



**ANALISIS AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SEDUHAN BUBUK KOPI ROBUSTA  
DAN ARABIKA SEDIAAN FREEZE DRIED DAN SPRAY DRIED DENGAN  
METODE DPPH (1,1-DIPHENYL 2- PICRIHYDRAZYL)**

**SKRIPSI**

Oleh

**Fredi Akbar Muzeka**

**NIM 131610101083**

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : Dr.drg. I Dewa Ayu Susilawati, M.Kes

Dosen Pembimbing Anggota : Dr.drg. Didin Erma Indahyani M.Kes

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2019**

## **PERSEMBAHAN**

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Allah SWT atas limpahan rahmat, hidayah, kemudahan, dan berkah yang tiada habisnya;
2. Nabi Muhammad SAW, Teladan dunia dan akhirat;
3. Ayahanda Muji Slamet dan Ibunda Zetawati;
4. Dosen Pembimbing dan dosen penguji yang menjadi panutan;
5. Guru-guru dari kecil sampai sekarang yang saya hormati
6. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

## MOTTO

“Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan, sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai( dari sesuatu urusan), tetaplah bekerja keras (untuk urusan yang lain) dan hanya kepada Tuhanmulah engkau berharap”

(terjemahan Surat Al- Insyiroh ayat 5-8)\*)

“Jika anda belum mendapatkanya, teruslah berusaha. Seperti semua masalah hati. Anda akan tau kapan anda mendapatkannya”

(Steve Jobs)

\*)Departemen Agama RI. 2000. *Al-Quran dan Terjemahannya*. Jakarta: Diponegoro

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Fredi Akbar Muzeka

NIM : 131610101083

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul “Analisis Aktivitas Antioksidan Seduhan Bubuk Kopi Robusta dan Arabika Sediaan *Freeze Dried* dan *Spray Dried* Dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl 2- Picrihydrazyl)” adalah benar-benar karya sendiri, kecuali kutipan yang saya sebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai sikap ilmiah yang harus di junjung tinggi.

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

Jember, 15 Mei 2020

Yang menyatakan

Fredi Akbar Muzeka

NIM 131610101083

**ANALISIS AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SEDUHAN BUBUK KOPI ROBUSTA  
DAN ARABIKA SEDIAAN *FREEZE DRIED* DAN *SPRAY DRIED* DENGAN  
METODE DPPH (1,1-DIPHENYL 2- PICRIHYDRAZYL)**

**SKRIPSI**

Oleh

**Fredi Akbar Muzeka**

**NIM 131610101083**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2019**

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : Dr.drg. I Dewa Ayu Susilawati, M.Kes

Dosen Pembimbing Anggota : Dr.drg. Didin Erma Indahyani M.Kes

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Analisis Aktivitas Antioksidan Seduhan Bubuk Kopi Robusta dan Arabika Sediaan *Freeze Dried* dan *Spray Dried* Dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl 2- Picrihydrazyl)” telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal : Selasa, 12 Mei 2020

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua,

Penguji Anggota

Prof. Dr. Drg. IDA Ratna Dewanti, M.Si  
NIP. 196705021997022001

Dr.drg. Purwanto, M.Kes  
NIP. 195710241986031102

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

Dr.drg. I Dewa Ayu Susilawati, M.Kes  
M.Kes  
NIP. 196109031986022001

Dr.drg. Didin Erma Indahyani  
NIP. 196903031997022001

Mengesahkan,  
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp.Pros  
NIP. 196901121996011001

## RINGKASAN

**ANALISIS AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SEDUHAN BUBUK KOPI ROBUSTA DAN ARABIKA SEDIAAN *FREEZE DRIED* DAN *SPRAY DRIED* DENGAN METODE DPPH (1,1-DIPHENYL 2- PICRIHYDRAZYL);** Fredi Akbar Muzeka, 131610101083; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

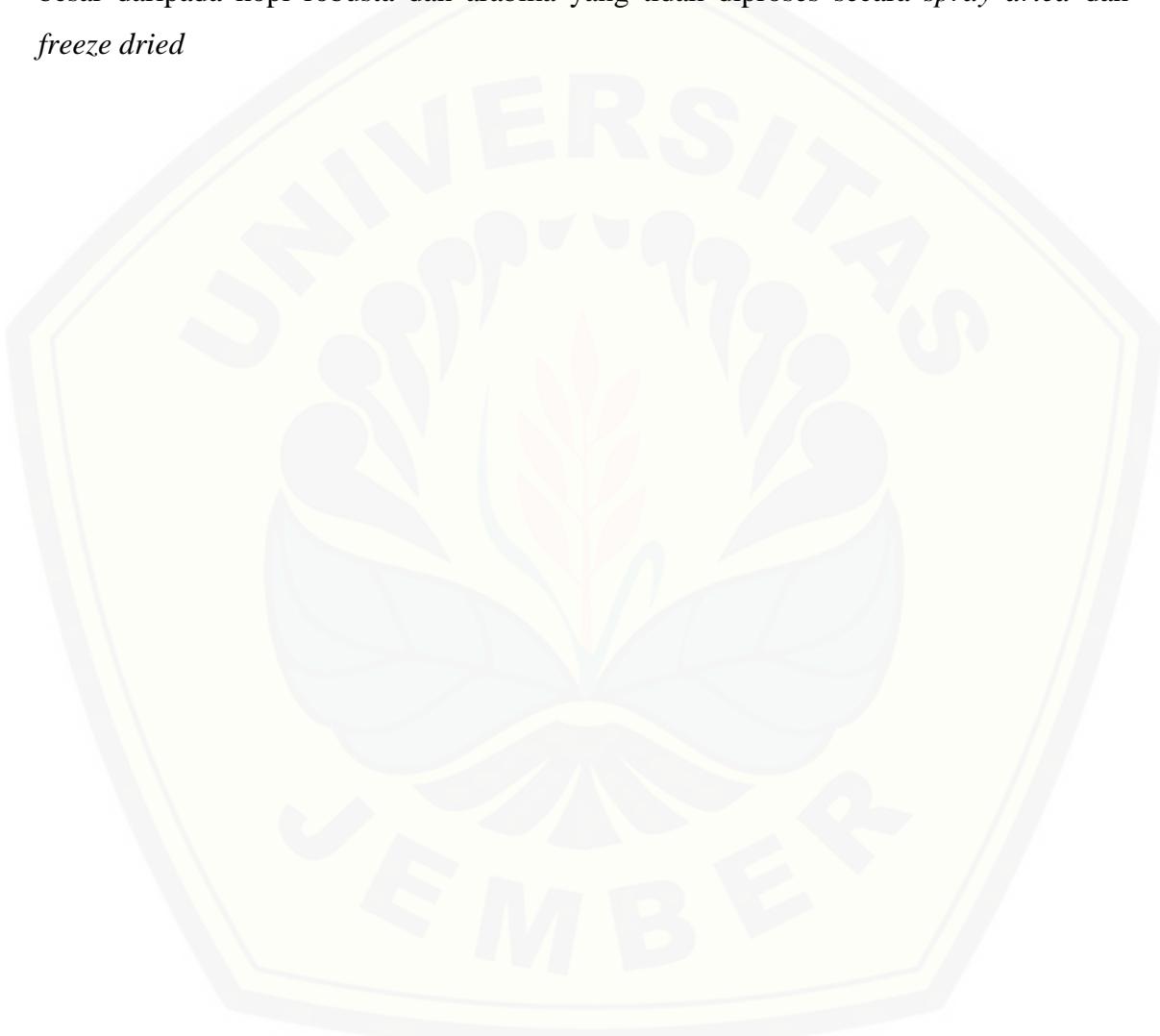
Radikal bebas merupakan salah satu penyebab penyakit sistemik. Senyawa radikal bebas dapat menimbulkan kerusakan struktur dan fungsi sel karena radikal bebas memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan, dimana elektron tidak berpasangan tersebut mengambil elektron dari molekul lain. Radikal bebas dapat diatasi dengan senyawa antioksidan, dimana antioksidan merupakan suatu senyawa yang memberikan satu elektronnya kepada senyawa lain sehingga senyawa tersebut menjadi stabil. Antioksidan terdapat pada berbagai bahan alam, salah satunya kopi. Kopi mengandung beberapa zat antioksidan seperti, flavonoid, asam klorogenat, dan kafein. Kopi sebagai minuman seringkali diproses dengan *spray dried* dan *freeze dried*. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis aktifitas antioksidan seduhan kopi robusta dan arabika yang telah diproses secara *spray dried* dan *freeze dried*.

Penelitian ini merupakan jenis eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *the post test only control group design*. Penelitian ini terdiri dari 3 kelompok, yaitu kelompok control (seduhan kopi robusta dan arabika), kelompok *spray dried* (seduhan kopi robusta dan arabika), dan kelompok *freeze dried* (seduhan kopi robusta dan arabika). Masing masing kelompok kemudian dibuat berbagai konsentrasi (100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, 1000 ppm, 1500 ppm). Penelitian ini menggunakan metode DPPH. Seluruh kelompok kemudian ditambahkan radikal bebas DPPH dan diinkubasi dalam keadaan gelap selama 30 menit.

Hasil penghitungan persen inhibisi dengan urutan dari tertinggi hingga terendah yaitu robusta *freeze dried*, arabika *freeze dried*, arabika *spray dried*, arabika biasa, robusta *spray dried*, dan robusta biasa. Uji *One Way Anova* menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna ( $p=0,000$ ) pada seluruh kelompok penelitian. Uji *Turkey-*

HSD menunjukkan nilai  $p < 0,05$  pada perbandingan terhadap Robusta biasa terhadap Robusta *Freeze dried*, Robusta biasa terhadap Arabika *Spray dried*, Robusta biasa terhadap Arabika *Freeze dried*, Robusta *Freeze dried* terhadap Arabika biasa, dan Arabika biasa terhadap Arabika *Freeze dried*.

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kopi robusta maupun arabika yang telah diproses secara *spray dried* dan *freeze dried* memiliki persen inhibisi yang lebih besar daripada kopi robusta dan arabika yang tidak diproses secara *spray dried* dan *freeze dried*



## PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala anugerah dan rahmatnya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Analisis Aktivitas Antioksidan Seduhan Bubuk Kopi Robusta dan Arabika Sediaan *Freeze Dried* dan *Spray Dried* Dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl 2- Picrihydrazyl)”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusun skripsi ini tidak lepas dari bantuan dan bimbingan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih kepada :

1. Allah SWT atas berkat rahmatNya saya dapat menyelesaikan skripsi ini;
2. drg. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Pros, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
3. Dr.drg. I Dewa Ayu Susilawati, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan, saran, motivasi, meluangkan waktunya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
4. Dr.drg. Didin Indahyani M.Kes selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah memberikan bimbingan, saran, motivasi, meluangkan waktunya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
5. Prof. Dr. Drg. IDA Ratna Dewanti, M.Si selaku Dosen Penguji Ketua yang telah memberi kritik, saran, dan motivasi sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
6. Dr.drg. Purwanto, M.Kes selaku dosen penguji anggota yang telah memberi kritik, saran, dan motivasi sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
7. Dr. drg. Banun Kusumawardani, M.Kes, selaku dosen pembimbing akademik yang selalu memberikan motivasi sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
8. Kedua orang tua tercinta, ibunda Zetawati dan ayahanda Muji Slamet yang selalu mendoakan, memberikan dukungan, perhatian, dan kasih sayang yang tanpa batas selama ini;
9. Sahabat satu kontrakan Roni Handika, Ahmad Yusuf, M. Maulana Akbari, Adriano Joshua.;

10. Seluruh teman teman FKG 2013 yang belum saya sebutkan di atas terimakasih atas solidaritasnya, bantuan, semangat yang diberikan selama ini;
11. Semua pihak yang turut terlibat baik secara langsung maupun tidak langsung yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, terimakasih untuk kalian semua;

Karya ini masih jauh dari sempurna, untuk ini penulis mengharapkan saran dan kritikan dari berbagai pihak sehingga skripsi ini dapat menjadi lebih baik. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan kontribusi lebih untuk kemajuan ilmu pengetahuan di masa yang akan datang.

Jember, 15 Mei 2020

Penulis

## DAFTAR ISI

PERSEMBAHAN.....	ii
MOTTO .....	iii
PERNYATAAN.....	iv
PENGESAHAN .....	vi
RINGKASAN .....	vii
PRAKATA.....	ix
DAFTAR ISI .....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1    Latar Belakang .....	1
1.2    Rumusan masalah .....	2
1.3    Tujuan penelitian.....	3
1.4    Manfaat penelitian.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Kopi.....	4
2.1.1 Klasifikasi Kopi Robusta.....	4
2.1.2 Morfologi Kopi Robusta .....	4
2.1.3 Klasifikasi Kopi Arabika.....	5
2.1.4 Morfologi Kopi Arabika .....	5
2.1.3 Kandungan Kopi .....	5
2.1.4 Pembuatan kopi sediaan <i>spray dried</i> .....	8
2.1.5 Pembuatan bubuk kopi sediaan <i>freeze dried</i> .....	8
2.2 Radikal Bebas .....	8

2.2.1 Mekanisme Kerja Radikal Bebas .....	9
2.3 Antioksidan.....	10
2.4 Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode <i>DPPH (1,1-diphenyl-2-picrihydrazyl)</i> .....	12
BAB 3. METODE PENELITIAN .....	14
3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian .....	14
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	14
3.3 Variabel Penelitian .....	14
3.3.1 Variabel bebas.....	14
3.3.2 variabel terikat .....	14
3.3.3 variabel terkendali.....	14
3.4 Definisi Operasional .....	15
3.4.1 Seduhan kopi <i>Spray dried</i> .....	15
3.4.2 Seduhan kopi bubuk robusta .....	15
3.4.3 Seduhan kopi <i>Freeze dried</i> .....	15
3.4.4 Aktivitas Antioksidan Seduhan kopi <i>spray dried</i> .....	15
3.4.5 Aktivitas Antioksidan Seduhan kopi <i>freeze dried</i> .....	15
3.4.6 Aktivitas Antioksidan Seduhan kopi robusta.....	15
3.4.7 Aktivitas Antioksidan Seduhan kopi arabika .....	15
3.4.8 Konsentrasi sediaan kopi.....	16
3.4.9 Metode DPPH .....	16
3.5 Sampel penelitian.....	16
3.5.1 Sampel Penelitian.....	16
3.5.2 Pengelompokan Sampel.....	16
3.5.3 Besar sampel penelitian .....	16
3.6 Alat dan Bahan Penelitian .....	17
3.6.1 Alat penelitian .....	17
3.6.1       bahan penelitian.....	18
3.7       prosedur penelitian .....	18
3.7.1 Persiapan sampel .....	18
3.7.1.2 Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH.....	19
3.7.3 pengukuran absorbansi.....	20
3.8       Alur penelitian.....	21

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	22
4.1 Hasil Penelitian.....	22
4.1.1 Hasil analisis aktivitas antioksidan dengan metode DPPH.....	22
4.2 Analisis Hasil.....	25
4.2 Pembahasan.....	26
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN .....	30
5.1 Kesimpulan.....	30
5.2 Saran.....	30
DAFTAR PUSTAKA.....	31

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan Kopi Arabika dan Robusta.....	7
Tabel 3.1 Pembuatan Larytan Seri <i>Spray dried</i> , <i>Freeze dried</i> , dan control (biasa)..	19
Tabel 4.1 Persen Inhibisi Seduhan Bubuk Kopi Konsentrasi 100 ppm Terhadap Radikal Bebas DPPH.....	22
Tabel 4.2 Persen Inhibisi Seduhan Bubuk Kopi Konsentrasi 250 ppm Terhadap Radikal Bebas DPPH.....	22
Tabel 4.3 Persen Inhibisi Seduhan Bubuk Kopi Konsentrasi 500 ppm Terhadap Radikal Bebas DPPH.....	23
Tabel 4.4 Persen Inhibisi Seduhan Bubuk Kopi Konsentrasi 750 ppm Terhadap Radikal Bebas DPPH.....	23
Tabel 4.5 Persen Inhibisi Seduhan Bubuk Kopi Konsentrasi 1000 ppm Terhadap Radikal Bebas DPPH.....	23
Tabel 4.6 Persen Inhibisi Seduhan Bubuk Kopi Konsentrasi 1500 ppm Terhadap Radikal Bebas DPPH.....	24
Tabel 4.7 Rata rata Persen Inhibisi Antioksidan Sampel Seduhan Kopi.....	24
Tabel 4.8 Uji <i>One Way ANOVA</i> .....	26
Tabel 4.9 Uji <i>Turkey HSD</i> .....	26

## **DAFTAR GAMBAR**

Gambar 2.1 Struktur Kimia Asam Klorogenat.....	6
Gambar 2.2 Struktur Kimia Kafein.....	7
Gambar 2.3 Struktur Kimia Radikal Bebas DPPH.....	9
Gambar 2.4 Struktur Kimia Antioksidan Flavonoid.....	11
Gambar 2.5 Reduksi DPPH Dari Senyawa Peredam Radikal Bebas.....	13
Gambar 4.1 Rata rata Persen Inhibisi Antioksidan Sampel Seduhan Bubuk Kopi.....	25
Gambar 4.2 Struktur Kimia Asam Klorogenat.....	27
Gambar 4.3 Struktur Kimia Kafein.....	28

**DAFTAR LAMPIRAN**

A. Perhitungan Pembuatan Larutan DPPH.....	35
B. Perhitungan Pengenceran Seduhan Kopi Robusta dan Arabika.....	35
C. Perhitungan Pengenceran Seduhan Kopi Robusta dan Arabika Sediaan Spray Dried..	37
D. Perhitungan Pengenceran Seduhan Kopi Robusta dan Arabika Sediaan Freeze Dried	38
E. Data absorbansi sampel seduhan kopi dan % inhibisi kopi terhadap radikal bebas DPPH.....	40
F. Analisis Data.....	41
G. Dokumentasi Penelitian.....	53

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Penyakit yang dialami masyarakat semakin hari semakin berkembang. Seringkali kita menemukan berbagai penyakit sistemik seperti kanker, diabetes, jantung koroner, ataupun penyakit rongga mulut seperti gingivitis, periodontitis, bahkan kanker rongga mulut yang umumnya terjadi pada usia lanjut tapi mulai menjangkit usia muda (Tanzil, 2008). Salah satu penyebab gangguan kesehatan tersebut adalah radikal bebas.

Radikal bebas dapat menimbulkan kerusakan struktur dan fungsi sel karena radikal bebas merupakan atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron tanpa pasangan (Anies, 2009), sehingga radikal bebas akan mengambil elektron dari molekul sel seperti membran sel, DNA, serta komponen sel seperti: lipid, protein dan karbohidrat. Oleh karena itu, penting sekali untuk mengatur keseimbangan kadar radikal bebas dan antioksidan yang terdapat dalam tubuh kita.

Radikal bebas sebenarnya dapat diatasi secara alami oleh tubuh dengan antioksidan endogen (Bangun, 2006), namun apabila tubuh terlalu banyak terpapar radikal bebas, senyawa antioksidan yang diproduksi tubuh tidak mampu menanggulanginya. Hal ini mengakibatkan kerusakan struktur dan fungsi sel. Oleh karena itu, tubuh memerlukan asupan antioksidan dari luar tubuh yang disebut antioksidan eksogen (Rohmadiana, 2001). Antioksidan ini bisa didapat dari bahan buatan seperti suplemen makanan. Selain bahan buatan, antioksidan juga dapat diperoleh dari bahan alami seperti buah-buahan, sayur-sayuran, dan biji-bijian, salah satunya biji kopi.

Kopi dikenal sebagai salah satu bahan yang memiliki kandungan antioksidan tinggi. Jika dibandingkan dengan coklat, teh dan wine, kandungan antioksidan kopi lebih tinggi. Kopi diketahui memiliki kandungan antioksidan seperti asam klorogenat, kafein, flavonoid, dan polifenol (Yasin dkk., 2013). Kopi yang paling banyak dipasaran adalah kopi robusta dan arabika.. Kopi robusta sangat disukai di kalangan pecinta kopi karena rasanya yang kuat, sedangkan kopi arabika digemari oleh masyarakat karena memiliki aroma yang segar(Sapto dkk, 2018).

Pemanfaatan kopi sebagai minuman biasanya dilakukan dengan cara membuat seduhan dari bubuk kopi. Berdasarkan proses pengolahannya, dikenal ada bubuk biasa (bila diseduh menyisakan ampas) dan bubuk instan (bila diseduh akan terlarut tanpa ampas). Bubuk kopi instan dapat dibuat dari kopi bubuk biasa yang diolah dengan cara *spray dried* atau *freeze dried*. Proses pengolahan *spray dried* menggunakan suhu panas dalam prosesnya, dimana suhu panas membuat senyawa antioksidan menguap dan hasil uap tersebut didinginkan dan terkumpul pada wadah akhir. Dalam proses pendinginan, ada sebagian uap yang dikeluarkan dan senyawa antioksidan ikut keluar (Ridwansyah, 2003).. Proses *freeze dried* menggunakan suhu dingin dalam prosesnya, dimana suhu dingin membekukan seduhan kopi dan menjaga seluruh kandungannya (Anna , 2013).

Proses pengolahan menjadi kopi instan diduga merangsang sintesa kandungan antioksidan, namun demikian masih sangat sedikit peneliti yang mengkaji pengaruh proses pengolahan bubuk kopi terhadap aktivitas antioksidannya. Juga belum banyak yang meneliti kopi instan dari jenis robusta maupun arabika. Maka perlu dilakukan penelitian aktivitas antioksidan dari berbagai jenis sediaan kopi tersebut.

Metode yang sering digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan salah satunya adalah menggunakan radikal bebas *DPPH* (1,1-diphenyl-2-picrihydrazyl). *DPPH* merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan sering digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan dari beberapa senyawa bahan alam. Metode ini dipilih karena mudah cepat, sederhana dan peka untuk menilai aktivitas antioksidan dari bahan alam.

## 1.2 Rumusan masalah

Proses pembuatan bubuk kopi diduga mempengaruhi aktivitas antioksidan. Terdapat beberapa jenis sediaan bubuk kopi, diantaranya adalah bubuk kopi biasa dan bubuk kopi instan (*freeze dried*, *spray dried*). Belum diketahui sediaan mana yang memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi. Oleh karena itu rumusan masalah sebagai berikut:

- 1.2.1 Bagaimana aktivitas antioksidan dari seduhan bubuk kopi biasa dibandingkan dengan bubuk kopi yang telah diproses secara *freeze dried* dan *spray dried*.
- 1.2.2 Bagaimana aktivitas antioksidan dari seduhan bubuk kopi instan robusta (*freeze dried* dan *spray dried*) dibandingkan dengan bubuk kopi instan arabika (*freeze dried* dan *spray dried*)

## 1.3 Tujuan penelitian

Tujuan penelitian yang dilakukan diantaranya adalah:

- 1.3.1 Untuk menganalisis aktivitas antioksidan dari seduhan bubuk kopi biasa dibandingkan dengan bubuk kopi yang telah diproses secara *freeze dried* dan *spray dried*.
- 1.3.2 Untuk menganalisis aktivitas antioksidan dari seduhan bubuk kopi instan robusta (*freeze dried* dan *spray dried*) dibandingkan dengan bubuk kopi instan arabika (*freeze dried* dan *spray dried*)

## 1.4 Manfaat penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

- 1.4.1 Memberikan informasi bahwa seduhan bubuk kopi robusta dapat digunakan sebagai bahan antioksidan
- 1.4.2 Memberikan informasi mengenai aktivitas antioksidan seduhan kopi robusta olahan *spray dried* dan *freeze dried*.
- 1.4.3 Memberikan informasi mengenai aktivitas antioksidan seduhan kopi arabika olahan *spray dried* dan *freeze dried*.

Hasil dari penelitian ini dapat dijadikan acuan untuk penelitian selanjutnya

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Kopi

Pada tahun 2005-2008, Indonesia merupakan eksportir kopi ke-4 terbesar di dunia dengan nilai kontribusi sebesar 4,76%. Permintaan kopi robusta di Indonesia terus meningkat dari waktu ke waktu (Afriliana, 2018). Tanaman kopi yang banyak dibudidayakan di Indonesia adalah kopi robusta (90%) dan sisanya adalah kopi arabika (10%) (Rahardjo, 2012). Kopi robusta lebih banyak dibudidayakan karena lebih resisten terhadap penyakit karat daun, tingkat produksi tinggi, memiliki syarat tumbuh dan pemeliharaan yang mudah (Prastowo dkk., 2010)

#### 2.1.1 Klasifikasi Kopi Robusta

Kopi robusta memiliki taksonomi sebagai berikut (Rukmana, 2014)

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Superdivisi	: <i>Spermatophyta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Sub kelas	: <i>Asteridae</i>
Ordo	: <i>Rubiales</i>
Famili	: <i>Rubiaceae</i>
Genus	: <i>Coffea</i>
Spesies	: <i>Coffea canephora</i>

#### 2.1.2 Morfologi Kopi Robusta

Kopi robusta memiliki berat biji kopi dengan buah sebesar 20-22%. Kemampuan adaptasi kopi robusta lebih baik daripada kopi arabika karena dapat tumbuh pada daerah lebih rendah sekitar 0-1000 mdpl (meter atas permukaan air laut) dan suhu 21-24<sup>0</sup> C. Kopi robusta memiliki bunga berwarna putih di ketiak daun dan memiliki aroma yang wangi, daun kopi berbentuk lonjong dengan tulang daun tegas, berwarna hijau mengkilat yang berpasangan dan berlawanan arah. Buah kopi robusta tersusun dari kulit buah (*epicarp*), daging buah (*mesocarp*) yang biasanya disebut *pulp*

dan kulit tanduk (*endocarp*). Setiap buah kopi memiliki dua buah biji yang memiliki alur pada bagian datarnya (Rahardjo, 2017).

### 2.1.3 Klasifikasi Kopi Arabika

Kopi robusta memiliki taksonomi sebagai berikut (Rukmana, 2014)

Kingdom	: <i>Planteae</i>
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Super Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Sub Kelas	: <i>Asteridae</i>
Ordo	: <i>Rubiales</i>
Famili	: <i>Rubiaceae</i>
Genus	: <i>Coffea</i>
Spesies	: <i>Coffea arabica</i> L.

### 2.1.4 Morfologi Kopi Arabika

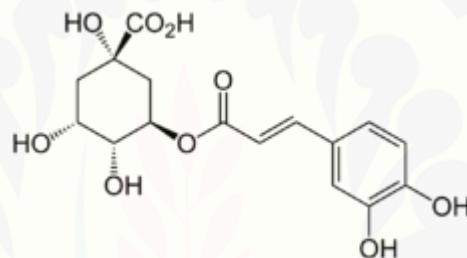
Kopi Arabika tumbuh maksimal pada ketinggian 1.000 meter sampai 1.500 meter di atas permukaan laut. Kopi Arabika memiliki 9 jenis yang berbeda pula, antara lain *Brazilian Arabica* yang tumbuh maksimal pada ketinggian 2.000 meter sampai 2.500 meter di atas permukaan laut, dan *Colombian Mild Arabica* tumbuh maksimal pada ketinggian lebih dari 2.500 meter di atas permukaan laut. Kopi Robusta akan tumbuh maksimal pada ketinggian 400 meter sampai 700 meter di atas permukaan laut. Tanaman kopi sangat sensitif terhadap kelembaban udara. Kelembaban udara yang ideal yaitu antara 70% sampai 89%. Selain itu tanaman kopi juga sensitif terhadap curah hujan, ada saat dimana tanaman kopi membutuhkan hujan yang cukup banyak yaitu pada saat perkembangan biji, dan ada pula saat dimana curah hujan tidak terlalu banyak dibutuhkan yaitu pada saat berbunga dan perkembangan buah, karena hujan dengan intensitas tinggi akan menyebabkan bunga rontok dari tanaman (AEKI, 2006).

### 2.1.3 Kandungan Kimia Kopi

Kopi memiliki banyak komponen kimia seperti vitamin C, vitamin E, betakaroten, kafein, asam klorogenat, trigonelin, karbohidrat, lemak, asam organik,

asam amino, aroma volatile dan mineral (Farhaty, 2016). Kafein dan asam klorogenat merupakan sumber antioksidan pada kopi. Bila dibandingkan dengan teh, coklat, dan wine kandungan antioksidan kopi lebih tinggi dalam sekali seduh.

Asam klorogenat merupakan senyawa fenolik yang memiliki sifat larut dalam air dan terbentuk dari esterifikasi asam *quinic* dan asam *transcinnamic* tertentu seperti asam kafein, asam *ferulic*, dan asam *pcoumaric*. Asam klorogenat dalam kopi memiliki fungsi sebagai antioksidan, antivirus, dan *hepatoprotective* pada tubuh, dan sebagai pelindung dari mikroorganisme dan virus yang mengenai tumbuhan kopi (Farhaty, 2016). Struktur Asam klorogenat merupakan ester yang dibentuk dari asam trans-sinamat dan asam kuinat yang mempunyai gugus hidroksil pada posisi aksial pada karbon 1 dan 3 dan hidroksil equatorial pada karbon 4 dan 5 (gambar 2.1) (Farah, 2012).



Gambar 2.1 Struktur kimia asam Klorogenat  
Sumber: D'Arecca dan Budavari, 2001

Kafein merupakan salah satu antioksidan dalam kopi yang termasuk senyawa alkaloid. Dalam jumlah rendah hingga sedang, kafein dapat meningkatkan kewaspadaan, kapasitas belajar, dan olahraga seseorang. Namun, bila dalam jumlah yang berlebih pada orang yang sensitif dapat menyebabkan gelisah, tekanan darah tinggi, dan insomnia. Kafein juga memiliki fungsi lain sebagai antibakteri yang cukup tinggi untuk mikroorganisme kariogenik (Farah, 2012). Struktur Kafein merupakan sejenis alkaloid heterosiklik dalam golongan methylxanthine, yang menurut definisi berarti senyawa organik yang mengandung nitrogen dengan struktur dua-cincin atau dual-siklik. Molekul ini secara alami terjadi dalam banyak jenis tanaman sebagai metabolik sekunder (gambar 2.2).



Gambar 2.2 Struktur Kimia Kafein  
Sumber: D'Arecca dan Budavari, 2001

Menurut Farah (2012) ada perbedaan kandungan di dalam kopi robusta dan kopi arabika, misalnya pada sukrosa, polisakarida, asam amino dll. Secara lengkap perbedaan kandungan terdapat pada table 2.1

Tabel 2.1 Kandungan Kopi Arabika Dan Robusta

Komponen	Kopi Robusta	Kopi Arabika
Sukrosa	1.6-tr	4.2-tr
Gula Pereduksi	0.3	0.3
Polisakarida	37	31-33
Lignin	3.0	3.0
Pectin	2.0	2.0
Protein	7.5-10	7.5-10
Asam Amino Bebas	Tidak terdeteksi	Tidak terdeteksi
Kafein	2.4-2.5	1.1-1.3
Trigonelin	0.7-0.3	1.2-0.2
Asam Nikotinik	0.014-0.025	0.016-0.026
Minyak Kopi	11.0	17.0
Diterpen	0.2	0.9
Mineral	4.7	4.5
Asam Klorogenat	3.3-3.8	1.9-2.5
Asam Alifatik	1.6	1.6
Asam Quinik	1.0	0.8
Melanoidin	25	25

Sumber : Farah, 2012

## 2.1.4 Pembuatan kopi sediaan *spray dried*

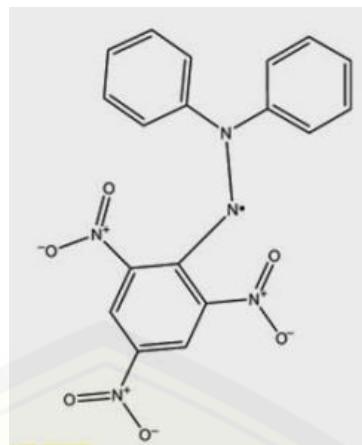
*Spray dried* adalah proses pengeringan menggunakan suhu panas, kemudian uap dari cairan didinginkan hingga menjadi bentuk bubuk. Pembuatan kopi robusta *spray dried* didapatkan dengan cara bubuk kopi robusta diproses dengan alat dry spraying. Tahapan awal yang dilakukan untuk memperoleh sediaan *spray dried* adalah dengan menyeduh kopi dengan perbandingan air dengan bubuk kopi 1:8. Kopi yang telah diseduh kemudian disaring. Setelah disaring seduhan kopi kemudian dimasukkan ke dalam alat *spray dried* hingga kering. (Ridwansyah, 2003).

## 2.1.5 Pembuatan bubuk kopi sediaan *freeze dried*

*Spray dried* adalah proses pengeringan dari bahan cair yang dibekukan, kemudian diperlakukan dengan suatu proses pemanasan ringan dalam ruang hampa udara. proses pembuatan kopi robusta sediaan *freeze dried* dilakukan di laboratorium biologi farmasi fakultas farmasi universitas jember. Tahapan awal yang dilakukan untuk memperoleh sediaan *freeze dried* adalah dengan menyeduh kopi dengan perbandingan air dengan bubuk kopi 1:8. Kopi yang telah diseduh kemudian disaring. Kemudian hasil saringan kopi dimasukkan dalam mesin freeze dry yang terdapat pada laboratorium biologi farmasi fakultas farmasi selama 2x24 jam (Anna , 2013)

## 2.2 Radikal Bebas

Molekul yang memiliki satu atau lebih elektron bebas pada orbital luarnya disebut dengan radikal bebas. Elektron tidak berpasangan pada senyawa tersebut sangat aktif mencari pasangan dengan cara menyerang dan mengikat elektron dari molekul lain di sekitarnya (Winarsi,2007:15). Radikal bebas bisa terbentuk dari dalam tubuh dengan berbagai cara seperti karena radiasi sinar UV, sinar X maupun sinar gamma. Selain dari dalam tubuh, radikal bebas juga dapat terbentuk dari lingkungan seperti : makanan, minuman, ozon, pestisida, polusi udara , dan asap rokok (Rohmatussolihat, 2009:5). DPPH atau 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl adalah radikal bebas yang stabil, berwarna ungu, dan menyerap kuat pada panjang gelombang 517 nm dan memiliki struktur  $C_{18}H_{12}N_5O_6$ .



gambar 2.3 struktur kimia radikal bebas DPPH  
Sumber: D'Arecca dan Budavari, 2001

Dari sudut pandang kedokteran, radikal bebas yang sangat aktif ada dua, yaitu radikal hidroksil (OH<sup>-</sup>) dan radikal superoksida yang terdiri dari dua ikatan atom oksigen (O<sub>2</sub>) dengan satu elektron tidak berpasangan. Masing-masing radikal bebas ini memiliki elektron tunggal yang dapat menyerang dan merusak molekul dalam tubuh. Radikal bebas ini sangat aktif dalam mencari elektron pasangan dengan berikatan dan melepas elektronnya maupun menarik satu elektron dari molekul lain (Youngson, 2005:15). Reaksi sangat aktif dari radikal bebas ini dapat merusak molekul dalam tubuh, seperti: DNA, protein dan lipid yang dapat menimbulkan kerusakan oksidatif di gugus fungsi sel. Kerusakan ini berdampak negatif pada fungsi dan struktur sel yang mengganggu kerja organ secara umum, menyebabkan proses penuaan lebih cepat serta resiko berbagai penyakit seperti : penyakit jantung dan kanker (Silalahi, 2006:40).

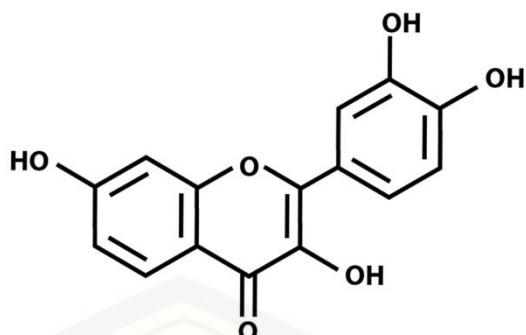
#### 2.2.1 Mekanisme Kerja Radikal Bebas

Mekanisme terbentuknya radikal bebas dapat dimulai oleh banyak hal, baik yang bersifat endogen maupun eksogen. Reaksi selanjutnya adalah peroksidasi lipid membran dan sitosol yang mengakibatkan terjadinya serangkaian reduksi asam lemak sehingga terjadi kerusakan membran dan organel sel. Peroksidasi lipid bertanggung jawab tidak hanya pada kerusakan makanan, tapi juga menyebabkan kerusakan jaringan in vivo karena dapat menyebabkan kanker, penyakit inflamasi, aterosklerosis, dan penuaan. Efek merusak tersebut akibat produksi radikal bebas (ROO<sup>•</sup>, RO<sup>•</sup>, OH<sup>•</sup>) pada proses pembentukan peroksidida dari asam lemak. Peroksidasi lipid merupakan reaksi berantai yang memberikan pasokan radikal bebas secara terus-menerus yang menginisiasi peroksidasi lebih lanjut. (Winarsi, 2007:15)

Dalam kimia organik, peroksida adalah suatu gugus fungsional dari sebuah molekul organik yang mengandung ikatan tunggal oksigen-oksigen ( $R-O-O-R'$ ). Jika salah satu dari  $R$  atau  $R'$  merupakan atom hidrogen, maka senyawa itu disebut hidroperoksida ( $R-O-O-H$ ). Karena prekursor molekuler dari proses inisiasi adalah produk hidroksiperoksida ( $ROOH$ ), peroksidasi lipid merupakan reaksi berantai yang sangat berpotensi memiliki efek menghancurkan. Untuk mengontrol dan mengurangi peroksidasi lipid, digunakan senyawa yang bersifat antioksidan. (Silalahi, 2006:40).

### 2.3 Antioksidan

Antioksidan merupakan sebuah senyawa yang memberikan elektronnya pada senyawa lain (*elektron donors*). Antioksidan dapat meredam dampak dari radikal bebas dalam tubuh dengan cara mendonorkan satu elektronnya pada senyawa yang bersifat oksidan (Winarsi,2007:77). Tubuh manusia memproduksi senyawa antioksidan secara berlanjut untuk meredam radikal bebas, seperti: enzim superoksid dismutase (SOD), enzim glutatin peroksidase ( $GSH-P_x$ ) dan enzim katalase. Bila jumlah radikal bebas dalam tubuh melebihi antioksidan yang diproduksi, maka tubuh membutuhkan asupan antioksidan dari luar tubuh yang dapat ditemukan dari berbagai jenis buah, sayur, dan biji-bijian. Bahan makanan nabati itu banyak mengandung senyawa antioksidan seperti : vitamin C, vitamin E, betakaroten dan antioksidan dari senyawa *flavonoid*. (Ide, 2008:75). Flavonoid merupakan senyawa dengan kerangka karbon C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> (Grotewold, 2006). Flavonoid yang paling besar ada 4, yaitu antosianin (pigmen merah sampai ungu), flavonol (kurang berwarna hingga pigmen kuning pucat), flavanol (pigmen yang kurang berwarna yang menjadi coklat setelah oksidasi), dan proantosianidin (Pas) (Petrussa et al, 2013).



Gambar 2.4 struktur kimia antioksidan flavonoid

Sumber: D'Arecca dan Budavari, 2001

Bila digolongkan berdasar mekanisme kerja dan sumbernya, antioksidan dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu : antioksidan primer, sekunder, dan tersier. Antioksidan primer merupakan antioksidan yang diproduksi oleh tubuh. Contoh dari antioksidan primer yaitu : enzim katalase, enzim superoksida dismutase (SOD) dan enzim glutasi peroksidase (GSH-P<sub>x</sub>). Fungsi dari antioksidan primer adalah mencegah pembentukan radikal bebas baru dengan cara memutus reaksi berantai (polimerisasi), dan mengubahnya menjadi senyawa lain yang lebih stabil (*chain breaking antioxidant*) (Winarsi, 2007:79). Enzim superoksida dismutase bekerja dengan mengkatalisis reaksi dismutase dari radikal anion superoksida menjadi radikal bebas lain yang lebih aman, yaitu hydrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Hydrogen peroksida kemudian dipecah oleh enzim katalase dan glutase peroksidase menjadi air (H<sub>2</sub>O) dan oksigen (O<sub>2</sub>) ( Youngson, 2005:20).

Antioksidan sekunder merupakan antioksidan yang berasal dari luar tubuh dan didapat melalui asupan nutrisi dari sayur maupun buah-buahan. Contoh antioksidan sekunder meliputi : karoten, *flavonoid*, vitamin E, vitamin C, bilirubin, dan albumin. Fungsi dari antioksidan sekunder adalah untuk menghambat terbentuknya senyawa radikal beabs dengan cara menangkap radikal bebas (*free radical scavenger*) lalu mencegah reaksi amplifikasi radikal bebas tersebut yang menyebabkan reaksi dari radikal bebas tidak berlanjut pada komponen seluler (winarsi, 2007:80-81).

Antioksidan tersier merupakan system enzim *DNA-repair* dan metioin sulfoksida reductase. Rusaknya DNA yang disebabkan oleh induksi senyawa radikal bebas ditandai dengan rusaknya *single* dan *double strand* baik pada gugus basa maupun non-basa. Kerusakan DNA ini merupakan awal terjadinya penyakit degenerative dan

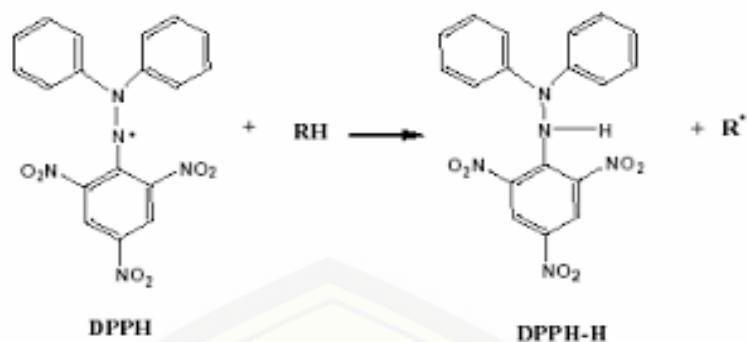
*aging*. Fungsi dari antioksidan tersier adalah memperbaiki DNA yang rusak oleh karena reaksi radikal bebas telah berlanjut hingga komponen seluler sehingga mencegah terjadinya penyakit degenerative dan *aging* (Winarsi,2007:81).

## 2.4 Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode *DPPH* (1,1-diphenyl-2-picrihydrazyl)

Metode yang sering digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan salah satunya adalah menggunakan radikal bebas *DPPH* (1,1-diphenyl-2-picrihydrazyl). *DPPH* merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan sering digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan dari beberapa senyawa bahan alam. Metode ini dipilih akrena mudah cepat, sederhana dan peka untuk menilai aktivitas antioksidan dari bahan alam (Hanani *et al.*, 2005:130). Pada metode *DPPH* adalah aktivitas penghambatan radikal bebas yang merupakan interaksi bahan antioksidan dengan *DPPH* secara transfer elektron maupun radikal hydrogen dan akan menetralkan karakter radikal bebas *DPPH* ( Green, 2004:30). Setelah larutan sampel dicampur dengan *DPPH*, aktivitas peredaman dapat ditandai dengan adanya perubahan warna dari ungu, ungu pudar, hingga kuning (Dehpour *et al.*, 2009).

Reaksi antioksidan dengan radikal bebas *DPPH* membuat radikal bebas tersebut berpasangan dengan atom hydrogen dari antioksidan sehingga membentuk molekul *DPPH-H* (*diphenylpicrylhydrazine*) yang non radikal. Spektrofotometer biasanya digunakan untuk mengukur intensitas warna dengan panjang gelombang antara 515-520 nm sehingga aktivitas peredaman radikal bebas bias ditentukan (Inggrid dan Santoso, 2014:15).

Gugus kromophor dan auksokrom pada radikal *DPPH* memberikan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 517nm sehingga menimbulkan warna ungu. Warna *DPPH* berubah menjadi kuning seiring penambahan antioksidan , yaitu saat electron tunggal *DPPH* berpapasan dengan hydrogen dari antioksidan. Hasil dekolorisasi oleh antioksidan setara dengan jumlah electron yang tertangkap. (lihat gambar 2.5) (Dehpour, Ebrahimsadeh, Fazel dan Mohammad, 2009).



Gambar 2.5 Reduksi DPPH dari Senyawa Peredam Radikal Bebas  
(Prakas et al., 2001)

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang akan dilakukan adalah eksperimental laboratoris. Rancangan penelitian menggunakan *the post test only kontrol group design*, yaitu melakukan pengamatan pada kelompok setelah diberi perlakuan. (Notoatmodjo, 2010). Perlakuan pada penelitian ini adalah pemrosesan bubuk kopi dengan metode *spray dried* dan *freeze dried* lalu dibandingkan dengan kelompok control (bubuk biasa).

### 3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Pelaksanaan penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus 2019.

### 3.3 Variabel Penelitian

#### 3.3.1 Variabel bebas

- a. macam seduhan kopi (biasa, *spray dried* dan *freeze dried*)
- b. Jenis kopi (kopi arabika dan kopi robusta)

#### 3.3.2 variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah persen inhibisi pada bubuk kopi

#### 3.3.3 variabel terkendali

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah :

- a. metode DPPH
- b. jenis bubuk kopi robusta dan arabika
- c. konsentrasi sediaan
- d. pemrosesan bubuk kopi (*freeze dry* dan *dry spraying*)

## 3.4 Definisi Operasional

### 3.4.1 Seduhan kopi *Spray dried*

Seduhan kopi spray drying adalah pelarutan sediaan kopi robusta dan arabika merek Gunung Ijen produksi PTPN XII yang telah diproses secara spray drying dengan perbandingan bubuk dengan aquades 1:8.

### 3.4.2 Seduhan kopi bubuk robusta

seduhan kopi bubuk robusta adalah pelarutan sediaan kopi robusta dan arabika merek Gunung Ijen produksi PTPN XII dengan perbandingan bubuk dengan aquades 1:8.

### 3.4.3 Seduhan kopi *Freeze dried*

Seduhan kopi freeze drying adalah pelarutan sediaan kopi robusta dan arabika merek Gunung Ijen produksi PTPN XII yang telah diproses secara freeze drying dengan perbandingan bubuk dengan aquades 1:8.

### 3.4.4 Aktivitas Antioksidan Seduhan kopi *spray dried*

Aktivitas antioksidan seduhan kopi spray drying diperoleh dari hasil absorbansi spektrofotometer UV-VIS yang kemudian dihitung persen hambatnya.

### 3.4.5 Aktivitas Antioksidan Seduhan kopi *freeze dried*

Aktivitas antioksidan seduhan kopi freeze drying diperoleh dari hasil absorbansi spektrofotometer UV-VIS yang kemudian dihitung persen hambatnya.

### 3.4.6 Aktivitas Antioksidan Seduhan kopi robusta

Aktivitas antioksidan seduhan kopi robusta diperoleh dari hasil absorbansi spektrofotometer UV-VIS yang kemudian dihitung persen hambatnya.

### 3.4.7 Aktivitas Antioksidan Seduhan kopi arabika

Aktivitas antioksidan seduhan kopi arabika diperoleh dari hasil absorbansi spektrofotometer UV-VIS yang kemudian dihitung persen hambatnya.

### 3.4.8 Konsentrasi sediaan kopi

Seduhan kopi dibuat dengan konsentrasi 100, 250, 500, 750, 1000, 1500 ppm digunakan untuk mendapatkan hasil yang signifikan

### 3.4.9 Metode DPPH

Metode DPPH dipilih karena mudah cepat, sederhana dan peka untuk menilai aktivitas antiokksida dari bahan alam

## 3.5 Sampel penelitian

### 3.5.1 Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan bubuk kopi robusta dan arabika merek Gunung Ijen produksi PTPN XII yang dibeli tidak lebih dari seminggu dari hari penelitian. Hal ini dilakukan untuk menjaga kualitas bahan dan kandungan kopi.

### 3.5.2 Pengelompokan Sampel

Sampel penelitian dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan yaitu:

1. Seduhan kopi biasa sebagai kontrol
  - a. Robusta
  - b. Arabika
2. *Freeze dried*
  - a. Robusta
  - b. Arabika
3. *Spray dried*
  - a. Robusta
  - b. Arabika

Masing masing sub kelompok akan dilakukan analisis berdasarkan konsentrasinya yaitu 100, 250, 500, 750, 1000, dan 1500 ppm.

### 3.5.3 Besar sampel penelitian

Jumlah sampel yang digunakan untuk tiap kelompok dalam penelitian ini berdasarkan pada perhitungan rumus (Daniel, 2009):

$$n = \frac{z^2 x \sigma^2}{d^2}$$

Keterangan:

n= besar sampel tiap kelompok

Z= nilai pada tingkat tertentu jika  $\alpha=0,05$  maka  $Z=1,96$

$\sigma$ = standart deviasi sampel

d= kesalahan yang dapat ditolerir, asumsi  $\sigma=d$

dengan asumsi kesalahan yang dapat ditolerir ( $d$ ) = ( $\sigma$ ) maka:

$$\begin{aligned} n &= \frac{z^2 \times \sigma^2}{d^2} \\ n &= \frac{(1,96)^2 \times \sigma^2}{d^2} \\ n &= (1,96)^2 \\ &= 3,84 \\ &= 4 \end{aligned}$$

Berdasarkan rumus di atas,didapatkan bahwa besar sampel yang harus digunakan pada tiap kelompok penelitian adalah 4. Pada penelitian ini terdapat 13 kelompok penelitian sehingga jumlah total sampel adalah 52 sampel.

## 3.6 Alat dan Bahan Penelitian

### 3.6.1 Alat penelitian

- a. Botol gelap
- b. Gelas ukur
- c. Neraca analitik
- d. Beaker glass
- e. Labu ukur
- f. pipet ukur
- g. pipet filler
- h. tabung reaksi
- i. aluminium foil
- j. spektrofotometer UV-Vis
- k. kuvet
- l. tabung Erlenmeyer

### 3.6.1 bahan penelitian

- a. kopi bubuk robusta merek Gunug Ijen produksi PTPN XII
- b. kopi bubuk arabika merek Gunug Ijen produksi PTPN XII
- c. etanol
- d. methanol
- e. DPPH
- f. Aquades

### 3.7 prosedur penelitian

#### 3.7.1 Persiapan sampel

- pengambilan sampel bubuk biasa kopi robusta dan arabika kopi robusta dan arabika yang digunakan adalah kopi robusta dan arabika merek gunung ijen produksi PTPN XII
- Pembuatan sedian bubuk kopi robusta dan arabika dengan sediaan *freeze dried*

Proses pembuatan kopi robusta dan arabika dengan sediaan *freeze dried* dilakukan di laboratorium biologi fakultas farmasi universitas Jember. Masing masing kopi dilakukan dengan tahapan untuk memperoleh sediaan *freeze dry* adalah menyeduhan kopi dengan perbandingan air dengan bubuk kopi 1:8. Kopi yang telah diseduhan kemudian disaring. Hasil saringan kopi dimasukkan dalam mesin *freeze dry* selama 2x24 jam.

- Pembuatan sedian bubuk kopi robusta dan arabika dengan sediaan *spray dried* Pembuatan kopi robusta *spray dried* didapatkan dengan cara masing masing bubuk kopi robusta dan juga arabika diproses dengan alat dry spraying di laboratorium rekayasa proses hasil pertanian Program studi teknologi hasil pangan fakultas teknik pertanian universitas jember. Tahapan yang dilakukan untuk memperoleh sediaan *spray dried* adalah dengan menyeduhan kopi dengan perbandingan air dengan bubuk kopi 1:8. Kopi yang telah diseduhan kemudian disaring. Setelah disaring, seduhan kopi dimasukkan ke dalam alat dry spray hingga kering.

### 3.7.1.2 Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

#### a. Pembuatan larutan DPPH

- timbang 0.0007 gram DPPH
- larutkan dalam methanol sebanyak 14ml
- larutan dikocok hingga homogen lalu dimasukkan dalam botol gelap
- mengukur absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer untuk mendapatkan panjang gelombang maksimum

#### b. pembuatan larutan blanko

2500  $\mu$ l methanol dicampur dengan 500  $\mu$ l larutan DPPH

Larutan dikocok hingga homogen

#### c. Pembuatan larutan uji

##### a. Larutan induk

10 gram kopi yang telah diproses *spray dried* dan *freeze dried* serta control masing masing dilarutkan ke dalam 10 ml etanol = 1000 ppm

##### b. Larutan seri

1. Masing masing pada *spray dried*, *freeze dried* dan kontrol (biasa), dilakukan pembuatan larutan seri dengan konsentrasi berikut

Tabel 3.1 pembuatan larutan seri *spray dried*, *freeze dried*, dan control (biasa)

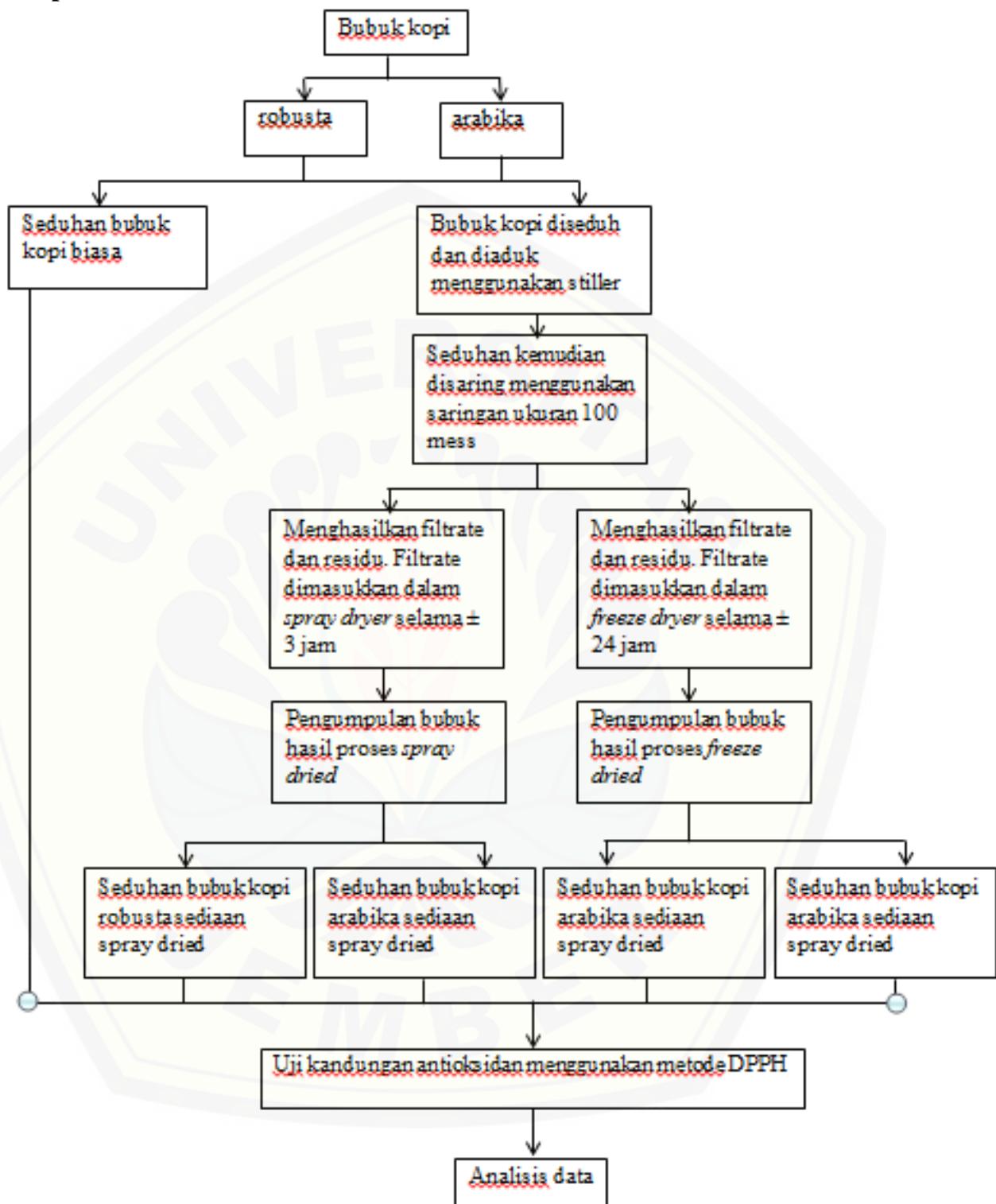
Konsentrasi (ppm)	Larutan induk kopi ( $\mu$ l)	Etanol ( $\mu$ l)	DPPH ( $\mu$ l)
100 ppm	100 $\mu$ l	400 $\mu$ l	500 $\mu$ l
250 ppm	100 $\mu$ l	400 $\mu$ l	500 $\mu$ l
500 ppm	100 $\mu$ l	400 $\mu$ l	500 $\mu$ l
750 ppm	100 $\mu$ l	400 $\mu$ l	500 $\mu$ l
1000 ppm	100 $\mu$ l	400 $\mu$ l	500 $\mu$ l
1500 ppm	100 $\mu$ l	400 $\mu$ l	500 $\mu$ l

### 3.7.3 pengukuran absorbansi

Seluruh larutan kopi kontrol, diinkubasi pada suhu 37° selama 30 menit dalam keadaan gelap. Selanjutnya diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 516 nm. Setelah hasil absorbansi telah didapatkan, dicari persen hambat dari masing masing larutan dengan menggunakan rumus

$$\% \text{penghambatan} = \frac{\text{abs blanko} - \text{abs sampel}}{\text{abs blanko}} \times 100$$

### 3.8 Alur penelitian



## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian diatas, dapat disimpulkan bahwa sediaan bubuk kopi robusta dan arabika yang telah diproses secara *spray dried* maupun *freeze dried* memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan sediaan kopi robusta dan arabika yang tidak diproses lebih lanjut.

### 5.2 Saran

Saran pada penelitian adalah :

1. Melakukan penelitian menggunakan metode penelitian lain,
2. Melakukan penelitian lebih lanjut mengenai kandungan dalam bubuk kopi yang mengandung antioksidan.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Agung, S., 2017. Validasi Metode bioanalisis Kafein dalam Sampel Darah Orang Jawa dengan Metode Kromotografi Cair Kinerja Tinggi Fase Terbalik. Universitas Sanata Dharma.
- Arwingga, A.F., Asih, I.A.R.A., and Sudiarta, I.W., 2016. Analisis Kandungan Kafein Pada Kopi di Desa Sesao Narmada Menggunakan Spektrofometer UV-Vis. *Jurnal Kimia Universitas Udayana.*, 10 (1), 110-114.
- Brainina, K.Z.; Ivanova, A.V.; Sharafutdinova, E.N. Academic news magazine. Potentiometric measurement of antioxidant activity of foodstuff. *Food Technol.* 2004, 4, 73–75.
- Chowdhury, S.R., Maleque, M and shihan, M.H., 2012. Development and Validation of a Simple RP-HPLC Method for Determination of Caffeine in Pharmaceutical Dosage Forms. Asian Pharma Press., 2 (1), 1-4.
- Dawidowicz AL, Wianowska D, Olszowy M. On practical problems in estimation of antioxidant activity of compounds by DPPH method (Problems in estimation of antioxidant). *Food Chemistry.* 2012;131:1037–1043.
- Del Castillo, M.D.; Ames, J.M.; Gordon, M.H. Effect of roasting on the antioxidant activity of coffee brews. *J. Agric. Food Chem.* 2002, 50, 3698–3703.
- Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. 2002. *Kamus Besar Bahasa Indonesia (Edisi Kedua)*. Jakarta: Balai Pustaka.
- Dhianawaty, Diah. Dan Ruslin. 2015. Kandungan Total Polifenol dan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Metanol Akar *Imperata cylindrical* (L) Beauv. (Alang-Alang). *Majalah Kedokteran bandung*, 47 (1), 60-64.
- Foti MC, Daquino C, Geraci C. Electron-transfer reaction of cinnamic acids and their methyl esters with the DPPH centre dot radical in alcoholic solutions. *Journal of Organic Chemistry.* 2004;9(7):2309–2314.
- Gatebe, E., 2014. Dtermination of Caffein Content of Tea and Instant Coffe Brands Found in Kenyan Market. *African Journal of Food Science.*, 4 (6), 353-358.
- Green, Rodney James. 2004. *Antioxidant Activity of Peanut Plant tissues. Thesis. North Caroline State University: Departement of Food Science, Raleigh.*
- Hamzah, Nursalam., Ismail, Isriany., dan Saudi, Andi Dian Aulia. 2014. Pengaruh Emulgator Terhadap Aktivitas Antioksidan Krim Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*). *jurnal Kesehatan*, VII (2), 377-385.

- Harborne JB, Williams CA (2000) Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* 55: 481-504.
- Hilou, Adama., Rasolodimby, Jeanne Millogo. Dan Nacoulma, Odile Germaine. 2013. Betacyanins are The Most Relevant Antioxidant Molecules of *Amaranthus spinosus* and *Boerhavia erecta*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7 (11), 645-652.
- Inggrid, Maria. Dan Santoso, Herry. 2014. *Ekstraksi Antioksidan dan Senyawa Aktif Dari Buah Kiwi (Actinidia deliciosa)*. Parahyangan, Bandung : Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Katolik Parahyangan.
- Jeszka-Skowron M, Sentkowska A, Pyrzynska K, et al. Chlorogenic acids, caffeine content and antioxidant properties of green coffee extracts - influence of green coffee bean preparation. *European Food Research and Technology*. 2016;242(8):1403–1409.
- Jeszka-Skowron M, Zgoła-Grześkowiak K, Grześkowiak T. Analytical methods applied for the characterization and the determination of bioactive compounds in coffee. *European Food Research & Technology*. 2015;240(1):19–31.
- Jun, Fu, Hong, Wan, Yang dan Ho. 2006. “Comparison of Antioxidant Activities of Isoflavones From Kudzu Root (*Pueraria Lobata ohwi*)”. *Journal of Food Science*, 68 (6), 2117-2122.
- Karadag A, Ozcelik B, Saner S. Review of methods to determine antioxidant capacities. *Food Analytical Methods*. 2009;2(1):41–60.
- Katrin dan Bendra, Atika. 2015. Aktivitas Antioksidan Ekstrak, Fraksi dan Golongan Senyawa Kimia Daun *Premna oblongata* Miq. *Pharmaceutical Science and Research* 2(1), 21-31.
- Kedare SB, Singh RP (2011) Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *J Food Sci Technol* 48: 412-422
- Kumar, Shashank. Dan Pandey, Abhay K. 2013. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids. *The Scientific World Journal*, 2013 : 1-16.
- Lestari, E.W. and Haryanto, I., 2009. Konsumsi Kopi Masyarakat Perkotaan dan Faktor-Faktor yang Berpengaruh: Kasus di Kabupaten Jember. *Pelita Perkabunan.*, 25 (90), 216-234.
- Magalhães LM, Segundo MA, Reis S, Lima JL. Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Analytica Chimica Acta*. 2008;613(1):1-19.
- Maramis, R.K., Citraningtyas, G., and Wehantouw, F., 2013. Analisis Kafein Dalam Kopi Bubuk di Kota Manado Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi.*, 2 (4), 122-128.

- Matheos, Heryanto., Runtuwene, Max Revolta John. Dan Sudewi, Sri. 2014. Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Daun Kayu Bulan (*Pisonia Alba*). *PHARMACON, Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT* 3(3), 235-246.
- Molyneux, Philip. 2004. "The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity". *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(2), 211-219.
- Moon JK, Shibamoto T. Antioxidant assays for plant and food components. *J Agric Food Chem.* 2009;57(5):1655–1666.
- Muhilal. 1991. *Teori Radikal Bebas Dalam Gizi dan Kedokteran*. Cermin Dunia Kedokteran No. 73, 9-11.
- Nebesny, E.; Budryn, G. Antioxidative activity of green and roasted coffee beans as influenced by convection and microwave roasting methods and content of certain compounds. *Eur. Food Res. Technol.* 2003, 217, 157–163.
- Noorhajati, Hermien. 2014. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Bawang Trengguli (*Cassia fistula*) dengan Uji DPPH. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Pendidikan Sains IX, Fakultas Sains dan Matematika UKSW*, 5(1), 467-471.
- Pangkahila, J. Alex. 2013. Pengaturan Pola Hidup dan Aktivitas Fisik Meningkatkan Umur Harapan Hidup. *Sport and Fitness Journal*, 1(1), 32-36.
- Priftis A, Stagos D, Konstantinopoulos K, et al. Comparison of antioxidant activity between green and roasted coffee beans using molecular methods. *Mol Med Rep.* 2015;12(5):7293–7302.
- Pyrzynska K, Pękal A. Application of free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) to estimate antioxidant capacity of food samples. *Analytical Methods*. 2013;5(17):4288–4295.
- Ridho, Ery Al. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Buah Lakum (*Cayratia trifolia*) Dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl 2- Picrihydrazyl). *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan* 1(1).
- Rohdiana, D. 2001. Aktivitas Daya Tangkap Radikal Polifenol dalam Daun The. *Majalah Jurnal Indonesia*, 12, 53-58.
- Rohmatussolihat. 2009. Antioksidan, Penyelamat Sel-Sel Tubuh Manusia. *BioTrends*, 4(1), 5-9.
- Schubert, A.; Pereira, D.F.; Zanin, F.F.; Alves, S.H.; Beck, R.C.R.; Athayde, M.L. Comparison of antioxidant activities and total polyphenolic and methylxanthine

contents between the unripe fruit and leaves of *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. *Pharmazie* 2007, 62, 876–880.

Shock, N., 2010. Caffeine Dependence. *Behavioral Pharmacology Research Unit.*, 1-7.

Silva, D.A.; Silva, T.M.S.; Lins, A.C.S.; Costa, D.A.; Cavalcante, J.M.S.; Matias, W.N.; Souza, M.F.V.; Filho, B.R. Chemical constituents and antioxidant activity of *Sida galheirensis* Ulbr. (Malvaceae). *Quim. Nova* 2006, 29, 1250–1254.

Stelmach E, Pohl P, Szymczycha-Madeja. The content of Ca, Cu, Fe, Mg and Mn and antioxidant activity of green coffee brews. *Food Chemistry*. 2015;182:302–308.

Tanzil, Antonia. 2008. Radikal Bebas Pada Gangguan Fungsi Sendi Rahang. *Indonesian Journal of Dentistry* 15(1), 77-82.

Tarigan, E.B., Pranowo, D., and Iflah, T., 2015. Tingkat Kesuksesan Konsumen Terhadap Kopi Campuran Robusta Dengan Arabika. *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia.*, 7 (1), 12-17.

Tjandra, Oetarini., Rusliati., dan Zulhipli. 2011. *Uji Aktivitas Antioksidan dan Profil Fitokimia Rambutan Rapiyah (Nephelium lappaceum)*. Upt Penerbitan dan Percetakan UNS.

Widyotomo, S., 2007. Kafein: Senyawa Penting Pada Biji Kopi. *Pusat Penelitian Kopi Dan Kakao Indonesia.*, 23 (1), 44-50.

Winarsi, Hery. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas : Potensi dan Aplikasinya Dalam Kesehatan*. Yogyakarta : Kanisius Media.

Youngson, Robert. 2005. *Antioksidan : Manfaat Vitamin C dan E Bagi Kesehatan*. Jakarta : Arcan.

Zuhra, Cut Fatimah., Tarigan, Julianti Br. Dan Sihotang, Herlince. 2008. Aktivitas antioksidan Senyawa Flavonoid Dari Daun Katuk (*Sauvopus androgynus* (L) Merr.). *Jurnal Biologi Sumatera*. 3(1), 7-10.

## LAMPIRAN

### A. Perhitungan Pembuatan Larutan DPPH

Rumus molekul DPPH adalah  $C_{18}H_{12}N_5O_6$  dan memiliki berat molekul 394,324 g/mol (Noorhajati, 2014:469). DPPH dapat dibuat menggunakan 0,4mM dengan 100 ml. Massa serbuk DPPH dapat dihitung menggunakan rumus:

$$M = \frac{\text{massa}}{BM \times V}$$

Keterangan:

M : molaritas (M)

Massa : berat jenis (g)

BM : berat molekul (g/mol)

V : volume (L)

Perhitungan massa DPPH yang digunakan:

$$M = \frac{\text{massa}}{BM \times V}$$

$$\frac{0,4}{1000} = \frac{\text{massa}}{394,324 \times 0,1} \quad \rightarrow \text{massa} = 0,01577292 \text{ gram} = 15,8 \text{ gram}$$

DPPH yang digunakan adalah 15,8 mg. larutan dibuat dengan mencampurkan DPPH dengan methanol dan dikocok hingga homogeny.

### B. Perhitungan Pengenceran Seduhan Kopi Robusta dan Arabika

Larutan standar dibuat dari larutan induk 1000 ppm yang diencerkan menjadi 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm sebanyak 10 ml pada tiap konsentrasi. Larutan standar 750 ppm dibuat dari larutan induk 1500 ppm sebanyak 10 ml.

Rumus pengenceran:

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

Keterangan:

$V_1$  : volume larutan standar yang diencerkan

$V_2$  : volume larutan pengenceran

$M_1$  : konsentrasi larutan yang diencerkan

$M_2$  : konsentrasi larutan pengenceran

#### 1. Larutan standar ekstrak 100 ppm

Larutan induk ekstrak 1000 ppm yang diencerkan menjadi 100 ppm sebanyak 10 ml.

Rumus pengenceran :

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \times V_1 = 100 \times 10$$

$$V_1 = 1 \text{ ml}$$

Larutan induk ekstrak  $1000 \text{ ppm}$  diambil sebanyak 1 ml dan diencerkan pada labu ukur 10 ml menggunakan aquades sampai tanda batas.

## 2. Larutan standar ekstrak $250 \text{ ppm}$

Larutan induk ekstrak  $1000 \text{ ppm}$  yang diencerkan menjadi  $250 \text{ ppm}$  sebanyak 10 ml.

Rumus pengenceran :

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \times V_1 = 250 \times 10$$

$$V_1 = 2,5 \text{ ml}$$

Larutan induk ekstrak  $1000 \text{ ppm}$  diambil sebanyak 2,5 ml dan diencerkan pada labu ukur 10 ml menggunakan aquades sampai tanda batas.

## 3. Larutan standar ekstrak $500 \text{ ppm}$

Larutan induk ekstrak  $1000 \text{ ppm}$  yang diencerkan menjadi  $500 \text{ ppm}$  sebanyak 10 ml.

Rumus pengenceran :

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \times V_1 = 500 \times 10$$

$$V_1 = 5 \text{ ml}$$

Larutan induk ekstrak  $1000 \text{ ppm}$  diambil sebanyak 5 ml dan diencerkan pada labu ukur 10 ml menggunakan aquades sampai tanda batas.

## 4. Larutan standar ekstrak $750 \text{ ppm}$

Larutan induk ekstrak  $1500 \text{ ppm}$  yang diencerkan menjadi  $750 \text{ ppm}$  sebanyak 10 ml.

Rumus pengenceran :

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1500 \times V_1 = 750 \times 10$$

$$V_1 = 5 \text{ ml}$$

Larutan induk ekstrak  $1500 \text{ ppm}$  diambil sebanyak 5 ml dan diencerkan pada labu ukur 10 ml menggunakan aquades sampai tanda batas.

### C. Perhitungan Pengenceran Seduhan Kopi Robusta dan Arabika Sediaan Spray Dried

Larutan standar dibuat dari larutan induk 1000 *ppm* yang diencerkan menjadi 100 *ppm*, 250 *ppm*, 500 *ppm*, 750 *ppm* sebanyak 10 ml pada tiap konsentrasi. Larutan standar 750 *ppm* dibuat dari larutan induk 1500 *ppm* sebanyak 10 ml.

Rumus pengenceran:  $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$

Keterangan:

$V_1$  : volume larutan standar yang diencerkan

$V_2$  : volume larutan pengenceran

$M_1$  : konsentrasi larutan yang diencerkan

$M_2$  : konsentrasi larutan pengenceran

#### 5. Larutan standar ekstrak 100 *ppm*

Larutan induk ekstrak 1000 *ppm* yang diencerkan menjadi 100 *ppm* sebanyak 10 ml.

Rumus pengenceran :

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \times V_1 = 100 \times 10$$

$$V_1 = 1 \text{ ml}$$

Larutan induk ekstrak 1000 *ppm* diambil sebanyak 1 ml dan diencerkan pada labu ukur 10 ml menggunakan aquades sampai tanda batas.

#### 6. Larutan standar ekstrak 250 *ppm*

Larutan induk ekstrak 1000 *ppm* yang diencerkan menjadi 250 *ppm* sebanyak 10 ml.

Rumus pengenceran :

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \times V_1 = 250 \times 10$$

$$V_1 = 2,5 \text{ ml}$$

Larutan induk ekstrak 1000 *ppm* diambil sebanyak 2,5 ml dan diencerkan pada labu ukur 10 ml menggunakan aquades sampai tanda batas.

#### 7. Larutan standar ekstrak 500 *ppm*

Larutan induk ekstrak 1000 *ppm* yang diencerkan menjadi 500 *ppm* sebanyak 10 ml.

Rumus pengenceran :

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \times V_1 = 500 \times 10$$

$$V_1 = 5 \text{ ml}$$

Larutan induk ekstrak 1000 *ppm* diambil sebanyak 5 ml dan diencerkan pada labu ukur 10 ml menggunakan aquades sampai tanda batas.

## 8. Larutan standar ekstrak 750 *ppm*

Larutan induk ekstrak 1500 *ppm* yang diencerkan menjadi 750 *ppm* sebanyak 10 ml.

Rumus pengenceran :

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1500 \times V_1 = 750 \times 10$$

$$V_1 = 5 \text{ ml}$$

Larutan induk ekstrak 1500 *ppm* diambil sebanyak 5 ml dan diencerkan pada labu ukur 10 ml menggunakan aquades sampai tanda batas.

## D. Perhitungan Pengenceran Seduhan Kopi Robusta dan Arabika Sediaan Freeze Dried

Larutan standar dibuat dari larutan induk 1000 *ppm* yang diencerkan menjadi 100 *ppm*, 250 *ppm*, 500 *ppm*, 750 *ppm* sebanyak 10 ml pada tiap konsentrasi. Larutan standar 750 *ppm* dibuat dari larutan induk 1500 *ppm* sebanyak 10 ml.

Rumus pengenceran:

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

Keterangan:

$V_1$  : volume larutan standar yang diencerkan

$V_2$  : volume larutan pengenceran

$M_1$  : konsentrasi larutan yang diencerkan

$M_2$  : konsentrasi larutan pengenceran

## 9. Larutan standar ekstrak 100 *ppm*

Larutan induk ekstrak 1000 *ppm* yang diencerkan menjadi 100 *ppm* sebanyak 10 ml.

Rumus pengenceran :

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \times V_1 = 100 \times 10$$

$$V_1 = 1 \text{ ml}$$

Larutan induk ekstrak 1000 *ppm* diambil sebanyak 1 ml dan diencerkan pada labu ukur 10 ml menggunakan aquades sampai tanda batas.

## 10. Larutan standar ekstrak 250 *ppm*

Larutan induk ekstrak 1000 *ppm* yang diencerkan menjadi 250 *ppm* sebanyak 10 ml.

Rumus pengenceran :

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \times V_1 = 250 \times 10$$

$$V_1 = 2,5 \text{ ml}$$

Larutan induk ekstrak  $1000 \text{ ppm}$  diambil sebanyak  $2,5 \text{ ml}$  dan diencerkan pada labu ukur  $10 \text{ ml}$  menggunakan aquades sampai tanda batas.

## 11. Larutan standar ekstrak $500 \text{ ppm}$

Larutan induk ekstrak  $1000 \text{ ppm}$  yang diencerkan menjadi  $500 \text{ ppm}$  sebanyak  $10 \text{ ml}$ .

Rumus pengenceran :

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \times V_1 = 500 \times 10$$

$$V_1 = 5 \text{ ml}$$

Larutan induk ekstrak  $1000 \text{ ppm}$  diambil sebanyak  $5 \text{ ml}$  dan diencerkan pada labu ukur  $10 \text{ ml}$  menggunakan aquades sampai tanda batas.

## 12. Larutan standar ekstrak $750 \text{ ppm}$

Larutan induk ekstrak  $1500 \text{ ppm}$  yang diencerkan menjadi  $750 \text{ ppm}$  sebanyak  $10 \text{ ml}$ .

Rumus pengenceran :

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1500 \times V_1 = 750 \times 10$$

$$V_1 = 5 \text{ ml}$$

Larutan induk ekstrak  $1500 \text{ ppm}$  diambil sebanyak  $5 \text{ ml}$  dan diencerkan pada labu ukur  $10 \text{ ml}$  menggunakan aquades sampai tanda batas.

### **E. Data absorbansi sampel seduhan kopi dan % inhibisi kopi terhadap radikal bebas**

#### **DPPH**

Absorbansi DPPH	Sampel	Konsentrasi (ppm)	Sampel kopi			Rata rata	% inhibisi
			Data 1	Data 2	Data 3		
0.729	Robusta bubuk biasa	100	0.704	0.724	0.722	0.716	1.78
		250	0.627	0.617	0.640	0.628	13.85
		500	0.485	0.486	0.475	0.482	33.88
		750	0.328	0.335	0.335	0.332	54.45
		1000	0.216	0.197	0.188	0.200	72.56
		1500	0.104	0.151	0.117	0.124	82.99
0.729	Dry spray robusta	100	0.659	0.673	0.673	0.668	8.36
		250	0.495	0.470	0.462	0.475	34.84
		500	0.283	0.289	0.276	0.282	61.31
		750	0.167	0.141	0.171	0.159	78.18
		1000	0.178	0.163	0.157	0.166	77.22
		1500	0.103	0.102	0.116	0.107	85.32
0.768	Freeze dry robusta	100	0.543	0.533	0.542	0.498	35.15
		250	0.255	0.251	0.261	0.255	66.79
		500	0.084	0.114	0.097	0.098	87.23
		750	0.128	0.126	0.126	0.126	83.59
		1000	0.123	0.121	0.108	0.117	84.76
		1500	0.142	0.108	0.123	0.124	83.85
0.729	Arabika bubuk biasa	100	0.675	0.678	0.673	0.675	7.40
		250	0.536	0.538	0.526	0.533	26.88
		500	0.329	0.347	0.322	0.332	54.45
		750	0.213	0.196	0.199	0.202	72.29
		1000	0.122	0.118	0.130	0.123	83.12
		1500	0.122	0.123	0.120	0.121	83.40
0.729	Dry spray arabika	100	0.584	0.636	0.631	0.617	15.36
		250	0.441	0.439	0.456	0.445	38.95
		500	0.203	0.189	0.272	0.221	69.68
		750	0.098	0.107	0.121	0.108	85.18
		1000	0.141	0.116	0.121	0.126	82.71
		1500	0.109	0.098	0.127	0.111	84.77
0.768	Freeze dry arabika	100	0.642	0.647	0.642	0.643	16.27
		250	0.302	0.316	0.311	0.309	59.76
		500	0.122	0.138	0.137	0.132	82.81
		750	0.116	0.121	0.121	0.119	84.50
		1000	0.114	0.118	0.123	0.118	84.63
		1500	0.122	0.118	0.118	0.119	84.50

Persen inhibisi dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{abs blanko} - \text{abs sampel}}{\text{abs blanko}} \times 100\%$$

Keterangan :

Abs. blanko : nilai absorbansi larutan blanko

Abs. sampel : nilai absorbansi larutan uji

## F. Analisis Data

### F.1 Analisis Data 100 ppm

**Tests of Normality**

	jeniskopi	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk
		Statistic	df	Sig.	
antioksidan	robusta bubuk biasa	.353	3	.	.824
	robusta dry spray	.385	3	.	.750
	robusta freeze dry	.353	3	.	.824
	arabika bubuk biasa	.219	3	.	.987
	arabika dry spray	.354	3	.	.821
	arabika freeze dry	.385	3	.	.750

**Multiple Comparisons**

Antioksidan

LSD

(I) jeniskopi	(J) jeniskopi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
robusta bubuk biasa	robusta dry spray	-6.6301	1.50709	.001
	robusta freeze dry	-28.0825	1.50709	.000
	arabika bubuk biasa	-5.6699	1.50709	.004
	arabika dry spray	-13.6717	1.50709	.000
	arabika freeze dry	-14.4974	1.50709	.000
robusta dry spray	robusta bubuk biasa	6.6301	1.50709	.001
	robusta freeze dry	-21.4524	1.50709	.000
	arabika bubuk biasa	.9602	1.50709	.538
	arabika dry spray	-7.0416	1.50709	.001
	arabika freeze dry	-7.8673	1.50709	.000
robusta freeze dry	robusta bubuk biasa	28.0825	1.50709	.000

	robusta dry spray	21.4524*	1.50709	.000
	arabika bubuk biasa	22.4126*	1.50709	.000
	arabika dry spray	14.4108*	1.50709	.000
	arabika freeze dry	13.5851*	1.50709	.000
arabika bubuk biasa	robusta bubuk biasa	5.6699*	1.50709	.004
	robusta dry spray	-.9602	1.50709	.538
	robusta freeze dry	-22.4126*	1.50709	.000
	arabika dry spray	-8.0018*	1.50709	.000
	arabika freeze dry	-8.8276*	1.50709	.000
arabika dry spray	robusta bubuk biasa	13.6717*	1.50709	.000
	robusta dry spray	7.0416*	1.50709	.001
	robusta freeze dry	-14.4108*	1.50709	.000
	arabika bubuk biasa	8.0018*	1.50709	.000
	arabika freeze dry	-.8257	1.50709	.596
arabika freeze dry	robusta bubuk biasa	14.4974*	1.50709	.000
	robusta dry spray	7.8673*	1.50709	.000
	robusta freeze dry	-13.5851*	1.50709	.000
	arabika bubuk biasa	8.8276*	1.50709	.000
	arabika dry spray	.8257	1.50709	.596

## F.2 Analisis Data 250 ppm

**Tests of Normality**

	jeniskopi	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk
		Statistic	df	Sig.	
antioksidan	robusta bubuk biasa	.201	3	.	.994
	robusta dry spray	.296	3	.	.919
	robusta freeze dry	.219	3	.	.987
	arabika bubuk biasa	.328	3	.	.871
	arabika dry spray	.346	3	.	.837
	arabika freeze dry	.241	3	.	.974

**Multiple Comparisons**

Antioksidan

LSD

(I) jeniskopi	(J) jeniskopi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
robusta bubuk biasa	robusta dry spray	-20.8962 <sup>*</sup>	1.21674	.000
	robusta freeze dry	-52.8555 <sup>*</sup>	1.21674	.000
	arabika bubuk biasa	-12.9858 <sup>*</sup>	1.21674	.000
	arabika dry spray	-25.0572 <sup>*</sup>	1.21674	.000
	arabika freeze dry	-45.8242 <sup>*</sup>	1.21674	.000
robusta dry spray	robusta bubuk biasa	20.8962 <sup>*</sup>	1.21674	.000
	robusta freeze dry	-31.9593 <sup>*</sup>	1.21674	.000
	arabika bubuk biasa	7.9104 <sup>*</sup>	1.21674	.000
	arabika dry spray	-4.1610 <sup>*</sup>	1.21674	.007
	arabika freeze dry	-24.9280 <sup>*</sup>	1.21674	.000
robusta freeze dry	robusta bubuk biasa	52.8555 <sup>*</sup>	1.21674	.000
	robusta dry spray	31.9593 <sup>*</sup>	1.21674	.000
	arabika bubuk biasa	39.8696 <sup>*</sup>	1.21674	.000
	arabika dry spray	27.7983 <sup>*</sup>	1.21674	.000
	arabika freeze dry	7.0313 <sup>*</sup>	1.21674	.000

arabika bubuk biasa	robusta bubuk biasa	12.9858	1.21674	.000
	robusta dry spray	-7.9104	1.21674	.000
	robusta freeze dry	-39.8696	1.21674	.000
	arabika dry spray	-12.0713	1.21674	.000
	arabika freeze dry	-32.8384	1.21674	.000
arabika dry spray	robusta bubuk biasa	25.0572	1.21674	.000
	robusta dry spray	4.1610	1.21674	.007
	robusta freeze dry	-27.7983	1.21674	.000
	arabika bubuk biasa	12.0713	1.21674	.000
	arabika freeze dry	-20.7671	1.21674	.000
arabika freeze dry	robusta bubuk biasa	45.8242	1.21674	.000
	robusta dry spray	24.9280	1.21674	.000
	robusta freeze dry	-7.0313	1.21674	.000
	arabika bubuk biasa	32.8384	1.21674	.000
	arabika dry spray	20.7671	1.21674	.000

### F.3 Analisis Data 500 ppm

**Tests of Normality**

	jeniskopi	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk
		Statistic	df	Sig.	
antioksidan	robusta bubuk biasa	.356	3	.	.818
	robusta dry spray	.187	3	.	.998
	robusta freeze dry	.202	3	.	.994
	arabika bubuk biasa	.279	3	.	.939
	arabika dry spray	.327	3	.	.872
	arabika freeze dry	.365	3	.	.797

**Multiple Comparisons**

antioksidan

LSD

(I) jeniskopi	(J) jeniskopi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
robusta bubuk biasa	robusta dry spray	-27.3434 <sup>*</sup>	2.43484	.000
	robusta freeze dry	-53.3142 <sup>*</sup>	2.43484	.000
	arabika bubuk biasa	-20.4847 <sup>*</sup>	2.43484	.000
	arabika dry spray	-35.7567 <sup>*</sup>	2.43484	.000
	arabika freeze dry	-48.8871 <sup>*</sup>	2.43484	.000
robusta dry spray	robusta bubuk biasa	27.3434 <sup>*</sup>	2.43484	.000
	robusta freeze dry	-25.9708 <sup>*</sup>	2.43484	.000
	arabika bubuk biasa	6.8587 <sup>*</sup>	2.43484	.018
	arabika dry spray	-8.4134 <sup>*</sup>	2.43484	.006
	arabika freeze dry	-21.5437 <sup>*</sup>	2.43484	.000
robusta freeze dry	robusta bubuk biasa	53.3142 <sup>*</sup>	2.43484	.000
	robusta dry spray	25.9708 <sup>*</sup>	2.43484	.000
	arabika bubuk biasa	32.8295 <sup>*</sup>	2.43484	.000
	arabika dry spray	17.5574 <sup>*</sup>	2.43484	.000
	arabika freeze dry	4.4271	2.43484	.099

arabika bubuk biasa	robusta bubuk biasa	20.4847	2.43484	.000
	robusta dry spray	-6.8587	2.43484	.018
	robusta freeze dry	-32.8295	2.43484	.000
	arabika dry spray	-15.2721	2.43484	.000
	arabika freeze dry	-28.4024	2.43484	.000
arabika dry spray	robusta bubuk biasa	35.7567	2.43484	.000
	robusta dry spray	8.4134	2.43484	.006
	robusta freeze dry	-17.5574	2.43484	.000
	arabika bubuk biasa	15.2721	2.43484	.000
	arabika freeze dry	-13.1303	2.43484	.000
arabika freeze dry	robusta bubuk biasa	48.8871	2.43484	.000
	robusta dry spray	21.5437	2.43484	.000
	robusta freeze dry	-4.4271	2.43484	.099
	arabika bubuk biasa	28.4024	2.43484	.000
	arabika dry spray	13.1303	2.43484	.000

#### F.4 Analisis Data 750 ppm

**Tests of Normality**

	jeniskopi	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk
		Statistic	df	Sig.	
antioksidan	robusta bubuk biasa	.324	3	.	.878
	robusta dry spray	.224	3	.	.984
	robusta freeze dry	.385	3	.	.750
	arabika bubuk biasa	.324	3	.	.878
	arabika dry spray	.224	3	.	.984
	arabika freeze dry	.385	3	.	.750

**Multiple Comparisons**

antioksidan

LSD

(I) jeniskopi	(J) jeniskopi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
robusta bubuk biasa	robusta dry spray	-12.8944 <sup>*</sup>	.99304	.000
	robusta freeze dry	-11.3076 <sup>*</sup>	.99304	.000
	arabika bubuk biasa	.0000	.99304	1.000
	arabika dry spray	-12.8944 <sup>*</sup>	.99304	.000
	arabika freeze dry	-12.2624 <sup>*</sup>	.99304	.000
robusta dry spray	robusta bubuk biasa	12.8944 <sup>*</sup>	.99304	.000
	robusta freeze dry	1.5868	.99304	.141
	arabika bubuk biasa	12.8944 <sup>*</sup>	.99304	.000
	arabika dry spray	.0000	.99304	1.000
	arabika freeze dry	.6319	.99304	.539
robusta freeze dry	robusta bubuk biasa	11.3076 <sup>*</sup>	.99304	.000
	robusta dry spray	-1.5868	.99304	.141
	arabika bubuk biasa	11.3076 <sup>*</sup>	.99304	.000
	arabika dry spray	-1.5868	.99304	.141
	arabika freeze dry	-.9549	.99304	.359

arabika bubuk biasa	robusta bubuk biasa	.0000	.99304	1.000
	robusta dry spray	-12.8944	.99304	.000
	robusta freeze dry	-11.3076	.99304	.000
	arabika dry spray	-12.8944	.99304	.000
	arabika freeze dry	-12.2624	.99304	.000
arabika dry spray	robusta bubuk biasa	12.8944	.99304	.000
	robusta dry spray	.0000	.99304	1.000
	robusta freeze dry	1.5868	.99304	.141
	arabika bubuk biasa	12.8944	.99304	.000
	arabika freeze dry	.6319	.99304	.539
arabika freeze dry	robusta bubuk biasa	12.2624	.99304	.000
	robusta dry spray	-.6319	.99304	.539
	robusta freeze dry	.9549	.99304	.359
	arabika bubuk biasa	12.2624	.99304	.000
	arabika dry spray	-.6319	.99304	.539

### F.5 Analisis Data 1000 ppm

**Tests of Normality**

	jeniskopi	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk
		Statistic	df	Sig.	
antioksidan	robusta bubuk biasa	.259	3	.	.959
	robusta dry spray	.276	3	.	.942
	robusta freeze dry	.340	3	.	.848
	arabika bubuk biasa	.253	3	.	.964
	arabika dry spray	.314	3	.	.893
	arabika freeze dry	.232	3	.	.980

**Multiple Comparisons**

antioksidan

LSD

(I) jeniskopi	(J) jeniskopi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
robusta bubuk biasa	robusta dry spray	-4.7096 <sup>*</sup>	.96877	.001
	robusta freeze dry	-12.2028 <sup>*</sup>	.96877	.000
	arabika bubuk biasa	-10.5624 <sup>*</sup>	.96877	.000
	arabika dry spray	-10.1966 <sup>*</sup>	.96877	.000
	arabika freeze dry	-11.5517 <sup>*</sup>	.96877	.000
robusta dry spray	robusta bubuk biasa	4.7096 <sup>*</sup>	.96877	.001
	robusta freeze dry	-7.4931 <sup>*</sup>	.96877	.000
	arabika bubuk biasa	-5.8528 <sup>*</sup>	.96877	.000
	arabika dry spray	-5.4870 <sup>*</sup>	.96877	.000
	arabika freeze dry	-6.8421 <sup>*</sup>	.96877	.000
robusta freeze dry	robusta bubuk biasa	12.2028 <sup>*</sup>	.96877	.000
	robusta dry spray	7.4931 <sup>*</sup>	.96877	.000
	arabika bubuk biasa	1.6404	.96877	.121
	arabika dry spray	2.0062	.96877	.065
	arabika freeze dry	.6510	.96877	.517

arabika bubuk biasa	robusta bubuk biasa	10.5624	.96877	.000
	robusta dry spray	5.8528	.96877	.000
	robusta freeze dry	-1.6404	.96877	.121
	arabika dry spray	.3658	.96877	.714
	arabika freeze dry	-.9893	.96877	.331
arabika dry spray	robusta bubuk biasa	10.1966	.96877	.000
	robusta dry spray	5.4870	.96877	.000
	robusta freeze dry	-2.0062	.96877	.065
	arabika bubuk biasa	-.3658	.96877	.714
	arabika freeze dry	-1.3551	.96877	.192
arabika freeze dry	robusta bubuk biasa	11.5517	.96877	.000
	robusta dry spray	6.8421	.96877	.000
	robusta freeze dry	-.6510	.96877	.517
	arabika bubuk biasa	.9893	.96877	.331
	arabika dry spray	1.3551	.96877	.192

### F.6 Analisis Data 1500 ppm

**Tests of Normality**

	jeniskopi	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk
		Statistic	df	Sig.	
antioksidan	robusta bubuk biasa	.280	3	.	.938
	robusta dry spray	.362	3	.	.803
	robusta freeze dry	.198	3	.	.995
	arabika bubuk biasa	.253	3	.	.964
	arabika dry spray	.230	3	.	.981
	arabika freeze dry	.385	3	.	.750

**Multiple Comparisons**

antioksidan

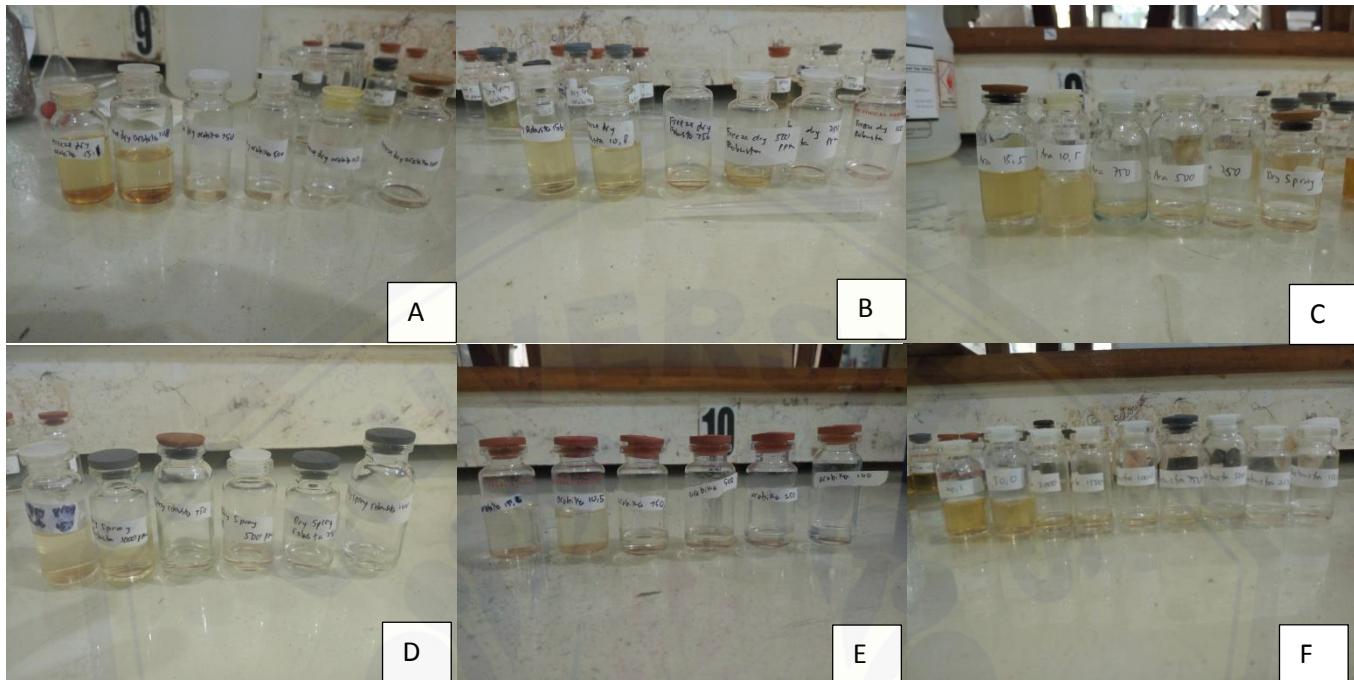
LSD

(I) jeniskopi	(J) jeniskopi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
robusta bubuk biasa	robusta dry spray	-2.3320	1.66698	.192
	robusta freeze dry	-.8204	1.66698	.633
	arabika bubuk biasa	-.0914	1.66698	.957
	arabika dry spray	-1.7375	1.66698	.322
	arabika freeze dry	-1.4714	1.66698	.398
robusta dry spray	robusta bubuk biasa	2.3320	1.66698	.192
	robusta freeze dry	1.5116	1.66698	.386
	arabika bubuk biasa	2.2405	1.66698	.209
	arabika dry spray	.5944	1.66698	.729
	arabika freeze dry	.8606	1.66698	.617
robusta freeze dry	robusta bubuk biasa	.8204	1.66698	.633
	robusta dry spray	-1.5116	1.66698	.386
	arabika bubuk biasa	.7289	1.66698	.671
	arabika dry spray	-.9172	1.66698	.594
	arabika freeze dry	-.6510	1.66698	.704

arabika bubuk biasa	robusta bubuk biasa	.0914	1.66698	.957
	robusta dry spray	-2.2405	1.66698	.209
	robusta freeze dry	-.7289	1.66698	.671
	arabika dry spray	-1.6461	1.66698	.347
	arabika freeze dry	-1.3800	1.66698	.427
arabika dry spray	robusta bubuk biasa	1.7375	1.66698	.322
	robusta dry spray	-.5944	1.66698	.729
	robusta freeze dry	.9172	1.66698	.594
	arabika bubuk biasa	1.6461	1.66698	.347
	arabika freeze dry	.2661	1.66698	.876
arabika freeze dry	robusta bubuk biasa	1.4714	1.66698	.398
	robusta dry spray	-.8606	1.66698	.617
	robusta freeze dry	.6510	1.66698	.704
	arabika bubuk biasa	1.3800	1.66698	.427
	arabika dry spray	-.2661	1.66698	.876

## G. Dokumentasi Penelitian

### G.1 Larutan induk dan larutan standar



Keterangan: A. freeze dry arabika

B. freeze dry robusta

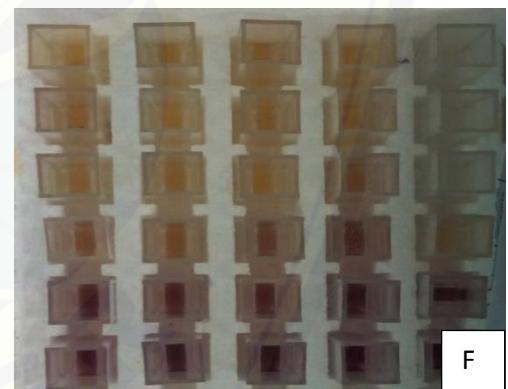
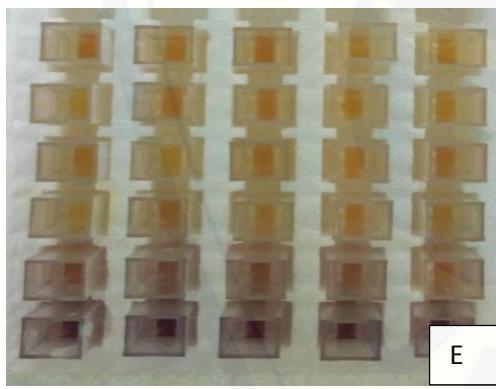
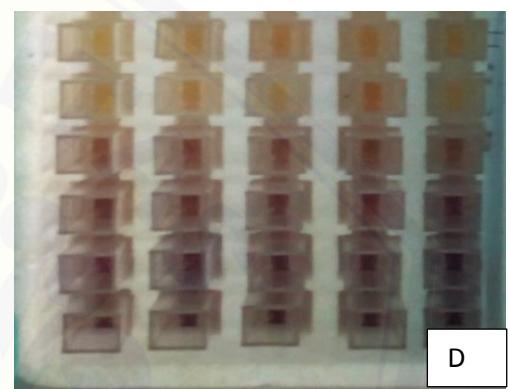
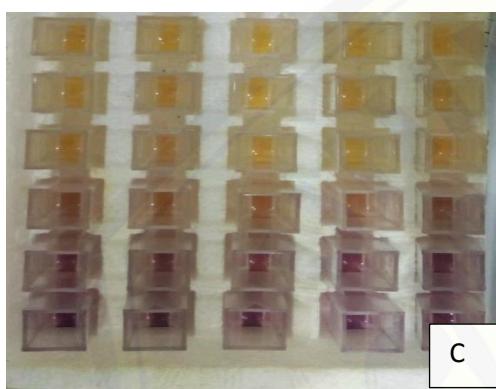
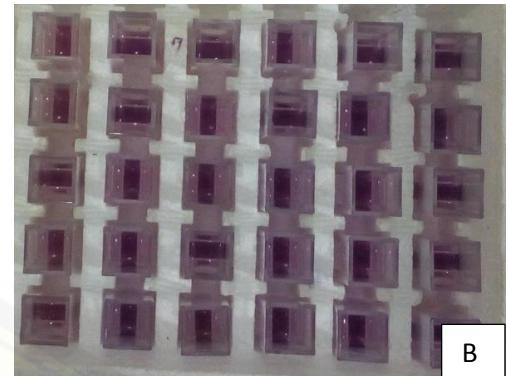
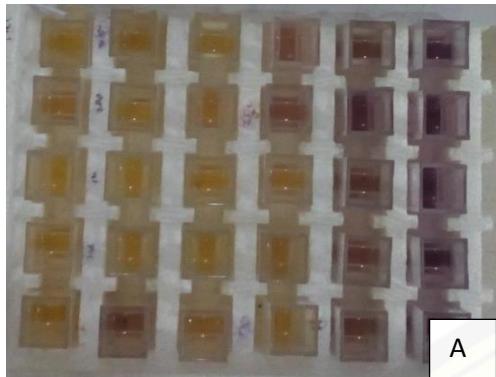
C. dry spray arabika

D. dry spray robusta

E. arabika

F. robusta

G.2 Seduhan yang telang dicampur DPPH



Keterangan : A. Arabika freeze dry

B. Arabika

C. Robusta

D. Robusta dry spray

E. Robusta freeze dry

F. Arabika dry spray