

EXECUTIVE SUMMARY
PENELITIAN DOSEN PEMULA



POTENSI DAUN KOPI ARABIKA DAN ROBUSTA SEBAGAI SUMBER
ANTIOKSIDAN ALAMI

PENELITI

Nia Kristiningrum, S.Farm., M.Farm., Apt. 0006048203

UNIVERSITAS JEMBER
DESEMBER, 2014

EXECUTIVE SUMMARY

Judul : Potensi Daun Kopi Arabika dan Robusta sebagai Sumber Antioksidan Alami

Peneliti/Pelaksana

Nama Lengkap : Nia Kristiningrum, S.Farm., M.Farm., Apt.

NIDN : 0006048203

Sumber Dana : DIPA Universitas Jember

Diseminasi : belum ada

Alamat surel (e-mail) : neeya_k@yahoo.co.uk

Perguruan Tinggi : Universitas Jember

Fakultas Farmasi Universitas Jember

Jember, 15 Desember 2014
Ketua,

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

POTENSI DAUN KOPI ARABIKA DAN ROBUSTA SEBAGAI SUMBER ANTIOKSIDAN ALAMI

Nia Kristiningrum

Bagian Kimia Farmasi Fakultas Farmasi, Universitas Jember

E-mail: neeya_k@yahoo.co.uk

Abstrak

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menunda atau mencegah terjadinya reaksi oksidasi radikal bebas. Antioksidan golongan fenol memegang peranan penting dalam makanan. Salah satu contoh antioksidan golongan fenol adalah asam klorogenat. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar fenol total dan asam klorogenat pada ekstrak daun kopi Arabika dan Robusta. **Metode.** Penentuan kadar total fenol menggunakan reagen Folin Ciocalteu dengan metode spektrofotometri UV-vis, sedangkan penentuan kadar asam klorogenat menggunakan metode KLT-Densitometri. **Hasil.** Berdasarkan hasil analisis statistik, menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna pada kadar fenol total ekstrak daun kopi Robusta dan Arabika baik yang tua maupun yang muda. Sedangkan untuk kadar asam klorogenat menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$), dimana yang paling besar adalah pada ekstrak daun kopi arabika tua sebesar 2,805%, kemudian diikuti dengan daun kopi Robusta tua 1,489%; daun kopi arabika muda 1,880% dan daun kopi robusta muda 1,158%. **Kesimpulan.** Hasil penelitian menyimpulkan bahwa terdapat perbedaan kadar asam klorogenat pada ekstrak daun kopi.

Keyword: daun kopi, Arabika, Robusta, fenol total, asam klorogenat

Abstract

Antioxidants are compounds that can delay or prevent free radical oxidation reactions. Phenols antioxidants play an important role in food. The example of antioxidant phenols is chlorogenic acid. **The aim.** The aim of this study was to determine the levels of total phenols and chlorogenic acid in coffee leaf extract of Arabica and Robusta. **Method.** Determination of total phenol use Folin Ciocalteu reagent with UV-vis spectrophotometric method, while the determination of chlorogenic acid content using TLC-densitometry method. **Results.** Based on the results of statistical analysis showed that there was no significant difference in the total phenol content of leaf extracts of Robusta and Arabica both old and young. As for the chlorogenic acid levels showed a significant difference ($p < 0.05$), where most of it is on the old arabica coffee leaf extract at 2.805%, followed by the old Robusta coffee leaves 1.489%; Young arabica coffee leaves 1.880% and young robusta coffee leaves 1.158%. **Conclusion.** The conclusion of this study showed there was significant difference of chlorogenic acid levels in coffee leaf extract.

Keyword: coffee leaf, Arabica, Robusta, total phenols, chlorogenic acid

Pendahuluan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menunda atau mencegah terjadinya reaksi oksidasi radikal bebas. Dalam tubuh manusia sebenarnya dihasilkan antioksidan, namun tidak cukup untuk melawan radikal bebas penyebab penyakit. Oleh karena itu setiap manusia membutuhkan tambahan asupan antioksidan dari luar tubuh sehingga mengurangi kapasitas radikal bebas untuk menimbulkan kerusakan (Mardawati, 2008)

Sumber antioksidan dapat diperoleh dari makanan baik yang alami maupun sintesis. Penggunaan antioksidan sintesis pada setiap bahan pangan harus dikontrol agar penggunaannya tidak berlebihan karena jika berlebihan dapat menjadi racun dalam tubuh. Oleh karena itu, antioksidan alami lebih baik digunakan untuk menambah asupan antioksidan yang dibutuhkan tubuh kita.

Antioksidan terbagi atas tiga golongan yaitu golongan fenol, golongan amin dan golongan amino fenol (Ketaren, 1986). Antioksidan golongan fenol memegang peranan penting dalam makanan. Salah satu contoh antioksidan golongan fenol adalah asam klorogenat.

Asam klorogenat merupakan komponen fenol utama dalam kopi dan kopi merupakan salah satu tanaman yang mengandung asam klorogenat dalam konsentrasi yang tinggi (Farah et al., 2005). Asam klorogenat mempunyai aktivitas antibakteri, antiviral dan antikanker (Jiang, et al., 2001). Asam klorogenat juga merupakan komponen prekursor dalam pengembangan obat AIDS (Ma, et.al., 2003).

Selama ini, bagian tanaman kopi yang banyak diteliti adalah komponen yang ada dalam bijinya karena bagian tanaman kopi yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat adalah biji kopi. Di beberapa daerah ternyata daun kopi dimanfaatkan untuk minuman karena rasa daun kopi tidak kalah nikmat dengan bijinya. Penelitian yang dilakukan oleh Salgado, et.al, 2008 menunjukkan bahwa daun kopi mengandung total fenol dengan konsentrasi 25-46%. Selain itu, asam klorogenat juga banyak terkandung dalam daun kopi (Clifford, 1999; Clifford, 2000)

Kementrian Perindustrian Republik Indonesia menyatakan bahwa Indonesia merupakan negara penghasil kopi terbesar yang ketiga di dunia setelah Brasil dan Vietnam pada tahun 2012. Pada tahun tersebut produksi kopi robusta mencapai lebih dari 601 ribu ton (80,4%) dan produksi kopi arabika mencapai lebih dari 147 ribu ton (19,6%). Agar produksi kopi terus meningkat, selain dengan menambah lahan perkebunan kopi, pemeliharaan tanaman kopi perlu diperhatikan. Tanaman kopi kalau dibiarkan saja dari kecil hingga besar akan mencapai 7 – 10 m, sehingga akan menyulitkan pemeliharaan dan pemungutan hasil. Disamping itu produksinya pun akan berkurang. Oleh karena itu pemangkasan adalah salah satu segi di dalam rangka pemeliharaan perlu dilaksanakan. Daun kopi hasil pangkasan banyak yang terbuang-buang begitu saja sehingga perlu dilaksanakan proses pemanfaatan lebih lanjut.

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dalam penelitian ini akan dilakukan penetapan kadar fenol total dan juga kadar asam klorogenat sebagai antioksidan pada daun kopi arabika dan kopi robusta. Penelitian ini akan dilakukan pada jenis daun yang tua dan muda untuk mengetahui apakah ada perbedaan pada kadar total fenol dan kadar asam klorogenatnya.

METODE PENELITIAN

Pembuatan Ekstrak Daun Kopi Arabika dan Robusta

Daun kopi ditimbang masing-masing sebanyak 1 kg. Sampel dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dalam ruangan selama 3 hari dan dilanjutkan dengan pengeringan dalam cabinet dryer selama 4 jam suhu 40°C-46°C sehingga berat sampel berkurang 10 kali dari berat sampel segar. Sampel kering diblender halus dan ditimbang 25 gram, kemudian dimaserasi dalam wadah kaca dengan 500 ml metanol 70 % selama 48 jam dan disaring melalui kertas saring whatman no 1 dengan penyaring vakum dan ditampung. Maserasi dan penyaringan diulang 3 kali dengan cara yang sama sehingga diperoleh 1,5 liter maserat. Hasil maserasi diuapkan dengan rotavapour suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak ini disimpan dalam lemari pendingin suhu 4°C untuk dianalisis selanjutnya.

Penetapan kadar total fenol dengan metode spektrofotometri UV-Vis

50 µl ekstrak/standard ditambah 600 µl aquadest dan 50 µl reagen Folin Ciocalteu. Campuran didiamkan selama 5 menit. Setelah 5 menit, campuran ditambahkan 150 µl Na₂CO₃ 20% dan 150 µl aquadest lalu didiamkan selama 30 menit. Selanjutnya diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 765 nm. Untuk larutan standard dibuat beberapa konsentrasi asam klorogenat yaitu 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500 dan 600 ppm.

Determinasi asam klorogenat pada ekstrak daun kopi dengan metode KLT-Densitometri

Sebelum dilakukan penetapan kadar asam klorogenat dalam ekstrak daun kopi, terlebih dahulu dilakukan validasi metode analisis. Validasi metode analisis meliputi parameter linieritas, batas deteksi dan batas kuantitasi, presisi dan akurasi. Metode analisis asam klorogenat dengan menggunakan KLT-densitometri adalah sebagai berikut : Dibuat beberapa konsentrasi larutan standar asam klorogenat yang akan digunakan untuk kurva baku. Ditimbang sejumlah tertentu sampel, kemudian dilarutkan dalam etanol 95%. Setelah itu larutan standar dan larutan sampel ditotolkan pada lempeng KLT. Lempeng tersebut kemudian dieluasi. Hasil eluasi kemudian dianalisis dengan menggunakan densitometri. Pengukuran konsentrasi asam klorogenat dalam sampel dengan cara melakukan plot luas area asam klorogenat sampel pada kurva baku.

Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penetapan kadar total fenol maupun kadar asam klorogenat dibandingkan antara daun kopi arabika dan daun kopi robusta dengan menggunakan statistik t-test dan probabilitas 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Ekstrak Daun Kopi

Tahap pertama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah pembuatan ekstrak metanol daun kopi Arabika dan Daun kopi Robusta. Berdasarkan hasil hasil maserasi masing-masing serbuk daun kopi sebanyak 250 mg diperoleh ekstrak

kental sebagai berikut : daun Arabika muda 40,31 gram; daun Arabika tua 46,90 gram; daun Robusta muda 37,91 gram dan daun Robusta tua 42,99 gram.

Penetapan kadar total fenol dengan metode spektrofotometri UV-Vis

Tahap kedua dari penelitian ini adalah penetapan kadar fenol total dari ekstrak kental daun kopi Arabika dan Robusta. Penetapan kadar fenol total dilakukan karena banyak antioksidan yang berupa senyawa fenolik seperti flavonoid dan asam fenolat. Senyawa fenolik memiliki efek antioksidan karena mempunyai gugus hidroksi yang tersubstitusi pada posisi ortho dan para terhadap gugus –OH dan –OR.

Penetapan kadar fenol total menggunakan reagen Folin Ciocalteu dan diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 765 nm. Kadar fenol total ekstrak daun kopi seperti yang ditampilkan dalam tabel 1.

Tabel 1 Hasil Penetapan Kadar Fenol Total pada Sampel

Sampel	Penimbangan	% w/w	Rata-Rata	SD	CV
Arabika Tua	25,1 mg	37,1 %	36,9 %	0,7	1,9%
	27,0 mg	37,4 %			
	24,9 mg	36,1 %			
Arabika Muda	25,4 mg	19,6 %	19,8 %	0,6	3,2 %
	26,5 mg	20,5 %			
	24,9 mg	19,3 %			
Robusta Tua	25,4 mg	37,9 %	38,3 %	0,6	1,7 %
	26,5 mg	39,0 %			
	24,9 mg	37,9 %			
Robusta Muda	25,4 mg	24,8 %	25,1 %	0,4	1,7 %
	25,0 mg	25,0 %			
	26,5 mg	25,6%			

Berdasarkan tabel 1 dapat dilihat bahwa kadar fenol total ekstrak daun kopi Robusta lebih tinggi daripada ekstrak daun kopi Arabika baik pada daun yang tua maupun yang muda. Sedangkan jika dibandingkan antara daun tua dan muda,

ternyata kandungan total fenolnya lebih tinggi daun kopi yang tua. Kadar total fenol yang paling tinggi adalah pada ekstrak daun kopi Robusta tua dengan kadar fenol total 38,3 mg setara asam klorogenat tiap 100 mg ekstrak, sedangkan yang paling rendah adalah ekstrak daun kopi Arabika muda yaitu sebesar 19,8 mg setara asam klorogenat tiap 100 mg ekstrak.

Determinasi asam klorogenat pada ekstrak daun kopi dengan metode KLT-Densitometri

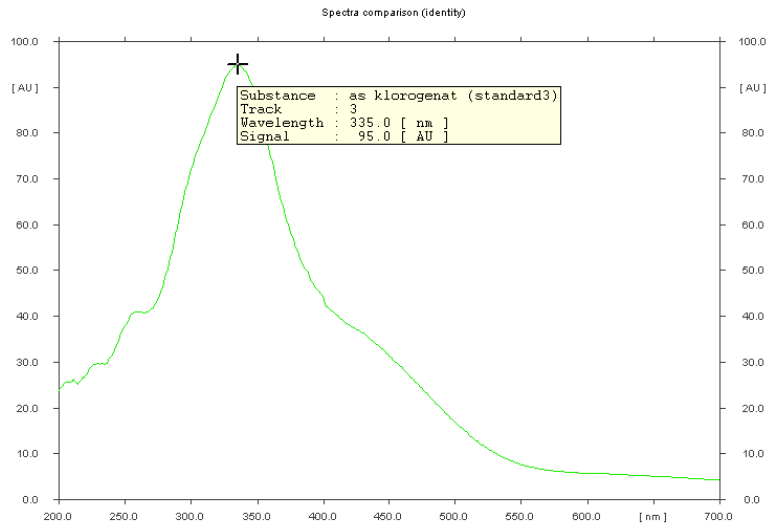
Sebelum dilakukan penetapan kadar, harus dipastikan dahulu bahwa metode yang digunakan adalah metode yang valid. Oleh karena itu dilakukanlah validasi metode penetapan kadar asam klorogenat dengan cara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Densitometri. Validasi metode analisis meliputi parameter linieritas, spesifisitas, limit deteksi dan kuantitansi, presisi dan akurasi.

Optimasi kondisi analisis

Optimasi kondisi analisis perlu dilakukan sebelum melakukan validasi metode analisis. Optimasi kondisi analisis meliputi optimasi eluen dan panjang gelombang pengujian.

Optimasi eluen dilakukan untuk mendapatkan kromatogram yang efisien yaitu kromatogram yang bulat, tidak melebar, tidak berekor, serta nilai Rf yang baik yaitu antara 0,30 sampai 0,70 (Richard and Shiela, 1987). Penilaian kromatogram yang efisien juga berdasarkan nilai N (*Theoretical Plate Number*) paling besardan nilai H (*Heigh Equivalent to a Theoretical Plate*) terkecil. Dalam penelitian ini dilakukan optimasi eluen antara lain etil asetat, diklormetana, asam format, asam asetat dan aquabidest dengan berbagai komposisi. Hasil optimasi eluen terpilih adalah asam format : etil asetat : aquabides (1:8:1,5) karena memiliki nilai memiliki nilai Rf yang memenuhi syarat, nilai N yang tinggi dan nilai H rendah.

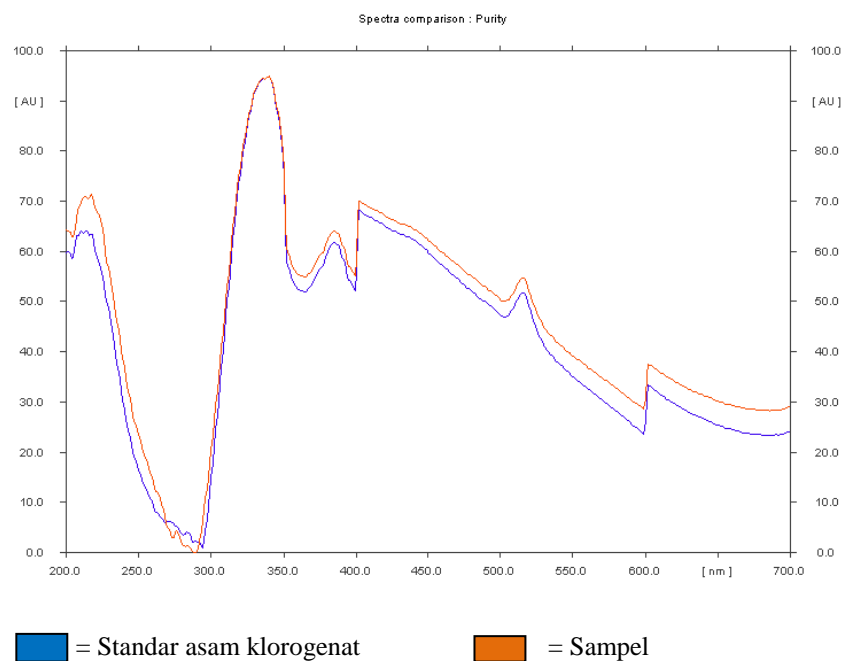
Spektra hasil scanning standar asam klorogenat dalam pelarut metanol menunjukkan panjang gelombang maksimum pada 335 nm seperti pada gambar 1. Selanjutnya analisis dilakukan pada panjang gelombang tersebut.



Gambar 1 Spektra asam klorogenat dalam pelarut metanol

Spesifisitas

Spesifisitas suatu metode analisis adalah kemampuan suatu metode analisis untuk mengukur analit yang dituju secara tepat dan spesifik dengan adanya komponen-komponen lain dalam matriks sampel seperti adanya pengganggu, prekursor sintetik, produk degradasi, dan komponen matriks (Rohman, 2009). Kespesifikan dapat dilihat melalui uji kemurnian (*purity*) dan melalui uji identitas (*identity*) yang dapat dilihat pada gambar 2.



■ = Standar asam klorogenat ■ = Sampel
Gambar 2 Spektra sampel dan standart asam klorogenat pada uji purity

Berdasarkan gambar 2 di atas dapat dilihat bahwa spektra standart dan sampel pada panjang gelombang 200 nm - 700 nm memiliki spektra yang hampir sama. Hal ini dapat dikatakan di dalam sampel ekstrak daun kopi terdapat senyawa asam klorogenat. Perhitungan korelasi spektra pada uji kemurnian dan identitas dapat dilihat pada tabel 2 dan tabel 3 di bawah ini.

Tabel 2 Hasil uji kemurnian asam klorogenat

Uji	Track	Rf	r(s,m)	r(m,e)	Kesimpulan
Kemurnian	Standar	0,54	0,999885	0,999565	<i>Purity</i>
	Sampel	0,55	0,999751	0,998977	<i>Purity</i>

Tabel 3 Hasil uji identitas asam klorogenat

Uji	Track	Rf	r(s,m)	r(m,e)	Kesimpulan
Identitas	Standar	0,54	0,993778	0,991337	Asam klorogenat
	Sampel	0,55	0,993778	0,994360	Asam klorogenat

Dalam tabel 2 dan 3 tersebut, diketahui bahwa perhitungan korelasi spektra dari data densitometri lebih dari 0,990. Nilai r(s,m) menunjukkan hubungan spektra yang diambil pada puncak kemiringan (*slope*) awal dan pada puncak maksimal analit. Sedangkan Nilai r(m,e) menunjukkan hubungan spektra yang diambil pada puncak maksimal analit dan pada puncak kemiringan (*slope*) akhir.

Linieritas

Linearitas adalah kemampuan metode analisis yang memberikan respon secara langsung dan proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Linieritas dinilai berdasarkan nilai koefisien korelasinya. Kelinieran suatu metode dapat diuji dengan menggunakan konsentrasi standart tertentu. Pada penelitian linieritas ini digunakan konsentrasi standart 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm, 300 ppm, 400 ppm dan 450 ppm, dimana masing-masing standart ditotolkan sebanyak 2µl. Standart dieluasi dan discanning kemudian dihasilkan data area standar Kloramfenikol yang ditunjukkan pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil linieritas standar asam klorogenat

Konsentrasi (ppm)	Massa (ng)	Area
150	300	4748,15
200	400	6006,71
250	500	7576,97
300	600	8826,26
400	800	10910,09
450	900	12647,11
Persamaan regresi linier	$y = 978,893 + 12,812x$ $r = 0,99776$	

Data massa vs area pada tabel 4 dianalisis menggunakan program validasi dan diperoleh persamaan regresi $y = 978,893 + 12,812x$ dengan nilai koefisien korelasi 0,99776 dan nilai V_{x0} yaitu 2,977 %. Berdasarkan hasil tersebut dapat dinyatakan bahwa hubungan antara massa dan area adalah linier karena memiliki nilai koefisien korelasi yang mendekati 1 dan nilai V_{x0} dibawah 5%.

Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Batas deteksi (*LOD*) dan batas kuantitasi (*LOQ*) dilakukan untuk mengetahui batas konsentrasi analit yang masih terdeteksi oleh alat dan konsentrasi analit yang dapat terkuantitasi oleh alat. Dibuat konsentrasi asam klorogenat dengan rentang konsentrasi 50-150 ppm, dimana masing-masing standart ditotolkan sebanyak 2 μ l. Selanjutnya dieluasi dan discaning sehingga didapatkan data area seperti pada tabel 5 di bawah ini.

Tabel 5. Hasil LOD dan LOQ standar asam klorogenat

Konsentrasi (ppm)	Massa (ng)	Area
50	100	932,18
55	110	1081,79
60	120	1209,69
80	160	2067,69
90	180	2523,70
120	240	3686,29
150	300	4708,15
Persamaan regresi linier	$y = -1030,496 + 19,358x$ $r = 0,99909$	

Data massa dan area kemudian dianalisis menggunakan program validasi dan dihitung nilai parameter batas deteksi dan batas kuantitasnya. Dihasilkan

batas deteksi (*LOD*) adalah 10,392 ppm dan batas kuantitasi (*LOQ*) adalah 34,640 ppm.

Presisi

Presisi merupakan derajat kesesuaian diantara masing-masing hasil uji dan ditentukan dengan menghitung nilai relatif standart deviasi (*RSD*). Kepresisian dilakukan lima kali replikasi. Nilai parameter presisi dihitung berdasarkan % b/b kadar analit dalam sampel, didapatkan hasil seperti pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil dari uji presisi

Penimbangan (mg)	Massa Hasil Percobaan (mg)	Kadar b/b
100	1,234	1,234 %
100	1,255	1,255 %
100,9	1,312	1,300 %
100	1,211	1,211 %
100,2	1,250	1,247 %
	Rata-rata	1,249 %
	RSD/CV	2,642 %

Berdasarkan tabel 6 dapat diketahui bahwa nilai *RSD* yang didapatkan adalah 2,642 %. Dapat dikatakan bahwa metode ini telah memenuhi syarat kepresisian dengan nilai relatif standar deviasi < 2,7 % untuk kadar analit diatas 1% (Huber, 2007).

Akurasi

Akurasi merupakan ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil pengukuran analit dalam sampel berbanding dengan kadar analit yang sebenarnya, yang ditentukan dengan menghitung nilai % *Recovery* (perolehan kembali). Perhitungan keakuratan pada penelitian ini menggunakan metode sampel adisi. Pengukuran dilakukan dengan 3 kali replikasi sehingga didapatkan data seperti pada tabel 7

Tabel 7. Hasil uji akurasi dengan metode adisi

Penambahan Standar	Penimbangan Sampel Adisi (mg)	Massa Asam Klorogenat Teoritis (ng)	Massa Asam Klorogenat Hasil Percobaan (ng)	<i>Recovery</i> (%)	<i>RSD</i> (%)
60 %	101,7	584,88	589,17	100,733	0,697
	100,93	579,12	575,35	99,349	
	101,4	583,20	584,37	100,201	

Berdasarkan data tabel di atas dapat dilihat bahwa % *Recovery* asam klorogenat yang dihasilkan $100,094 \% \pm 0,697$, berada pada range persyaratan recovery yaitu 97– 103% untuk konsentrasi $\geq 1\%$ (Huber, 2007), sehingga metode ini memenuhi syarat keakuratan.

Berdasarkan hasil pengujian parameter Selektivitas / spesifisitas, kelinieran, kepekaan (*LOD & LOQ*), kepresisian (*precision*) dan kecermatan (*accuracy*) diketahui bahwa metode analisis asam klorogenat dalam sampel ekstrak daun kopi dengan KLT Densitometri menghasilkan data yang valid (terpercaya).

Penetapan Kadar asam klorogenat dalam sampel ekstrak daun kopi

Setelah dilakukan validasi metode analisis, selanjutnya dilakukan penetapan kadar asam klorogenat pada ekstrak metanol daun kopi Robusta tua dan muda serta daun kopi Arabika tua dan muda. Hasil dari penetapan kadar seperti yang ditampilkan pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil penetapan kadar asam klorogenat dalam sampel ekstrak daun kopi

Sampel	Rata-rata kadar (%b/b)	RSD (%)
Daun kopi arabika tua	2,805	1,711
Daun kopi arabika muda	1,880	1,436
Daun kopi Robusta tua	1,489	2,550
Daun kopi Robusta muda	1,158	0,863

Analisis Data

Uji perbedaan kadar fenol total pada ekstrak daun kopi Robusta dan Arabika baik yang tua maupun muda dilakukan dengan menggunakan uji Mann-Whitney (uji non parametrik) karena sebaran data yang dihasilkan tidak normal Berdasarkan hasil analisis didapatkan hasil bahwa tidak ada perbedaan kadar total fenol yang signifikan diantara keempat variasi daun kopi dengan nilai ($p = 0,05$).

Untuk mengetahui adanya perbedaan kadar asam klorogenat pada ekstrak metanol daun kopi robusta tua, robusta muda, arabika tua dan arabika muda dilakukan analisis statistik *one way annova*. Dari analisis ini didapatkan hasil nilai p

= 0,000 ($p < 0,05$) yang artinya paling tidak terdapat perbedaan kadar asam klorogenat secara bermakna pada empat kelompok variasi daun. Untuk mengetahui perbedaan kadar asam klorogenat pada tiap kelompok, dilakukan analisis dengan *Post Hoc*. Dari analisis didapatkan nilai $p=0,000$ ($p < 0,05$) untuk setiap dua kelompok yang dibandingkan sehingga dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan kadar asam klorogenat secara bermakna pada semua variasi daun.

DAFTAR PUSTAKA

Belay A, Gholap AV, 2009. Characterization and Determination of Chlorogenic Acid (CGA) in Coffee beans by UV-Vis Spectroscopy. *African Journal of Pure and Applied Chemistry* Vol. 3 (11): 234-240

Clifford, M.N; Johnston, K.I; Knigh, S; Kuhnert, N. 2003. Hierarchical Scheme for LC-MS Identification of Chlorogenic Acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 23: 458-460

Farah A, Paulis TD, Trugo LC, Martin PR, 2005. Effect of Roasting on the Formation of Chlorogenic Acid Lactones in Coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* Vol 53(5) : 1505-1513

Hanisah, N., 2008. Determination of Coffein, Chlorogenic Acid and Nicotinic Acid in Coffee Beans by Using HPLC. Faculty Applied Sciences Universiti Teknologi Mara.

Jiang, Y; Satoh, K; Watanabe S. 2001. Inhibition of Chlorogenic Acid Induced Cytotoxicity by CoCl₂. *Anticancer Res.*, 21: 3349-3353

Kementrian Perindustrian RI, 2013. Produksi Kopi Nusantara Ketiga Terbesar di dunia <http://www.kemenperin.go.id/artikel/6611/Produksi-Kopi-Nusantara-Ketiga-Terbesar-Di-Dunia>

Ketaren, S. 1986. Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan. Cetakan Pertama. Jakarta : UI Press.

Ma, B; Liang, S. 2003. Progress Report on Extraction and Separation of Chlorogenic Acid from *Eucomialmoides*. *Shanxi Forest Sci. And Tech.*, 4 : 74-79

Mardawati, E.; Achyar, C.S; Ma rta, H. 2008. Kajian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Manggis dalam Rangka Pemanfaatan Limbah Kulit Manggis di Kecamatan Puspahiang Kabupaten Tasikmalaya. Laporan Penelitian. Bandung : Universitas Padjajaran.

Panggabean, E. 2011. *Buku Pintar Kopi*. 1st edition, Jakarta : Agromedia Pustaka.

Varnam, HA; Sutherland, P.J. 1994. *Beverage Technology Chemistry and Microbiology*. New York: Chapman & Hall. 191-254

Saewan, N, Atisakul, K, Mana, T, Jimtaisonh, A, Kittigowittana, K. 2012. Antioxidant Capacity of different Levels of Ripeness and parts of Coffea Arabica Extracts. Pure and Applied Chemistry International Conference

Salado, P.R, Favarin, J.L, Leandro, R.A, Filho, O.F.L. 2008. Total Phenol Concentrations In Coffe tree Leaves During Fruit Development, Sci. Agric. Vol 65 No 4, p. 354-359

Salisbury FB, Ross CW. 1995. *Fisiologi Tumbuhan, Jilid 2*. penerjemah: Lukman DR, Sumaryono. Bandung:Penerbit ITB.