunakan Persamaan 2.2 (Molyneux, 2004).

$$\text{IC}_{50} = (50 - A) : B \dots\dots\dots(2.2)$$

Tabel 2.4 Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH (Zuhra dkk., 2008)

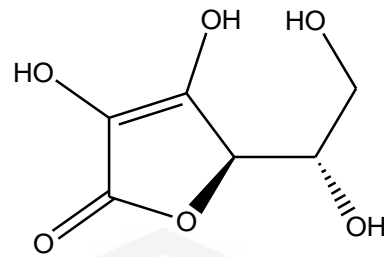
Intensitas	Nilai IC ₅₀
Sangat Aktif	< 50 ppm
Aktif	50-100 ppm
Sedang	101-150 ppm
Lemah	151-200 ppm

Menurut Prakash (2001), kelebihan metode DPPH adalah mudah digunakan, cepat, cukup teliti dan baik digunakan dalam pelarut organik khususnya alkohol. Selain itu metode DPPH ini secara teknis sederhana, dapat dikerjakan dengan cepat dan hanya membutuhkan spektrofotometer UV-Vis (Karadag dkk., 2009). Kelemahan dari metode ini adalah DPPH sensitif terhadap cahaya sehingga dapat mempengaruhi absorbansi DPPH namun, dapat diatasi saat melakukan penambahan DPPH dilakukan di ruangan yang tertutup dan gelap (Hartanto, 2012). DPPH selain menguji larutan sampel biasanya juga digunakan kontrol positif. Kontrol positif yang sering digunakan untuk uji antioksidan yaitu asam askorbat (vitamin C) (Molyneux, 2004).

2.9 Tinjauan Umum Vitamin C

Vitamin C (asam askorbat) merupakan donor elektron. Vitamin C disebut antioksidan karena dapat menyumbangkan elektron dan mencegah senyawa lain teroksidasi (Padayatty dkk., 2003). Struktur kimia vitamin C dapat dilihat pada Gambar 2.9. Vitamin C disebut juga *fresh food* vitamin karena sumber utamanya dari buah-buahan dan sayuran segar. Vitamin C pada tumbuhan merupakan metabolit sekunder terbentuk dari glukosa melalui jalur asam D-glukoronat dan L-gulonat, sedangkan pada manusia biosintesis ini tidak terjadi sehingga vitamin C merupakan faktor penting yang terdapat pada asupan makanan sehari-hari (Safaryani dkk., 2007).

Vitamin C diperlukan oleh tubuh untuk meningkatkan sistem imunitas tubuh. Bila dalam tubuh kebutuhan vitamin mencukupi, maka segala jenis penyakit dapat dicegah. Semua gangguan membuat tubuh rentan terhadap berbagai penyakit dan daya tahan tubuh menurun menyebabkan sel-sel tubuh tak mampu berfungsi dengan baik (Widiastuti, 2016). Menurut penelitian Yan dkk (2006), nilai IC_{50} dari vitamin C adalah $3,72 \mu\text{g/ml}$.



Gambar 2. 9 Struktur kimia vitamin C (Hacisevki, 2009)

2.10 Tinjauan Umum Spektrofotometri UV-Vis

Metode pengukuran menggunakan prinsip spektrofotometri yaitu metode analisis kimia berdasarkan absorpsi cahaya pada panjang gelombang tertentu melalui suatu larutan yang akan ditentukan konsentrasinya. Teknik analisis spektroskopi menggunakan sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dekat (200-400) dan sinar tampak (400-750) (Behera dkk., 2012). Prinsip metode ini berdasarkan hukum Lambert-Beer yang menyatakan hubungan antara banyaknya sinar yang diserap sebanding dengan konsentrasi kontaminan pada pelarut, dengan rumus sebagai berikut :

$$A = \text{Log } I/I_0 \text{ atau } A = a \cdot b \cdot c \dots \dots \dots (2.3)$$

Keterangan:

A = absorbansi

a = koefisien serapan molar

b = tebal media cuplikan yang dilewati sinar

c = konsentrasi kontaminan dalam larutan

I_0 = Intensitas sinar mula-mula

I = Intensitas sinar yang diteruskan

Dari rumus diatas, dapat diaplikasikan dalam pengukuran kuantitatif dengan komparatif dengan membuat kurva kalibrasi dari hubungan konsentrasi deret larutan standart dengan nilai absorbansinya. Konsentrasi larutan ditentukan dengan mensubstitusikan nilai absorbansi larutan ke persamaan regresi kurva kalibrasi (Fatimah dkk., 2009).

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penetapan kadar polifenol dan uji aktivitas antioksidan pada aneka sajian minuman kopi robusta (*Coffea canephora*) menggunakan metode DPPH ini merupakan penelitian *experimental laboratories*.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Analisis Instrumen dan Kimia Analisis Fakultas Farmasi, Universitas Jember. Waktu pelaksanaannya mulai November 2016 sampai April 2017.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah minuman kopi robusta murni dan dengan penambahan gula, gula+krimer, dan gula+susu.

3.3.2 Variabel terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar polifenol dan aktivitas antioksidan pada aneka sajian minuman kopi robusta murni dan dengan penambahan gula, gula+krimer, dan gula+susu.

3.3.3 Variabel terkontrol

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah cara penetapan kadar polifenol, dan cara pengujian aktivitas antioksidan pada aneka sajian minuman kopi robusta murni dan dengan penambahan gula, gula+krimer, dan gula+susu.

3.4 Definisi Operasional

- a. Bubuk kopi robusta (*Coffea canephora*) merupakan satu produk yang didapatkan dari Cafe Rollas Jember.
- b. Minuman kopi robusta (*Coffea canephora*) adalah minuman yang dibuat dengan menyeduhkan bubuk kopi robusta dengan air panas 85°C, baik kopi murni maupun yang dikombinasikan dengan penambahan gula, gula+krimer, dan gula+susu.
- c. Variasi penambahan yang digunakan dalam pembuatan minuman kopi robusta adalah gula pasir, krimer nabati (*non diary*), dan susu skim bubuk atau susu bubuk bebas lemak.
- d. Kadar polifenol yang diukur merupakan kadar polifenol yang didapatkan pada aneka sajian minuman kopi robusta (*Coffea canephora*) yang ditunjukkan dengan miligram asam galat ekuivalen per gram bubuk kopi (mg GAE/g bubuk kopi).
- e. Aktivitas antioksidan adalah kemampuan suatu senyawa untuk meredam DPPH yang dinyatakan dengan nilai IC_{50}

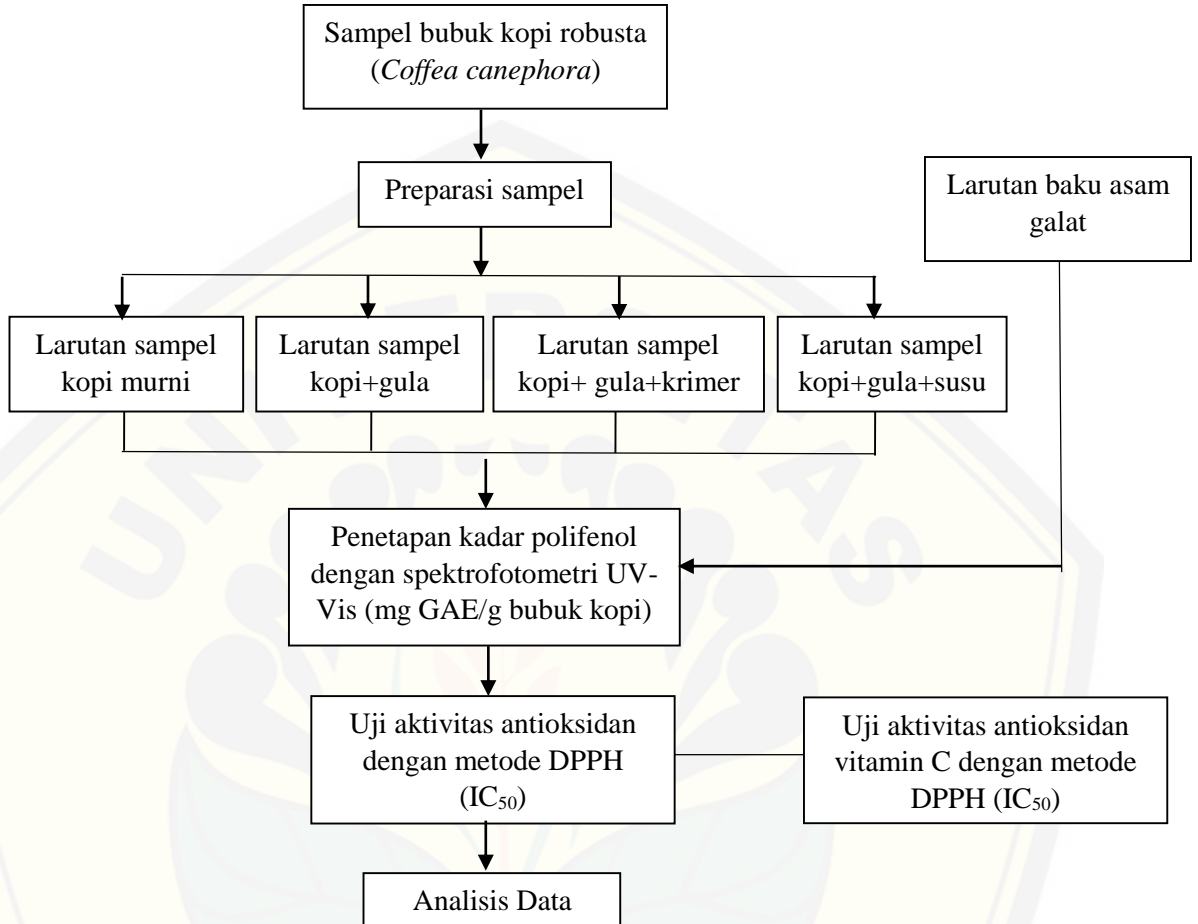
3.5 Rancangan Penelitian

3.5.1 Rancangan percobaan

Pada penelitian ini dilakukan penetapan kadar polifenol dan uji aktivitas antioksidan minuman kopi robusta murni, minuman kopi robusta murni dengan penambahan gula, gula+krimer, dan gula+susu. Tahap pertama dilakukan preparasi sampel untuk membuat minuman kopi. Selanjutnya, dibuat larutan sampel untuk dilakukan penetapan kadar polifenol dari masing-masing larutan sampel. Setelah penetapan kadar polifenol, dilakukan uji aktivitas antioksidan pada masing-masing larutan sampel. Setelah mendapatkan hasil kadar polifenol dan hasil aktivitas antioksidan selanjutnya dilakukan uji statistik.

3.5.2 Skema penelitian

Adapun skema penelitian ini antara lain :



Gambar 3. 1 Skema penelitian

3.6 Bahan dan Alat

3.6.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bubuk kopi robusta yang berasal dari Cafe Rollas Jember, krimer Max Creamer®, gula pasir Gulaku®, susu bubuk skim Petit Eric, metanol teknis, standar asam galat (Sigma-Aldrich), DPPH (Sigma-Aldrich), vitamin C (Shijiazhuang), larutan Folin-Ciocalteu (Merck), Na₂CO₃ 7,5%, alumunium foil, akuades.

3.6.2 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain spektrofotometer UV-Vis (Hitachi U-1800), timbangan analitik (Ohaus), kuvet plastik, kulkas, kertas saring, mikropipet (Socorex), *ball filler*, vial, termometer, *stopwatch* dan seperangkat alat gelas (Pyrex).

3.7 Penetapan Kadar Polifenol

3.7.1 Preparasi sampel

Bubuk kopi robusta (*Coffea canephora*) dibuat minuman kopi dengan preparasi sesuai dengan pengalaman empiris dan melihat cara penyeduhan kopi yang baik. Penyeduhan kopi secara empiris yaitu 15 g bubuk kopi robusta diseduh dengan air panas 200 ml dengan suhu 85°C sehingga didapatkan sampel kopi murni. Sampel berikutnya dibuat kopi murni dengan penambahan gula 10 g, gula 10 g+krimer 5 g, dan gula 10 g+susu 5 g. Pada penelitian ini preparasi sampel kopi murni dibuat dengan menimbang 0,75 g kopi robusta dimasukkan dalam labu ukur 10 ml. Akuades dipanaskan sampai dengan suhu 85°C lalu ditambahkan ke dalam labu ad 10 ml. Preparasi sampel berikutnya dibuat kopi murni dengan penambahan gula 0,5 g, gula 0,5 g+krimer 0,25 g, dan gula 0,5 g+susu 0,25 g. Preparasi sampel dilakukan sebanyak tiga kali.

3.7.2 Pembuatan larutan sampel

Minuman kopi robusta (*Coffea canephora*) yang sudah dibuat menjadi empat sampel didalam labu ukur dikocok, lalu didiamkan sampai dingin sekitar 10 menit, dilanjutkan disaring dengan kertas saring untuk memisahkan dari ampasnya. Setelah disaring, dipipet 150 µl dimasukkan dalam labu ukur 10 ml dan ditambahkan dengan akuades sampai tanda batas, sehingga didapatkan larutan sampel kopi murni dan larutan sampel kopi murni dengan penambahan gula, gula+krimer, dan gula+susu.

3.7.3 Pembuatan larutan baku asam galat

Standar asam galat ditimbang sebanyak 25 mg dan 50 mg, dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml dan dilarutkan dalam akuades sampai batas tanda volume sehingga konsentrasi larutan induk standar asam galat yaitu 1000 µg/ml dan 2000 µg/ml. Selanjutnya dilakukan pengenceran larutan induk asam galat dengan memipet sejumlah tertentu larutan induk, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur dan ditambahkan akuades sejumlah tertentu sehingga konsentrasi larutan standar asam galat yaitu 20 µg/ml, 40 µg/ml, 60 µg/ml, 80 µg/ml, 100 µg/ml, dan 120 µg/ml.

3.7.4 Penetapan panjang gelombang maksimum

Sebelum penetapan kadar polifenol, dilakukan terlebih dahulu penentuan panjang gelombang maksimum asam galat dengan reagen Folin-Ciocalteu. Larutan standar asam galat konsentrasi 100 µg/ml dipipet 150 µl dimasukkan dalam kuvet lalu ditambah 750 µl reagen Folin-Ciocalteu 10% dan didiamkan selama 3 menit. Kemudian, ditambahkan 600 µl larutan Na₂CO₃ 7,5%. Campuran dikocok sampai homogen dan diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit (Lim dan Murtijaya, 2006). Serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis yang telah diatur panjang gelombangnya 600-850 nm (Alfian dan Susanti, 2012).

3.7.5 Penentuan waktu inkubasi

Larutan sampel kopi murni dan pembanding (asam galat) konsentrasi 60 µg/ml dipipet 150 µl dimasukkan dalam kuvet lalu ditambah 750 µl reagen Folin-Ciocalteu 10% dan didiamkan selama 3 menit. Kemudian, ditambahkan 600 µl larutan Na₂CO₃ 7,5%. Campuran dikocok sampai homogen dan diamati absorbansinya pada panjang gelombang maksimumnya mulai menit ke-0 sampai ke-100 dengan selang waktu 5 menit.

3.7.6 Penetapan kadar

Penetapan kadar polifenol dilakukan dengan cara 150 µl dari masing-masing larutan sampel kopi murni dan kopi dengan penambahan gula, gula+krimer, dan

gula+susu serta larutan standar asam galat ditambah dengan 750 µl larutan Folin-Ciocalteu 10% lalu dikocok. Selanjutnya ditambahkan 600 µl larutan Na₂CO₃ 7,5% dikocok homogen dan diinkubasi pada suhu kamar pada waktu yang telah ditentukan lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum.

3.7.7 Perhitungan

Nilai absorbansi yang diperoleh dari masing-masing larutan sampel dimasukkan ke dalam persamaan regresi larutan standar asam galat sehingga diperoleh kadar polifenol yang ditunjukkan dengan miligram asam galat ekuivalen per gram bubuk kopi robusta (mg GAE/g bubuk kopi dalam aneka sajian minuman kopi).

3.8 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

3.8.1 Pembuatan larutan sampel

Minuman kopi robusta (*Coffea canephora*) yang sudah dibuat dengan melakukan preparasi sampel dengan replikasi sebanyak tiga kali, dibuat menjadi empat sampel yaitu larutan sampel kopi murni, larutan sampel kopi murni dengan penambahan gula, gula+krimer, dan gula+susu. Masing-masing sampel dikocok lalu didiamkan sampai dingin sekitar 10 menit dilanjutkan disaring dengan kertas saring untuk dipisahkan dari ampasnya. Setelah disaring, dipipet 1 ml dimasukkan dalam labu ukur 10 ml dan ditambahkan dengan akuades sampai tanda batas. Dari masing-masing larutan sampel dibuat seri konsentrasi 30 µg/ml, 37,5 µg/ml, 45 µg/ml, 52,5 µg/ml, 67,5 µg/ml, dan 75 µg/ml untuk pengujian aktivitas antioksidan.

3.8.2 Pembuatan larutan vitamin C

Vitamin C ditimbang 25 mg dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml dan dilarutkan dengan metanol sampai tanda batas volume sehingga konsentrasi vitamin C sebesar 1000 µg/ml. Pembuatan larutan vitamin C dilakukan replikasi sebanyak tiga kali. Larutan dipipet, dimasukkan labu ukur ditambahkan metanol sejumlah tertentu sehingga konsentrasi larutan vitamin C 5 µg/ml, 10 µg/ml, 15 µg/ml, 20 µg/ml, 25 µg/ml, dan 30 µg/ml.

3.8.3 Pembuatan larutan DPPH

Serbuk DPPH ditimbang sebanyak 2 mg, dilarutkan dalam 50 ml metanol sehingga didapatkan larutan induk DPPH dengan konsentrasi 0,1 mM. Larutan ini disimpan dibotol yang gelap dan untuk setiap pengujian dibuat baru.

3.8.4 Penetapan panjang gelombang maksimum DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH dengan menentukan panjang gelombang maksimum dengan mengambil 1,2 ml larutan DPPH 0,1 mM. Kemudian menambahkan 0,3 ml metanol. Campuran dikocok sampai homogen dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit pada tempat gelap. Serapannya diukur dengan spektrofotometer UV-Vis yang diatur panjang gelombangnya dari 400-600 nm.

3.8.5 Penentuan waktu inkubasi

Larutan sampel kopi murni dan konsentrasi vitamin C 4 µg/ml direaksikan dengan larutan DPPH. Larutan sampel kopi diamati absorbansinya pada panjang gelombang maksimum mulai menit ke-0 sampai menit ke-100 sedangkan larutan vitamin C diamati mulai menit ke-0 sampai menit ke-120 dengan selang waktu 5 menit.

3.8.6 Pengukuran aktivitas antioksidan larutan sampel dan vitamin C

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara 0,3 ml dari masing-masing larutan sampel dan larutan vitamin C, ditambahkan 1,2 ml DPPH 0,1 mM. Campuran dikocok sampai homogen kemudian larutan sampel dan larutan vitamin C di inkubasi pada suhu 37°C selama waktu yang sudah ditentukan. Selanjutnya diukur serapannya pada panjang gelombang maksimumnya.

3.8.7 Perhitungan

Nilai IC_{50} dihitung berdasarkan persentase peredaman terhadap radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel mengikuti persamaan 2.2

yang telah dijelaskan pada bab tinjauan pustaka. Setelah didapatkan persentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi, dilanjutkan dengan perhitungan secara regresi linier menggunakan Persamaan 3.1.

$$y = a + bx \dots \dots \dots (3.1)$$

Keterangan:

x = konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)

y = persentase peredaman (%)

Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan *Inhibition Concentration* 50% (IC_{50}) yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai IC_{50} didapatkan dari nilai x setelah mengganti y dengan 50.

3.9 Analisis Data

Data yang diperoleh dari penetapan kadar polifenol dibandingkan antara larutan sampel kopi murni dan larutan sampel kopi murni dengan penambahan gula, gula+krimer, dan gula+susu. Selain itu, data yang diperoleh dari penetapan uji aktivitas antioksidan juga dibandingkan antara masing-masing larutan sampel dengan vitamin C. Selanjutnya jika data normal dan homogen maka di analisis menggunakan *one way ANOVA* dan jika data signifikan maka dilanjutkan dengan post hoc (LSD). Apabila nilai *p-value* $\leq 0,01$ dengan tingkat kepercayaan sebesar 99% maka perbedaan dianggap bermakna.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan berikut

1. Kadar polifenol pada sampel aneka minuman kopi secara berurutan dari yang terbesar yaitu kopi dengan penambahan gula+krimer $55,687 \pm 0,231$ mg GAE/g bubuk kopi dalam minuman kopi dengan penambahan gula dan krimer, kopi dengan penambahan gula+susu $52,822 \pm 0,129$ mg GAE/g bubuk kopi dalam minuman kopi dengan penambahan gula dan susu, kopi murni $52,206 \pm 0,436$ mg GAE/g bubuk kopi dalam minuman kopi murni, dan kopi dengan penambahan gula $50,352 \pm 0,326$ mg GAE/g bubuk kopi dalam minuman kopi dengan penambahan gula.
2. Nilai IC_{50} sampel aneka minuman kopi dari yang terkecil yaitu kopi dengan penambahan gula+krimer $38,776 \pm 0,145$ $\mu\text{g/ml}$, kopi dengan penambahan gula+susu $49,603 \pm 0,359$ $\mu\text{g/ml}$, kopi murni $51,872 \pm 0,158$ $\mu\text{g/ml}$, dan kopi dengan penambahan gula $54,449 \pm 0,371$ $\mu\text{g/ml}$.
3. Terdapat perbedaan kadar polifenol yang bermakna antara sampel kopi dengan penambahan gula dan kopi dengan penambahan gula+krimer. Sedangkan minuman kopi murni dan kopi dengan penambahan gula+susu terdapat perbedaan yang tidak bermakna.
4. Terdapat perbedaan aktivitas antioksidan *Inhibition Concentration* (IC_{50}) yang bermakna antara sampel kopi murni, kopi dengan penambahan gula, kopi dengan penambahan gula+krimer dan kopi dengan penambahan gula+susu.

5.2 Saran

Adapun saran untuk peneliti adalah sebagai berikut

1. Perlu adanya penelitian lebih lanjut kandungan senyawa-senyawa yang terdapat pada aneka sajian minuman kopi robusta sehingga dapat dikembangkan aktivitas-aktivitas yang lain selain antioksidan.
2. Perlu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan aneka sajian minuman kopi robusta secara *in vivo*.

DAFTAR PUSTAKA

- AAK, 1998. *Budidaya Tanaman Kopi*. Yogyakarta : Penerbit Kanisius.
- Agbor, G. A., J. E. Oben, J. Y. Ngogang, C. Xinxing, dan J. A. Vinson. 2005. Antioxidant capacity of some herbs/spices from Cameroon: a comparative study of two methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(17), 6819-6824.
- Alfian, R., dan H. Susanti. 2012. Penetapan kadar fenolik total ekstrak metanol kelopak bunga rosella merah (*Hibiscus sabdariffa* Linn) dengan variasi tempat tumbuh secara spektrofotometri. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 2(1), 73-80.
- Anesini, C., G. E. Ferraro, dan R. Filip, 2008. Total polyphenol content and antioxidant capacity of commercially available tea (*Camellia sinensis*) in Argentina. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(19), 9225-9229.
- Apak, R., K. Güçlü, B. Demirata, M. Özyürek, S. E. Çelik, B. Bektaşoğlu, K. I. Berker, dan D. Özyurt. 2007. Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12(7), 1496-1547.
- Ariningsih, E. 2014. Pengaruh faktor-faktor sosial ekonomi terhadap konsumsi susu dan produk olahan susu. *Pusat Analisis Sosial Ekonomi dan Kebijakan Pertanian*, 19(2), 469-475.
- Behera, S., S. Ghanty, F. Ahmad, S. Santra, dan S. Banerjee. 2012. UV-visible spectrophotometric method development and validation of assay of paracetamol tablet formulation. *J Anal Bioanal Techniques*, 3(6), 151-157.
- Cämmerer, B., dan L. W. Kroh. 2006. Antioxidant activity of coffee brews. *European Food Research and Technology*, 223(4), 469-474.
- Clifford, M. N. 1999. Chlorogenic acids and other cinnamates—nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, 362-372.
- Dachliani, D. 2006. Permintaan Impor Gula Indonesia Tahun 1980-2003. *Tesis*. Semarang: Program Studi Magister Ilmu Ekonomi dan Studi Pembangunan Universitas Diponegoro.
- Dahlan, M. Sopiudin. 2011. *Statistik Untuk Kedokteran Dan Kesehatan-Deskriptif, Bivariat, Dan Multivariat Dilengkapi Aplikasi Dengan Menggunakan SPSS Edisi 3*. Jakarta: Salemba Medika.

- Dehpour, A. A., M. A. Ebrahimzadeh, N. S. Fazel, dan N. S. Mohammad. 2009. Antioxidant activity of the methanol extract of *Ferula assafoetida* and its essential oil composition. *Grasas Y Aceites*. 60(4): 405-412.
- Dewi, L., S. P. Hastuti, dan A. L. Silana. 2014. Aktivitas antioksidan, kadar fenolik total, dan kadar kafein pada fermentasi kombu kopi robusta dalam berbagai konsentrasi gula. *Makalah Seminar Nasional Biologi*, 137-147.
- Dudonné, S., X. Vitrac, P. Coutiere, M. Woillez. dan J. M. Mérillon. 2009. Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(5), 1768-1774.
- Dungir, S. G., D. G. Katja, dan V. S. Kamu, 2012. Aktivitas antioksidan ekstrak fenolik dari kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal MIPA Unsrat Online*, 1(1), 11-15.
- Farah, A. 2012. *Coffee Constituents in Coffee: Emerging Health Effects and Disease Revention*. First Edition. United Kingdom: Blackwell Publishing Ltd.
- Fatimah, S., I. Haryati, dan A. Jamaludin. 2009. Pengaruh uranium terhadap analisis thorium menggunakan spektrofotometer Uv-vis. *Seminar Nasional V SDM Teknologi Nuklir*, 573-578.
- Gardiner, D. S. 1977. Non diary creamer compositions. *U.S. Patent and Trademark Office Washington DC, No. 4,046,926*.
- Hacisevki, A. 2009. An overview of ascorbic acid biochemistry. *J Fac Pharm Ankara*, 38(3), 233-255.
- Halliwell, B. 2002. *Food-derived antioxidants: how to evaluate their importance in food and in vivo*. Singapore: National University of Singapore.
- Hamid, A. A., O. O. Aiyelaagbe, L. A. Usman, O. M. Ameen, dan A. Lawal. 2010. Antioxidants: Its Medicinal and Pharmacological Applications. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*. 4(8): 142-151.
- Hartanto, H. 2012. Identifikasi Potensi Antioksidan Minuman Cokelat Dari Kakao Lindak (*Theobroma Cacao* L) dengan Berbagai Cara Preparasi: Metode Radikal Bebas *1,1 Diphenyl-2-Picrylhydrazil* (DPPH). *Skripsi*. Surabaya: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya
- Hayati, R., A. Marliah, dan F. Rosita, 2012. Sifat kimia dan evaluasi sensori bubuk kopi arabika. *Jurnal Floratek*, 7(1), 66-75.

- Hernawan, U. E., dan A. D. Setyawan. 2003. Review: ellagitanin; biosintesis, isolasi, dan aktivitas biologi. *Biofarmasi*, 1(1), 25-38.
- Imamah, L. 2015. Pengembangan Biosensor Polifenol Berbasis Polifenol Oksidase (PPO) Dan 3-Metil-2-Benzothiozolinon Hidrazon (MBTH) Untuk Deteksi Polifenol Pada Produk Minuman Kopi. *Skripsi*. Jember: Fakultas Farmasi Univeritas Jember
- Inggrid, H. M., dan H. Santoso. 2014. Ekstraksi Antioksidan dan Senyawa Aktif dari Buah Kiwi (*Actinidia deliciosa*). *Research Report-Engineering Science*, 2.
- ITIS (*Integrated Taxonomic Information System*). 2011. *Coffea* L. www.itis.gov[serialonline].https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=506060. [29 Oktober 2016].
- Karadag, A., B. Ozcelik, dan S. Saner. 2009. Review of methods to determine antioxidant capacities. *Food Analytical Methods*, 2(1), 41-60.
- Khoddami, A., M. A. Wilkes, dan T. H. Roberts. 2013. Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*, 18(2), 2328-2375.
- Lim, Y. Y., dan J. Murtijaya. 2007. Antioxidant properties of *Phyllanthus amarus* extracts as affected by different drying methods. *LWT-Food Science and Technology*, 40(9), 1664-1669.
- Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr, dan R. J. Randall, 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 193(1), 265-275.
- Manach, C., A. Scalbert, C. Morand, C. Rémésy, dan L. Jiménez. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5), 727-747.
- Marinova, G., dan V. Batchvarov. 2011. Evaluation of the methods for determination of the free radical scavenging activity by DPPH. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 17(1), 11-24.
- Marliana, E. 2007. Analisis senyawa metabolit sekunder dari batang *Spatholobus ferrugineus* (Zoll & Moritzi) Benth yang berfungsi sebagai antioksidan. *Jurnal Penelitian MIPA*, 1(1), 23-29.
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J Sci Technol*, 26(2), 211-219.

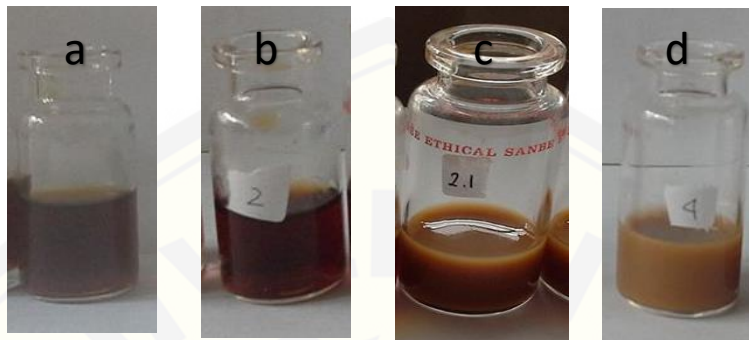
- Muhilal.1991.*Cermin Dunia Kedokteran:Teori Radikal Bebas dalam Gizi dan Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Grup PT Kalbe Farma.
- Mulijanti, S. L, dan Sugandi. 2010. Pola konsumsi dan preferensi susu di Jawa Barat. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*. 461-466.
- Mulja, M. H, dan Suharman. 1995. *Analisis Instrumental*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Natella, F., M. Nardini, I. Giannetti, C. Dattilo, dan C. Scaccini. 2002. Coffee drinking influences plasma antioxidant capacity in humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(21), 6211-6216.
- Padayatty, S. J., A. Katz, Y. Wang, P. Eck, O. Kwon, J. Lee, S. Chen, C. Corpe, A. Dutta, S. Dutta, dan M. Levine. 2013. Vitamin c as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *Journal of the American College of Nutrition*, 22(1), 18-35.
- Panggabean, Edy. 2011. *Buku Pintar Kopi*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Paramu, H., dan M. Fathorrozi. 2011. Penentuan setting prioritas pengembangan industri kopi biji di Indonesia: Aplikasi Model Goal Programming. *Manajemen Teori dan Terapan*, 4(1), 13-27.
- Pellegrini, N., M. Serafini, B. Colombi, D. D. Rio, S. Salvatore, M. Bianchi, dan F. Brighenti. 2003. Total antioxydant capacity of plant foods, beverages and oil consumed in italy assessed by three different in vitro assays. *Journal of Nutrition*, 133, 2812-2819.
- Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia No.1 Tahun 2015.*Kategori Pangan*. 16 Februari 2015. Jakarta. BPOM.
- Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 33 Tahun 2012. *Bahan Tambahan Pangan*. Jakarta. Permenkes
- Prakash, A., F. Rigelhof, dan E. Miller. 2001. Antioxidant activity. *Medallion Laboratories Analytical Progress*, 19(2), 1-4.
- Pratama, R. I., dan P. R. Ayu. 2016. Pengaruh konsumsi kopi terhadap penurunan kadar asam urat darah. *Fakultas Kedokteran Universitas Lampung*, 5(1), 96-101.
- Putri, H. L. R., A. Hidayati, T. D. Widyaningsih, N. Wijayanti, dan J. M. Maligan. 2015. Pengendalian kualitas non diary creamer pada kondisi proses pengeringan semprot di PT. Kievit Indonesia, Salatiga. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 4(1), 443-448.

- Ridwansyah. 2003. *Pengolahan Kopi*: Medan, Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Sumatra Utara
- Safaryani, N., S. Haryanti, dan E. D. Hastuti. 2007. Pengaruh suhu dan lama penyimpanan terhadap penurunan kadar vitamin c brokoli (*Brassica oleracea L.*). *Jurnal Anatomi dan Fisiologi*, 15(2).
- Safitri, F., Yunianta, dan I. Purwantinegrum. 2013. Pengaruh penambahan pati termodifikasi pada non dairy creamer terhadap stabilitas emulsifikasi dan efisiensi sodium caseinate. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 1(1), 1-14.
- Sarastani, D., S. T. Soekarto, T. R. Muchtadi, D. Fardiaz, dan A. Apriyantono. 2002. Aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi ekstrak biji atung. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 13(2), 149-156.
- Solomons, T. W. G dan C. B. Fryhle. *Organic Chemistry*, 10th ed. New Jersey: John Wiley dan Sons, Inc
- Sugiyanto, C. 2007. Permintaan gula di Indonesia. *Jurnal Ekonomi Pembangunan*, 8(2), 113-127.
- Syakir, M. 2010. *Budidaya dan Pasca Panen Kopi*. Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan.
- Tursiman, P. A., dan R. Nofiani. 2012. Total fenol fraksi etil asetat dari buah asam kandis (*Garcinia dioica Blume*). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 1(1), 45-48.
- USDA report. 2016. *Non Dairy Creamer*. www.ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/58392 [diakses tanggal 6 Januari 2017].
- Vermerris, W., dan R. Nicholson. 2008. *Isolation And Identification Of Phenolic Compounds*. Dalam *Phenolic Compound Biochemistry*. Netherlands: Springer.
- Vignoli, J. A., D. G. Bassoli, dan M. T. Benassi. 2011. Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: The influence of processing conditions and raw material. *Food Chemistry*, 124(3), 863-868.
- Viuda M. M., G. L. C. Gómez, Y. R. Navajas, J. E. Z. Montoya, E. Sendra, J. A. P. Álvarez, dan J. F. López, J. 2012. In vitro antioxidant and antibacterial activities of extracts from annatto (*Bixa orellana L.*) leaves and seeds. *Journal of Food Safety*, 32(4), 399-406.

- Widiastuti, H. 2016. Standarisasi vitamin c pada buah bengkuang (*Pachyrhizus erosus*) secara spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(1),72-75.
- Widodo, W. 2002. *Bioteknologi Fermentasi Susu*. Malang: Pusat Pengembangan Bioteknologi Universitas Muhammadiyah Malang.
- Williams, B. W., M. E. Cuvelier, dan C. L. W. T. Berset. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas: Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Yan., Y. Y, T. T. Lim, dan J. J. Tee. 2006. Antioxidant properties of guava fruit: comparison with some local fruits. *Sunway Academic Journal*, 3, 9-20.
- Yusmarini. 2011. Senyawa Polifenol Pada Kopi: Metabolisme Dan Hubungannya Dengan Kesehatan. *Sagu*, 10(2), 22-30.
- Zuhra, C. F., J. B. Tarigan, dan H. Sihotang. 2008. Aktivitas antioksidan senyawa flavonoid dari daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.). *Jurnal Biologi Sumatra*, 3(1), 7-10.

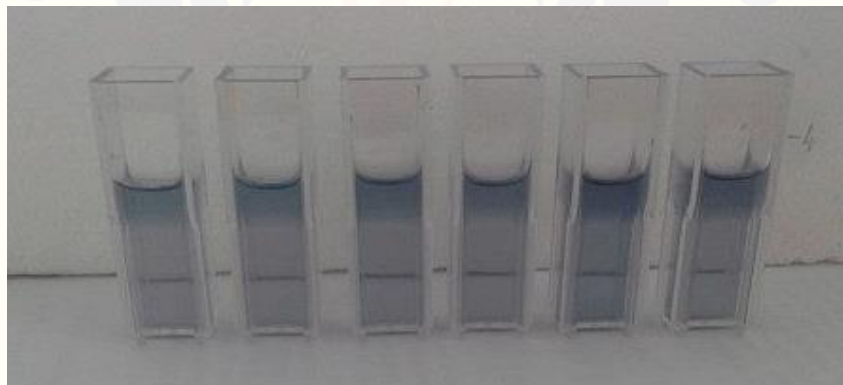
LAMPIRAN

Lampiran A. Gambar Larutan Sampel Kopi Robusta



a. Kopi murni; b. kopi+gula; c. Kopi+gula+krimer; d. Kopi+gula+susu

Lampiran B. Gambar Penetapan Kadar Polifenol



Lampiran C. Pembuatan Larutan Pada Penetapan Kadar Polifenol

C1. Larutan Standar Asam Galat

$$\text{Larutan Induk 1} = \frac{25 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 1000 \mu\text{g/ml}$$

Pengenceran

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 100 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{a) } \frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 100 \mu\text{g/ml} = 20 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Larutan Induk 2} = \frac{50 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 2000 \mu\text{g/ml}$$

Pengenceran

$$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 400 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 600 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

- a) $\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 400 \text{ } \mu\text{g/ml} = 40 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- b) $\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 400 \text{ } \mu\text{g/ml} = 80 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- c) $\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 600 \text{ } \mu\text{g/ml} = 60 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- d) $\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 600 \text{ } \mu\text{g/ml} = 120 \text{ } \mu\text{g/ml}$

Konsentrasi larutan uji standar asam galat 150 μl ditambahkan Folin Ciocalteau 750 μl dan larutan Na_2CO_3 7,5 % 600 μl . Jadi, volume didalam kuvet sejumlah 1,5 ml:

- a) $\frac{0,15 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 20 \text{ } \mu\text{g/ml} = 2 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- b) $\frac{0,15 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 40 \text{ } \mu\text{g/ml} = 4 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- c) $\frac{0,15 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 60 \text{ } \mu\text{g/ml} = 6 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- d) $\frac{0,15 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 80 \text{ } \mu\text{g/ml} = 8 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- e) $\frac{0,15 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 10 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- f) $\frac{0,15 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 120 \text{ } \mu\text{g/ml} = 12 \text{ } \mu\text{g/ml}$

Lampiran D. Pembuatan Larutan Na_2CO_3 7,5 %

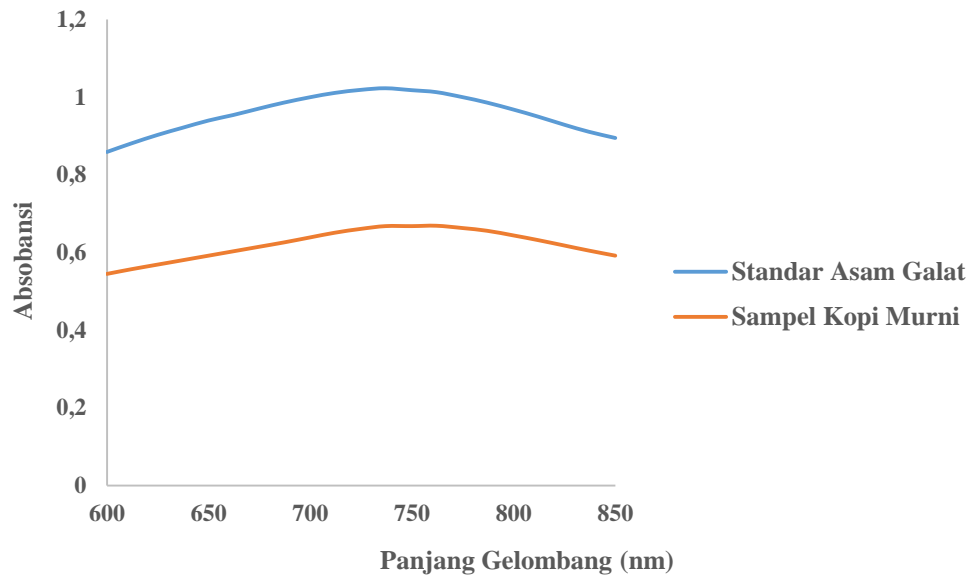
Ditimbang 7,5 g Na_2CO_3 dilarutkan dalam aquadest ad 100 ml

Lampiran E. Hasil Spektra Penentuan Panjang Gelombang Maksimum dan Waktu Inkubasi Polifenol

Data Mode : ABS

Scan Range : 600-850 nm

E1. Scan Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat Dan Sampel Kopi Murni



Panjang Gelombang	Absorbansi Asam Galat	Absorbansi Kopi Robusta Murni
600	0,859	0,545
612	0,881	0,557
625	0,903	0,569
637	0,921	0,58
650	0,94	0,592
662	0,954	0,603
675	0,971	0,615
687	0,986	0,626
700	1	0,639
712	1,011	0,651
725	1,019	0,661
737	1,023	0,668
750	1,018	0,668
762	1,013	0,669
775	1	0,663
787	0,986	0,656
800	0,968	0,644
812	0,95	0,632
825	0,929	0,618
837	0,911	0,605
850	0,895	0,592

E2. Data Absorbansi Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat

```

ROM Version:      07
Sample Name:
Date:
Operator:

Wavelength Scan
Data Mode:      ABS
Scan Range:     850.0-600.0nm
Slit Width:     4nm
Speed(nm/min):  800nm/min
Lamp Change Wavelength: 340.0nm
Path Length:

ALL Data
WL(nm)  ABS    WL(nm)  ABS    WL(nm)  ABS    WL(nm)  ABS
850.0   0.895   849.0   0.896   848.0   0.897   847.0   0.898
846.0   0.899   845.0   0.901   844.0   0.902   843.0   0.903
842.0   0.904   841.0   0.906   840.0   0.907   839.0   0.908
838.0   0.910   837.0   0.911   836.0   0.913   835.0   0.914
834.0   0.916   833.0   0.917   832.0   0.919   831.0   0.920
830.0   0.922   829.0   0.923   828.0   0.925   827.0   0.926
826.0   0.928   825.0   0.929   824.0   0.931   823.0   0.932
822.0   0.934   821.0   0.935   820.0   0.937   819.0   0.938
818.0   0.940   817.0   0.941   816.0   0.943   815.0   0.944
814.0   0.946   813.0   0.948   812.0   0.950   811.0   0.951
810.0   0.952   809.0   0.954   808.0   0.955   807.0   0.956
806.0   0.958   805.0   0.959   804.0   0.961   803.0   0.963
802.0   0.965   801.0   0.966   800.0   0.968   799.0   0.969
798.0   0.970   797.0   0.972   796.0   0.973   795.0   0.975
794.0   0.976   793.0   0.978   792.0   0.979   791.0   0.980
790.0   0.982   789.0   0.983   788.0   0.984   787.0   0.986
786.0   0.987   785.0   0.988   784.0   0.990   783.0   0.991
782.0   0.992   781.0   0.993   780.0   0.995   779.0   0.996
778.0   0.997   777.0   0.998   776.0   0.998   775.0   1.000
774.0   1.001   773.0   1.003   772.0   1.004   771.0   1.005
770.0   1.006   769.0   1.007   768.0   1.008   767.0   1.008
766.0   1.010   765.0   1.010   764.0   1.012   763.0   1.012
762.0   1.013   761.0   1.014   760.0   1.016   759.0   1.017
758.0   1.018   757.0   1.018   756.0   1.019   755.0   1.019
754.0   1.019   753.0   1.019   752.0   1.019   751.0   1.019
750.0   1.018   749.0   1.017   748.0   1.018   747.0   1.018
746.0   1.016   745.0   1.016   744.0   1.016   743.0   1.016
742.0   1.016   741.0   1.017   740.0   1.018   739.0   1.020
738.0   1.022   737.0   1.023   736.0   1.023   735.0   1.022
734.0   1.022   733.0   1.022   732.0   1.021   731.0   1.021
730.0   1.021   729.0   1.020   728.0   1.020   727.0   1.020
726.0   1.019   725.0   1.019   724.0   1.019   723.0   1.018
722.0   1.018   721.0   1.017   720.0   1.018   719.0   1.018
718.0   1.015   717.0   1.015   716.0   1.014   715.0   1.013
714.0   1.013   713.0   1.012   712.0   1.011   711.0   1.010
710.0   1.010   709.0   1.009   708.0   1.008   707.0   1.007
706.0   1.006   705.0   1.005   704.0   1.004   703.0   1.003
702.0   1.002   701.0   1.001   700.0   1.000   699.0   0.998
698.0   0.998   697.0   0.996   696.0   0.995   695.0   0.994
694.0   0.993   693.0   0.993   692.0   0.991   691.0   0.990
690.0   0.988   689.0   0.988   688.0   0.987   687.0   0.986
686.0   0.985   685.0   0.984   684.0   0.982   683.0   0.981
682.0   0.980   681.0   0.979   680.0   0.977   679.0   0.976
678.0   0.975   677.0   0.973   676.0   0.972   675.0   0.971
674.0   0.970   673.0   0.968   672.0   0.967   671.0   0.966
670.0   0.965   669.0   0.963   668.0   0.962   667.0   0.961
666.0   0.959   665.0   0.958   664.0   0.957   663.0   0.955
662.0   0.954   661.0   0.953   660.0   0.952   659.0   0.951
658.0   0.950   657.0   0.949   656.0   0.947   655.0   0.946
654.0   0.945   653.0   0.944   652.0   0.942   651.0   0.941
650.0   0.940   649.0   0.938   648.0   0.937   647.0   0.936
646.0   0.934   645.0   0.933   644.0   0.932   643.0   0.930
642.0   0.928   641.0   0.927   640.0   0.926   639.0   0.924
638.0   0.923   637.0   0.921   636.0   0.920   635.0   0.918
634.0   0.917   633.0   0.915   632.0   0.914   631.0   0.912
630.0   0.911   629.0   0.908   628.0   0.908   627.0   0.906
626.0   0.905   625.0   0.903   624.0   0.902   623.0   0.900
622.0   0.898   621.0   0.896   620.0   0.895   619.0   0.893
618.0   0.892   617.0   0.890   616.0   0.888   615.0   0.886
614.0   0.885   613.0   0.883   612.0   0.881   611.0   0.879
610.0   0.877   609.0   0.876   608.0   0.874   607.0   0.872
606.0   0.870   605.0   0.869   604.0   0.867   603.0   0.864
602.0   0.862   601.0   0.860   600.0   0.859
    
```

E3. Data Absorbansi Panjang Gelombang Maksimum Kopi Murni

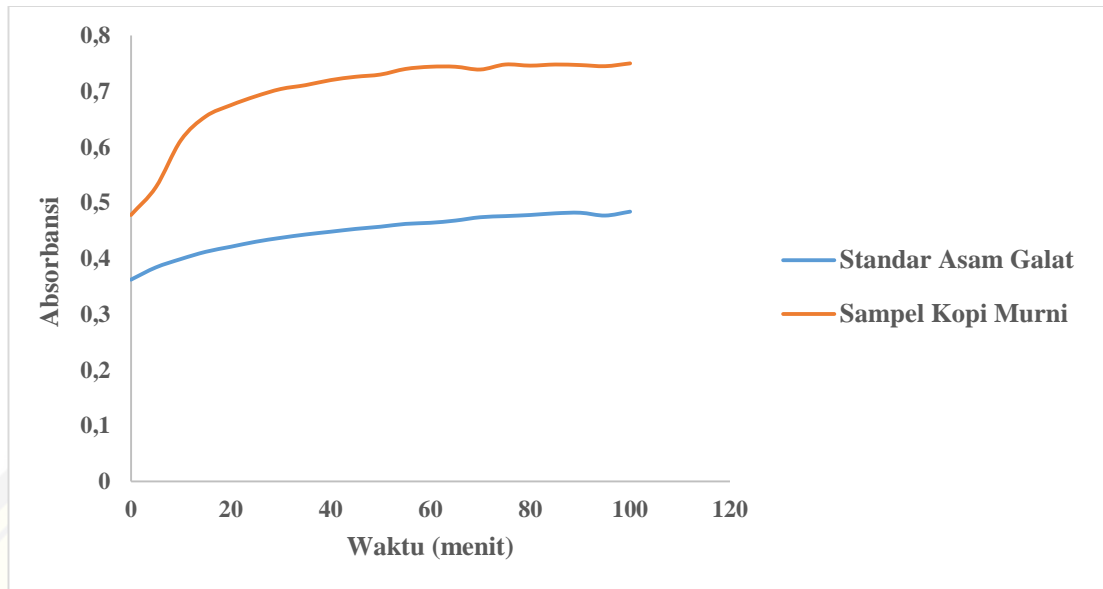
```

U-1800 Spectrophotometer

Serial NUM: 5730118
ROM Version: 07
Sample Name:
Date:
Operator:

Wavelength Scan
Data Mode: ABS
Scan Range: 850.0-600.0nm
Slit Width: 4nm
Speed(nm/min): 500nm/min
Lamp Change Wavelength: 340.0nm
Path Length:

ALL Data
WL(nm) ABS WL(nm) ABS WL(nm) ABS WL(nm) ABS
850.0 0.592 849.0 0.593 848.0 0.594 847.0 0.595
846.0 0.596 845.0 0.597 844.0 0.598 843.0 0.599
842.0 0.600 841.0 0.601 840.0 0.602 839.0 0.603
838.0 0.604 837.0 0.605 836.0 0.606 835.0 0.607
834.0 0.609 833.0 0.610 832.0 0.611 831.0 0.612
830.0 0.613 829.0 0.614 828.0 0.615 827.0 0.616
826.0 0.617 825.0 0.618 824.0 0.619 823.0 0.620
822.0 0.622 821.0 0.622 820.0 0.624 819.0 0.624
818.0 0.625 817.0 0.627 816.0 0.628 815.0 0.629
814.0 0.630 813.0 0.631 812.0 0.632 811.0 0.633
810.0 0.634 809.0 0.635 808.0 0.636 807.0 0.637
806.0 0.638 805.0 0.639 804.0 0.640 803.0 0.641
802.0 0.642 801.0 0.643 800.0 0.644 799.0 0.645
798.0 0.646 797.0 0.647 796.0 0.648 795.0 0.648
794.0 0.650 793.0 0.650 792.0 0.651 791.0 0.652
790.0 0.653 789.0 0.654 788.0 0.655 787.0 0.656
786.0 0.657 785.0 0.657 784.0 0.658 783.0 0.659
782.0 0.659 781.0 0.660 780.0 0.660 779.0 0.661
778.0 0.661 777.0 0.662 776.0 0.663 775.0 0.663
774.0 0.664 773.0 0.664 772.0 0.665 771.0 0.665
770.0 0.666 769.0 0.666 768.0 0.667 767.0 0.667
766.0 0.668 765.0 0.668 764.0 0.668 763.0 0.669
762.0 0.669 761.0 0.669 760.0 0.670 759.0 0.670
758.0 0.670 757.0 0.670 756.0 0.670 755.0 0.670
754.0 0.670 753.0 0.669 752.0 0.669 751.0 0.668
750.0 0.668 749.0 0.667 748.0 0.666 747.0 0.665
746.0 0.664 745.0 0.664 744.0 0.664 743.0 0.664
742.0 0.665 741.0 0.665 740.0 0.665 739.0 0.667
738.0 0.666 737.0 0.666 736.0 0.667 735.0 0.667
734.0 0.668 733.0 0.668 732.0 0.668 731.0 0.669
730.0 0.669 729.0 0.669 728.0 0.669 727.0 0.669
726.0 0.668 725.0 0.667 724.0 0.667 723.0 0.666
722.0 0.665 721.0 0.665 720.0 0.665 719.0 0.665
718.0 0.665 717.0 0.665 716.0 0.664 715.0 0.663
714.0 0.663 713.0 0.662 712.0 0.661 711.0 0.660
710.0 0.649 709.0 0.640 708.0 0.647 707.0 0.646
706.0 0.645 705.0 0.644 704.0 0.644 703.0 0.642
702.0 0.641 701.0 0.640 700.0 0.639 699.0 0.636
698.0 0.637 697.0 0.636 696.0 0.635 695.0 0.635
694.0 0.634 693.0 0.633 692.0 0.632 691.0 0.631
690.0 0.629 689.0 0.629 688.0 0.627 687.0 0.628
686.0 0.628 685.0 0.625 684.0 0.624 683.0 0.623
682.0 0.622 681.0 0.621 680.0 0.620 679.0 0.619
678.0 0.618 677.0 0.618 676.0 0.616 675.0 0.615
674.0 0.614 673.0 0.613 672.0 0.612 671.0 0.611
670.0 0.611 669.0 0.609 668.0 0.609 667.0 0.608
666.0 0.607 665.0 0.606 664.0 0.605 663.0 0.604
662.0 0.603 661.0 0.602 660.0 0.601 659.0 0.600
658.0 0.599 657.0 0.598 656.0 0.596 655.0 0.597
654.0 0.596 653.0 0.595 652.0 0.594 651.0 0.593
650.0 0.592 649.0 0.591 648.0 0.590 647.0 0.589
646.0 0.589 645.0 0.588 644.0 0.587 643.0 0.586
642.0 0.585 641.0 0.584 640.0 0.583 639.0 0.582
638.0 0.581 637.0 0.580 636.0 0.579 635.0 0.579
634.0 0.578 633.0 0.577 632.0 0.576 631.0 0.575
630.0 0.574 629.0 0.573 628.0 0.572 627.0 0.571
626.0 0.570 625.0 0.569 624.0 0.568 623.0 0.567
622.0 0.568 621.0 0.565 620.0 0.565 619.0 0.564
*618.0 0.563 617.0 0.562 616.0 0.561 615.0 0.560
614.0 0.559 613.0 0.558 612.0 0.557 611.0 0.556
610.0 0.555 609.0 0.554 608.0 0.553 607.0 0.552
606.0 0.551 605.0 0.550 604.0 0.549 603.0 0.548
602.0 0.547 601.0 0.546
    
```

E4. Scan Waktu Inkubasi Asam Galat Dan Sampel Kopi Murni

Menit	Absorbansi Pada Panjang Gelombang 737 nm	
	Asam Galat	Kopi Murni
0	0,362	0,478
5	0,384	0,528
10	0,399	0,612
15	0,412	0,655
20	0,421	0,675
25	0,43	0,691
30	0,437	0,704
35	0,443	0,711
40	0,448	0,72
45	0,453	0,726
50	0,457	0,73
55	0,462	0,74
60	0,464	0,744
65	0,468	0,744

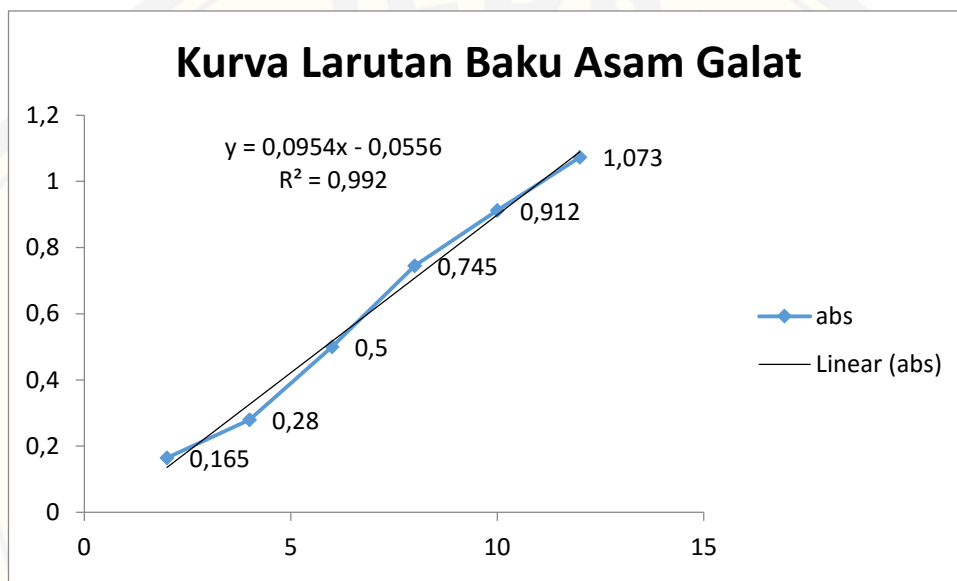
70	0,474	0,739
75	0,476	0,748
80	0,478	0,746
85	0,481	0,748
90	0,482	0,747
95	0,477	0,745
100	0,484	0,75

Lampiran F. Perhitungan Hasil Pengukuran Kadar Polifenol

Larutan Sampel Kopi Robusta	Penimbangan (g)	Kadar Polifenol (mg GAE/g bubuk kopi)	Rata- rata	SD	RSD (%)
Murni	0,7501	51,726	52,206	0,436	0,835
	0,7502	52,313			
	0,7504	52,578			
Penambahan Gula	0,7502+0,5005	50,729	50,352	0,326	0,647
	0,7505+0,5007	50,151			
	0,7501+0,5006	50,177			
Penambahan Gula + Krimer	0,7503+0,5004+0,2501	55,472	55,687	0,231	0,415
	0,7503+0,5006+0,2505	55,659			
	0,7504+0,5005+0,2506	55,931			
Penambahan Gula + Susu	0,7503+0,5000+0,2503	52,679	52,822	0,129	0,244
	0,7504+0,5001+0,2500	52,858			
	0,7502+0,5004+0,2500	52,929			

F1. Perhitungan Kurva Baku Asam Galat

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi
2	0,165
4	0,28
6	0,5
8	0,745
10	0,912
12	1,073



Persamaan: $y = 0,0954x - 0,0556$

$$R^2 = 0,992$$

F2. Perhitungan Kadar Polifenol Kopi Robusta Murni

1. Replikasi 1

$$0,5 = 0,0954x - 0,0556$$

$$x = 5,824 \mu\text{g/ml}$$

Dalam 1,5 ml

$$5,824 \mu\text{g/ml} \times 1,5 \text{ ml} = 8,736 \mu\text{g}$$

Dalam 10 ml

$$8,736 \mu\text{g} \times \frac{10 \text{ ml}}{0,15 \text{ ml}} = 582,4 \mu\text{g}$$

Dalam 10 ml

$$582,4 \mu\text{g} \times \frac{10 \text{ ml}}{0,15 \text{ ml}} = 38826,667 \mu\text{g} = 38,826 \text{ mg}$$

$$\frac{38,826 \text{ mg} \times 1 \text{ g}}{0,7501 \text{ g}} = 51,726 \text{ mg GAE/g bubuk kopi dalam minuman kopi murni}$$

2. Replikasi 2

$$0,506 = 0,0954x - 0,0556$$

$$x = 5,887 \mu\text{g/ml}$$

Dalam 1,5 ml

$$5,887 \mu\text{g/ml} \times 1,5 \text{ ml} = 8,83 \mu\text{g}$$

Dalam 10 ml

$$8,83 \mu\text{g} \times \frac{10 \text{ ml}}{0,15 \text{ ml}} = 588,679 \mu\text{g}$$

Dalam 10 ml

$$588,679 \mu\text{g} \times \frac{10 \text{ ml}}{0,15 \text{ ml}} = 39245,28 \mu\text{g} = 39,245 \text{ mg}$$

$$\frac{39,245 \text{ mg} \times 1 \text{ g}}{0,7502 \text{ g}} = 52,313 \text{ mg GAE/g bubuk kopi dalam minuman kopi murni}$$

3. Replikasi 3

$$0,509 = 0,0954x - 0,0556$$

$$x = 5,918 \mu\text{g/ml}$$

Dalam 1,5 ml

$$5,918 \mu\text{g/ml} \times 1,5 \text{ ml} = 8,877 \mu\text{g}$$

Dalam 10 ml

$$8,877 \mu\text{g} \times \frac{10 \text{ ml}}{0,15 \text{ ml}} = 591,823 \mu\text{g}$$

Dalam 10 ml

$$591,823 \mu\text{g} \times \frac{10 \text{ ml}}{0,15 \text{ ml}} = 39454,926 \mu\text{g} = 39,455 \text{ mg}$$

$$\frac{39,455 \text{ mg} \times 1 \text{ g}}{0,7504 \text{ g}} = 52,578 \text{ mg GAE/g bubuk kopi dalam minuman kopi murni}$$

Rata-rata kadar polifenol:

$$\frac{51,726 + 52,313 + 52,578}{3} = 52,206 \text{ mg GAE/g bubuk kopi dalam minuman}$$

kopi murni

$$SD = 0,436$$

$$CV = \frac{0,436}{52,206} \times 100 \% = 0,835 \%$$

F2. Perhitungan Kadar Polifenol Kopi Robusta dengan Penambahan Gula

1. Replikasi 1

$$0,489 = 0,0954x - 0,0556$$

$$x = 5,709 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Dalam 1,5 ml

$$5,709 \text{ } \mu\text{g/ml} \times 1,5 \text{ ml} = 8,563 \text{ } \mu\text{g}$$

Dalam 10 ml

$$8,563 \text{ } \mu\text{g} \times \frac{10 \text{ ml}}{0,15 \text{ ml}} = 570,859 \text{ } \mu\text{g}$$

Dalam 10 ml

$$570,859 \text{ } \mu\text{g} \times \frac{10 \text{ ml}}{0,15 \text{ ml}} = 38057,303 \text{ } \mu\text{g} = 38,057 \text{ mg}$$

$$\frac{38,057 \text{ mg} \times 1 \text{ g}}{0,7502 \text{ g}} = 50,729 \text{ mg GAE/g bubuk kopi dalam minuman kopi}$$

dengan penambahan gula

2. Replikasi 2

$$0,483 = 0,0954x - 0,0556$$

$$x = 5,646 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Dalam 1,5 ml

$$5,646 \text{ } \mu\text{g/ml} \times 1,5 \text{ ml} = 8,469 \text{ } \mu\text{g}$$

Dalam 10 ml

$$8,469 \text{ } \mu\text{g} \times \frac{10 \text{ ml}}{0,15 \text{ ml}} = 564,57 \text{ } \mu\text{g}$$

Dalam 10 ml

$$564,57 \text{ } \mu\text{g} \times \frac{10 \text{ ml}}{0,15 \text{ ml}} = 37638,015 \text{ } \mu\text{g} = 37,638 \text{ mg}$$

$$\frac{37,638 \text{ mg} \times 1 \text{ g}}{0,7505 \text{ g}} = 50,151 \text{ mg GAE/g bubuk kopi dalam minuman kopi}$$

dengan penambahan gula

3. Replikasi 3

$$0,483 = 0,0954x - 0,0556$$

$$x = 5,646 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Dalam 1,5 ml

$$5,646 \text{ } \mu\text{g/ml} \times 1,5 \text{ ml} = 8,469 \text{ } \mu\text{g}$$

Dalam 10 ml

$$8,469 \text{ } \mu\text{g} \times \frac{10 \text{ ml}}{0,15 \text{ ml}} = 564,57 \text{ } \mu\text{g}$$

Dalam 10 ml

$$564,57 \text{ } \mu\text{g} \times \frac{10 \text{ ml}}{0,15 \text{ ml}} = 37638,015 \text{ } \mu\text{g} = 37,638 \text{ mg}$$

$$\frac{37,638 \text{ mg} \times 1 \text{ g}}{0,7501 \text{ g}} = 50,177 \text{ mg GAE/g bubuk kopi dalam minuman kopi}$$

dengan penambahan gula

Rata-rata kadar polifenol:

$$\frac{50,729 + 50,151 + 50,177}{3} = 50,352 \text{ mg GAE/g bubuk kopi dalam minuman}$$

kopi dengan penambahan gula

$$\text{SD} = 0,326$$

$$\text{CV} = \frac{0,326}{50,352} \times 100 \% = 0,647 \%$$

F3. Perhitungan Kadar Polifenol Kopi Robusta dengan Penambahan Gula + Krimer

1. Replikasi 1

$$0,540 = 0,0954x - 0,0556$$

$$x = 6,243 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Dalam 1,5 ml

$$62,695 \text{ } \mu\text{g/ml} \times 1,5 \text{ ml} = 9,365 \text{ } \mu\text{g}$$

Dalam 10 ml

$$9,365 \mu\text{g} \times \frac{10 \text{ ml}}{0,15 \text{ ml}} = 624,319 \mu\text{g}$$

Dalam 10 ml

$$624,319 \mu\text{g} \times \frac{10 \text{ ml}}{0,15 \text{ ml}} = 41621,244 \mu\text{g} = 41,621 \text{ mg}$$

Dalam 10 ml larutan sampel kopi robusta

$$\frac{15 \text{ g}}{200 \text{ ml}} = \frac{0,75 \text{ g}}{10 \text{ ml}}$$

$$\frac{41,621 \text{ mg} \times 1 \text{ g}}{0,7503 \text{ g}} = 55,472 \text{ mg GAE/g bubuk kopi dalam minuman kopi}$$

dengan penambahan gula dan krimer

2. Replikasi 2

$$0,542 = 0,0954x - 0,0556$$

$$x = 6,264 \mu\text{g/ml}$$

Dalam 1,5 ml

$$6,264 \mu\text{g/ml} \times 1,5 \text{ ml} = 9,396 \mu\text{g}$$

Dalam 10 ml

$$9,396 \mu\text{g} \times \frac{10 \text{ ml}}{0,15 \text{ ml}} = 626,415 \mu\text{g}$$

Dalam 10 ml

$$626,415 \mu\text{g} \times \frac{10 \text{ ml}}{0,15 \text{ ml}} = 41761,006 \mu\text{g} = 41,761 \text{ mg}$$

Dalam 10 ml larutan sampel kopi robusta

$$\frac{15 \text{ g}}{200 \text{ ml}} = \frac{0,75 \text{ g}}{10 \text{ ml}}$$

$$\frac{41,761 \text{ mg} \times 1 \text{ g}}{0,7503 \text{ g}} = 55,659 \text{ mg GAE/g bubuk kopi dalam minuman kopi}$$

dengan penambahan gula dan krimer

3. Replikasi 3

$$0,545 = 0,0954x - 0,0556$$

$$x = 6,296 \mu\text{g/ml}$$

Dalam 1,5 ml

$$6,269 \mu\text{g/ml} \times 1,5 \text{ ml} = 9,443 \mu\text{g}$$

Dalam 10 ml

$$9,443 \mu\text{g} \times \frac{10 \text{ ml}}{0,15 \text{ ml}} = 629,559 \mu\text{g}$$

Dalam 10 ml

$$629,559 \mu\text{g} \times \frac{10 \text{ ml}}{0,15 \text{ ml}} = 41970,649 \mu\text{g} = 41,97 \text{ mg}$$

$$\frac{41,97 \text{ mg} \times 1 \text{ g}}{0,7504 \text{ g}} = 55,931 \text{ mg GAE/g bubuk kopi dalam minuman kopi}$$

dengan penambahan gula dan krimer

Rata-rata kadar polifenol:

$$\frac{55,472 + 55,659 + 55,931}{3} = 55,687 \text{ mg GAE/g bubuk kopi dalam minuman}$$

kopi dengan penambahan gula dan krimer

$$\text{SD} = 0,231$$

$$\text{CV} = \frac{0,231}{55,687} \times 100 \% = 0,415 \%$$

F4. Perhitungan Kadar Polifenol Kopi Robusta dengan Penambahan Gula + Susu

1. Replikasi 1

$$0,510 = 0,0954x - 0,0556$$

$$x = 5,929 \mu\text{g/ml}$$

Dalam 1,5 ml

$$5,929 \mu\text{g/ml} \times 1,5 \text{ ml} = 8,893 \mu\text{g}$$

Dalam 10 ml

$$8,893 \mu\text{g} \times \frac{10 \text{ ml}}{0,15 \text{ ml}} = 592,872 \mu\text{g}$$

Dalam 10 ml

$$592,872 \mu\text{g} \times \frac{10 \text{ ml}}{0,15 \text{ ml}} = 39524,808 \mu\text{g} = 39,525 \text{ mg}$$

Dalam 10 ml larutan sampel kopi robusta

$$\frac{15 \text{ g}}{200 \text{ ml}} = \frac{0,75 \text{ g}}{10 \text{ ml}}$$

$$\frac{39,525 \text{ mg} \times 1 \text{ g}}{0,7503 \text{ g}} = 52,679 \text{ mg GAE/g bubuk kopi dalam minuman kopi}$$

dengan penambahan gula dan susu

2. Replikasi 2

$$0,512 = 0,0954x - 0,0556$$

$$x = 5,949 \mu\text{g/ml}$$

Dalam 1,5 ml

$$5,949 \mu\text{g/ml} \times 1,5 \text{ ml} = 8,925 \mu\text{g}$$

Dalam 10 ml

$$8,925 \mu\text{g} \times \frac{10 \text{ ml}}{0,15 \text{ ml}} = 594,969 \mu\text{g}$$

Dalam 10 ml

$$594,969 \mu\text{g} \times \frac{10 \text{ ml}}{0,15 \text{ ml}} = 39664,57 \mu\text{g} = 39.665 \text{ mg}$$

Dalam 10 ml larutan sampel kopi robusta

$$\frac{15 \text{ g}}{200 \text{ ml}} = \frac{0,75 \text{ g}}{10 \text{ ml}}$$

$$\frac{39.665 \text{ mg} \times 1 \text{ g}}{0,7504 \text{ g}} = 52,858 \text{ mg GAE/g bubuk kopi dalam minuman kopi}$$

dengan penambahan gula dan susu

3. Replikasi 3

$$0,513 = 0,0954x - 0,0556$$

$$x = 5,960 \mu\text{g/ml}$$

Dalam 1,5 ml

$$5,960 \mu\text{g/ml} \times 1,5 \text{ ml} = 8,94 \mu\text{g}$$

Dalam 10 ml

$$8,94 \mu\text{g} \times \frac{10 \text{ ml}}{0,15 \text{ ml}} = 596,017 \mu\text{g}$$

Dalam 10 ml

$$596,017 \mu\text{g} \times \frac{10 \text{ ml}}{0,15 \text{ ml}} = 39734,451 \mu\text{g} = 39,734 \text{ mg}$$

$$\frac{39,734 \text{ mg} \times 1 \text{ g}}{0,7502 \text{ g}} = 52,964 \text{ mg GAE/g bubuk kopi dalam minuman kopi}$$

dengan penambahan gula dan susu

Rata-rata kadar polifenol:

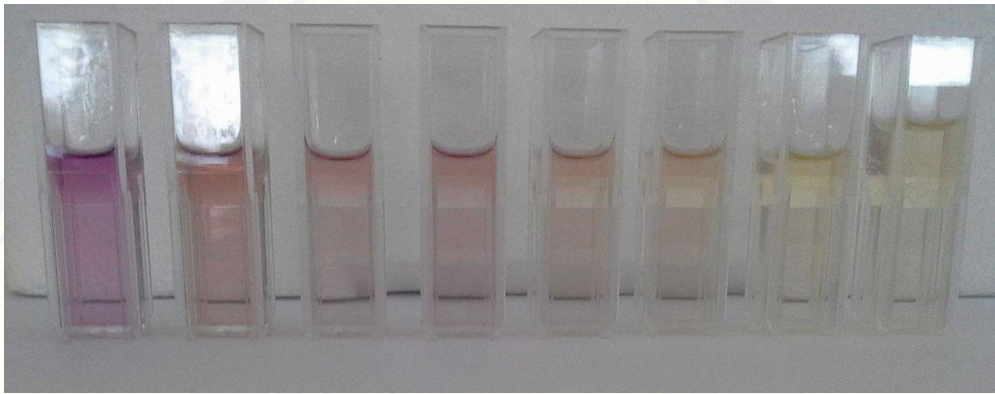
$$\frac{52,679 + 52,858 + 52,964}{3} = 52,834 \text{ mg GAE/g bubuk kopi dalam minuman}$$

kopi dengan penambahan gula dan susu

$$SD = 0,144$$

$$CV = \frac{0,144}{52,834} \times 100 \% = 0,276 \%$$

Lampiran G. Gambar Pengujian Aktivitas Antioksidan



Lampiran H. Perhitungan Bahan Pengujian Aktivitas Antioksidan

H1. Pembuatan Larutan DPPH 0,1 mM

Konsentrasi DPPH = 40 µg/ml (Singh dkk., 2008)

MR DPPH (C₁₈H₁₂N₅O₆) = 394,33 (Molyneux, 2004)

$$0,1 \text{ mM} = 0,0001 \text{ M}$$

$$= 0,0001 \text{ mol/L}$$

$$= \frac{0,0001 \frac{\text{g}}{\text{Mr}}}{\text{L}}$$

$$= \frac{0,0001 \text{ g} \times 394,33}{\text{L}}$$

$$= 39,433 \text{ mg/L}$$

$$= 39,433 \text{ µg/ml (40 µg/ml)}$$

$$2 \text{ mg DPPH dilarutkan dengan } 50 \text{ ml metanol} = \frac{2 \text{ mg}}{50 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1}$$

$$= 40 \text{ µg/1ml}$$

H2. Pembuatan Larutan Kontrol Positif (Vitamin C)

1. Replikasi 1 dan Replikasi 2

$$\text{Larutan Induk } \frac{25,2 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 1008 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Pengenceran

$$\frac{0,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1008 \text{ } \mu\text{g/ml} = 50,4 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1008 \text{ } \mu\text{g/ml} = 100,8 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

a) $\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 50,4 \text{ } \mu\text{g/ml} = 5,04 \text{ } \mu\text{g/ml}$

b) $\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 50,4 \text{ } \mu\text{g/ml} = 15,12 \text{ } \mu\text{g/ml}$

c) $\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 50,4 \text{ } \mu\text{g/ml} = 25,2 \text{ } \mu\text{g/ml}$

d) $\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 100,8 \text{ } \mu\text{g/ml} = 10,08 \text{ } \mu\text{g/ml}$

e) $\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 100,8 \text{ } \mu\text{g/ml} = 20,16 \text{ } \mu\text{g/ml}$

f) $\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 100,8 \text{ } \mu\text{g/ml} = 30,24 \text{ } \mu\text{g/ml}$

2. Replikasi 3

$$\text{Larutan Induk } \frac{25,1 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 1004 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Pengenceran

$$\frac{0,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1004 \text{ } \mu\text{g/ml} = 50,2 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1004 \text{ } \mu\text{g/ml} = 100,4 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

a) $\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 50,2 \text{ } \mu\text{g/ml} = 5,02 \text{ } \mu\text{g/ml}$

b) $\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 50,2 \text{ } \mu\text{g/ml} = 15,06 \text{ } \mu\text{g/ml}$

c) $\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 50,2 \text{ } \mu\text{g/ml} = 25,1 \text{ } \mu\text{g/ml}$

d) $\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 100,4 \text{ } \mu\text{g/ml} = 10,04 \text{ } \mu\text{g/ml}$

e) $\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 100,4 \text{ } \mu\text{g/ml} = 20,08 \text{ } \mu\text{g/ml}$

f) $\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 100,4 \text{ } \mu\text{g/ml} = 30,12 \text{ } \mu\text{g/ml}$

H3. Pembuatan Larutan Sampel Kopi Robusta Murni

1. Replikasi 1

$$\text{Larutan Induk } \frac{0,7503 \text{ g}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 75030 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Pengenceran

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 75030 \text{ } \mu\text{g/ml} = 7503 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\text{a) } \frac{200 \text{ } \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7503 \text{ } \mu\text{g/ml} = 150,06 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\text{b) } \frac{250 \text{ } \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7503 \text{ } \mu\text{g/ml} = 187,575 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\text{c) } \frac{300 \text{ } \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7503 \text{ } \mu\text{g/ml} = 225,09 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\text{d) } \frac{350 \text{ } \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7503 \text{ } \mu\text{g/ml} = 262,605 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\text{e) } \frac{450 \text{ } \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7503 \text{ } \mu\text{g/ml} = 337,635 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\text{f) } \frac{500 \text{ } \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7503 \text{ } \mu\text{g/ml} = 375,15 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

2. Replikasi 2

$$\text{Larutan Induk } \frac{0,7504 \text{ g}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 75040 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Pengenceran

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 75040 \text{ } \mu\text{g/ml} = 7504 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\text{a) } \frac{200 \text{ } \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7504 \text{ } \mu\text{g/ml} = 150,08 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\text{b) } \frac{250 \text{ } \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7504 \text{ } \mu\text{g/ml} = 187,6 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\text{c) } \frac{350 \text{ } \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7504 \text{ } \mu\text{g/ml} = 262,64 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\text{d) } \frac{400 \text{ } \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7504 \text{ } \mu\text{g/ml} = 300,16 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\text{e) } \frac{450 \text{ } \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7504 \text{ } \mu\text{g/ml} = 337,68 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\text{f) } \frac{500 \text{ } \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7504 \text{ } \mu\text{g/ml} = 375,2 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

3. Replikasi 3

$$\text{Larutan Induk } \frac{0,7504 \text{ g}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 75040 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Pengenceran

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 75040 \text{ } \mu\text{g/ml} = 7504 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\text{a) } \frac{200 \text{ } \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7504 \text{ } \mu\text{g/ml} = 150,08 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\text{b) } \frac{250 \text{ } \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7504 \text{ } \mu\text{g/ml} = 187,6 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\text{c) } \frac{300 \text{ } \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7504 \text{ } \mu\text{g/ml} = 225,12 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\text{d) } \frac{350 \text{ } \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7504 \text{ } \mu\text{g/ml} = 262,64 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\text{e) } \frac{450 \text{ } \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7504 \text{ } \mu\text{g/ml} = 337,68 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\text{f) } \frac{500 \text{ } \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7504 \text{ } \mu\text{g/ml} = 375,2 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

H4. Pembuatan Larutan Sampel Kopi Robusta dengan Penambahan Gula

1. Replikasi 1

$$\text{Larutan Induk } \frac{0,7505 \text{ g}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 75050 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Pengenceran

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 75050 \text{ } \mu\text{g/ml} = 7505 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\text{a) } \frac{200 \text{ } \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7505 \text{ } \mu\text{g/ml} = 150,1 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\text{b) } \frac{250 \text{ } \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7505 \text{ } \mu\text{g/ml} = 187,625 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\text{c) } \frac{300 \text{ } \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7505 \text{ } \mu\text{g/ml} = 225,15 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\text{d) } \frac{350 \text{ } \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7505 \text{ } \mu\text{g/ml} = 262,675 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\text{e) } \frac{450 \text{ } \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7505 \text{ } \mu\text{g/ml} = 337,725 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\text{f) } \frac{500 \text{ } \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7505 \text{ } \mu\text{g/ml} = 375,25 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

2. Replikasi 2

$$\text{Larutan Induk } \frac{0,7503 \text{ g}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 75030 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Pengenceran

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 75030 \text{ } \mu\text{g/ml} = 7503 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

- a) $\frac{200 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7503 \mu\text{g/ml} = 150,06 \mu\text{g/ml}$
- b) $\frac{250 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7503 \mu\text{g/ml} = 187,575 \mu\text{g/ml}$
- c) $\frac{300 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7503 \mu\text{g/ml} = 225,09 \mu\text{g/ml}$
- d) $\frac{350 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7503 \mu\text{g/ml} = 262,605 \mu\text{g/ml}$
- e) $\frac{450 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7503 \mu\text{g/ml} = 337,635 \mu\text{g/ml}$
- f) $\frac{500 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7503 \mu\text{g/ml} = 375,15 \mu\text{g/ml}$

3. Replikasi 3

$$\text{Larutan Induk } \frac{0,7504 \text{ g}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 75040 \mu\text{g/ml}$$

Pengenceran

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 75040 \mu\text{g/ml} = 7504 \mu\text{g/ml}$$

- a) $\frac{200 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7504 \mu\text{g/ml} = 150,08 \mu\text{g/ml}$
- b) $\frac{250 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7504 \mu\text{g/ml} = 187,6 \mu\text{g/ml}$
- c) $\frac{300 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7504 \mu\text{g/ml} = 225,12 \mu\text{g/ml}$
- d) $\frac{350 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7504 \mu\text{g/ml} = 262,64 \mu\text{g/ml}$
- e) $\frac{450 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7504 \mu\text{g/ml} = 337,68 \mu\text{g/ml}$
- f) $\frac{500 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7504 \mu\text{g/ml} = 375,2 \mu\text{g/ml}$

H5. Pembuatan Larutan Sampel Kopi Robusta dengan Penambahan Gula+ Krimer

1. Replikasi 1

$$\text{Larutan Induk } \frac{0,7504 \text{ g}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 75040 \mu\text{g/ml}$$

Pengenceran

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 75040 \mu\text{g/ml} = 7504 \mu\text{g/ml}$$

- a) $\frac{200 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7504 \mu\text{g/ml} = 150,08 \mu\text{g/ml}$

- b) $\frac{250 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7504 \mu\text{g/ml} = 187,6 \mu\text{g/ml}$
- c) $\frac{300 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7504 \mu\text{g/ml} = 225,12 \mu\text{g/ml}$
- d) $\frac{350 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7504 \mu\text{g/ml} = 262,64 \mu\text{g/ml}$
- e) $\frac{450 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7504 \mu\text{g/ml} = 337,68 \mu\text{g/ml}$
- f) $\frac{500 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7504 \mu\text{g/ml} = 375,2 \mu\text{g/ml}$

2. Replikasi 2

$$\text{Larutan Induk } \frac{0,7503 \text{ g}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 75030 \mu\text{g/ml}$$

Pengenceran

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 75030 \mu\text{g/ml} = 7503 \mu\text{g/ml}$$

- a) $\frac{200 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7503 \mu\text{g/ml} = 150,06 \mu\text{g/ml}$
- b) $\frac{250 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7503 \mu\text{g/ml} = 187,575 \mu\text{g/ml}$
- c) $\frac{300 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7503 \mu\text{g/ml} = 225,09 \mu\text{g/ml}$
- d) $\frac{350 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7503 \mu\text{g/ml} = 262,605 \mu\text{g/ml}$
- e) $\frac{450 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7503 \mu\text{g/ml} = 337,635 \mu\text{g/ml}$
- f) $\frac{500 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7503 \mu\text{g/ml} = 375,15 \mu\text{g/ml}$

3. Replikasi 3

$$\text{Larutan Induk } \frac{0,7503 \text{ g}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 75030 \mu\text{g/ml}$$

Pengenceran

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 75030 \mu\text{g/ml} = 7503 \mu\text{g/ml}$$

- a) $\frac{200 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7503 \mu\text{g/ml} = 150,06 \mu\text{g/ml}$
- b) $\frac{250 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7503 \mu\text{g/ml} = 187,575 \mu\text{g/ml}$
- c) $\frac{300 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7503 \mu\text{g/ml} = 225,09 \mu\text{g/ml}$

- d) $\frac{350 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7503 \mu\text{g/ml} = 262,605 \mu\text{g/ml}$
- e) $\frac{450 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7503 \mu\text{g/ml} = 337,635 \mu\text{g/ml}$
- f) $\frac{500 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7503 \mu\text{g/ml} = 375,15 \mu\text{g/ml}$

H6. Pembuatan Larutan Sampel Kopi Robusta Robusta dengan Penambahan Gula+Susu

1. Replikasi 1

$$\text{Larutan Induk } \frac{0,7503 \text{ g}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 75030 \mu\text{g/ml}$$

Pengenceran

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 75030 \mu\text{g/ml} = 7503 \mu\text{g/ml}$$

- a) $\frac{200 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7503 \mu\text{g/ml} = 150,06 \mu\text{g/ml}$
- b) $\frac{250 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7503 \mu\text{g/ml} = 187,575 \mu\text{g/ml}$
- c) $\frac{300 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7503 \mu\text{g/ml} = 225,09 \mu\text{g/ml}$
- d) $\frac{350 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7503 \mu\text{g/ml} = 262,605 \mu\text{g/ml}$
- e) $\frac{400 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7503 \mu\text{g/ml} = 300,12 \mu\text{g/ml}$
- f) $\frac{500 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7503 \mu\text{g/ml} = 375,15 \mu\text{g/ml}$

2. Replikasi 2

$$\text{Larutan Induk } \frac{0,7504 \text{ g}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 75040 \mu\text{g/ml}$$

Pengenceran

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 75040 \mu\text{g/ml} = 7504 \mu\text{g/ml}$$

- a) $\frac{200 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7504 \mu\text{g/ml} = 150,08 \mu\text{g/ml}$
- b) $\frac{250 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7504 \mu\text{g/ml} = 187,6 \mu\text{g/ml}$
- c) $\frac{300 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7504 \mu\text{g/ml} = 225,12 \mu\text{g/ml}$
- d) $\frac{350 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7504 \mu\text{g/ml} = 262,64 \mu\text{g/ml}$

- e) $\frac{400 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7504 \mu\text{g/ml} = 300,16 \mu\text{g/ml}$
- f) $\frac{500 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7504 \mu\text{g/ml} = 375,2 \mu\text{g/ml}$

3. Replikasi 3

$$\text{Larutan Induk } \frac{0,7505 \text{ g}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 75050 \mu\text{g/ml}$$

Pengenceran

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 75050 \mu\text{g/ml} = 7505 \mu\text{g/ml}$$

- a) $\frac{200 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7505 \mu\text{g/ml} = 150,1 \mu\text{g/ml}$
- b) $\frac{250 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7505 \mu\text{g/ml} = 187,625 \mu\text{g/ml}$
- c) $\frac{300 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7505 \mu\text{g/ml} = 225,15 \mu\text{g/ml}$
- d) $\frac{350 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7505 \mu\text{g/ml} = 262,675 \mu\text{g/ml}$
- e) $\frac{400 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7505 \mu\text{g/ml} = 300,2 \mu\text{g/ml}$
- f) $\frac{500 \mu\text{l}}{10 \text{ ml}} \times 7505 \mu\text{g/ml} = 375,25 \mu\text{g/ml}$

Lampiran I. Pengujian Peredaman Radikal Bebas

Larutan standar dan larutan sampel ml ditambahkan larutan DPPH ad 1,5 ml

I1. Larutan Pembanding (Vitamin C)

1. Replikasi 1 dan 2

- a) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 5,04 \mu\text{g/ml} = 1,008 \mu\text{g/ml}$
- b) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 10,08 \mu\text{g/ml} = 2,016 \mu\text{g/ml}$
- c) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 15,12 \mu\text{g/ml} = 3,024 \mu\text{g/ml}$
- d) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 20,16 \mu\text{g/ml} = 4,032 \mu\text{g/ml}$
- e) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 25,2 \mu\text{g/ml} = 5,04 \mu\text{g/ml}$
- f) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 30,24 \mu\text{g/ml} = 6,048 \mu\text{g/ml}$

2. Replikasi 3

- a) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 5,02 \text{ } \mu\text{g/ml} = 1,004 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- b) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 10,04 \text{ } \mu\text{g/ml} = 2,008 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- c) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 15,06 \text{ } \mu\text{g/ml} = 3,012 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- d) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 25,1 \text{ } \mu\text{g/ml} = 5,02 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- e) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 20,08 \text{ } \mu\text{g/ml} = 4,016 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- f) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 30,12 \text{ } \mu\text{g/ml} = 6,024 \text{ } \mu\text{g/ml}$

I2. Larutan Sampel Kopi Robusta Murni dalam Kuvet

Replikasi 1

- a) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 150,06 \text{ } \mu\text{g/ml} = 30,012 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- b) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 187,575 \text{ } \mu\text{g/ml} = 37,515 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- c) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 225,09 \text{ } \mu\text{g/ml} = 45,018 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- d) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 262,605 \text{ } \mu\text{g/ml} = 52,521 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- e) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 337,635 \text{ } \mu\text{g/ml} = 67,527 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- f) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 375,15 \text{ } \mu\text{g/ml} = 75,03 \text{ } \mu\text{g/ml}$

Replikasi 2

- a) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 150,08 \text{ } \mu\text{g/ml} = 30,016 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- b) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 187,6 \text{ } \mu\text{g/ml} = 37,52 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- c) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 262,64 \text{ } \mu\text{g/ml} = 52,528 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- d) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 300,16 \text{ } \mu\text{g/ml} = 60,032 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- e) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 337,68 \text{ } \mu\text{g/ml} = 67,536 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- f) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 375,2 \text{ } \mu\text{g/ml} = 75,04 \text{ } \mu\text{g/ml}$

Replikasi 3

- a) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 150,08 \text{ } \mu\text{g/ml} = 30,016 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- b) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 187,6 \text{ } \mu\text{g/ml} = 37,52 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- c) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 225,12 \text{ } \mu\text{g/ml} = 45,024 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- d) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 262,64 \text{ } \mu\text{g/ml} = 52,528 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- e) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 337,68 \text{ } \mu\text{g/ml} = 67,536 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- f) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 375,2 \text{ } \mu\text{g/ml} = 75,04 \text{ } \mu\text{g/ml}$

I3. Larutan Sampel Kopi Robusta dengan Penambahan Gula dalam Kuvet

Replikasi 1

- a) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 150,1 \text{ } \mu\text{g/ml} = 30,02 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- b) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 187,625 \text{ } \mu\text{g/ml} = 37,525 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- c) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 225,15 \text{ } \mu\text{g/ml} = 45,03 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- d) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 262,675 \text{ } \mu\text{g/ml} = 52,535 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- e) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 337,725 \text{ } \mu\text{g/ml} = 67,545 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- f) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 375,25 \text{ } \mu\text{g/ml} = 75,05 \text{ } \mu\text{g/ml}$

Replikasi 2

- a) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 150,06 \text{ } \mu\text{g/ml} = 30,012 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- b) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 187,575 \text{ } \mu\text{g/ml} = 37,515 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- c) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 225,09 \text{ } \mu\text{g/ml} = 45,018 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- d) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 262,605 \text{ } \mu\text{g/ml} = 52,521 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- e) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 337,635 \text{ } \mu\text{g/ml} = 67,527 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- f) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 375,15 \text{ } \mu\text{g/ml} = 75,03 \text{ } \mu\text{g/ml}$

Replikasi 3

- a) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 150,08 \text{ } \mu\text{g/ml} = 30,016 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- b) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 187,6 \text{ } \mu\text{g/ml} = 37,52 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- c) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 225,12 \text{ } \mu\text{g/ml} = 45,024 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- d) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 262,64 \text{ } \mu\text{g/ml} = 52,528 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- e) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 337,68 \text{ } \mu\text{g/ml} = 67,536 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- f) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 375,2 \text{ } \mu\text{g/ml} = 75,04 \text{ } \mu\text{g/ml}$

I4. Larutan Sampel Kopi Robusta dengan Penambahan Gula+ Krimer dalam Kuvet

Replikasi 1

- a) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 150,08 \text{ } \mu\text{g/ml} = 30,016 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- b) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 187,6 \text{ } \mu\text{g/ml} = 37,52 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- c) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 225,12 \text{ } \mu\text{g/ml} = 45,024 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- d) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 262,64 \text{ } \mu\text{g/ml} = 52,528 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- e) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 337,68 \text{ } \mu\text{g/ml} = 67,536 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- f) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 375,2 \text{ } \mu\text{g/ml} = 75,04 \text{ } \mu\text{g/ml}$

Replikasi 2

- a) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 150,06 \text{ } \mu\text{g/ml} = 30,012 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- b) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 187,575 \text{ } \mu\text{g/ml} = 37,515 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- c) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 225,09 \text{ } \mu\text{g/ml} = 45,018 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- d) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 262,605 \text{ } \mu\text{g/ml} = 52,521 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- e) $\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 337,635 \text{ } \mu\text{g/ml} = 67,527 \text{ } \mu\text{g/ml}$

$$f) \frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 375,15 \mu\text{g/ml} = 75,03 \mu\text{g/ml}$$

Replikasi 3

$$a) \frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 150,06 \mu\text{g/ml} = 30,012 \mu\text{g/ml}$$

$$b) \frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 187,575 \mu\text{g/ml} = 37,515 \mu\text{g/ml}$$

$$c) \frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 225,09 \mu\text{g/ml} = 45,018 \mu\text{g/ml}$$

$$d) \frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 262,605 \mu\text{g/ml} = 52,521 \mu\text{g/ml}$$

$$e) \frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 337,635 \mu\text{g/ml} = 67,527 \mu\text{g/ml}$$

$$f) \frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 375,15 \mu\text{g/ml} = 75,03 \mu\text{g/ml}$$

I5. Larutan Sampel Kopi Robusta Robusta dengan Penambahan Gula+Susu dalam Kuvet

Replikasi 1

$$a) \frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 150,06 \mu\text{g/ml} = 30,012 \mu\text{g/ml}$$

$$b) \frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 187,575 \mu\text{g/ml} = 37,515 \mu\text{g/ml}$$

$$c) \frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 225,09 \mu\text{g/ml} = 45,018 \mu\text{g/ml}$$

$$d) \frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 262,605 \mu\text{g/ml} = 52,521 \mu\text{g/ml}$$

$$e) \frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 300,12 \mu\text{g/ml} = 60,024 \mu\text{g/ml}$$

$$f) \frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 375,15 \mu\text{g/ml} = 75,03 \mu\text{g/ml}$$

Replikasi 2

$$a) \frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 150,08 \mu\text{g/ml} = 30,016 \mu\text{g/ml}$$

$$b) \frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 187,6 \mu\text{g/ml} = 37,52 \mu\text{g/ml}$$

$$c) \frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 225,12 \mu\text{g/ml} = 45,024 \mu\text{g/ml}$$

$$d) \frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 262,64 \text{ } \mu\text{g/ml} = 52,528 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$e) \frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 300,16 \text{ } \mu\text{g/ml} = 60,032 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$f) \frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 375,2 \text{ } \mu\text{g/ml} = 75,04 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Replikasi 3

$$a) \frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 150,1 \text{ } \mu\text{g/ml} = 30,02 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$b) \frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 187,625 \text{ } \mu\text{g/ml} = 37,525 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$c) \frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 225,15 \text{ } \mu\text{g/ml} = 45,03 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$d) \frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 262,675 \text{ } \mu\text{g/ml} = 52,535 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$e) \frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 300,2 \text{ } \mu\text{g/ml} = 60,04 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$f) \frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 375,25 \text{ } \mu\text{g/ml} = 75,05 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Lampiran J. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH dan Waktu Inkubasi

J1. Penentuan Panjang gelombang Maksimum DPPH

Scan panjang gelombang

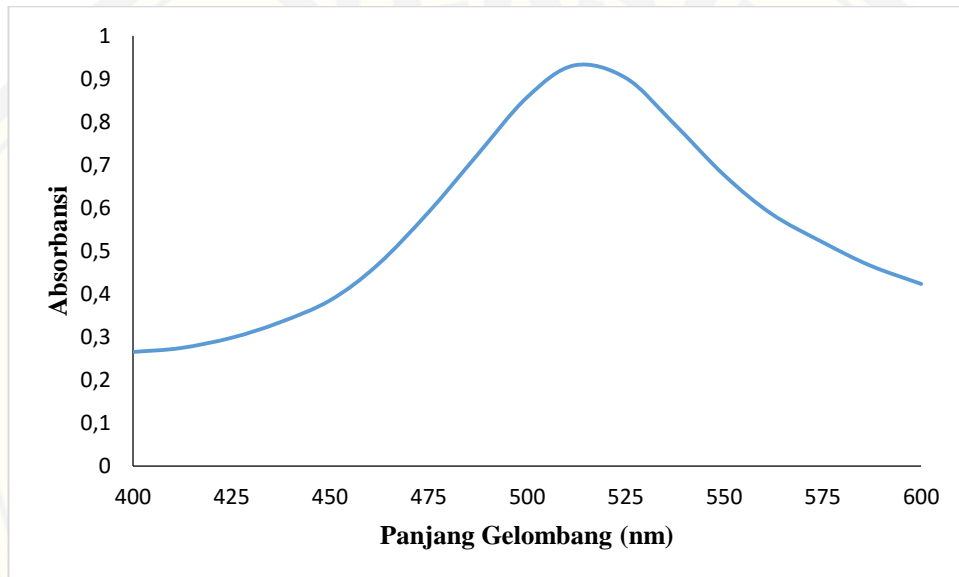
Data Mode : ABS

Scan Range : 400-600 nm

Slit Width : 4 nm

Speed (nm/min) : 800 nm/min

Lamp Change Wavelength : 340.0 nm



U-1800 Spectrophotometer

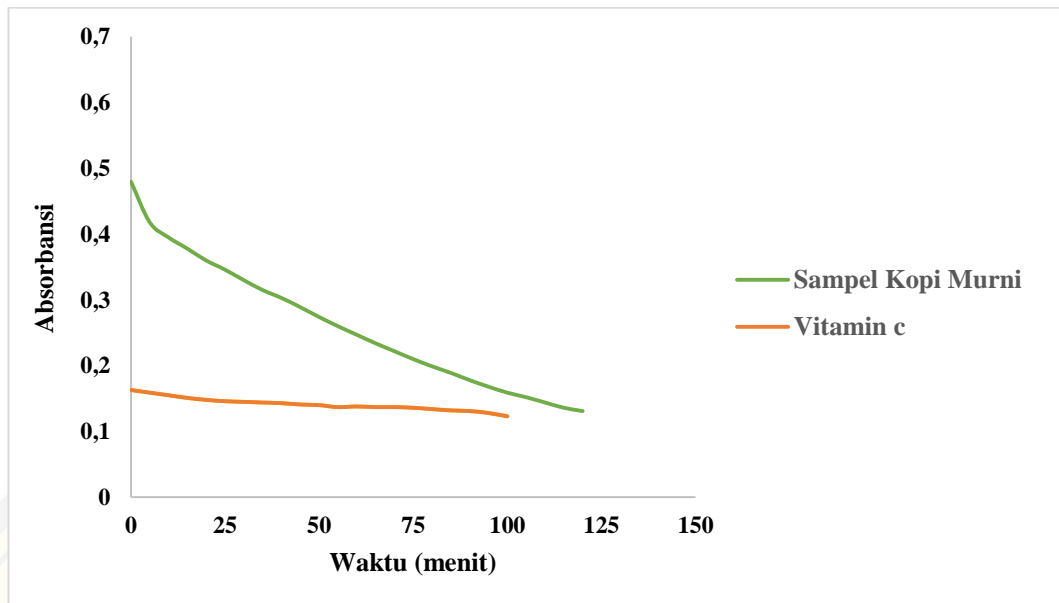
Serial NUM: 5730118
 ROM Version: 07
 Sample Name:
 Date:
 Operator:

Wavelength Scan
 Data Mode: ABS
 Scan Range: 800.0-400.0nm
 Slit Width: 4nm
 Speed(nm/min): 800nm/min
 Lamp Change Wavelength: 340.0nm
 Path Length:

ALL Data

WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS
800.0	0.423	599.0	0.416	598.0	0.414	597.0	0.417
596.0	0.420	595.0	0.423	594.0	0.427	593.0	0.432
592.0	0.437	591.0	0.443	590.0	0.449	589.0	0.455
588.0	0.461	587.0	0.466	586.0	0.472	585.0	0.479
584.0	0.485	583.0	0.492	582.0	0.496	581.0	0.499
580.0	0.503	579.0	0.506	578.0	0.510	577.0	0.513
576.0	0.517	575.0	0.520	574.0	0.524	573.0	0.528
572.0	0.532	571.0	0.536	570.0	0.541	569.0	0.546
568.0	0.551	567.0	0.556	566.0	0.562	565.0	0.568
564.0	0.574	563.0	0.580	562.0	0.586	561.0	0.593
560.0	0.599	559.0	0.606	558.0	0.612	557.0	0.619
556.0	0.626	555.0	0.633	554.0	0.641	553.0	0.649
552.0	0.659	551.0	0.668	550.0	0.678	549.0	0.685
548.0	0.695	547.0	0.704	546.0	0.713	545.0	0.721
544.0	0.731	543.0	0.741	542.0	0.751	541.0	0.761
540.0	0.769	539.0	0.780	538.0	0.789	537.0	0.798
536.0	0.807	535.0	0.817	534.0	0.827	533.0	0.837
532.0	0.846	531.0	0.855	530.0	0.864	529.0	0.873
528.0	0.880	527.0	0.888	526.0	0.896	525.0	0.902
524.0	0.908	523.0	0.914	522.0	0.919	521.0	0.923
520.0	0.927	519.0	0.930	518.0	0.932	517.0	0.935
516.0	0.935	515.0	0.935	514.0	0.934	513.0	0.933
512.0	0.931	511.0	0.928	510.0	0.924	509.0	0.919
508.0	0.914	507.0	0.909	506.0	0.903	505.0	0.897
504.0	0.880	503.0	0.882	502.0	0.874	501.0	0.866
500.0	0.857	499.0	0.848	498.0	0.838	497.0	0.828
496.0	0.818	495.0	0.807	494.0	0.795	493.0	0.784
492.0	0.772	491.0	0.761	490.0	0.750	489.0	0.740
488.0	0.729	487.0	0.719	486.0	0.708	485.0	0.697
484.0	0.686	483.0	0.675	482.0	0.664	481.0	0.653
480.0	0.642	479.0	0.632	478.0	0.621	477.0	0.611
476.0	0.600	475.0	0.590	474.0	0.579	473.0	0.568
472.0	0.559	471.0	0.549	470.0	0.539	469.0	0.530
468.0	0.521	467.0	0.512	466.0	0.503	465.0	0.494
464.0	0.485	463.0	0.476	462.0	0.467	461.0	0.459
460.0	0.452	459.0	0.445	458.0	0.437	457.0	0.430
456.0	0.424	455.0	0.417	454.0	0.411	453.0	0.404
452.0	0.397	451.0	0.391	450.0	0.385	449.0	0.380
448.0	0.375	447.0	0.370	446.0	0.366	445.0	0.362
444.0	0.358	443.0	0.354	442.0	0.350	441.0	0.346
440.0	0.343	439.0	0.339	438.0	0.336	437.0	0.333
436.0	0.330	435.0	0.327	434.0	0.323	433.0	0.320
432.0	0.317	431.0	0.315	430.0	0.312	429.0	0.309
428.0	0.307	427.0	0.304	426.0	0.301	425.0	0.298
424.0	0.296	423.0	0.293	422.0	0.291	421.0	0.289
420.0	0.287	419.0	0.285	418.0	0.283	417.0	0.281
416.0	0.280	415.0	0.278	414.0	0.277	413.0	0.276
412.0	0.274	411.0	0.272	410.0	0.271	409.0	0.269
408.0	0.268	407.0	0.267	406.0	0.266	405.0	0.265
404.0	0.265	403.0	0.265	402.0	0.265	401.0	0.265
400.0	0.265						

J2. Penentuan Waktu Inkubasi



Menit (Waktu)	Absorbansi	
	Kopi Murni 45 $\mu\text{g/ml}$	Vitamin C 4 $\mu\text{g/ml}$
0	0,48	0,123
5	0,418	0,128
10	0,395	0,131
15	0,378	0,132
20	0,36	0,134
25	0,346	0,136
30	0,33	0,137
35	0,315	0,137
40	0,303	0,138
45	0,289	0,137
50	0,274	0,140
55	0,26	0,141
60	0,247	0,143

65	0,234	0,144
70	0,222	0,145
75	0,21	0,146
80	0,199	0,148
85	0,189	0,151
90	0,178	0,155
95	0,168	0,159
100	0,159	0,163
105	0,152	-
110	0,144	-
115	0,136	-
120	0,131	-

J3. Lampiran Perhitungan Peredaman dan IC₅₀

$$\text{Peredaman} = \frac{A \text{ Kontrol} - A \text{ Sampel}}{A \text{ kontrol}} \times 100 \%$$

Larutan Sampel	IC ₅₀	Rata-rata IC ₅₀	SD	RSD (%)
Kopi Robusta	3.416 µg/ml			
Vitamin C	3,511 µg/ml 3,538 µg/ml	3,488 µg/ml	0,064	1,834
Murni	51,732 µg/ml 51,842 µg/ml 52,043 µg/ml	51,872 µg/ml	0,158	0,305
Penambahan Gula	54,745 µg/ml 54,569 µg/ml 54,033 µg/ml	54,449 µg/ml	0,371	0,681

Penambahan	38,854 µg/ml			
Gula + Krimer	38,886 µg/ml	38,776 µg/ml	0,145	0,374
	38,609 µg/ml			
Penambahan	49,486 µg/ml			
Gula + Susu	50,006 µg/ml	49,603 µg/ml	0,359	0,723
	49,316 µg/ml			

J3.1. Perhitungan % Peredaman dan IC₅₀ Vitamin C

1. Replikasi 1

Konsentrasi (µg/ml)	Absorbansi	Peredaman (%)
1,008	0,753	13,349
2,016	0,637	26,697
3,024	0,495	43,038
4,032	0,340	60,897
5,040	0,199	77,1
6,048	0,092	89,413

Absorbansi kontrol = 0,869

Perhitungan peredaman:

$$a) 1,008 \mu\text{g/ml} = \frac{0,869 - 0,753}{0,869} \times 100\% = 13,349\%$$

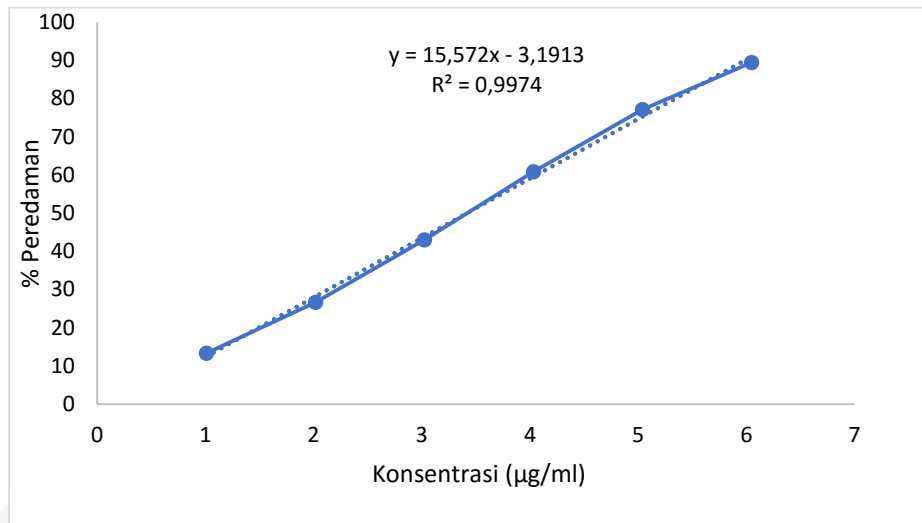
$$b) 2,016 \mu\text{g/ml} = \frac{0,869 - 0,637}{0,869} \times 100\% = 26,697 \%$$

$$c) 3,024 \mu\text{g/ml} = \frac{0,869 - 0,495}{0,869} \times 100\% = 43,038 \%$$

$$d) 4,032 \mu\text{g/ml} = \frac{0,869 - 0,340}{0,869} \times 100\% = 60,897 \%$$

$$e) 5,040 \mu\text{g/ml} = \frac{0,869 - 0,199}{0,869} \times 100\% = 77,1 \%$$

$$f) 6,048 \mu\text{g/ml} = \frac{0,869 - 0,092}{0,869} \times 100\% = 89,413 \%$$



Persamaan Regresi : $y = 15,572x - 3,1913$

$$R^2 = 0,9974$$

$$r \text{ hitung} = 0,9986$$

$$r \text{ tabel} = 0,9172$$

Perhitungan IC_{50}

$$50 = 15,572x - 3,1913$$

$$x = \frac{50 + 3,1913}{15,572}$$

$$x = 3,416$$

$$IC_{50} = 3,416 \mu\text{g/ml}$$

2. Replikasi 2

Konsentrasi (µg/ml)	Absorbansi	Peredaman (%)
1,008	0,754	13,234
2,016	0,650	25,201
3,024	0,503	42,117
4,032	0,340	60,874
5,040	0,223	74,338
6,048	0,124	85,750

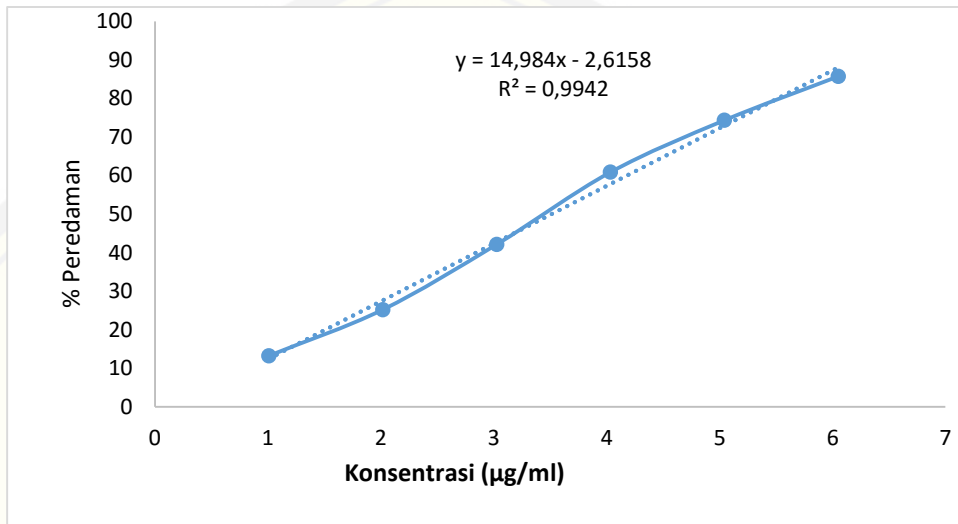
Absorbansi kontrol = 0,869

Perhitungan peredaman:

$$\text{a) } 1,008 \mu\text{g/ml} = \frac{0,869 - 0,754}{0,869} \times 100\% = 13,234\%$$

$$\text{b) } 2,016 \mu\text{g/ml} = \frac{0,869 - 0,650}{0,869} \times 100\% = 25,201\%$$

- c) $3,024 \mu\text{g/ml} = \frac{0,869-0,503}{0,869} \times 100\% = 42,117 \%$
- d) $4,032 \mu\text{g/ml} = \frac{0,869-0,340}{0,869} \times 100\% = 60,874 \%$
- e) $5,040 \mu\text{g/ml} = \frac{0,869-0,223}{0,869} \times 100\% = 74,338 \%$
- f) $6,048 \mu\text{g/ml} = \frac{0,869-0,124}{0,869} \times 100\% = 85,750 \%$



Persamaan Regresi : $y = 14,984x - 2,6158$

$$R^2 = 0,9942$$

$$r \text{ hitung} = 0,9971$$

$$r \text{ tabel} = 0,9172$$

Perhitungan IC₅₀

$$50 = 14,984x - 2,6158$$

$$x = \frac{50+2,6158}{14,984}$$

$$x = 3,511$$

$$IC_{50} = 3,511 \mu\text{g/ml}$$

3. Replikasi 3

Konsentrasi (µg/ml)	Absorbansi	Peredaman (%)
1,004	0,764	12,083
2,008	0,619	28,769
3,012	0,487	43,958
4,016	0,377	56,617
5,02	0,234	73,072
6,024	0144	80,437

Absorbansi kontrol = 0,869

Perhitungan peredaman:

$$a) 1,004 \mu\text{g/ml} = \frac{0,869-0,764}{0,869} \times 100\% = 12,083 \%$$

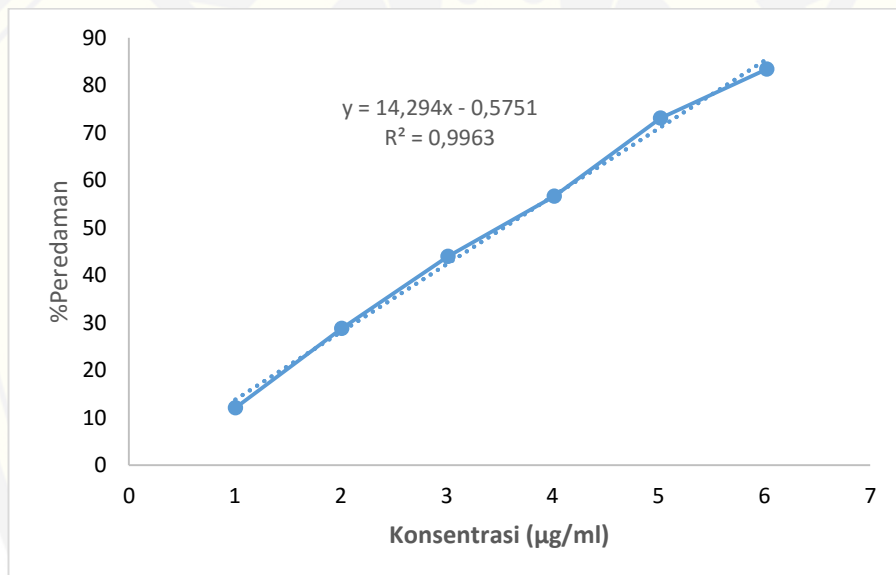
$$b) 2,008 \mu\text{g/ml} = \frac{0,869-0,619}{0,869} \times 100\% = 28,769 \%$$

$$c) 3,012 \mu\text{g/ml} = \frac{0,869-0,487}{0,869} \times 100\% = 43,958 \%$$

$$d) 4,016 \mu\text{g/ml} = \frac{0,869-0,377}{0,869} \times 100\% = 56,617 \%$$

$$e) 5,020 \mu\text{g/ml} = \frac{0,869-0,234}{0,869} \times 100\% = 73,072 \%$$

$$f) 6,024 \mu\text{g/ml} = \frac{0,869-0,144}{0,869} \times 100\% = 80,437 \%$$



Persamaan Regresi :

$$y = 14,294x - 0,5751$$

$$R^2 = 0,9963$$

$$r \text{ hitung} = 0,9981$$

$$r \text{ tabel} = 0,9172$$

Perhitungan IC_{50}

$$50 = 14,294x - 0,5751$$

$$x = \frac{50+0,5751}{14,294}$$

$$x = 3,538$$

$$IC_{50} = 3,538 \mu\text{g/ml}$$

J3.2. Perhitungan % Peredaman dan IC₅₀ Minuman Kopi Robusta Murni

1. Replikasi 1

Konsentrasi (µg/ml)	Absorbansi	Peredaman (%)
30,012	0,661	26,309
37,515	0,572	36,231
45,018	0,51	43,143
52,521	0,449	49,944
67,527	0,276	69,231
75,03	0,249	72,241

Absorbansi kontrol = 0,897

Perhitungan peredaman:

$$a) 30,012 \mu\text{g/ml} = \frac{0,897 - 0,661}{0,897} \times 100\% = 26,309 \%$$

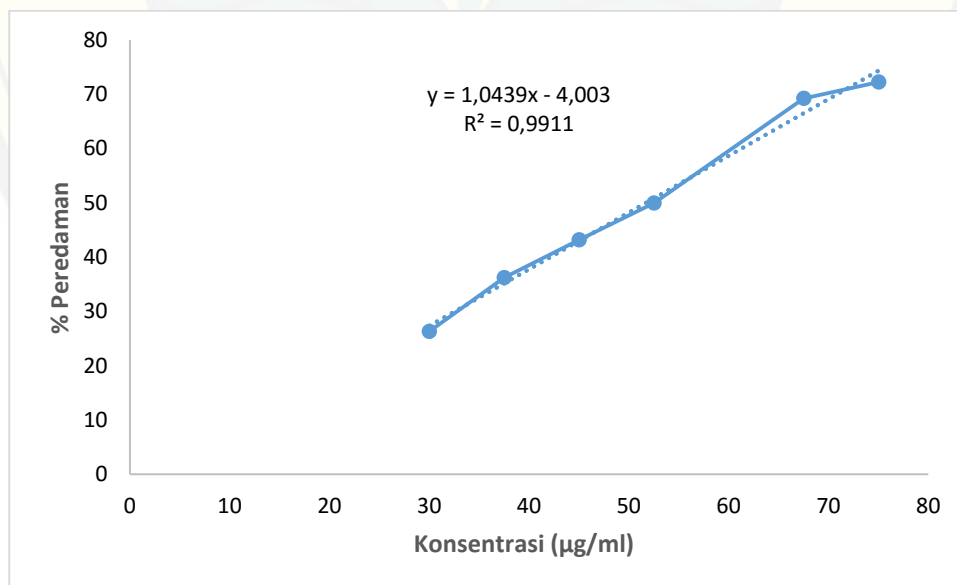
$$b) 37,515 \mu\text{g/ml} = \frac{0,897 - 0,572}{0,897} \times 100\% = 36,231 \%$$

$$c) 45,018 \mu\text{g/ml} = \frac{0,897 - 0,51}{0,897} \times 100\% = 43,143 \%$$

$$d) 52,521 \mu\text{g/ml} = \frac{0,897 - 0,449}{0,897} \times 100\% = 49,944 \%$$

$$e) 67,527 \mu\text{g/ml} = \frac{0,897 - 0,276}{0,897} \times 100\% = 69,231\%$$

$$f) 75,03 \mu\text{g/ml} = \frac{0,897 - 0,249}{0,897} \times 100\% = 72,241 \%$$



Persamaan Regresi : $y = 1,0439x - 4,003$

$R^2 = 0,9911$

$$r \text{ hitung} = 0,9955$$

$$r \text{ tabel} = 0,9172$$

Perhitungan IC_{50}

$$50 = 1,0439x - 4,003$$

$$x = \frac{50+4,003}{0,9911}$$

$$x = 51,732$$

$$IC_{50} = 51,732 \mu\text{g/ml}$$

2. Replikasi 2

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi	Peredaman (%)
30,016	0,646	27,982
37,52	0,595	33,668
52,528	0,426	52,508
60,032	0,387	56,856
67,536	0,286	68,116
75,04	0,243	72,909

$$\text{Absorbansi kontrol} = 0,897$$

Perhitungan peredaman:

$$\text{a) } 30,016 \mu\text{g/ml} = \frac{0,897-0,646}{0,897} \times 100\% = 27,982 \%$$

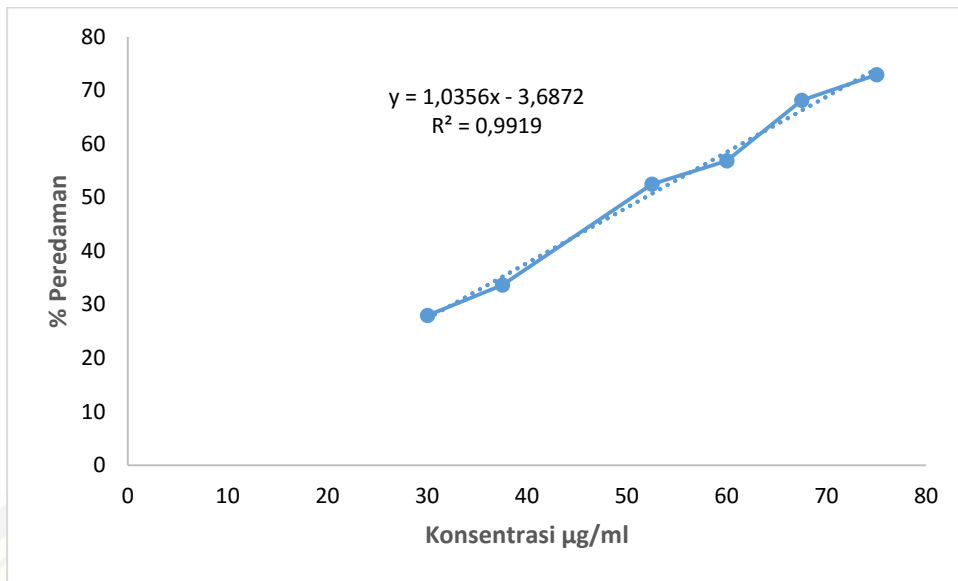
$$\text{b) } 37,52 \mu\text{g/ml} = \frac{0,897-0,595}{0,897} \times 100\% = 33,668 \%$$

$$\text{c) } 45,024 \mu\text{g/ml} = \frac{0,897-0,426}{0,897} \times 100\% = 52,508 \%$$

$$\text{d) } 52,528 \mu\text{g/ml} = \frac{0,897-0,387}{0,897} \times 100\% = 56,856 \%$$

$$\text{e) } 67,536 \mu\text{g/ml} = \frac{0,897-0,286}{0,897} \times 100\% = 68,116 \%$$

$$\text{f) } 75,04 \mu\text{g/ml} = \frac{0,897-0,243}{0,897} \times 100\% = 72,909 \%$$



Persamaan Regresi : $y = 1,0356x - 3,6872$

$R^2 = 0,9919$

r hitung = 0,9959

r tabel = 0,9172

Perhitungan IC_{50}

$$50 = 1,0356x - 3,6872$$

$$x = \frac{50+3,6872}{1,0356}$$

$$x = 51,842$$

$$IC_{50} = 51,842 \mu\text{g/ml}$$

3. Replikasi 3

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi	Peredaman (%)
30,016	0,628	29,988
37,52	0,588	34,448
45,024	0,527	41,249
52,528	0,439	51,059
67,536	0,314	64,994
75,04	0,236	73,690

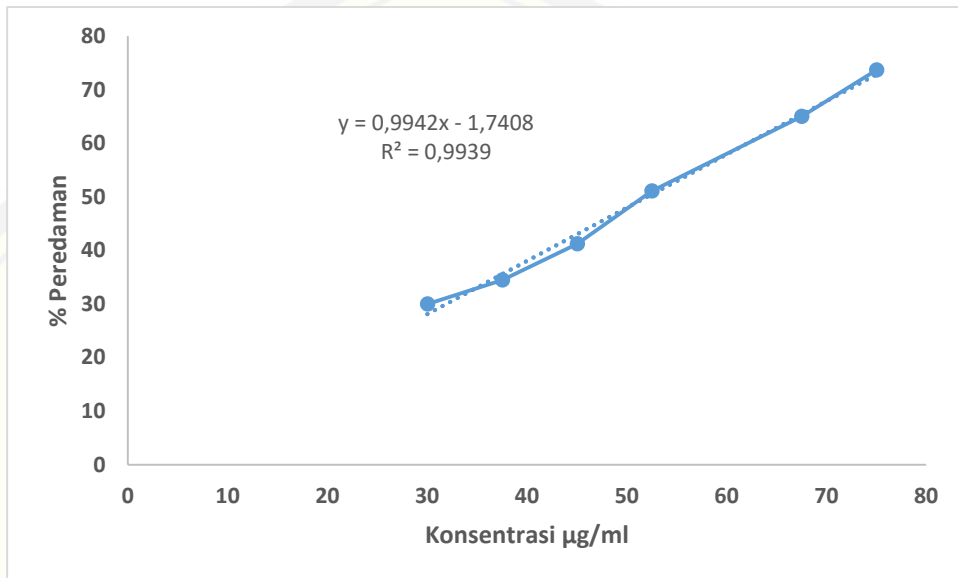
Absorbansi kontrol = 0,897

Perhitungan peredaman:

a) $30,016 \mu\text{g/ml} = \frac{0,897-0,628}{0,897} \times 100\% = 29,988 \%$

b) $37,52 \mu\text{g/ml} = \frac{0,897-0,588}{0,897} \times 100\% = 34,448 \%$

- c) $45,024 \mu\text{g/ml} = \frac{0,897-0,527}{0,897} \times 100\% = 41,249 \%$
- d) $52,528 \mu\text{g/ml} = \frac{0,897-0,439}{0,897} \times 100\% = 51,059 \%$
- e) $67,536 \mu\text{g/ml} = \frac{0,897-0,314}{0,897} \times 100\% = 64,994 \%$
- f) $75,04 \mu\text{g/ml} = \frac{0,897-0,236}{0,897} \times 100\% = 73,690 \%$



Persamaan Regresi : $y = 0,9942x - 1,7408$
 $R^2 = 0,9939$
 $r \text{ hitung} = 0,9969$
 $r \text{ tabel} = 0,9172$

Perhitungan IC_{50}

$$50 = 0,9942x - 1,7408$$

$$x = \frac{50 + 1,7408}{0,9942}$$

$$x = 52,043$$

$$IC_{50} = 52,043 \mu\text{g/ml}$$

J3.3. Perhitungan % Peredaman dan IC₅₀ Minuman Kopi Robusta dengan Penambahan Gula

1. Replikasi 1

Konsentrasi (µg/ml)	Absorbansi	Peredaman (%)
30,02	0,703	23,669
37,525	0,628	31,813
45,03	0,552	40,065
52,535	0,496	46,145
67,545	0,345	62,54
75,05	0,245	73,398

Absorbansi kontrol = 0,921

Perhitungan peredaman:

$$a) 30,2 \mu\text{g/ml} = \frac{0,921-0,703}{0,921} \times 100\% = 23,669 \%$$

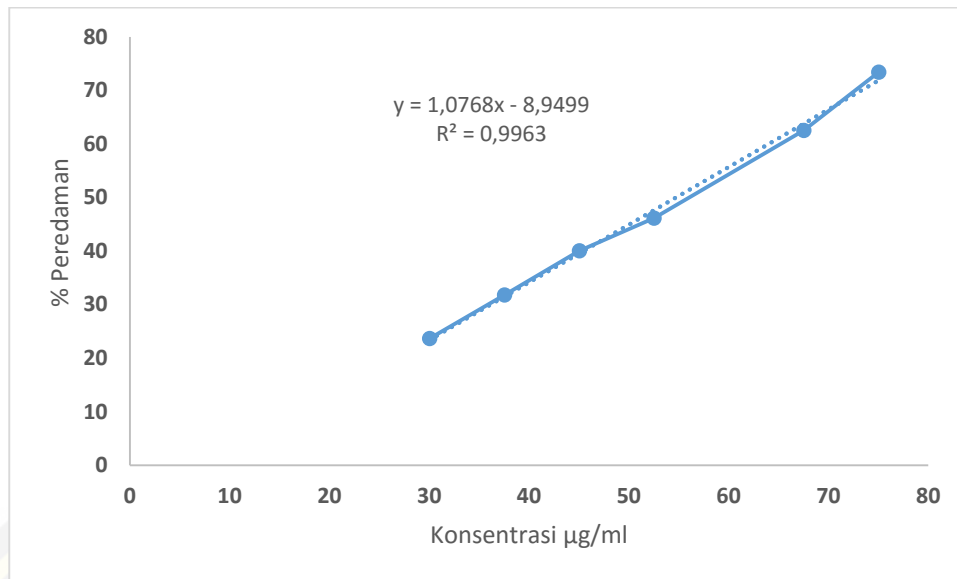
$$b) 37,525 \mu\text{g/ml} = \frac{0,921-0,628}{0,921} \times 100\% = 31,813 \%$$

$$c) 45,03 \mu\text{g/ml} = \frac{0,921-0,552}{0,921} \times 100\% = 40,065 \%$$

$$d) 52,535 \mu\text{g/ml} = \frac{0,921-0,496}{0,921} \times 100\% = 46,145 \%$$

$$e) 67,547 \mu\text{g/ml} = \frac{0,921-0,345}{0,921} \times 100\% = 62,54 \%$$

$$f) 75,05 \mu\text{g/ml} = \frac{0,921-0,245}{0,921} \times 100\% = 73,398 \%$$



Persamaan Regresi : $y = 1,0768x - 8,9499$

$$R^2 = 0,9963$$

$$r \text{ hitung} = 0,9981$$

$$r \text{ tabel} = 0,9172$$

Perhitungan IC_{50}

$$50 = 1,0768x - 8,9499$$

$$x = \frac{50+8,9499}{1,0768}$$

$$x = 54,745$$

$$IC_{50} = 54,745 \mu\text{g/ml}$$

2. Replikasi 2

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi	Peredaman (%)
30,012	0,72	21,824
37,515	0,651	29,316
45,018	0,563	38,870
52,521	0,487	47,123
67,527	0,318	65,472
75,03	0,238	74,159

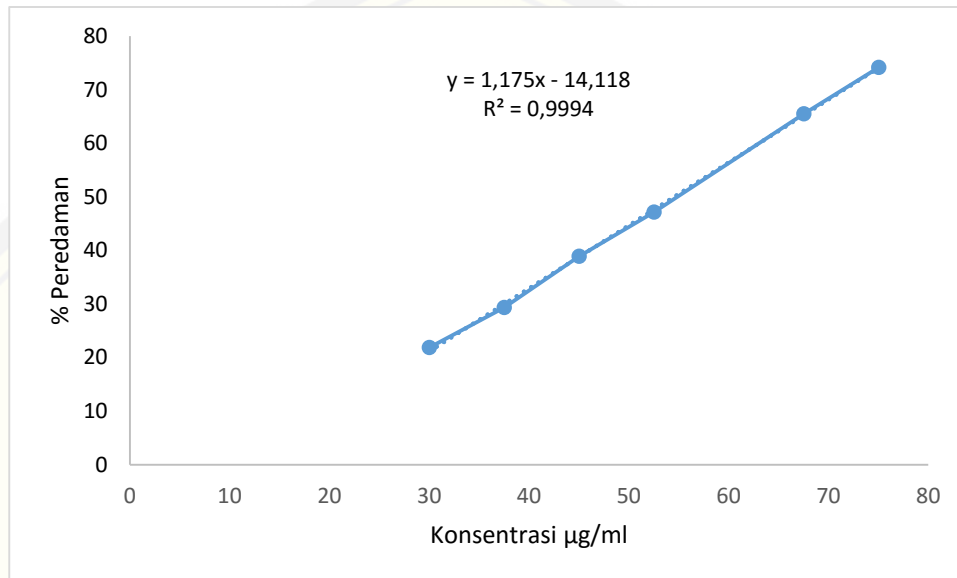
Absorbansi kontrol = 0,921

Perhitungan peredaman:

$$\text{a) } 30,012 \mu\text{g/ml} = \frac{0,921-0,72}{0,921} \times 100\% = 21,824 \%$$

$$\text{b) } 37,515 \mu\text{g/ml} = \frac{0,921-0,651}{0,921} \times 100\% = 29,316 \%$$

- c) $45,018 \mu\text{g/ml} = \frac{0,921-0,563}{0,921} \times 100\% = 38,870 \%$
- d) $52,521 \mu\text{g/ml} = \frac{0,921-0,487}{0,921} \times 100\% = 47,123 \%$
- e) $67,527 \mu\text{g/ml} = \frac{0,921-0,318}{0,921} \times 100\% = 65,472 \%$
- f) $75,03 \mu\text{g/ml} = \frac{0,921-0,238}{0,921} \times 100\% = 74,159 \%$



Persamaan Regresi : $y = 1,175x - 14,118$

$$R^2 = 0,9994$$

$$r \text{ hitung} = 0,9996$$

$$r \text{ tabel} = 0,9172$$

Perhitungan IC_{50}

$$50 = 1,175x - 14,118$$

$$x = \frac{50+14,118}{1,175}$$

$$x = 54,569$$

$$IC_{50} = 54,569 \mu\text{g/ml}$$

3. Replikasi 3

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi	Peredaman (%)
30,016	0,701	23,887
37,52	0,649	29,533
45,024	0,587	36,265
52,528	0,485	47,339
67,536	0,303	67,101
75,04	0,221	76,004

Absorbansi kontrol = 0,921

Perhitungan peredaman:

$$\text{a) } 30,016 \mu\text{g/ml} = \frac{0,921-0,701}{0,921} \times 100\% = 23,887 \%$$

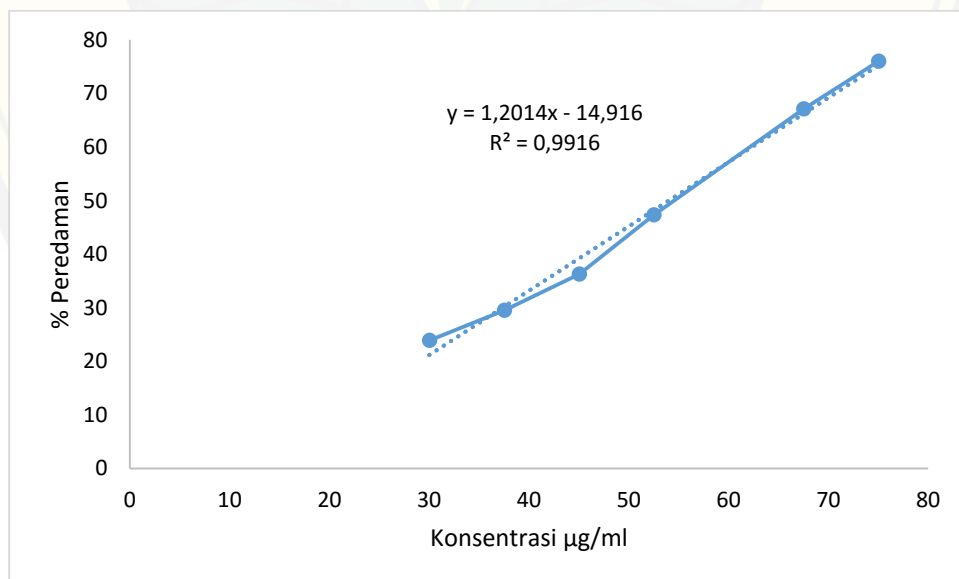
$$\text{b) } 37,52 \mu\text{g/ml} = \frac{0,921-0,649}{0,921} \times 100\% = 29,533 \%$$

$$\text{c) } 45,024 \mu\text{g/ml} = \frac{0,921-0,587}{0,921} \times 100\% = 36,265 \%$$

$$\text{d) } 52,528 \mu\text{g/ml} = \frac{0,921-0,485}{0,921} \times 100\% = 47,339 \%$$

$$\text{e) } 67,536 \mu\text{g/ml} = \frac{0,921-0,303}{0,921} \times 100\% = 67,101 \%$$

$$\text{f) } 75,04 \mu\text{g/ml} = \frac{0,921-0,221}{0,921} \times 100\% = 76,004 \%$$



Persamaan Regresi : $y = 1,2014x - 14,916$
 $R^2 = 0,9916$

$$r \text{ hitung} = 0,9958$$

$$r \text{ tabel} = 0,9172$$

Perhitungan IC_{50}

$$50 = 1,2014x - 14,916$$

$$x = \frac{50+14,916}{1,2014}$$

$$x = 54,033$$

$$IC_{50} = 54,033 \mu\text{g/ml}$$

J3.4. Perhitungan % Peredaman dan IC_{50} Minuman Kopi Robusta dengan Penambahan Gula+Krimer

1. Replikasi 1

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi	Peredaman (%)
30,016	0,388	37,621
37,52	0,305	50,964
45,024	0,271	56,431
52,528	0,205	67,042
67,536	0,122	80,386
75,04	0,07	88,746

Absorbansi kontrol = 0,622

Perhitungan peredaman:

$$\text{a) } 30,016 \mu\text{g/ml} = \frac{0,622-0,388}{0,622} \times 100\% = 37,621 \%$$

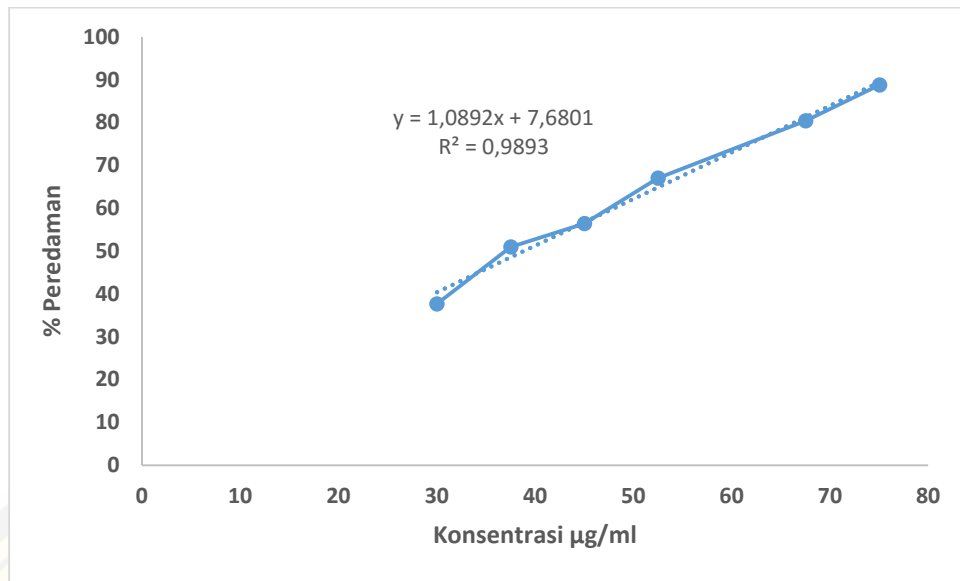
$$\text{b) } 37,52 \mu\text{g/ml} = \frac{0,622-0,305}{0,622} \times 100\% = 50,964 \%$$

$$\text{c) } 45,024 \mu\text{g/ml} = \frac{0,622-0,271}{0,622} \times 100\% = 56,431 \%$$

$$\text{d) } 52,528 \mu\text{g/ml} = \frac{0,622-0,205}{0,622} \times 100\% = 67,042 \%$$

$$\text{e) } 67,536 \mu\text{g/ml} = \frac{0,622-0,122}{0,622} \times 100\% = 80,386 \%$$

$$\text{f) } 75,04 \mu\text{g/ml} = \frac{0,622-0,07}{0,622} \times 100\% = 88,746 \%$$



Persamaan Regresi : $y = 1,0892x + 7,6801$

$$R^2 = 0,9893$$

$$r \text{ hitung} = 0,9946$$

$$r \text{ tabel} = 0,9172$$

Perhitungan IC_{50}

$$50 = 1,0892x + 7,6801$$

$$x = \frac{50 - 7,6801}{1,0892}$$

$$x = 38,854$$

$$IC_{50} = 38,854 \mu\text{g/ml}$$

2. Replikasi 2

Konsentrasi (µg/ml)	Absorbansi	Peredaman (%)
30,012	0,38	38,907
37,515	0,315	49,357
45,018	0,264	57,556
52,521	0,207	66,720
67,527	0,139	77,652
75,03	0,071	88,582

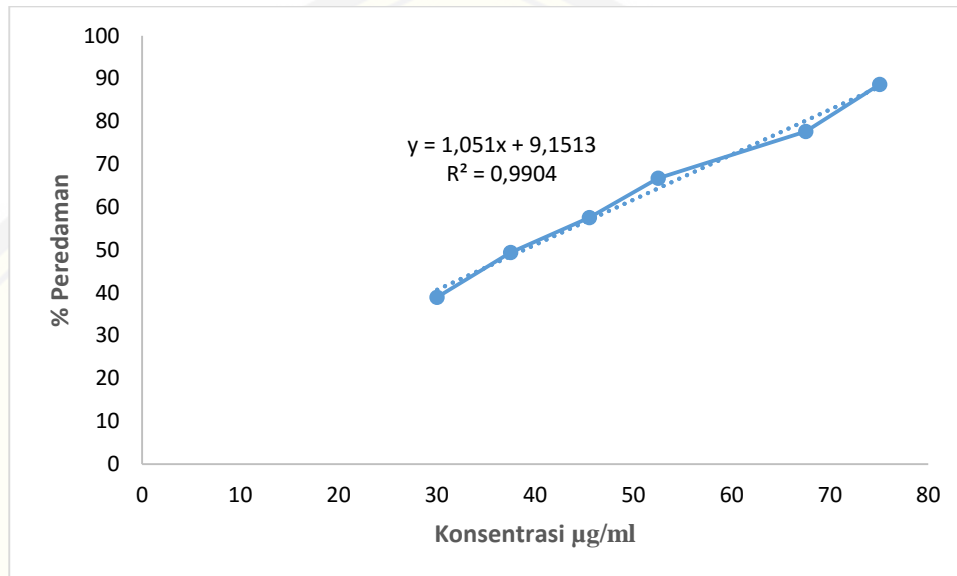
Absorbansi kontrol = 0,622

Perhitungan peredaman:

$$\text{a) } 30,012 \mu\text{g/ml} = \frac{0,622 - 0,38}{0,622} \times 100\% = 38,907 \%$$

$$\text{b) } 37,515 \mu\text{g/ml} = \frac{0,622 - 0,315}{0,622} \times 100\% = 49,357 \%$$

- c) $45,018 \mu\text{g/ml} = \frac{0,622-0,264}{0,622} \times 100\% = 57,556 \%$
- d) $52,521 \mu\text{g/ml} = \frac{0,622-0,207}{0,622} \times 100\% = 66,720 \%$
- e) $67,527 \mu\text{g/ml} = \frac{0,622-0,139}{0,622} \times 100\% = 77,652 \%$
- f) $75,03 \mu\text{g/ml} = \frac{0,622-0,071}{0,622} \times 100\% = 88,585 \%$



Persamaan Regresi : $y = 1,051x + 9,1513$
 $R^2 = 0,9904$
 $r \text{ hitung} = 0,9902$
 $r \text{ tabel} = 0,9172$

Perhitungan IC_{50}

$$50 = 1,051x + 9,1513$$

$$x = \frac{50-9,1513}{1,051}$$

$$x = 38,866$$

$$IC_{50} = 38,866 \mu\text{g/ml}$$

3. Replikasi 3

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi	Peredaman (%)
30,012	0,378	39,228
37,515	0,31	50,161
45,018	0,25	59,807
52,521	0,234	62,379
67,527	0,12	80,707
75,03	0,077	88,621

Absorbansi kontrol = 0,622

Perhitungan peredaman:

$$\text{a) } 30,012 \mu\text{g/ml} = \frac{0,622-0,378}{0,622} \times 100\% = 39,228 \%$$

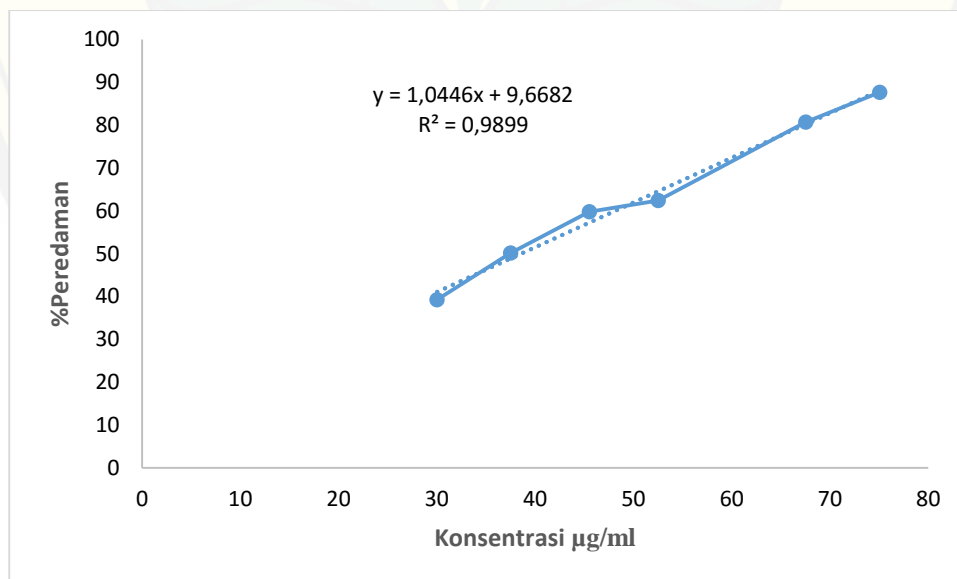
$$\text{b) } 37,515 \mu\text{g/ml} = \frac{0,622-0,31}{0,622} \times 100\% = 50,161\%$$

$$\text{c) } 45,018 \mu\text{g/ml} = \frac{0,622-0,25}{0,622} \times 100\% = 59,807\%$$

$$\text{d) } 52,521 \mu\text{g/ml} = \frac{0,622-0,234}{0,622} \times 100\% = 62,379 \%$$

$$\text{e) } 67,527 \mu\text{g/ml} = \frac{0,622-0,12}{0,622} \times 100\% = 80,707\%$$

$$\text{f) } 75,03 \mu\text{g/ml} = \frac{0,622-0,077}{0,622} \times 100\% = 88,621 \%$$



Persamaan Regresi : $y = 1,0446x + 9,6682$

$R^2 = 0,9899$

$$r \text{ hitung} = 0,9949$$

$$r \text{ tabel} = 0,9172$$

Perhitungan IC_{50}

$$50 = 1,0446x + 9,6682$$

$$x = \frac{50 - 9,6682}{1,0446}$$

$$x = 38,609$$

$$IC_{50} = 38,609 \mu\text{g/ml}$$

J3.5. Perhitungan % Peredaman dan IC_{50} Minuman Kopi Robusta dengan Penambahan Gula+Susu

1. Replikasi 1

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi	Peredaman (%)
30,012	0,553	34,009
37,515	0,509	39,26
45,018	0,466	44,391
52,521	0,404	51,789
60,024	0,336	59,904
75,03	0,222	73,508

Absorbansi kontrol = 0,838

Perhitungan peredaman:

$$\text{a) } 30,012 \mu\text{g/ml} = \frac{0,838 - 0,553}{0,838} \times 100\% = 34,009 \%$$

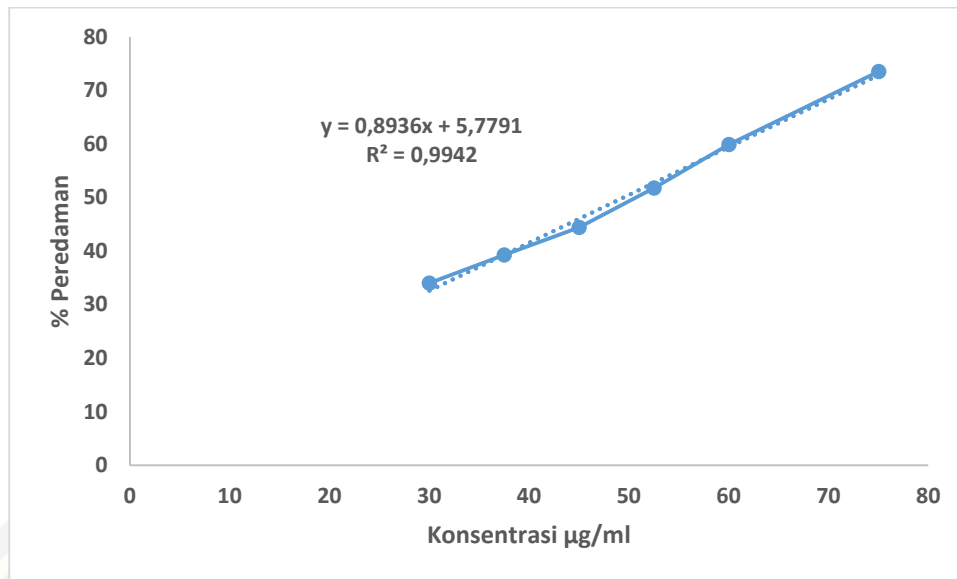
$$\text{b) } 37,515 \mu\text{g/ml} = \frac{0,838 - 0,509}{0,838} \times 100\% = 39,26 \%$$

$$\text{c) } 45,018 \mu\text{g/ml} = \frac{0,838 - 0,466}{0,838} \times 100\% = 44,391 \%$$

$$\text{d) } 52,521 \mu\text{g/ml} = \frac{0,838 - 0,404}{0,838} \times 100\% = 51,789 \%$$

$$\text{e) } 60,024 \mu\text{g/ml} = \frac{0,838 - 0,336}{0,838} \times 100\% = 59,904 \%$$

$$\text{f) } 75,03 \mu\text{g/ml} = \frac{0,838 - 0,222}{0,838} \times 100\% = 73,508 \%$$



Persamaan Regresi : $y = 0,8936x + 5,7791$

$$R^2 = 0,9942$$

$$r \text{ hitung} = 0,9971$$

$$r \text{ tabel} = 0,9172$$

Perhitungan IC_{50}

$$50 = 0,8936x + 5,7791$$

$$x = \frac{50 - 5,7791}{0,8936}$$

$$x = 49,486$$

$$IC_{50} = 49,486 \mu\text{g/ml}$$

2. Replikasi 2

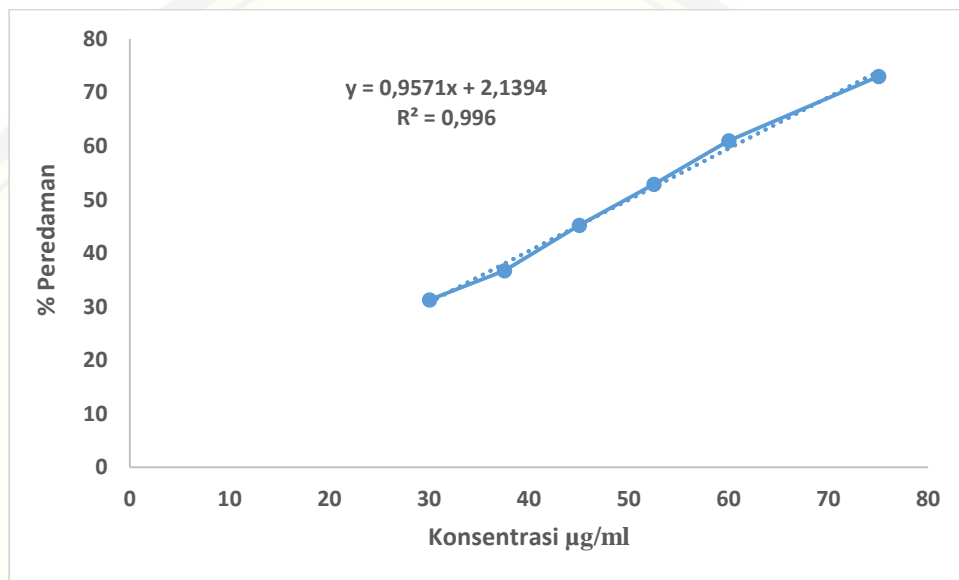
Konsentrasi (µg/ml)	Absorbansi	Peredaman (%)
30,016	0,576	31,264
37,52	0,530	36,754
45,024	0,459	45,227
52,528	0,395	52,863
60,032	0,327	60,979
75,04	0,226	73,031

Absorbansi kontrol = 0,838

Perhitungan peredaman:

$$a) 30,016 \mu\text{g/ml} = \frac{0,838 - 0,576}{0,838} \times 100\% = 31,264 \%$$

- b) $37,52 \mu\text{g/ml} = \frac{0,838-0,530}{0,838} \times 100\% = 36,754 \%$
- c) $45,024 \mu\text{g/ml} = \frac{0,838-0,459}{0,838} \times 100\% = 45,227 \%$
- d) $52,528 \mu\text{g/ml} = \frac{0,838-0,395}{0,838} \times 100\% = 52,863 \%$
- e) $60,032 \mu\text{g/ml} = \frac{0,838-0,327}{0,838} \times 100\% = 60,979 \%$
- f) $75,04 \mu\text{g/ml} = \frac{0,838-0,226}{0,838} \times 100\% = 73,031 \%$



Persamaan Regresi : $y = 0,9571x + 2,1394$
 $R^2 = 0,996$
 $r \text{ hitung} = 0,9979$
 $r \text{ tabel} = 0,9172$

Perhitungan IC_{50}

$$50 = 0,9571x + 2,1394$$

$$x = \frac{50 - 2,1394}{0,9571}$$

$$x = 50,006$$

$$IC_{50} = 50,006 \mu\text{g/ml}$$

3. Replikasi 3

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi	Peredaman (%)
30,02	0,575	31,384
37,525	0,535	36,158
45,03	0,452	46,062
52,535	0,386	53,938
60,04	0,317	62,172
75,05	0,213	74,582

Absorbansi kontrol = 0,838

Perhitungan peredaman:

$$\text{a) } 30,02 \mu\text{g/ml} = \frac{0,838 - 0,575}{0,838} \times 100\% = 31,384 \%$$

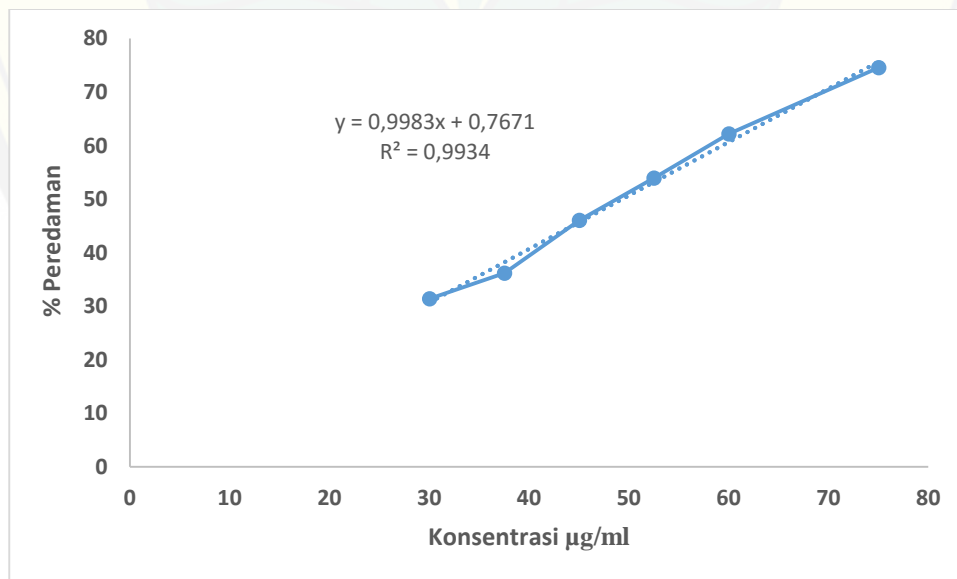
$$\text{b) } 37,525 \mu\text{g/ml} = \frac{0,838 - 0,535}{0,838} \times 100\% = 36,158 \%$$

$$\text{c) } 45,03 \mu\text{g/ml} = \frac{0,838 - 0,452}{0,838} \times 100\% = 46,062 \%$$

$$\text{d) } 52,535 \mu\text{g/ml} = \frac{0,838 - 0,386}{0,838} \times 100\% = 53,938 \%$$

$$\text{e) } 60,04 \mu\text{g/ml} = \frac{0,838 - 0,317}{0,838} \times 100\% = 62,172 \%$$

$$\text{f) } 75,05 \mu\text{g/ml} = \frac{0,838 - 0,213}{0,838} \times 100\% = 74,582 \%$$



Persamaan Regresi : $y = 0,9983x + 0,7671$

$R^2 = 0,9934$

$$r \text{ hitung} = 0,9967$$

$$r \text{ tabel} = 0,9172$$

Perhitungan IC_{50}

$$50 = 0,9983x + 0,7671$$

$$x = \frac{50 - 0,7671}{0,9983}$$

$$x = 49,316$$

$$IC_{50} = 49,316 \mu\text{g/ml}$$

Lampiran K. Hasil Uji Anova dan LSD

K1. Kadar Polifenol

Tests of Normality

	Sampel	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar	Kopi Murni	,264	3	.	,955	3	,590
	Kopi+gula	,371	3	.	,784	3	,076
	Kopi+gula+krimer	,216	3	.	,989	3	,797
	kopi+gula+susu	,234	3	.	,979	3	,720

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

Kadar

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,632	3	8	,257

ANOVA

Kadar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	44,035	3	14,678	158,380	,000
Within Groups	,741	8	,093		
Total	44,777	11			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Kadar

LSD

(I) Sampel	(J) Sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
Kopi Murni	Kopi+gula	1,853333*	,248568	,000
	Kopi+gula+krimer	-3,481667*	,248568	,000
	kopi+gula+susu	-,628000	,248568	,035
Kopi+gula	Kopi Murni	-1,853333*	,248568	,000
	Kopi+gula+krimer	-5,335000*	,248568	,000
	kopi+gula+susu	-2,481333*	,248568	,000
Kopi+gula+krimer	Kopi Murni	3,481667*	,248568	,000
	Kopi+gula	5,335000*	,248568	,000
	kopi+gula+susu	2,853667*	,248568	,000
kopi+gula+susu	Kopi Murni	,628000	,248568	,035
	Kopi+gula	2,481333*	,248568	,000
	Kopi+gula+krimer	-2,853667*	,248568	,000

*. The mean difference is significant at the 0.01 level.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Kadar

LSD

		99% Confidence Interval	
(I) Sampel	(J) Sampel	Lower Bound	Upper Bound
kopi murni	kopi+gula	1,01929	2,68738
	kopi+gula+krimer	-4,31571	-2,64762
	kopi+gula+susu	-1,46204	,20604
kopi+gula	kopi murni	-2,68738	-1,01929
	kopi+gula+krimer	-6,16904	-4,50096
	kopi+gula+susu	-3,31538	-1,64729
kopi+gula+krimer	kopi Murni	2,64762	4,31571
	kopi+gula	4,50096	6,16904
	kopi+gula+susu	2,01962	3,68771
kopi+gula+susu	kopi murni	-,20604	1,46204
	kopi+gula	1,64729	3,31538
	kopi+gula+krimer	-3,68771	-2,01962

*. The mean difference is significant at the 0.01 level.

K2. Aktivitas Antioksidan

Tests of Normality

	Sampel	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IC50	kopi murni	,243	3	.	,972	3	,680
	kopi+gula	,294	3	.	,921	3	,458
	kopi+gula+krimer	,347	3	.	,835	3	,202
	kopi+gula+susu	,294	3	.	,921	3	,456

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

IC50

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,960	3	8	,199

ANOVA

IC50

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	426,823	3	142,274	1808,939	,000
Within Groups	,629	8	,079		
Total	427,452	11			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: IC50

LSD

(I) sampel	(J) sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
kopi murni	kopi+gula	-2,576667*	,228984	,000
	kopi+gula+krimer	13,089333*	,228984	,000
	kopi+gula+susu	2,269667*	,228984	,000
kopi+gula	kopi murni	2,576667*	,228984	,000
	kopi+gula+krimer	15,666000*	,228984	,000
	kopi+gula+susu	4,846333*	,228984	,000
kopi+gula+krimer	kopi murni	-13,089333*	,228984	,000
	kopi+gula	-15,666000*	,228984	,000
	kopi+gula+susu	-10,819667*	,228984	,000
kopi+gula+susu	kopi murni	-2,269667*	,228984	,000
	kopi+gula	-4,846333*	,228984	,000
	kopi+gula+krimer	10,819667*	,228984	,000

*. The mean difference is significant at the 0.01 level.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: IC50

LSD

		99% Confidence Interval	
(I) sampel	(J) sampel	Lower Bound	Upper Bound
kopi murni	kopi+gula	-3,34500	-1,80834
	kopi+gula+krimer	12,32100	13,85766
	kopi+gula+susu	1,50134	3,03800
kopi+gula	kopi murni	1,80834	3,34500
	kopi+gula+krimer	14,89767	16,43433
	kopi+gula+susu	4,07800	5,61466
kopi+gula+krimer	kopi murni	-13,85766	-12,32100
	kopi+gula	-16,43433	-14,89767
	kopi+gula+susu	-11,58800	-10,05134
kopi+gula+susu	kopi murni	-3,03800	-1,50134
	kopi+gula	-5,61466	-4,07800
	kopi+gula+krimer	10,05134	11,58800

*. The mean difference is significant at the 0.01 level.