



**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI AIR DAN FRAKSI ETER
KOMBINASI EKSTRAK METANOL DAUN KOPI ARABIKA (*Coffea
arabica*) DAN KELOPAK BUNGA ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa*)**

SKRIPSI

Oleh

Yodi Setiadi

NIM 122210101059

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2016



**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI AIR DAN FRAKSI ETER
KOMBINASI EKSTRAK METANOL DAUN KOPI ARABIKA (*Coffea
arabica*) DAN KELOPAK BUNGA ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa*)**

SKRIPSI

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

Oleh

Yodi Setiadi

NIM 122210101059

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2016**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT yang dengan petunjuk, rahmat, hidayah, tuntunan serta limpahan kasih-Nya memberikan kemudahan, memberikan arti dan kekuatan hidup dan Nabi Muhammad SWT sebagai panutan hidup;
2. Ibunda Sri Karunia Kusuma dan Ayahanda Syamsir Bahar yang senantiasa menjadi penyemangat dan inspirasi. Terima kasih yang tiada tara untuk semua pengorbanan, kepercayaan, cinta kasih dan doa yang tulus tanpa putus yang selalu mengiringi langkah dalam menjalani hidup;
3. Kakakku Yudo Bahari dan Yogi Pramono yang selalu memberikan doa dan menjadi penyemangat untuk menyelesaikan studi ini;
4. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTTO

Man Jadda Wajada

Siapa yang bersungguh-sungguh pasti akan berhasil

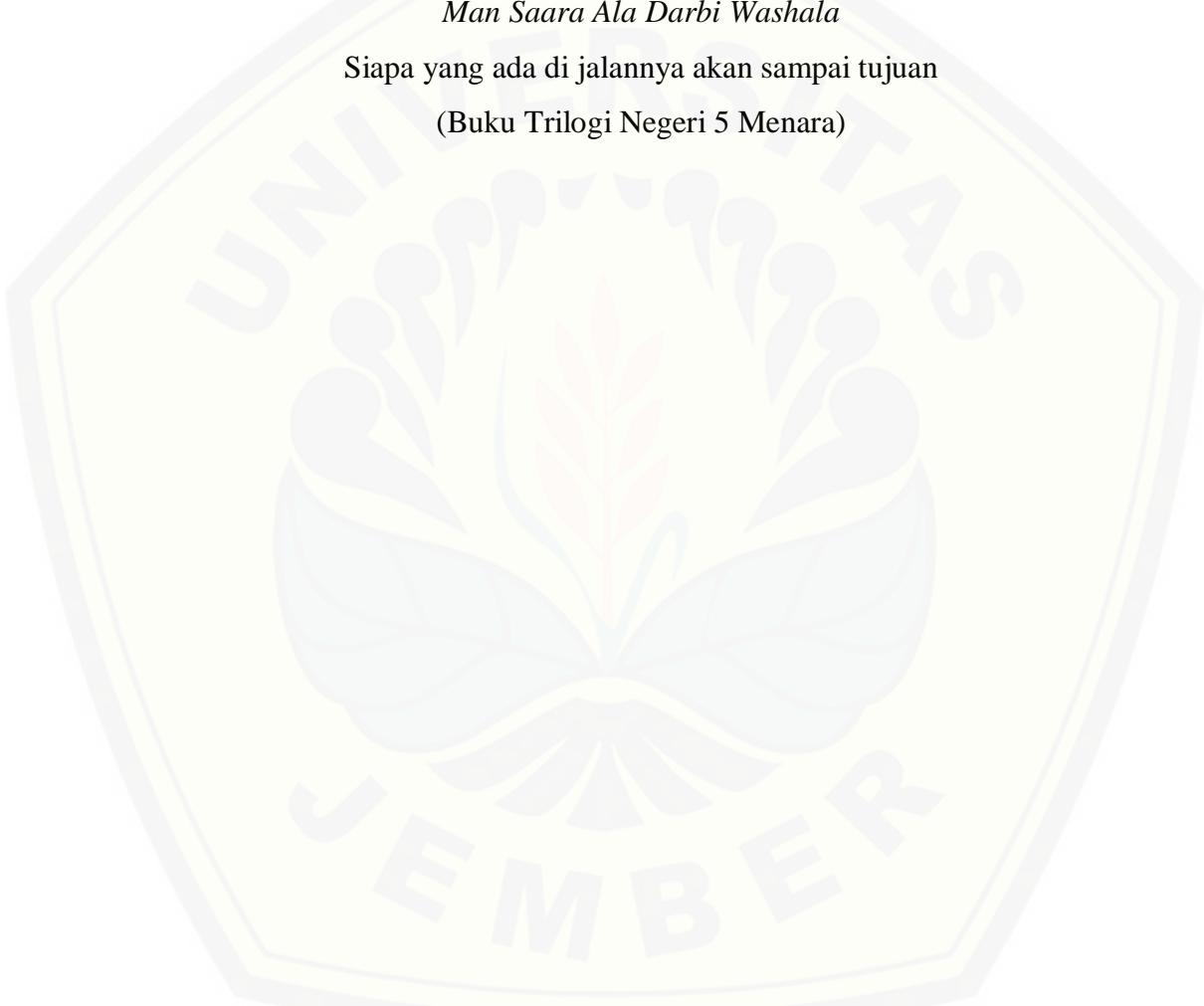
Man Shobaro Zafira

Siapa yang bersabar akan beruntung

Man Saara Ala Darbi Washala

Siapa yang ada di jalannya akan sampai tujuan

(Buku Trilogi Negeri 5 Menara)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Yodi Setiadi

NIM : 122210101059

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Air dan Fraksi Eter Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Kopi Arabika (*Coffea arabica*) dan Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*)” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, Agustus 2016
Yang menyatakan,

Yodi Setiadi
NIM 122210101059

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI AIR DAN FRAKSI ETER
KOMBINASI EKSTRAK METANOL DAUN KOPI ARABIKA (*Coffea
arabica*) DAN KELOPAK BUNGA ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa*)**

Oleh

Yodi Setiadi

NIM 122210101059

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Yuni Retnaningtyas S.Si., M.Si., Apt.

Dosen Pembimbing Anggota : Nia Kristiningrum, S. Farm., M. Farm., Apt.

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi berjudul "Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Air dan Fraksi Eter Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Kopi Arabika (*Coffea arabica*) dan Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*)" telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada :

Hari, tanggal : Kamis, 11 Agustus 2016
Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama,

Yuni Retnaningtyas., S.Si., M.Si., Apt.,

NIP 196902011994031002

Dosen Pembimbing Anggota,

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

NIP 198204062006042001

Tim Pengujji

Dosen Penguji 1,

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

NIP 197604142002122001

Dosen Penguji 2,

Dwi Koko Pratoko, S. Farm., M. Sc., Apt.

NIP 198504282009121004

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember

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

NIP 197604142002122001

ABSTRAK

*Antioxidant Activity of Water Fraction and Ether Fraction Combination of Arabica Coffee Leaf Methanol Extract (*Coffea arabica*) and Rosella Flower Petal (*Hibiscus sabdariffa*)*

Free radical induced oxidative stress that influences the occurrence of various degenerative diseases such as cancer, coronary heart disease and premature aging. In the case that body's antioxidant defense system does not have excessive antioxidants, additional natural antioxidant via food or other nutrients intake is needed. Arabica coffee and rosella are plants that have potential as antioxidants which can be used to treat various diseases. This study is focused on antioxidant activity of water and ether fraction from methanolic extract of Arabica coffee leaves, rosella flower petal, and both combination by 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) assay. The purpose of this method is to know the equivalent concentration parameter gives 50% effect of antioxidant activity (IC_{50}). In this research the biggest antioxidant activity is water fraction of Arabica coffee with IC_{50} value $26,201 \pm 0,323$ ppm followed by water fraction of 2:1, 1:1, ether fraction of rosella petal, ether fraction of 1:2, 1:1, 2:1, ether fraction of Arabica coffee, wather fraction of 1:2 and wather fraction of rosella petal with IC_{50} values $57,170 \pm 0,227$; $62,405 \pm 0,342$; $62,407 \pm 0,541$; $65,685 \pm 0,466$; 69 ± 678 ; $71,094 \pm 0,087$; $73,321 \pm 0,241$; $83,380 \pm 0,435$, and $230,560 \pm 0,967$ ppm.

Keyword : Antioxidant activity, Coffee arabica, Rosella, DPPH

RINGKASAN

Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Air dan Fraksi Eter Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Kopi Arabika (*Coffea arabica*) dan Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*); Yodi Setiadi, 122210101059; 2016: 137 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Dalam kehidupan sehari-hari, kita tidak dapat terbebas dari senyawa radikal bebas. Radikal bebas merupakan molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Seperti yang kita ketahui bahwa beberapa penyakit seperti *cardiovascular heart disease*, diabetes melitus, dan kanker merupakan penyakit yang dipicu oleh kerusakan oksidatif dengan adanya radikal bebas.

Antioksidan adalah molekul yang mampu menghambat kerusakan oksidatif yang dihasilkan radikal bebas. Antioksidan merupakan suatu senyawa yang memiliki kemampuan untuk bereaksi dengan radikal bebas menghasilkan suatu radikal bebas yang stabil dengan cara menerima atau menyumbangkan elektronnya.

Kopi Arabika (*Coffea arabica*) merupakan bahan minuman yang terkenal tidak hanya di Indonesia tetapi juga terkenal di seluruh dunia. Didalam tanaman kopi Arabika terdapat senyawa polifenol merupakan antioksidan alami yang banyak dijumpai dalam asupan makanan sehari-hari. Selain itu, saat ini tanaman rosella (*Hibiscus sabdariffa*) menjadi begitu populer. Hampir di setiap pameran tanaman obat, nama rosella selalu diperkenalkan. Menurut hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa kandungan *asam askorbat* (vitamin C) dan antosianin pada tanaman ini merupakan sumber antioksidan alami yang sangat efektif dalam menangkal berbagai radikal bebas.

Dalam upaya mendapatkan suatu sediaan obat herbal yang kaya akan kandungan antioksidan maka pada penelitian ini akan dilakukan penentuan aktivitas antioksidan kombinasi daun Kopi Arabika dan kelopak bunga rosella. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan (IC_{50}) fraksi air dan fraksi eter ekstrak metanol daun kopi Arabika (*Coffea arabica*) dan ekstrak metanol kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*) serta kombinasi keduanya.

Penelitian ini dilakukan di laboratorium bagian biologi dan kimia Fakultas Farmasi Universitas Jember. Kegiatan yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi pembuatan simplisia, ekstraksi simplisia, standarisasi simplisia dan ekstrak, fraksinasi dan pengujian aktivitas antioksidan.

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH. Metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) merupakan metode yang paling sering digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan tanaman obat. Tujuan metode ini adalah mengetahui parameter konsentrasi yang ekuivalen memberikan 50% efek aktivitas antioksidan (IC_{50}). Pada pengujian yang dilakukan aktivitas antioksidan terbesar yaitu fraksi air ekstrak metanol daun kopi Arabika dengan nilai $IC_{50} 26,201 \pm 0,323 \mu\text{g/ml}$ disusul fraksi eter ekstrak metanol kelopak bunga rosella, fraksi eter ekstrak metanol daun kopi Arabika dan fraksi air ekstrak metanol kelopak bunga rosella dengan nilai $IC_{50} 62,407 \pm 0,541 \mu\text{g/ml}$; $73,321 \pm 0,241 \mu\text{g/ml}$; dan $230,560 \pm 0,967 \mu\text{g/ml}$.

Hasil uji *One way anova* menunjukkan nilai signifikansi $\leq 0,05$ dengan taraf kepercayaan 95% maka dapat dikatakan bahwa ada perbedaan aktivitas antioksidan yang bermakna antara bentuk tunggal dan kombinasi. Hasil uji *Post hoc (LSD)* menunjukkan nilai signifikansi $\leq 0,05$ dengan taraf kepercayaan 95% maka dapat dikatakan bahwa nilai aktivitas antioksidan pada setiap sampel berbeda secara bermakna jika dibandingkan dengan sampel lain.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Air dan Fraksi Eter Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Kopi Arabika (*Coffea arabica*) dan Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*)”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

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

1. ALLAH SWT. yang telah memberikan kami karunia kehidupan sehingga kami dapat menyelesaikan tulisan kami.
2. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
3. Ibu Ayik Rosita Puspaningtyas S.Farm.,M.Farm.,Apt dan Bapak Bawon Triamoko S.Farm.,M.Sc.,Apt selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
4. Ibu Yuni Retnaningtyas., S.Si., M.Si., Apt., dan Ibu Nia Kristiningrum, S.Farm., Apt., M.Farm. selaku Dosen Pembimbing yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatian beliau dalam penulisan skripsi ini;
5. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm. dan Bapak Dwi Koko P., S.Farm., M.Sc., Apt., selaku Dosen Penguji yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
6. Kedua orang tuaku Ibunda Sri Ksrunia Kusuma dan Ayahanda Syamsir Bahar yang selama ini telah memberikan dorongan dan doanya demi terselesaiannya karya tulis ini;
7. Saudara dan Kakak Ipar saya Yudo Bahari, Yogi Pramono, Raudhatul Jannah, dan Yunida Nailir Rahmah yang selalu memberikan semangat, motivasi, bantuan, dan dukungan selama ini;
8. Laboran Laboratorium Kimia Analisis Bu Wayan dan Mbak Hanny yang telah memberikan bimbingan dalam penelitian ini;

9. Sahabat-sahabat “Abu-abu di Hati” , “Cintaku”, “Cimol Fams”, “Oligopoly” yang selalu memberi motivasi, semangat, bantuan dan dukungan yang tak pernah putus selama ini;
10. Keluarga Besar Petruk Rolas FF UNEJ 2012 yang telah berjuang bersama dengan jargon “*Keep Spirit and Fighting*” untuk mewujudkan cita-cita;
11. Kawan seperjuangan *Coffee Fighter Project* (Muhammad Hafidi Hamzah dan Fauzan Arrozi) dan Kawan *Chemistry* (Hiday, Nora, Citra, Juwita, Arimbi, Alni, Sarah, Dhanny, Dewi, Arjun, Agus, Adhel, Mupit, Alya, Arya, Yayan, Farida, Novialda, Helmi, Tsabit, Dea, Vinas dan Nazil) yang telah membantu dalam proses penyelesaian tugas akhir ini;
12. Sahabat terbaikku Agil Gusdwiyanto yang tidak pernah putus dalam saling mendoakan dan saling mendukung penulis meskipun tidak saling berdekatan;
13. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu, terima kasih atas segala bantuan dan kerjasamanya.

Hanya doa yang dapat penulis panjatkan semoga kebaikan dan dukungan yang diberikan kepada penulis mendapat balasan dari Allah SWT. Penulis juga sangat menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan penulisan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, Juli 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	ii
HALAMAN MOTTO.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
ABSTRAK.....	vii
RINGKASAN.....	viii
PRAKATA.....	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR RUMUS.....	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.5 Batasan Penelitian.....	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Tinjauan Umum Kopi Arabika.....	6
2.1.1 Klasifikasi Tanaman.....	6
2.1.2 Deskripsi dan Karakteristik Tanaman.....	6
2.1.3 Kandungan Kimia Tanaman.....	8
2.1.4 Khasiat dan Kegunaan.....	9
2.2 Tinjauan Umum Rosella.....	10
2.2.1 Klasifikasi Tanaman.....	10
2.2.2 Deskripsi dan Karakteristik Tanaman.....	10

2.2.3 Kandungan Kimia Tanaman.....	12
2.2.4 Khasiat dan Kegunaan.....	13
2.3 Tinjauan Umum Radikal Bebas.....	13
2.4 Tinjauan Umum Antioksidan.....	14
2.5 Tinjauan Umum Metode Peredaman DPPH.....	16
2.6 Tinjauan Umum Metode Ekstraksi.....	18
2.7 Tinjauan Umum Metode Fraksinasi.....	19
2.7 Tinjauan Umum Metode Spektrofotometri UV-VIS.....	20
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	22
3.1 Jenis Penelitian.....	22
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	22
3.3 Rancangan Penelitian.....	22
3.3.1 Rancangan Percobaan.....	22
3.3.2 Alur Penelitian.....	23
3.4 Alat dan Bahan.....	24
3.4.1 Alat.....	24
3.4.2 Bahan.....	24
3.5 Pembuatan Simplisia.....	24
3.6 Pembuatan Ekstrak.....	24
3.7 Pengujian Terhadap Simplisia dan Ekstrak.....	25
3.7.1 Parameter Non-Spesifik.....	25
3.7.2 Parameter Spesifik.....	26
3.7.3 Identifikasi Golongan Senyawa Kimia.....	26
3.8 Kombinasi Ekstrak.....	27
3.9 Fraksinasi Ekstrak.....	28
3.10 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode Peredaman DPPH.....	29
3.10.1 Pembuatan Larutan Uji Ekstrak.....	29
3.10.2 Pembuatan Larutan Vitamin C.....	29
3.10.3 Pembuatan Larutan DPPH.....	29
3.10.4 Penetapan Panjang Gelombang Maksimum DPPH.....	29

3.10.5 Optimasi Waktu Inkubasi.....	30
3.10.6 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Larutan Uji Ekstrak dan Vitamin C.....	30
3.10.7 Perhitungan	30
3.11 Analisis Data.....	31
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	32
4.1 Pembuatan Simplisia.....	32
4.2 Ekstraksi Bahan.....	33
4.3 Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak.....	34
4.3.1 Parameter Non-spesifik.....	34
4.3.2 Parameter Spesifik.....	35
4.3.3 Identifikasi Golongan Senyawa Kimia.....	37
4.4 Kombinasi dan Fraksinasi Ekstrak.....	38
4.5 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH.....	39
4.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH.....	39
4.5.2 Penentuan Waktu Inkubasi.....	40
4.5.3 Pengukuran Aktivitas Antioksidan.....	41
BAB 5. PENUTUP.....	45
5.1 Kesimpulan.....	45
5.2 Saran.....	45
DAFTAR PUSTAKA.....	46
LAMPIRAN.....	51

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Tanaman kopi arabika.....	7
2.2 Struktur molekul asam klorogenat.....	8
2.3 Struktur molekul kafein.....	9
2.4 Tanaman rosella.....	11
2.5 Struktur antosianin.....	12
2.6 Reduksi DPPH dari senyawa peredam radikal bebas.....	17
3.1 Alur penelitian uji aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak daun kopi arabika dan kelopak bunga rosella dengan metode DPPH.....	20
4.1 Hubungan waktu inkubasi dan % peredaman.....	40

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Daya antioksidan dengan metode DPPH.....	15
3.1 Kombinasi ekstrak daun kopi arabika dan kelopak bunga rosella.....	28
4.1 Hasil randemen ekstrak.....	34
4.2 Hasil pengujian kadar air.....	34
4.3 Hasil pengujian kadar abu total.....	35
4.4 Hasil pengujian kadar abu tidak larut dalam asam.....	35
4.5 Hasil pengujian organoleptis.....	36
4.6 Hasil pengujian kadar sari larut dalam air.....	36
4.7 Hasil pengujian kadar sari larut dalam etanol.....	37
4.8 Hasil indentifikasi kandungan senyawa kimia pada ekstrak.....	37
4.9 Kombinasi ekstrak daun kopi arabika dan kelopak bunga rosella.....	38
4.10 Hasil optimasi waktu inkubasi.....	41
4.11 Hasil Nilai IC ₅₀	41

DAFTAR RUMUS

	Halaman
3.1 Perhitungan % inhibisi.....	28
3.2 Nilai IC ₅₀	28

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dalam kehidupan sehari-hari, kita tidak dapat terbebas dari senyawa radikal bebas. Asap rokok, makanan yang digoreng, dibakar, paparan sinar matahari berlebih, asap kendaraan bermotor, obat-obat tertentu, racun dan polusi udara merupakan beberapa sumber pembentuk senyawa radikal bebas. Radikal bebas merupakan molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Elektron-elektron yang tidak berpasangan ini menyebabkan radikal bebas menjadi senyawa yang sangat reaktif terhadap sel-sel tubuh dengan cara mengikat elektron molekul sel (Pietta, 1999; Wijaya, 1996). Reaksi ini sering disebut sebagai oksidasi.

Oksidasi yang berlebihan terhadap asam nukleat, protein, lemak dan DNA sel dapat menginisiasi terjadinya penyakit degeneratif seperti jantung koroner, katarak, gangguan kognisi dan kanker (Leong dan Shui, 2001; Pietta 1999). Manusia telah memiliki sistem pertahanan terhadap oksidan yang berasal dari dalam tubuh ataupun dari luar berupa diet. Pertahanan dari dalam tubuh seperti enzim-enzim peroksidase, katalase, glutation, histidin, peptidin seringkali masih kurang akibat pengaruh lingkungan dan diet yang buruk (Pietta, 1999). Pada kondisi ini manusia membutuhkan senyawa antioksidan yang diperoleh dari makanan.

Antioksidan adalah molekul yang mampu menghambat oksidasi molekul yang dapat menghasilkan radikal bebas. Antioksidan merupakan suatu senyawa yang memiliki kemampuan untuk bereaksi dengan radikal bebas menghasilkan suatu radikal bebas yang stabil dengan cara menerima atau menyumbangkan elektronnya. Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi dua macam, yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik (buatan). Antioksidan sintetik yang paling sering digunakan adalah *Propil Galat* (PG), *Butylated Hydroxyanisole* (BHA), *Butylated Hydroxytoluene* (BHT) dan *Tertbutylhydroquinone* (TBHQ).

Antioksidan sintetik ini dikhawatirkan dapat memberikan efek samping yang berbahaya bagi kesehatan manusia karena bersifat karsinogenik. Berbagai studi mengenai BHA dan BHT menunjukkan bahwa komponen ini dapat menimbulkan tumor pada hewan percobaan pada penggunaan dalam jangka panjang (Kakuzaki, 1993). Antioksidan alami adalah antioksidan yang diperoleh secara alami pada tanaman. Antioksidan alami biasanya lebih diminati, karena tingkat keamanan yang lebih baik dan manfaatnya yang lebih luas dibidang makanan, kesehatan dan kosmetik. Antioksidan alami dapat ditemukan pada bahan pangan sayuran dan buah-buahan. Adapun contoh dari antioksidan alami seperti Vitamin A, Vitamin C, Vitamin E, dan Polifenol. Adanya kekhawatiran terhadap kemungkinan timbulnya efek samping dari antioksidan sintetik dijadikan sebagai motivasi untuk penelitian terhadap antioksidan alami sebagai salah satu alternatif.

Kopi merupakan bahan minuman yang terkenal tidak hanya di Indonesia tetapi juga terkenal di seluruh dunia. Tanaman ini merupakan salah satu komoditi perkebunan terbesar di Indonesia. Kementerian Perindustrian RI menyatakan bahwa Indonesia merupakan negara penghasil kopi terbesar ketiga di dunia setelah Brazil dan Vietnam. Kopi yang banyak dijumpai di pasaran Indonesia yakni *Coffea arabica* dan *Coffea robusta*. Kedua spesies ini merupakan sumber yang kaya akan senyawa aktif seperti asam nikotinat, trigonelin, asam quinolat, asam tanat, asam pirogalat, dan kafein (Pellegrini *et al.*, 2003). Selain itu berdasarkan penelitian sebelumnya daun kopi juga merupakan sumber penting dari polifenol, diantaranya asam kafeat, asam klorogenat, asam kumarat, asam ferulat, dan asam sinapat. Senyawa polifenol merupakan antioksidan alami yang banyak dijumpai dalam asupan makanan sehari-hari (Pellegrini *et al.*, 2003)

Saat ini rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) menjadi begitu populer. Hampir di setiap pameran tanaman obat, nama rosela selalu diperkenalkan. Hal ini disebabkan hampir seluruh bagian tanaman ini dapat digunakan untuk kebutuhan pengobatan, terutama untuk pengobatan alternatif. Rosela memiliki kandungan senyawa kimia yang dapat memberikan banyak manfaat. Menurut hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa kandungan antosianin pada tanaman ini efektif

dalam menangkal berbagai radikal bebas penyebab kanker dan berbagai penyakit lainnya (Mardiah *et al.*, 2009)

Dalam upaya mendapatkan suatu sediaan obat herbal yang kaya akan kandungan antioksidan maka pada penelitian ini akan dilakukan penentuan aktivitas antioksidan fraksi air dan fraksi eter kombinasi ekstrak daun kopi arabika dan kelopak bunga rosella yang diharapkan memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar jika dibandingkan aktivitas antioksidan senyawa masing-masing.

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode peredaman DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*). Pengamatan terhadap penangkapan radikal DPPH dapat dilakukan dengan mengamati penurunan absorbansi. Hal ini dapat terjadi oleh karena adanya reduksi radikal oleh senyawa antioksidan atau bereaksi dengan senyawa radikal lainnya (Yu *et al.*, 2002). Metode ini merupakan metode yang paling sederhana, cepat, mudah, akurat, murah, dan mampu mengukur berbagai komponen yang bertindak sebagai radikal bebas. Selain itu metode DPPH ini tidak memerlukan banyak reagen seperti metode lain dalam mengukur aktivitas antioksidan.

1.2 Rumusan Masalah

Dari latar belakang yang telah dijabarkan, maka dapat dibuat rumusan masalah sebagai berikut.

1. Berapakah aktivitas antioksidan (IC_{50}) fraksi air dan fraksi eter ekstrak metanol daun kopi Arabika (*Coffea arabica*) dan kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) ?
2. Berapakah aktivitas antioksidan (IC_{50}) fraksi air dan fraksi eter kombinasi ekstrak metanol daun kopi Arabika (*Coffea arabica*) dengan kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) ?
3. Apakah ada perbedaan yang bermakna aktivitas antioksidan (IC_{50}) antara fraksi air dan fraksi eter ekstrak metanol daun kopi Arabika (*Coffea arabica*) dan kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dengan fraksi air dan fraksi eter kombinasi ekstrak metanol keduanya dalam beberapa perbandingan ?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk menjawab rumusan masalah yang ada, yaitu sebagai berikut.

1. Mengetahui nilai aktivitas antioksidan (IC_{50}) fraksi air dan fraksi eter ekstrak metanol daun kopi Arabika (*Coffea arabica*) dan kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*)
2. Mengetahui nilai aktivitas antioksidan (IC_{50}) fraksi air dan fraksi eter kombinasi ekstrak metanol daun kopi Arabika (*Coffea arabica*) dan kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*)
3. Mengetahui ada tidaknya perbedaan yang bermakna antara nilai aktivitas antioksidan antara fraksi air dan fraksi eter ekstrak metanol daun kopi Arabika (*Coffea arabica*) dan kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dengan fraksi air dan fraksi eter kombinasi ekstrak metanol keduanya dalam beberapa perbandingan ?

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang didapatkan dari penelitian ini yaitu sebagai berikut.

1. Memberikan informasi perbandingan nilai aktivitas antioksidan (IC_{50}) dari fraksi air dan fraksi eter ekstrak metanol daun kopi Arabika (*Coffea arabica*) dan kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*) serta kombinasi kedua macam ekstrak
2. Hasil uji aktivitas antioksidan pada fraksi air dan fraksi eter kombinasi ekstrak metanol daun kopi Arabika (*Coffea arabica*) dan kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dapat digunakan sebagai dasar pembuatan suatu sediaan herbal berbasis daun kopi arabika dan kelopak bunga rosella yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan
3. Bagi mahasiswa pelaksana program dapat mengasah kemampuan kreativitas dan keahlian dibidang analisis farmasi.

1.5 Batasan Penelitian

Adapun batasan dalam penelitian ini yaitu sebagai berikut.

1. Daun kopi arabika (*Coffea arabica*) yang digunakan berasal dari perkebunan Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia dan kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*) berasal dari daerah Desa Setonorejo, Kecamatan Kras, Kabupaten Kediri
2. Aktivitas antioksidan antara fraksi air dan fraksi eter ekstrak metanol daun kopi arabika (*Coffea arabica*) dan kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*) serta kombinasi kedua macam ekstrak ditunjukkan dengan nilai *Inhibiton Concentration 50* (IC₅₀)

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Umum Kopi Arabika

2.1.1 Klasifikasi Tanaman

Kopi Arabika (*Coffea arabica*) merupakan tanaman perdu yang secara lengkap diklasifikasikan sebagai berikut :

Kerajaan	:	Plantae
Divisi	:	Spermatophyta
Sub divisi	:	Angiospermae
Kelas	:	Dicotyledonae
Bangsa	:	Rubiales
Suku	:	Rubiaceae
Marga	:	<i>Coffea</i>
Jenis	:	<i>Coffea arabica</i> (Lawrence, 1963)

2.1.2 Deskripsi dan Karakteristik Tanaman

Kopi Arabika (*Coffea arabica*) berasal dari hutan pegunungan di Etiopia, Afrika. Di habitat asalnya, tanaman ini tumbuh dibawah kanopi hutan tropis yang rimbun. Kopi jenis ini banyak ditumbuh di ketinggian di atas 500 meter dpl. Kopi arabika akan tumbuh maksimal bila ditanam diketinggian 1000-2000 meter dpl. Dengan curah hujan berkisar 1200-2000 mm per tahun. Suhu lingkungan paling cocok untuk tanaman ini berkisar 15-24°C. Tanaman ini tidak tahan pada temperatur yang mendekati beku dibawah 4°C. Untuk berbunga dan menghasilkan buah, tanaman kopi Arabika membutuhkan periode kering selama 4-5 bulan dalam setahun. Biasanya pohon arabika akan berbunga diakhir musim hujan. Bila bunga yang baru mekar tertimpa hujan yang deras akan menyebabkan kegagalan berbuah (Ridwansyah, 2003).

Karakteristik dari tanaman ini adalah pendek menyerupai perdu dengan ketinggian 2-3 meter. Batangnya berdiri tegak dengan bentuk membulat.

Pohonnya memiliki percabangan yang banyak. Warna daun kopi Arabika hijau mengkilap seperti memiliki lapisan lilin. Daun yang telah tua berwarna hijau gelap. Bentuk daun memanjang atau lonjong dengan ujung daun meruncing. Pangkal daun tumpul dan memiliki tangkai yang pendek dan memiliki struktur tulang daun yang menyirip (Ridwansyah, 2003).

Kopi Arabika mulai berbunga setelah musim hujan. Bunga tumbuh pada ketiak daun. Bunga kopi berwarna putih dan bisa melakukna penyerbukan sendiri, tidak ada perbedaan bunga jantan dan betina. Dari bentuk kuncup hingga menjadi buah yang siap panen membutuhkan waktu 8-11 bulan.

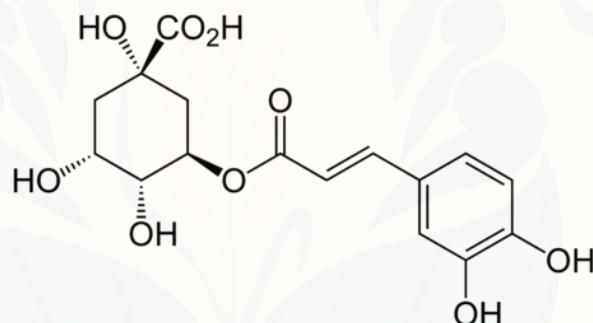
Buahnya bulat seperti telur, dengan warna buah hijau kemudian berubah menjadi merah terang saat matang. Apabila buah telah matang cenderung mudah rontok. Buah yang rontok ke tanah akan mengalami penurunan mutu, cenderung bau tanah. Pohon kopi Arabika mempunyai perakaran tunjang yang dalam. Guna akar yang dalam ini untuk menopang pohon agar tidak mudah roboh dan bertahan pada kondisi kekeringan. Pertumbuhan akar ditentukan sejak pohon dipindahkan dari pembibitan (Ridwansyah, 2003).



Gambar 2.1 Tanaman Kopi Arabika (Sumber: koleksi pribadi)

2.1.3 Kandungan Kimia Tanaman

Berdasarkan penelitian Gunalan *et al* (2012) sebagian besar bagian tanaman kopi arabika mengandung alkaloid, saponin, tanin, flavonoid, koumarin, kuinon, fenol, dan minyak atsiri. Metabolit sekunder pada tanaman kopi Arabika yang sering ditemukan dan paling banyak adalah kafein dan asam klorogenat. Asam klorogenat merupakan metabolit sekunder terbesar pada tanaman kopi Arabika, senyawa ini merupakan senyawa ester dari trans-asam sinamat dan asam quinat. Secara umum asam klorogenat dibentuk dari asam kafeat dan asam quinat. Asam klorogenat dan asam kafeat memiliki aktivitas antioksidan yang kuat secara in vitro. Telah diteliti bahwa dalam 200 ml kopi Arabika mengandung 70-200 mg asam klorogenat. Kopi Arabika diperkirakan mensuplai 70% dari asupan harian antioksidan (Rice *et al.*, 1996).

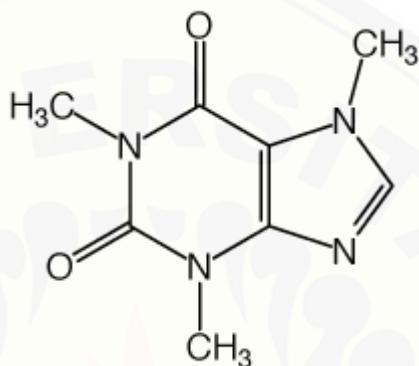


Gambar 2.2 Struktur molekul asam klorogenat (Tice, 1998)

Kafein (1,3,7-trimetilxantin) merupakan metabolit sekunder kedua terbanyak dari kopi setelah asam klorogenat. Kafein adalah alkaloid dari grup xantin yang sangat populer karena mudah didapatkan pada berbagai hidangan, makanan dan minuman. Beberapa sumber kafein selain berbagai varietas kopi juga ditemukan pada daun teh, biji kola, dan biji coklat. Kafein juga terdapat pada makanan harian seperti *soft drink*, *energy drink* dan beberapa obat-obatan seperti obat stimulan, penghilang rasa sakit, dan flu (Sudarmi *et al.*, 1997)

Makanan atau minuman berkefein dengan dosis rendah akan menstimulasi sistem saraf otonom sehingga akan memperbaiki *mood*, memperlama konsentrasi dan mencegah rasa lelah. Kafein juga memberikan efek fisiologis lainnya seperti

stimulasi lambung dan sistem urinaria (Higdon *et al.*, 2011). Konsentrasi kafein pada minuman kopi cukup bervariasi. Satu cangkir standar kopi sering diasumsikan mengandung 100 mg kafein, tetapi dari penelitian Hidgon, J.V. dan Frei, B. (2006) pada berbagai kopi yang dibeli di kedai-kedai kopi ditemukan kadar kafein pada ± 240 ml kopi seduh sekitar 72-130 mg.



Gambar 2.3 Struktur molekul kafein (The Merck Index, 2001)

2.1.4 Khasiat dan Kegunaan

Kopi Arabika memiliki pengaruh positif terhadap kesehatan antara lain :

- a. Menurunkan resiko diabetes mellitus tipe 2 (Loopstra *et al.*, 2011)
- b. Menurunkan resiko kardiovaskuler (Jiang *et al.*, 2009)
- c. Memperbaiki sistem cerebrovaskuler (Mostofsky *et al.*, 2010)
- d. Menurunkan asam urat (Lelyana *et al.*, 2008)
- e. Menurunkan resiko kanker (Ganmaa *et al.*, 2008)
- f. Mengurangi sirosis hati (Klatsky *et al.*, 2006)
- g. Mengurangi resiko batu empedu (Leitzman *et al.*, 2002)
- h. Memperbaiki sistem neurotransmitter (Maia *et al.*, 2002)

2.2 Tinjauan Umum Rosella

2.2.1 Klasifikasi Tanaman

Rosella memiliki klasifikasi tanaman sebagai berikut :

Kerajaan	: Plantae
Sub Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Malvales
Suku	: Malvaceae
Marga	: <i>Hibiscus</i>
Jenis	: <i>Hibiscus sabdariffa</i> (Jones dan Luchsinger, 1987)

2.2.2 Deskripsi dan Karakteristik Tanaman

Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) adalah tanaman dari keluarga sejenis kembang sepatu. Tanaman ini berasal dari Afrika dan Timur Tengah. Tanaman ini merupakan tanaman perdu semusim yang tingginya bisa mencapai 3,5 meter. Tanaman rosella mudah dibudidayakan dari biji atau stek batang. Cahaya matahari yang banyak dan tanah yang gembur diperlukan untuk pertumbuhannya. Proses penyemaian rosella dilakukan dengan cara menanam bijinya kira-kira 20 cm dari permukaan tanah. Jika sudah dewasa, tanaman ini akan mengeluarkan bunga berwarna merah. Kelopak bunga rosella sudah bisa dipetik setelah 3 minggu dihitung dari hari pertama bunga mekar. Bagian bunga dan biji inilah yang bermanfaat baik untuk kesehatan (Mardiah, 2009).

Karakteristik dari tanaman rosella berupa semak yang berdiri tegak dengan tinggi 0,5 meter sampai 5 meter. Ketika masih muda batang dan daunnya berwarna hijau. Batang berbentuk silindris dan berkayu, serta memiliki banyak percabangan. Pada batang melekat daun-daun yang tersusun berseling, warna hijau berbentuk bulat telur dengan pertulangan menjari dan tepi beringgit. Sedangkan untuk sistem perakarannya berupa akar tunggal (Mardiah, 2009).

Daun rosella berwarna hijau berbentuk bulat telur dengan ujung daun yang meruncing atau bercangap. Daun memiliki tulang-tulang menjari warna merah

dan tepi beringgit dengan banyak kelenjar pada permukaan bawahnya yang letaknya berseling-seling (spiral) mengelilingi batang tanaman yang terdiri dari tangkai daun, helai daun dan tidak mempunyai upih. Ukuran panjang daun dapat mencapai 6-15 cm dan lebar 5-8 cm (Mardiah, 2009).

Bunga rosella bertipe tunggal, artinya, hanya terdapat satu kuntum bunga pada setiap tangkai bunga. Ukuran bunga cukup besar, diameter ketika sedang mekar lebih dari 12,5 cm dan memiliki dasar bunga pendek. Bunga ini mempunyai 8-11 helai kelopak yang berbulu, dengan panjang 1 cm, pangkal saling berlekatan dan berwarna merah. Bagian inilah yang sering dimanfaatkan sebagai bahan makanan dan minuman. Mahkota rosella bewarna merah sampai kuning dengan warna lebih gelap di bagian tengahnya, berbentuk corong, terdiri dari lima helaian, dan panjang 3-5 cm. tangkai sari yang merupakan tempat melekatnya kumpulan benang sari berukuran pendek dan tebal dengan panjang sekitar 5 cm dan lebar 5 mm. Bunga rosella bersifat hermaprodit (mempunyai bunga jantan dan bunga betina), sehingga mampu menyerbuk sendiri.

Buah berbentuk kerucut, berambut, terbagi menjadi 5 ruang, berwarna merah. Bentuk biji menyerupai ginjal, berbulu, dengan panjang 5 mm dan lebar 4 mm. Saat masih muda, biji berwarna putih dan setelah tua berubah menjadi abu-abu (Mardiah, 2009).

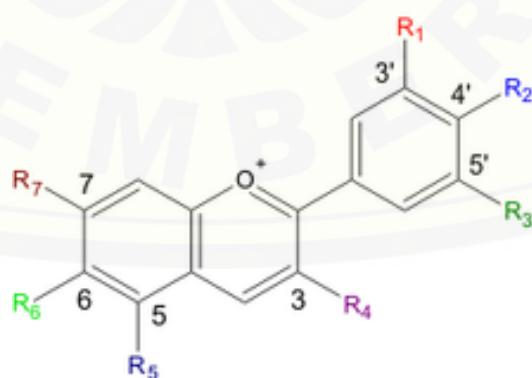


Gambar 2.4 Tanaman Rosella (Sumber: koleksi pribadi)

2.2.3 Kandungan Kimia Tanaman

Bagian akar dari tanaman Rosella mengandung saponin, saponaretin, dan vitexin (Thomas, 2006). Bagian biji mengandung sterol, yaitu ergosterol sebesar 3,2%. Bagian daun mengandung sitosterol-beta-D-galaktosida dan juga ditemukan saponin. Bagian bunga mengandung antosianin, mirisetin, kaemferol, kuersetin (Khare, 2007), flavonoid gosipetin, hibisketin, sabdaretin, asam sitrat, dan pektin (Duke, 2002).

Antosianin merupakan salah satu bagian penting dalam kelompok pigmen setelah klorofil. Antosianin larut dalam air, menghasilkan warna dari merah sampai biru dan tersebar luas dalam buah, bunga, dan daun. Antosianin umumnya ditemukan pada buah-buahan, sayuran, dan bunga, contohnya pada kol merah, anggur, strawberry, cherry, dan sebagainya (Jackman dan Smith 1996). Secara kimia, antosianin merupakan hasil glikosilasi polihidroksi dan atau turunan polimetoksi dari garam 2-benzopirilium atau dikenal dengan struktur flavilium. Akibat kekurangan elektron, maka inti flavilium menjadi sangat reaktif dan hanya stabil pada keadaan asam (Harbore, 1967). Antosianin merupakan sub-tipe senyawa organik dari keluarga flavonoid, dan merupakan anggota kelompok senyawa yang lebih besar yaitu polifenol. Kandungan antosianin dalam tanaman rosella merupakan salah satu senyawa kimia yang bertanggung jawab besar sebagai antioksidan.



Gambar 2.5 Struktur antosianin (Jackman , 1996)

2.2.4 Khasiat dan Kegunaan

Ekstrak metanol dari bunga rosella dilaporkan dapat menurunkan tekanan darah tinggi, antibakteri, dan antifungi (Khare, 2007). Bagian daun, bunga serta akar rosella memiliki khasiat sebagai diuretik, ekspektoran, mencegah vertigo, sedatif, emolien, antipiretik, anti spasmodik, anti-skorbat, laksatif, uterorelaksan, melancarkan gerak peristaltic usus dan anti-reumatik (Duke, 2002). Selain itu, adanya pigmen antosianin pada kelopak bunga rosella dapat digunakan sebagai pewarna makanan (Esselen dan Sammy, 1975)

2.3 Tinjauan Umum Radikal Bebas

Oksigen merupakan atom yang sangat reaktif sehingga mampu menjadi bagian dari molekul yang berpotensi menyebabkan kerusakan yang biasa disebut radikal bebas. Radikal bebas dapat menyerang sel-sel tubuh yang sehat, akibatnya sel-sel tersebut kehilangan struktur dan fungsinya (Percival, 1998). Radikal bebas adalah molekul dengan elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas sangat tidak stabil dan bereaksi cepat dengan senyawa lain serta berusaha menangkap elektron untuk memperoleh stabilitas (Sarma *et al.*, 2010). Secara teoritis, radikal bebas dapat terbentuk bila terjadi pemisahan ikatan kovalen. Radikal bebas dianggap berbahaya karena sangat reaktif dalam upaya mendapatkan pasangan elektronnya dan dapat terbentuk radikal bebas baru dari atom atau molekul yang elektronnya terambil untuk berpasangan dengan radikal bebas sebelumnya. Oleh karena sifatnya yang sangat reaktif dan gerakannya yang tidak beraturan, maka apabila terjadi di dalam tubuh makhluk hidup akan menimbulkan kerusakan di berbagai bagian sel (Muhilal, 1991).

Oksigen yang sangat reaktif dan oksidasi dari protein, lemak, dan unsur lain dalam tubuh akan menghasilkan radikal bebas ini. Selain itu, radikal bebas juga disebabkan oleh pengaruh lingkungan seperti produk samping dari industri plastik, ozon atmosfer, asap knalpot kendaraan, dan asap rokok. Kerusakan sel akibat radikal bebas tampaknya menjadi kontributor utama terjadi penuaan dan berbagai penyakit degeneratif seperti kanker, penyakit jantung, katarak,

penurunan sistem kekebalan tubuh, dan disfungsi otak (Percival, 1998 ; Tambayong, 2000).

Pembentukan radikal bebas dikendalikan secara alami oleh berbagai senyawa bermanfaat yang dikenal sebagai antioksidan. Apabila ketersediaan antioksidan terbatas, maka kerusakan ini dapat menjadi akumulatif dan melemahkan fungsi sel-sel tubuh. Pada serangan awal, radikal bebas dapat dinetralkan tetapi radikal bebas lain yang terbentuk dalam proses dapat menyebabkan terjadinya reaksi berantai (Percival, 1998).

2.4 Tinjauan Umum Antioksidan

Dalam pengertian kimia, senyawa antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (*electron donors*). Secara biologis, pengertian antioksidan adalah senyawa yang mampu menangkal atau meredam dampak negatif oksidan dalam tubuh. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa dihambat. Secara umum, antioksidan dikelompokkan menjadi dua, yaitu antioksidan enzimatis dan non-enzimatis. Antioksidan enzimatis misalnya enzim *superoksida dismutase* (SOD), katalase, dan *glutation peroksidase* (Winarsi, 2007 ; Percival, 1998). Menurut Winarsi (2007), antioksidan non-enzimatis masih dibagi dalam 2 kelompok yaitu :

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

Antioksidan enzimatis dan non-enzimatis tersebut bekerja sama memerangi aktivitas senyawa oksidan dalam tubuh. Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan digolongkan menjadi 3 kelompok yaitu antioksidan primer, sekunder, dan tersier.

- a. Antioksidan Primer (Antioksidan Endogenus)

Antioksidan primer meliputi enzim *superoksida dismutase* (SOD), katalase, dan *glutation peroksidase* (GSH-Px). Antioksidan primer disebut juga

antioksidan enzimatis. Suatu senyawa dikatakan antioksidan primer apabila dapat memberikan atom hidrogen secara cepat kepada senyawa radikal, kemudian radikal antioksidan yang terbentuk segera berubah menjadi senyawa yang lebih stabil.

Antioksidan primer bekerja dengan cara mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi molekul yang kurang reaktif. Sebagai antioksidan, enzim-enzim tersebut menghambat pembentukan radikal bebas dengan cara memutus reaksi berantai kemudian mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil (Winarsi, 2007).

b. Antioksidan Sekunder (Antioksidan Eksogenus)

Antioksidan sekunder disebut juga antioksidan eksogenus atau non-enzimatis. Antioksidan dalam kelompok ini juga disebut pertahanan preventif. Dalam sistem pertahanan ini, terbentuknya senyawa oksigen reaktif dihambat dengan cara pengelatan metal atau dirusak pembentukannya. Pengelatan metal terjadi dalam cairan ekstraseluler. Antioksidan non-enzimatis dapat berupa komponen non-nutrisi dan komponen nutrisi dari sayuran dan buah-buahan. Kerja sistem antioksidan non-enzimatis yaitu dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkapnya. Akibatnya radikal bebas tidak akan bereaksi dengan komponen seluler. Antioksidan sekunder berasal dari senyawa fenolik, seperti asam fenolik (asam kafeat dan asam galat), diterpen fenolik (asam karnosik dan asam karnosol), golongan flavonoid (flavonol, flavon dan flavanon) dan minyak volatil (eugenol dan thymol) (Brewer, 2011 ; Winarsi, 2007).

c. Antioksidan tersier

Kelompok antioksidan tersier meliputi sistem enzim DNA-repair dan *metionin sulfoksida reduktase*. Enzim-enzim ini berfungsi dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat reaktivitas radikal bebas (Winarsi, 2007)

Antioksidan yang berasal dari tubuh (endogen) tidak cukup untuk melawan radikal bebas di dalam tubuh, oleh karena itu setiap manusia membutuhkan tambahan asupan antioksidan dari luar tubuh sehingga mengurangi

kapasitas radikal bebas untuk menimbulkan kerusakan (Soltani dan Baharara, 2014).

Pada umumnya senyawa yang memiliki bioaktivitas sebagai antioksidan adalah senyawa golongan fenol yang memiliki gugus hidroksil yang tersubstitusi pada cincin benzena. Senyawa fenol menghambat radikal bebas dengan cara mendonorkan proton (atom hidrogen) ketika bereaksi dengan senyawa radikal sehingga proses oksidasi dihambat dan terbentuk radikal yang stabil. Terbentuknya radikal stabil ini dikarenakan elektron bebas yang terdapat pada radikal distabilkan oleh delokalisasi elektron dengan adanya resonansi pada cincin aromatik (Tursiman *et al.*, 2012). Salah satu radikal bebas yang distabilkan oleh fenol yaitu radikal peroksil. Gugus -OH akan menangkap radikal peroksil (RO_2^\bullet) dan membentuk radikal fenoksil. Radikal fenoksil (R-O^\bullet) cenderung kurang reaktif karena elektron terlokalisasi di dalam cincin aromatik (Halliwell, 2002). Reaksinya dapat dilihat sebagai berikut.

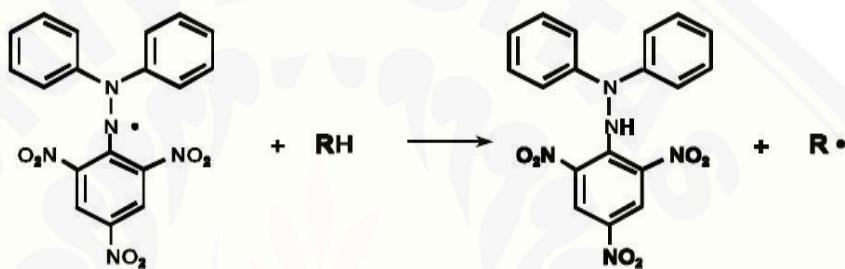


2.5 Tinjauan Umum Metode Peredaman DPPH

Metode yang paling sering digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan tanaman obat adalah metode uji dengan menggunakan radikal bebas DPPH. Tujuan metode ini adalah mengetahui parameter konsentrasi yang ekuivalen memberikan 50% efek aktivitas antioksidan (IC_{50}). Hal ini dapat dicapai dengan cara menginteprasikan data eksperimental dari metode tersebut.

DPPH merupakan radikal bebas yang dapat beraksi dengan senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen, dapat berguna untuk pengujian aktivitas antioksidan komponen tertentu dalam suatu ekstrak. DPPH dalam metode ini berperan sebagai radikal bebas yang diredam oleh antioksidan dari bahan uji, dimana DPPH akan ditangkap oleh antioksidan melalui donasi atom hidrogen dari antioksidan sehingga membentuk DPPH-H tereduksi (Molyneux, 2004). DPPH memberikan serapan kuat pada 517 nm karena adanya elektron yang tidak

berpasangan. Ketika elektronnya menjadi berpasangan oleh keberadaan penangkap radikal bebas, maka absorbansinya menurun secara stokimetri sesuai jumlah elektron yang diambil. Keberadaan senyawa antioksidan dapat mengubah warna larutan DPPH dari ungu menjadi kuning (Dehpour *et al.*, 2009). Perubahan absorbansi akibat reaksi ini telah digunakan secara luas untuk menguji kemampuan beberapa molekul sebagai penangkap radikal bebas. Reaksi penangkapan hidrogen oleh DPPH dari zat antioksidan dapat dilihat pada Gambar 2.6



Gambar 2.6 Reduksi DPPH dari senyawa peredam radikal bebas (Sumber: Prakash *et al.*, 2001)

Metode peredaman DPPH merupakan metode yang mudah, cepat, dan sensitif untuk pengujian aktivitas antioksidan senyawa tertentu atau ekstrak tanaman (Koleva *et al.*, 2002). Parameter untuk menginterpretasikan hasil pengujian dengan metode DPPH adalah IC₅₀ (*inhibition concentration*). IC₅₀ merupakan konsentrasi larutan substrat atau sampel yang akan menyebabkan reduksi terhadap aktivitas DPPH sebesar 50 % (Molyneux, 2004). Nilai IC₅₀ dapat diperoleh menggunakan persamaan regresi linier, dengan memasukkan konsentrasi sampel pada sumbu x dan % inhibisi pada sumbu y. Sehingga dari persamaan regresi $y = bx + a$ dapat dihitung nilai IC₅₀ (Cahyana *et al.*, 2002). Semakin kecil nilai IC₅₀, maka semakin besar aktivitas antioksidan senyawa tersebut. Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH dapat dilihat pada tabel 2.1.

Tabel 2.1 Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH

Intensitas	Nilai IC ₅₀
Sangat aktif	< 50 ppm
Aktif	50 – 100 ppm
Sedang	101 – 250 ppm
Lemah	250 – 500 ppm

Sumber : (Jun *et al* ., 2006)

2.6 Tinjauan Umum Metode Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan kering, kental, atau cair dibuat dengan penyari simplisia menurut cara yang cocok, diluar pengaruh cahaya matahari langsung. Sebagai cairan penyari digunakan air, eter, etanol, metanol, atau campuran etanol dan metanol. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi, perkolasasi atau penyeduhan dengan air mendidih. Penyarian dengan etanol atau metanol dapat dilakukan dengan cara maserasi atau perkolasasi sedangkan penyarian dengan eter dilakukan dengan cara perkolasasi. (BPOM, 2008)

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan cara merendam simplisia dan dilakukan beberapa kali pengocokan atau pengadukan dengan menggunakan pelarut yang sesuai pada temperatur ruangan (kamar). Secara teknologi metode ini merupakan metode dengan prinsip pencapaian konsentrasi pada kesetimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang terus-menerus. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya.

Pengeringan ekstrak merupakan proses menghilangkan pelarut dari bahan sehingga menghasilkan serbuk, masa kering rapuh ataupun ekstrak kental tergantung pada proses dan peralatan yang digunakan. Ada berbagai proses pengeringan ekstrak yaitu dengan cara evaporasi, vaporasi, sublimasi, konveksi, kontak, radiasi, dan dielektrik (Depkes RI, 2008)

Proses pengeringan dengan cara evaporasi salah satunya yaitu dengan menggunakan metode *Vaccum Rotary Evaporator*. *Vaccum Rotary Evaporator* adalah alat yang berfungsi untuk memisahkan suatu larutan dari pelarutnya sehingga dihasilkan ekstrak kental. Cairan yang ingin diuapkan biasanya ditempatkan dalam suatu labu yang kemudian dipanaskan dengan bantuan penangas, dan diputar. Uap cairan yang dihasilkan didinginkan oleh suatu pendingin (kondensor) dan ditampung pada suatu tempat (*receiver flask*). Kecepatan alat ini dalam melakukan evaporasi sangat cepat, terutama bila dibantu oleh vakum. Terjadinya *bumping* dan pembentukan busa juga dapat dihindari. Kelebihan lainnya dari alat ini adalah diperoleh kembali pelarut yang diuapkan. Prinsip kerja alat ini didasarkan pada titik didih pelarut dan adanya tekanan yang menyebabkan uap dari pelarut terkumpul di atas, serta adanya kondensor (suhu dingin) yang menyebabkan uap ini mengembun dan akhirnya jatuh ke tabung penerima (*receiver flask*). Setelah pelarutnya diuapkan, akan dihasilkan ekstrak yang padat berbentuk padatan (solid) atau cairan kental (liquid). Biasanya ekstrak yang dihasilkan dari ekstraksi awal ini disebut sebagai ekstrak kasar (*croud extract*) (Nugroho *et al.*, 1999).

2.7 Tinjauan Umum Metode Fraksinasi

Fraksinasi adalah suatu proses pemisahan senyawa – senyawa berdasarkan tingkat kepolaran. Diantara berbagai jenis metode pemisahan, ekstraksi pelarut atau disebut juga ekstraksi cair-cair merupakan metode pemisahan yang paling baik dan populer. Alasan utamanya adalah bahwa pemisahan ini dapat dilakukan baik dalam tingkat makro maupun mikro. Seseorang tidak memerlukan alat yang khusus atau canggih. Prinsip metode ini didasarkan pada distribusi zat terlarut dengan perbandingan tertentu antara dua pelarut yang tidak saling bercampur, seperti benzena, karbon tetraklorida atau kloroform. Batasannya adalah zat terlarut dapat di transfer pada jumlah yang berbeda dalam keadaan dua fase pelarut. Teknik ini dapat digunakan untuk kegunaan preparatif, pemurnian, pemisahan serta analisis pada semua skala kerja (Khopkar, 2008). Hubungan zat terlarut yang terdistribusi diantara dua pelarut yang tidak saling bercampur dinyatakan pertama

kali oleh "Walter nernst " (1981) yang dikenal dengan hukum distribusi atau partisi yang menyatakan bahwa "Jika suatu zat terlarut dilarutkan sekaligus kedalam dua pelarut yang tidak saling bercampur, maka zat terlarut akan terdistribusi diantara kedua pelarut. Pada saat setimbang perbandingan konsentrasi zat terlarut berharga tetap pada suhu tetap." (Yazid, 2005)

2.8 Tinjauan Umum Metode Spektrofotometri UV-VIS

Spektrum UV-VIS merupakan hasil interaksi antara radiasi elektromagnetik (REM) dengan molekul. REM merupakan bentuk` energi radiasi yang mempunyai sifat gelombang dan partikel (foton). Karena bersifat sebagai gelombang, maka beberapa parameter perlu diketahui, seperti panjang gelombang, frekuensi, bilangan gelombang dan serapan (Harmita, 2006)

Spektrofotometer dapat digunakan untuk mengukur besarnya energi yang diabsorbsi atau diteruskan. Salah satunya syarat agar suatu zat atau senyawa dapat dianalisa secara spektrofotometri adalah senyawa tersebut memiliki gugus kromofor, yaitu gugus fungsional yang mengabsorbsi radiasi ultraviolet dan tampak. Suatu gugus kromofor dapat memberikan serapan pada spektrum serapan yang dibuat adalah senyawa tersebut harus memiliki panjang gelombang lebih besar dari 190 nm dan daya serap molar (ϵ_{maks}) lebih besar dari 1000 agar konsentrasi yang digunakan tidak terlalu besar (Harmita, 2006).

Penggunaan spektrofotometer UV-VIS dapat digunakan untuk analisa kuantitatif maupun kualitatif. Untuk analisa kualitatif, yang perlu diperhatikan adalah membandingkan λ maksimum, serapan, daya serap dan spektrum serapannya. Pengukuran serapan dapat dilakukan pada panjang gelombang daerah ultraviolet (panjang gelombang 190 – 380 nm) atau pada daerah cahaya tampak (panjang gelombang 380 – 780 nm) (Harmita, 2006)

Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi munculnya spektrum serapan pada analisa secara spektrofotometri, diantaranya adalah jenis pelarut yang digunakan, pH larutan, kadar larutan (jika konsentrasi tinggi akan terjadi polimerisasi yang menyebabkan panjang gelombang maksimum berubah sama

sekali), tebal larutan atau tebal kuvet yang digunakan, dan lebar celah (Harmita, 2006)

Pemilihan pelarut yang digunakan dalam spektrofotometri UV-VIS sangat penting, dimana pelarut tidak boleh mengabsorbsi cahaya pada daerah panjang gelombang dimana dilakukan pengukuran sampel. Umumnya pelarut yang tidak mengabsorbsi adalah pelarut yang tidak mengandung gugus terkonjugasi seperti air, metanol, etanol, dan n-heksan (Harmita, 2006).

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian *True Experimental Laboratories* yang merupakan penelitian yang dilakukan di laboratorium.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi dan Laboratorium Kimia Analisis Fakultas Farmasi, Universitas Jember mulai bulan Desember tahun 2015.

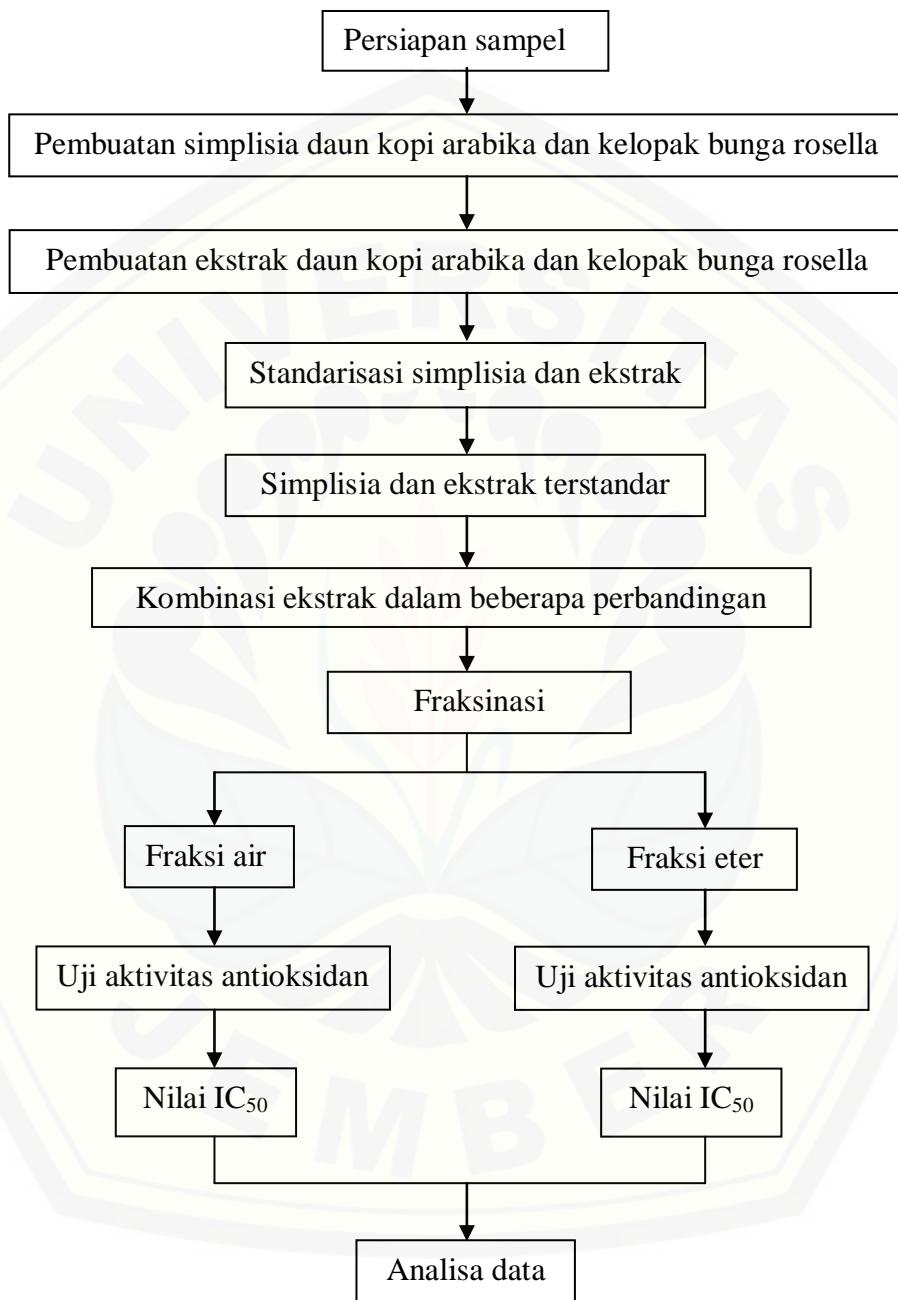
3.3 Rancangan Penelitian

3.3.1 Rancangan Percobaan

Pada penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas antioksidan fraksi air dan fraksi eter dari ekstrak metanol daun kopi Arabika, fraksi air dan fraksi eter ekstrak metanol kelopak bunga rosella dan fraksi air dan fraksi eter kombinasi ekstrak metanol daun kopi Arabika dan kelopak bunga rosella. Tahap pertama adalah pengumpulan sampel daun kopi arabika dan kelopak bunga rosella, tahap selanjutnya adalah pembuatan simplisia, kemudian dilakukan ekstraksi simplisia daun kopi Arabika dan kelopak bunga rosella. Maka akan diperoleh ekstrak daun kopi arabika dan kelopak bunga rosella, ekstrak ini kemudian distandarisasi untuk memperoleh ekstrak terstandar yang siap untuk difraksinasi. Selanjutnya dilakukan fraksinasi dengan menggunakan pelarut air dan eter untuk memperoleh fraksi air dan fraksi eter dari ekstrak metanol daun kopi Arabika, ekstrak metanol kelopak bunga rosella dan ekstrak metanol kombinasi daun kopi Arabika dan kelopak bunga rosella. Setelah dilakukan fraksinasi, dilakukan penetapan aktivitas antioksidan untuk fraksi air dan eter ekstrak metanol daun kopi Arabika, fraksi air dan eter ekstrak kelopak bunga rosella, fraksi air dan eter kombinasi ekstrak metanol daun kopi arabika dan ekstrak metanol kelopak bunga rosella. Kemudian dilakukan analisis data dengan menggunakan uji statistik *one way anova*. Sebagai kontrol positif pada penelitian ini digunakan vitamin C.

3.3.2 Alur Penelitian

Alur penelitian dapat dilihat dibawah ini :



Gambar 3.1 Alur penelitian uji aktivitas antioksidan kombinasi daun kopi arabika dan kelopak bunga rosella dengan Metode Perendaman DPPH

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain spektrofotometer Hitachi U-1800, *rotary evaporator*, penghalus serbuk (*blender*), ayakan B-40, oven, cawan penguap, wadah maserasi, gelas ekstrak, botol timbang, corong gelas, corong pisah 250 ml, timbangan analitik Sartorius, spatula, kuvet plastik, *ultrasonic cleaner*, labu ukur (10 ml, 25 ml, dan 50 ml), *beaker glass* (50 ml dan 100 ml), mikropipet (1 ml), gelas ukur, *ball filler*, pipet tetes, pipet volume (0,5 ml, 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml, dan 5 ml), vial, dan *stopwatch*.

3.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kopi arabika dan kelopak bunga rosella, metanol teknis, vitamin C pharmaceutical grade (99,8%), DPPH (Sigma-Aldrich), eter teknis, dan akuades.

3.5 Pembuatan Simplisia

Daun kopi Arabika dan kelopak bunga rosella ditimbang masing-masing sebanyak 1 kg. Kemudian dicuci dengan air mengalir, disortasi, dipotong kecil-kecil, dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dalam ruangan, tidak terkena sinar matahari langsung selama 7 hari. Setelah diangin-anginkan dimasukkan ke dalam oven suhu 50°C untuk pengeringan akhir. Simplisia dihaluskan dengan cara digiling menggunakan *blender* dan diayak menggunakan ayakan B-40 hingga diperoleh serbuk simplisia daun kopi arabika dan kelopak bunga rosella.

3.6 Pembuatan Ekstrak

Proses ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi. Sebanyak 100 gram serbuk daun kopi dan 250 gram serbuk kelopak bunga rosella dalam keadaan kering dimaserasi dalam maserator dengan 1 liter metanol teknis selama 24 jam. Setiap 3 jam selama perendaman dilakukan pengadukan dengan batang pengaduk. Setelah itu ekstrak cair disaring dengan kertas saring lalu hasil maserasi diuapkan dengan *rotary evaporator* suhu 50°C dan hasilnya dipekatkan dalam *water bath*

untuk memperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang untuk perhitungan randemen. Ekstrak ini disimpan dalam lemari pendingin untuk analisis selanjutnya.

3.7 Pengujian Terhadap Simplisia dan Ekstrak

3.7.1 Parameter Non-Spesifik

a. Kadar Air

Simplisia dikeringkan pada suhu 105°C selama 1 jam dan ditimbang. Dilanjutkan pengeringan dan timbang pada jarak 1 jam sampai perbedaan antara 2 penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25% (Depkes RI, 2000).

b. Kadar Abu Total

Simplisia ditimbang 2-3 gram secara seksama kemudian dimasukkan ke dalam krus platina atau krus silikat yang telah dipijar dan ditara, lalu diratakan. Krus yang berisi ekstrak dipijar perlahan-lahan hingga arang habis, didinginkan, lalu dilakukan proses penimbangan. Jika arang tidak dapat dihilangkan, maka dapat ditambah air panas, lalu disaring melalui kertas saring bebas abu. Sisa dan kertas saring dipijar dalam krus yang sama. Kemudian filtrat dimasukkan ke dalam krus, lalu diuapkan dan dipijar hingga bobot tetap, lalu ditimbang. Kadar abu dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (Depkes RI, 2000).

c. Kadar Abu Tak Larut Asam

Hasil abu yang diperoleh dari penetapan kadar abu total didihkan dengan 25 ml asam klorida encer P selama 5 menit. Lalu bagian yang tidak larut asam dikumpulkan dan disaring melalui kaca masir atau kertas saring bebas abu. Kemudian dicuci dengan air panas, dilakukan pemijaran hingga bobot tetap dan ditimbang. Kadar abu yang tak larut dalam asam dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (Depkes RI, 2000).

3.7.2 Parameter Spesifik

a. Uji Organoleptik

Panca indera digunakan untuk melakukan uji organoleptik dalam mendeskripsikan bentuk, warna, rasa, dan bau (Depkes RI, 2000).

b. Uji Kadar Sari yang Terlarut dalam Pelarut Air

Sejumlah 5 gram serbuk simplisia dimaserasi selama 24 jam dengan 100 ml air kloroform LP menggunakan labu bersumbat sambil dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam. Lalu disaring dan 20 ml filtrat yang diidapat diuapkan hingga kering dalam cawan yang telah ditara. Residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Kadar dihitung dalam persen senyawa yang larut dalam air, dihitung terhadap ekstrak awal (Depkes RI, 2000).

c. Uji Kadar Sari yang Terlarut dalam Pelarut Etanol

Sejumlah 5 gram serbuk simplisia dimaserasi selama 24 jam dengan 100 ml etanol menggunakan labu bersumbat sambil dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam. Proses penyaringan dilakukan dengan cepat untuk menghindari adanya penguapan etanol, kemudian 20 ml filtrat yang diidapat diuapkan hingga kering dalam cawan yang telah ditara. Residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Kadar dihitung dalam persen senyawa yang larut dalam air, dihitung terhadap ekstrak awal (Depkes RI, 2000).

3.7.3 Identifikasi Golongan Senyawa Kimia

a. Identifikasi alkaloid

Ekstrak kental beberapa mg dilarutkan dengan 10 ml campuran air suling dan HCl 2 N (9:1), dipanaskan selama 2 menit. Selanjutnya disaring dan 1 ml filtrat digunakan sebagai larutan percobaan yang selanjutnya ditambahkan 2 tetes Bouchardat LP. Hasil positif ditandai dengan terbentuk endapan coklat sampai hitam (Depkes RI, 1995).

b. Identifikasi flavonoid

Beberapa mg ekstrak ditambahkan 4 ml etanol 95% hingga ekstrak larut. Larutan uji sebanyak 2 ml ditambahkan 10 tetes HCl pekat, kemudian dipanaskan dan diamati perubahan warna yang terjadi. Apabila terbentuk warna merah intensif menunjukkan adanya flavonoid (Mojab *et al.*, 2003).

c. Identifikasi tanin

Beberapa mg ekstrak kental ditambahkan 15 ml air panas. Kemudian panaskan hingga mendidih selama 5 menit, kemudian filtrat disaring, dijenuhkan dengan Na asetat ditambah FeCl₃ 1% menghasilkan warna biru tinta atau hitam, hal ini menunjukkan adanya tanin galat (Depkes RI, 1995).

d. Identifikasi saponin

Beberapa mg ekstrak ditambahkan 10 ml air panas, didinginkan dan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik, kemudian didiamkan selama 10 menit. Adanya saponin ditandai dengan terbentuk buih yang mantap setinggi 1 hingga 10 cm dan pada penambahan 1 tetes HCl 2N buih tidak hilang (Depkes RI, 1995).

3.8 Kombinasi Ekstrak

Pada penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak metanol daun kopi arabika dan kelopak bunga rosella dalam 3 perbandingan kombinasi yang berbeda. Kombinasi ekstrak dilakukan dengan cara mencampurkan ekstrak daun kopi dan kelopak bunga rosella dengan berbagai berbanding dalam *beaker glass*. Setelah dilakukan kombinasi, hasil campuran kombinasi yang diperoleh dilakukan fraksinasi menggunakan pelarut eter : air (1:1). Lalu akan terbentuk fraksi air dan fraksi eter. Kedua fraksi tersebut diuapkan pelarutnya dengan *water bath* pada temperatur 70°C dan kedua fraksi tersebut dihitung rendemennya dan diuji aktivitas antioksidan terhadap DPPH. Kombinasi selengkapnya dapat dilihat pada tabel berikut ini :

Tabel 3.1 Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Kopi Arabika dan Kelopak Bunga Rosella

Pebandingan ekstrak metanol kopi arabika : kelopak bunga rosella	Berat ekstrak metanol kopi arabika (gram)	Berat ekstrak metanol kelopak rosella
1	1 : 0	5,0
2	2 : 1	6,0
3	1 : 1	4,5
4	1 : 2	3,0
5	0 : 1	-

3.9 Fraksinasi Ekstrak

Fraksinasi ekstrak dilakukan dengan cara menimbang kombinasi ekstrak sebanyak 9 gram dilarutkan dalam eter : air (1:1) dengan jumlah total pelarut sebanyak 150 ml dan diaduk sampai semua ekstrak larut. Selanjutnya campuran dimasukkan ke dalam corong pisah kapasitas 250 ml dan dilakukan pengocokan berulang. Campuran dikocok selama 2-3 menit dan dibiarkan hingga terbentuk dua lapisan yaitu fraksi eter dan fraksi air. Kedua lapisan tersebut dipisahkan lalu setiap fraksi yang diperoleh diuapkan pelarutnya dengan *water bath* pada temperatur 70°C. Kedua fraksi tersebut dihitung rendemennya dan diuji aktivitas antioksidan terhadap DPPH.

3.10 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

3.10.1 Pembuatan Larutan Uji Ekstrak

Ekstrak metanol daun kopi arabika dan kelopak bunga rosella ditimbang sebanyak 25 mg dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml dan 50 ml lalu dilarutkan dengan metanol sampai batas volume sehingga konsentrasi larutan uji ekstrak

diperoleh 1000 ppm dan 2000 ppm. Kedua larutan dipipet dimasukkan ke dalam labu ukur dan ditambahkan metanol sejumlah tertentu sehingga diperoleh konsentrasi larutan ekstrak akhir yang siap di uji dengan berbagai macam konsentrasi.

3.10.2 Pembuatan Larutan Vitamin C

Vitamin C ditimbang sebanyak 25 mg dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml dan dilarutkan dengan metanol teknis sampai batas volume sehingga konsentrasi vitamin C sebesar 1000 ppm. Larutan dipipet, dimasukkan labu ukur ditambahkan metanol teknis sejumlah tertentu sehingga konsentrasi larutan vitamin C akhir yaitu 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm, dan 30 ppm.

3.10.3 Pembuatan Larutan DPPH

Serbuk DPPH ditimbang sebanyak 2 mg, dilarutkan dalam 50 ml metanol teknis sehingga diperoleh konsentrasi 0,1 mM. Larutan ini kemudian disimpan dalam botol gelap dan untuk setiap pengujian dibuat baru.

3.10.4 Penetapan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

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

3.10.5 Optimasi Waktu Inkubasi

Penentuan waktu inkubasi dilakukan dengan cara 0,3 ml dari masing-masing larutan uji ekstrak dan larutan vitamin C ditambahkan 1,2 ml DPPH 0,1 mM lalu diamati absorbansinya pada panjang gelombang 515 nm mulai menit ke-0 sampai menit ke-100 dengan selang waktu 5 menit.

3.10.6 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Larutan Uji Ekstrak, dan Vitamin C

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara 0,3 ml dari masing-masing larutan uji ekstrak dan larutan vitamin C, ditambahkan 1,2 ml DPPH 0,1 mM. Campuran dikocok sampai homogen kemudian larutan uji dan larutan vitamin C diikubasi pada suhu 37°C selama 30 menit untuk vitamin C dan 45 menit untuk larutan uji ekstrak. Selanjutnya diukur serapannya pada panjang gelombang 515 nm.

3.10.7 Perhitungan

Nilai IC₅₀ dihitung berdasarkan presentase peredaman terhadap radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel dengan menggunakan persamaan berikut :

Keterangan :

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

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

Setelah didapatkan persentase peredaman dari masing-masing konsentrasi, dilanjutkan dengan perhitungan secara regresi linier menggunakan persamaan berikut :

$$y = a + bx \dots \dots \dots (3.2)$$

Keterangan :

x = konsentrasi (ppm)

y = persentase peredaman (%)

Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan *Inhibititon Concentration* 50% atau IC₅₀ yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai IC₅₀ didapatkan dari nilai x setelah mengganti y dengan 50.

3.11 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penetapan aktivitas antioksidan dibandingkan antara fraksi air dan fraksi eter ekstrak metanol daun kopi arabika dan kelopak bunga rosella, kombinasi kedua ekstrak dan vitamin C. Selanjutnya dilakukan uji statistik menggunakan *one way anova* dan dilanjutkan dengan *post hoc* (LSD). Perbedaan dianggap bermakna apabila $p\text{-value} \leq 0,05$ dengan tingkat kepercayaan sebesar 95%.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Pada pengujian ekstrak tunggal aktivitas antioksidan terbesar yaitu fraksi air ekstrak metanol daun kopi Arabika dengan nilai IC_{50} 26,2 ppm disusul fraksi eter ekstrak metanol kelopak bunga rosella, fraksi eter ekstrak metanol kelopak bunga rosella, dan fraksi air ekstrak metanol kelopak bunga rosella dengan nilai IC_{50} berturut-turut 62,4 ppm; 73,3 ppm; dan 230 ppm.
2. Pada pengujian kombinasi ekstrak aktivitas anitoksidan terbesar yaitu fraksi air kombinasi kopi : rosella (2 : 1) dengan nilai IC_{50} 57,170 ppm disusul oleh fraksi air kombinasi kopi : rosella (1 : 1), fraksi eter kombinasi kopi : rosella (1 : 2), fraksi eter kombinasi kopi : rosella (1 : 1), fraksi eter kombinasi kopi : rosella (2 : 1), dan fraksi air kombinasi kopi : rosella (1 : 2) dengan nilai IC_{50} berturut-turut 62,4 ppm; 65,6 ppm; 69,6 ppm; 71,1 ppm; dan 83,3 ppm.
3. Terdapat perbedaan yang bermakna antara nilai aktivitas antioksidan (IC_{50}) fraksi air dan fraksi eter ekstrak metanol daun kopi Arabika (*Coffea arabica*), kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dan kombinasi keduanya pada berbagai perbandingan dengan nilai signifikansi sebesar $\leq 0,05$ dengan taraf kepercayaan 95%.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut pengujian aktivitas antioksidan secara *in vivo* ekstrak metanol daun kopi Arabika , esktrak metanol kelopak bunga rosella serta kombinasi keduanya.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang pengembangan bentuk sediaan farmasi dengan menggunakan bahan awal ekstrak metanol daun kopi Arabika dengan kelopak bunga rosella.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2008. *Acuan Sediaan Herbal*, Vol. 4, Edisi 1, Jakarta, 7.
- Blunden, G., Ali, H.B., dan Wabel, A.N. 2005. Phytochemical, Pharmacological and Toxicological Aspect of *Hibiscus sabdariffa* L. *Phytoter Res* 19 : 369 – 375
- Brewer, M.S. 2011. Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10 : 221-247.
- Dehpour, A.A., Ebrahimzadeh, M.A., Fazel, N.S., dan Mohammad, N.S. 2009. Antioxidant activity of methanol extract of ferula assafoetida and its essential oil composition. *Grasas Aceites*, 60(4), 405-412.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Materia Medika Indonesia* Jilid VI. Jakarta: Direktorat jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Cetakan I. Jakarta : Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan , Direktorat Pengawas Obat Tradisional.
- Duke, J.A, duCellier, J., Mary J.B., dan K. Duke, P. 2002. *Handbook of Medicinal Herbs, Second Edition*. United States of America : CRC Press LLC
- Esselen, W.B. dan Sammy, G.M. 1975. Roselle : A Natural Red Colorant for Food. *Food Product and Development* 7 : 80 – 82
- Fauzi, M. 2006. Analisa Pangan dan Hasil Pertanian. Handout.Jember: FTP UNEJ.
- Ganmaa, D., Willett, W.C., Li, T.Y., Feskanich, D., van Dam, R.M., Lopez-Garcia, E., Hunter, D.J., dan Holmes, M.D. 2008. Coffee, tea, caffeine and risk of breast cancer: A 22-year follow-up. *International Journal of Cancer*, 122:9, 2071-2076
- Ghosal, M. dan Mandal, P. 2012. *Phytochemical Screening And Antioxidant Activities Of Two Selected 'Bihi' Fruits Used As Vegetables In Darjeeling Himalaya*. International Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences. ISSN : 0975-1491. 4(2).
- Green, R.J. 2004. *Antioxidant Activity of Peanut Plant Tissues*. Thesis. North Caroline State University: Department of Food Science, Raleigh.

- Gunalan, G., Myla, N., dan Balabhaskar, R. 2012. In vitro antioxidant analysis of selected coffee bean varieties. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 4(4):2126-2132.
- Gurav, S., N. Deshkar., V. Gulkari., N. Duragkar., dan A. Patil. 2007. Free Radical Scavengeng Activity of *Polygala Chinensis* Linn. *Pharmacologyline*, 2, 245-253.
- Halliwell, B. 2002. *Food-derived antioxidants: how to evaluate their importance in food and in vivo*. Singapore: National University of Singapore.
- Handa, S.S., Khanuja, S.P.S., Longo G., dan Rakes D.D. 2008. Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. Trieste: *International Centre for Sciences and High Technology*, 21-25.
- Harmita. 2006. *Buku Ajar Analisis Fisikokimia*. Depok : Departemen Farmasi Universitas Indonesia. Hal 15-24
- Higdon, J.V., dan Frei, B. 2006. Coffee health: a review of recent human research. Critical Review. *Food Science and Nutrition*. 46: 101-123.
- Jackman, R. L. dan J. L. Smith.1996. Anthocyanins and Betalains. Di dalam Natural Food Colorants. Hendry, G. A. F. dan J. D. Houghton (ed.). 1996. 2nd ed. Blackie Academic & Proffesional. London.
- Jiang-nan Wu, Suzanne C. Ho, Chun Zhou, Wen-hua Ling, Wei-qing Chen, Cui-ling Wang, dan Yu-ming Chen. 2009. Coffee consumption and risk of coronary heartdiseases: a meta-analysis of 21 prospective cohort studies. *Internal Journal of Cardiology*, 137, 216–225.
- Jones, S.B dan Luchsinger, A.E. 1987. *Plant Systematics, Second Edition*. New York : McGraw – Hill Book Company. 477 – 481
- Jun, M., Fu, H.Y., Hong, J., Wan., X., Yang, C.S., dan Ho, C.T. 2006. Comparison of antioxidant activities of isoflavones from kudzu root (*Pueraria lobata* ohwi). *The Journal of Food Science*. Institute of Technologist. 68:2117-2122.
- Khare, C.P. 2007. *Indian Medicinal Plants : An Illustrated Dictionary*. Springer. 311
- Khopkar, S.M. 2008. *Dasar-dasar kimia analitik*. Erlangga : Jakarta

- Kikuzaki, H. dan Nakatani, N. 1993. Antioxidant Effects of Some Ginger Constituents. *Journal of Food Science*, **58** (6) : 1407-1410.
- Klatsky, A.L., Armstrong, M.A., dan Friedman, G.D. 1993. Coffee, tea and mortality. *Annals of Epidemiology*, 3:4. 375 – 381.
- Koleva, I.I., van Beek, T.A., Linssen, J.P.H., de Groot, A., dan Evstatieva, L.N. 2002. Screening of Plant Extracts For Antioxidant Activity: A Comparative Study on Three Testing Methods. *Phytochemical Analysis*, 13, 8-17.
- Lawrence, G.H.M. 1963. *Taxonomy of Vascular Plants*. New York: The Macmillan Company, 712-713.
- Leitzmann MF, Stampfer MJ, Willett WC, Spiegelman D, Colditz GA, dan Giovannuci EL. 2002. Coffee intake is associated with lower risk of symptomatic gallstone disease in men. *The Journal of the American Medical Association*, 281(22): 2106-2111.
- Lelyana, R. 2008. *Pengaruh kopi terhadap kadar asam urat*. Tesis. Program Pasca Sarjana Magister Ilmu Biomedik. Undip. Semarang.
- Leong L.P., dan Shui, G. 2002. An Investigation of Antioxidant Capacity of Fruits in Singapore Markets, *Food Chemistry* **76** : 69-75.
- Levine, M., Dhariwal, K. R., Welch, R. W., Wang, Y., dan Park, J. B. 1995. Determination of Optimal Ascorbic Acid Requirements in Humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **62** : 1347S-1256S.
- Loopstra-Masters, R.C., Liese, A.D., Haffner, S.M., Wagenknecht, L.E., dan Hanley, A.J. 2011. Associations between the intake of caffeinated and decaffeinated coffee and measures of insulin sensitivity and beta cell function. *Diabetologia*, 54. 320-328.
- Maia, L., dan de Mendonca, A. 2002. Does caffeine intake protect from Alzheimer's disease? *European Journal of Neurology*. 9:4.377-382.
- Mardiah, dkk. 2009. Budidaya dan Pengolahan Rosella Si Merah Segudang Manfaat. Jakarta : PT Agromidia Pustaka
- Markham, K. R. 1988. Cara Mengidentifikasi Flavonoid. Terjemahan Kosasi. Padmawinata.: ITB Press. Bandung
- Mojab, F., Kamalinejad, M., Ghaderi, N., dan Vahidipour, H. R. 2003. *Phytochemical Screening Of Some Species Of Iranian Plants*. Iranian Journal Of Pharmaceutical Research. Pp. 77-82.

- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Journal of Science and Technology*, **26** (2) : 211-219.
- Mostofsky, E., Schlaug, G., Mukamal, K.J., Rosamond, W.D., dan Mittleman, M.A. 2010. Coffee and acute ischemic stroke onset: the stroke and onset study. *Stroke*, 39. 1583-1588.
- Muhilal. 1991. Teori radikal bebas dalam gizi dan kedokteran. *Cermin Dunia Kedokteran*, **73** : 9-11.
- Nugroho, B. W., Dadang, dan Prijono, D. 1999. Pengembangan dan Pemanfaatan Insektisida Alami. Pusat Kajian Pengendalian Hama Terpadu, IPB. Bogor.
- O'Neil, M.J., Smith, S.A., Heckelman, P.E., Obenchain, J.R., Jr., Gallipeau, J.A.R., D'Arecca, M.A., & Budavari, S. (2001). *The merck index an encyclopedia of chemicals, drugs, and biological*. 13th edition. Whitehouse Station, NJ: Merck
- Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, M., Del Rio, D., Salvatore, S., Bianchi, M., dan Brighenti, B. 2003. Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oil consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *Journal of Nutrition*, 133. 2812-2819.
- Percival, M. 1998. Antioxidants. *Clinical Nutrition Insights*, **31** : 1-4.
- Pietta P-G., 1999. Flavonoids as Antioxidants, Reviews, *J. Nat. Prod.*, **63**, 1035-1042.
- Prakash, A., Rigelhof, F., dan Miller, E. 2001. Antioxidant Activity. *Medallion Laboratories : Analithycal Progress*, **19** (2) : 1 – 4.
- Prylbylski, R., Lee, Y., dan Eskin, N. 2001. Antioxidant and Radical Scavenging Activities of Buckwheat Seed Components in Pokorny J, Yanishlieva, Gordon W. (eds). *Antioxidants in Food*. England : Woodhead Publishing Ltd.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., dan Paganga, G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20, 933 – 956.
- Ridwansyah, 2003. Pengolahan Kopi. Jurusan Teknologi Pertanian. Fakultas Pertanian, Universitas Sumatra Utara. ©2003 Digitized by USU digital library.
- Saifudin, A., Rahayu, dan Teruna. 2011. Standardisasi Bahan Obat Alam. Graha Ilmu : Yogyakarta.

- Sarker, D., Latif Z., Gray.I., Alexander. 2006. *Natural Product Isolation*. New Jersey: Humana Press.
- Sarma, A. D., Mallick, A. R., dan Ghosh, A. 2010. *Free Radicals and Their Role in Different Clinical Condition : An Overview*. *International Journal of Pharma Science and Research*, 1(3), 185-192.
- Soltani, M. dan Baharara, J. 2014. Antioxidant and Antiprolifereative Capacity of Dichloromethane Extract of *Holoturia leucospilota* sea cucumber. *International Journal of Cellular & Molecular Biotechnology*, 2014 :1-9.
- Sudarmi. 1997. *Kafein dalam Pandangan Farmasi*. Medan: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Sumatera Utara.
- Tambayong, J. 2000. *Patofisiologi untuk Keperawatan*. Jakarta : EGC.
- Thomas S.C. Li. 2006. *Taiwanese Native Medicinal Plants : Phytopharmacology and Therapeutic Values*. New York : Taylor and Francis Group
- Tice, R. 1998. *Chlorogenic Acid [327-97-9] and Caffeic Acid [331-39-5] : Review of Toxicological Literature*. North Carolina : ILS.
- Tursiman, Ardiningsih, P. , Nofiani, R. 2012. Total Fenol Fraksi Etil Asetat dari Buah Asam Kandis (*Garcinia dioica* Blume). *JKK*, 1 (1) : 45-48.
- Wijaya A., 1996. Radikal Bebas dan Parameter Status Antioksidan, Forum Diagnosticum, *Prodia Diagnostic Educational Services*, No. 1 : 1-12
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami & Radikal Bebas: Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan*. Yogyakarta : Penerbit Kanisius.
- Yazid,. E,. 2005. Kimia Fisika untuk Paramedis. Andi. Yogyakarta.
- Yulianto, D. 2009. Inhibisi Xantin Oksidase Secara In Vitro oleh Ekstrak Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dan Ciplukan (*Physalis angulata*). Bogor : Departemen Kimia Institut Pertanian Bogor

LAMPIRAN

Lampiran A. Perhitungan % Randemen Ekstrak

$$\% \text{ Randemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak}}{\text{Bobot simplisia}} \times 100\%$$

$$\text{Ekstrak metanol Daun Kopi Arabika} = \frac{12,93 \text{ g}}{100,0 \text{ g}} \times 100 \% = 12,93 \%$$

$$\text{Ekstrak metanol Kelopak Bunga Rosella} = \frac{29,63 \text{ g}}{250,0 \text{ g}} \times 100 \% = 11,85 \%$$

Lampiran B. Hasil Uji Parameter Non Spesifik

B1. Perhitungan Uji Kadar Air

Sampel	Jam ke 1	Jam ke 2	Jam ke 3	Jam ke 4	Jam ke 5
Rosela 1	48,80	48,66	48,66	48,66	48,66
Rosela 2	53,36	53,23	53,20	53,20	53,20
Rosela 3	49,36	49,24	49,21	49,21	49,21
Kopi 1	60,27	60,24	60,16	60,16	60,16
Kopi 2	39,20	39,14	39,13	39,13	39,13
Kopi 3	42,15	42,07	42,07	42,07	42,07

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{W_2 - W_1}{W_2} \times 100\%$$

Keterangan :

W₂ : Massa simplisia sebelum konstan saat pengeringan
 W₁ : Massa simplisia sesudah konstan saat pengeringan

Daun Kopi Arabika

Replikasi 1

$$\frac{60,27 - 60,16}{60,27} \times 100\% = 0,1710\%$$

Replikasi 2

$$\frac{39,20 - 39,13}{39,20} \times 100\% = 0,1661\%$$

Replikasi 3

$$\frac{42,15-42,07}{42,15} \times 100\% = 0,1700\%$$

$$\text{Rata-rata \% Kadar Air} = \frac{0,171+0,166+0,170}{3} = 0,1691 \%$$

$$SD = \sqrt{\frac{(0,171-0,169)^2+(0,166-0,169)^2+(0,170-0,169)^2}{2}} = 0,00264$$

$$CV = \frac{0,002}{0,169} \times 100\% = 1,56\%$$

Kelopak Bunga Rosella**Replikasi 1**

$$\frac{48,80-48,66}{48,80} \times 100\% = 0,2891\%$$

Replikasi 2

$$\frac{53,360-53,201}{53,360} \times 100\% = 0,2981\%$$

Replikasi 3

$$\frac{49,36-49,21}{49,36} \times 100\% = 0,2921\%$$

$$\text{Rata-rata \% Kadar Air} = \frac{0,2891+0,2981+0,2921}{3} = 0,2932 \%$$

$$SD = \sqrt{\frac{(0,289-0,293)^2+(0,298-0,293)^2+(0,292-0,293)^2}{2}} = 0,00458$$

$$CV = \frac{0,0048}{0,2932} \times 100\% = 1,561\%$$

B2. Perhitungan Uji Kadar Abu Total

$$\% \text{ Kadar Abu} = \frac{\text{berat abu yang dihasilkan}}{\text{berat sampel yang ditimbang}} \times 100 \%$$

Daun Kopi Arabika**Replikasi 1 :**

Berat Cawan = 36, 66634 gram

Berat Cawan + Sampel sebelum dipijar = 38, 2296 gram

Berat Cawan + Sampel setelah dipijar = 36, 7905 gram

Berat Sampel = 1,5633 gram

Berat Abu = 0, 1242 gram

$$\text{Kadar Abu} : \frac{0,1242}{1,5633} \times 100\% = 7,945\%$$

Replikasi 2 :

Berat Cawan = 36, 6694 gram

Berat Cawan + Sampel sebelum dipijar = 38, 2068gram

Berat Cawan + Sampel setelah dipijar = 36, 7917 gram

Berat Sampel = 1, 5375 gram

Berat Abu = 0, 1220 gram

$$\text{Kadar Abu} : \frac{0,1220}{1,5375} \times 100\% = 7,934\%$$

Replikasi 3 :

Berat Cawan = 36, 6722 gram

Berat Cawan + Sampel sebelum dipijar = 38, 2688 gram

Berat Cawan + Sampel setelah dipijar = 36, 7960 gram

Berat Sampel = 1, 5966 gram

Berat Abu = 0, 1238 gram

$$\text{Kadar Abu} : \frac{0,1238}{1,5966} \times 100\% = 7,753\%$$

$$\begin{aligned}\text{Rata-rata} &= \frac{7,945+7,934+7,753}{3} \\ &= \frac{23,632}{3} \\ &= 7,877 \%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{SD} &= \sqrt{\frac{(7,945-7,877)^2+(7,934-7,877)^2+(7,753-7,877)^2}{3-1}} \\ &= \sqrt{\frac{0,004624+0,003249+0,015376}{2}}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &= 0,108 \\
 \text{CV} &= \frac{0,108}{7,877} \times 100\% \\
 &= 1,37\%
 \end{aligned}$$

Kelopak Bunga Rosella

Replikasi 1 :

Berat Cawan = 35, 3283 gram
 Berat Cawan + Sampel sebelum dipijar = 36, 9028 gram
 Berat Cawan + Sampel setelah dipijar = 35, 4428 gram
 Berat Sampel = 1,5745 gram
 Berat Abu = 0, 1145 gram

$$\text{Kadar Abu} = \frac{0,1145}{1,5745} \times 100\% = 7,272\%$$

Replikasi 2 :

Berat Cawan = 35, 3294 gram
 Berat Cawan + Sampel sebelum dipijar = 36, 8398 gram
 Berat Cawan + Sampel setelah dipijar = 35, 4359 gram
 Berat Sampel = 1,5104 gram
 Berat Abu = 0, 1065 gram

$$\text{Kadar Abu} = \frac{0,1065}{1,5104} \times 100\% = 7,051\%$$

Replikasi 3 :

Berat Cawan = 35, 3313 gram
 Berat Cawan + Sampel sebelum dipijar = 36, 7671 gram
 Berat Cawan + Sampel setelah dipijar = 35, 4334 gram
 Berat Sampel = 1, 4358 gram
 Berat Abu = 0, 1021 gram

$$\text{Kadar Abu} = \frac{0,1021}{1,4358} \times 100\% = 7,111\%$$

$$\begin{aligned}\text{Rata-rata} &= \frac{7,272 + 7,051 + 7,111}{3} \\ &= \frac{21,434}{3} \\ &= 7,145\%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{SD} &= \sqrt{\frac{(7,272 - 7,145)^2 + (7,051 - 7,145)^2 + (7,111 - 7,145)^2}{3-1}} \\ &= \sqrt{\frac{0,0161 + 0,008836 + 0,001156}{2}} \\ &= 0,114 \\ \text{CV} &= \frac{0,114}{7,145} \times 100\% \\ &= 1,59\%\end{aligned}$$

B3. Perhitungan Uji Kadar Abu Tak Larut dalam Asam

Berat abu tak larut asam = (berat kertas saring+abu setelah konstan) – berat kertas saring

Daun Kopi Arabika

Replikasi 1

$$0,5006 - 0,4887 = 0,0119$$

$$\text{Kadar Abu} = \frac{0,0119}{1,5633} \times 100\% = 0,761\%$$

Replikasi 2

$$0,5030 - 0,4911 = 0,0119$$

$$\text{Kadar Abu} = \frac{0,0119}{1,5375} \times 100\% = 0,773\%$$

Replikasi 3

$$0,4985 - 0,4863 = 0,0122$$

$$\text{Kadar Abu} = \frac{0,0122}{1,5966} \times 100\% = 0,764\%$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{0,761+0,773+0,764}{3} = 0,766 \%$$

$$\text{SD} = \sqrt{\frac{(0,761-0,766)^2+(0,773-0,766)^2+(0,764-0,766)^2}{2}}$$

$$= \sqrt{\frac{0,0000250+0,000049+0,000004}{2}} = 0,00624$$

$$\begin{aligned}\text{CV} &= \frac{0,00624}{0,766} \times 100\% \\ &= 0,815\%\end{aligned}$$

Kelopak Bunga Rosella

Replikasi 1

$$0,4744 \text{ gram} - 0,4577 \text{ gram} = 0,0167$$

$$\text{Kadar Abu} = \frac{0,0167}{1,5745} \times 100\% = 1,061\%$$

Replikasi 2

$$0,4738 \text{ gram} - 0,4580 \text{ gram} = 0,0158$$

$$\text{Kadar Abu} = \frac{0,0142}{1,5104} \times 100\% = 1,046\%$$

Replikasi 3

$$0,4861 \text{ gram} - 0,4706 \text{ gram} = 0,0155$$

$$\text{Kadar Abu} = \frac{0,0155}{1,4358} \times 100\% = 1,079\%$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{1,061+1,046+1,079}{3} = 1,062 \%$$

$$\text{SD} = \sqrt{\frac{(1,061-1,062)^2+(1,046-1,062)^2+(1,079-1,062)^2}{2}}$$

$$\begin{aligned}&= \sqrt{\frac{0,000001+0,000256+0,000289}{2}} \\&= 0,0165\end{aligned}$$

$$\text{CV} = \frac{0,0165}{1,062} \times 100\% = 1,554\%$$

Lampiran C. Hasil Uji Parameter Spesifik

C1. Hasil Uji Organoleptis

Kombinasi ekstrak metanol daun kopi arabika : kelopak bunga rosella	Berat ekstrak metanol daun kopi arabika	Berat ekstrak metanol kelopak bunga rosella	Hasil Pengujian Organoleptis		
			Bentuk	Warna	Bau
1 : 0	1,0	-	Kental	Coklat Keruh	Khas Daun Kopi Arabika
2 : 1	2,0	1,0	Kental	Coklat	Khas Daun Kopi Arabika
1 : 1	1,0	1,0	Kental	Merah	Khas Rosella
1 : 2	1,0	2,0	Kental	Merah	Khas Rosella
0 : 1	-	1,0	Kental	Sangat Merah	Khas Rosella

C2. Perhitungan Uji Kadar Sari yang Larut dalam Pelarut Air

$$\% \text{ Kadar sari larut dalam air} = \frac{\text{berat sari yang diperoleh}}{\text{berat simplisia}} \times 100 \%$$

Daun Kopi Arabika

Replikasi 1

Berat simplisia = 5,0269 gram

$$\begin{aligned}\text{Berat sari larut air} &= (\text{berat cawan} + \text{sari}) - \text{berat cawan} \\ &= 49,1635 - 48,3775 \\ &= 0,786 \text{ gram}\end{aligned}$$

$$\% \text{ Kadar sari} = \frac{0,786}{5,0269} \times 100\% = 15,636\%$$

Replikasi 2

Berat simplisia = 5,0245

$$\begin{aligned}\text{Berat sari larut air} &= (\text{berat cawan} + \text{sari}) - \text{berat cawan} \\ &= 49,1869 - 48,3709 \\ &= 0,798 \text{ gram}\end{aligned}$$

$$\% \text{ Kadar sari} = \frac{0,798}{5,0245} \times 100\% = 15,882\%$$

Replikasi 3

Berat simplisia = 5,0283 gram

$$\begin{aligned}\text{Berat sari larut air} &= (\text{berat cawan} + \text{sari}) - \text{berat cawan} \\ &= 53,1654 - 52,3734 \\ &= 0,783 \text{ gram}\end{aligned}$$

$$\% \text{ Kadar sari} = \frac{0,783}{5,0283} \times 100\% = 15,572\%$$

$$\begin{aligned}\text{Rata-rata} &= \frac{15,636 + 15,882 + 15,572}{3} \\ &= 15,697 \%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{SD} &= \sqrt{\frac{(15,636 - 15,697)^2 + (15,882 - 15,697)^2 + (15,572 - 15,697)^2}{3-1}} \\ &= \sqrt{\frac{0,053571}{2}} \\ &= 0,164\end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{CV} &= \frac{0,164}{15,697} \times 100\% \\ &= 1,045 \% \end{aligned}$$

Kelopak Bunga Rosella

Replikasi 1

Berat simplisia = 5,0139 gram

$$\begin{aligned} \text{Berat sari larut air} &= (\text{berat cawan} + \text{sari}) - \text{berat cawan} \\ &= 61,2963 - 59,2781 \\ &= 2,0155 \text{ gram} \end{aligned}$$

$$\% \text{ Kadar sari} = \frac{2,0155}{5,0139} \times 100\% = 40,198\%$$

Replikasi 2

Berat simplisia = 5,0381 gram

$$\begin{aligned} \text{Berat sari larut air} &= (\text{berat cawan} + \text{sari}) - \text{berat cawan} \\ &= 40,2409 - 38,2039 \\ &= 2,037 \text{ gram} \end{aligned}$$

$$\% \text{ Kadar sari} = \frac{2,037}{5,0381} \times 100\% = 40,432\%$$

Replikasi 3

Berat simplisia = 5,0376 gram

$$\begin{aligned} \text{Berat sari larut air} &= (\text{berat cawan} + \text{sari}) - \text{berat cawan} \\ &= 49,8741 - 47,8131 \\ &= 2,061 \text{ gram} \end{aligned}$$

$$\% \text{ Kadar sari} = \frac{2,061}{5,0376} \times 100\% = 40,912\%$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata} &= \frac{40,198 + 40,432 + 40,912}{3} \\ &= 40,514 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{SD} &= \sqrt{\frac{(40,198 - 40,514)^2 + (40,432 - 40,514)^2 + (40,912 - 40,514)^2}{3-1}} \\ &= \sqrt{\frac{0,099856 + 0,006724 + 0,158404}{2}} \\ &= 0,364 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{CV} &= \frac{0,364}{40,514} \times 100\% \\ &= 0,898\% \end{aligned}$$

C3. Perhitungan Uji Kadar Sari yang Larut dalam Pelarut Etanol

$$\% \text{ Kadar sari larut dalam etanol} = \frac{\text{berat sari yang diperoleh}}{\text{berat simplisia}} \times 100 \%$$

Daun Kopi Arabika

Replikasi 1

Berat simplisia = 5,0094 gram

Berat sari larut etanol = (berat cawan + sari) – berat cawan

$$\begin{aligned} &= 52,4508 - 52,3521 \\ &= 0,0987 \text{ gram} \end{aligned}$$

$$\% \text{ Kadar sari} = \frac{0,0987}{5,0094} \times 100\% = 1,970\%$$

Replikasi 2

Berat simplisia = 5,0051 gram

Berat sari larut etanol = (berat cawan + sari) – berat cawan

$$\begin{aligned} &= 47,8884 - 47,7925 \\ &= 0,0959 \text{ gram} \end{aligned}$$

$$\% \text{ Kadar sari} = \frac{0,0959}{5,0051} \times 100\% = 1,917\%$$

Replikasi 3

Berat simplisia = 5,0022 gram

Berat sari larut etanol = (berat cawan + sari) – berat cawan

$$\begin{aligned} &= 38,2773 - 38,1815 \\ &= 0,0955 \text{ gram} \end{aligned}$$

$$\% \text{ Kadar sari} = \frac{0,0955}{5,0022} \times 100\% = 1,910\%$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata} &= \frac{1,970 + 1,917 + 1,910}{3} \\ &= 1,932 \% \end{aligned}$$

$$SD = \frac{\sqrt{(1,970 - 1,932)^2 + (1,917 - 1,932)^2 + (1,910 - 1,932)^2}}{3-1}$$

$$= \sqrt{\frac{0,001444 + 0,000225 + 0,000484}{2}}$$

$$= 0,0328$$

$$CV = \frac{0,0328}{1,932} \times 100\%$$

$$= 1,698\%$$

Kelopak Bunga Rosella

Replikasi 1

Berat simplisia = 5,0006

Berat sari larut etanol = (berat cawan + sari) – berat cawan

$$= 59,5792 - 59,2506$$

$$= 0,3286 \text{ gram}$$

$$\% \text{ Kadar sari} = \frac{0,3286}{5,0006} \times 100\% = 6,571\%$$

Replikasi 2

Berat simplisia = 5,0027

Berat sari larut etanol = (berat cawan + sari) – berat cawan

$$= 41,4794 - 41,1471$$

$$= 0,3323 \text{ gram}$$

$$\% \text{ Kadar sari} = \frac{0,3323}{5,0027} \times 100\% = 6,642\%$$

Replikasi 3

Berat simplisia = 5,0045

Berat sari larut etanol = (berat cawan + sari) – berta cawan

$$= 48,6931 - 48,3582$$

$$= 0,3349 \text{ gram}$$

$$\text{Kadar sari} = \frac{0,3349}{5,0045} \times 100\% = 6,692\%$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{6,571 + 6,642 + 6,692}{3}$$

$$= 6,635 \%$$

$$\text{SD} = \sqrt{\frac{(6,571 - 6,635)^2 + (6,642 - 6,635)^2 + (6,692 - 6,635)^2}{3-1}}$$

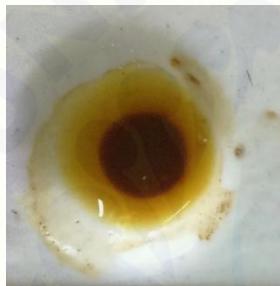
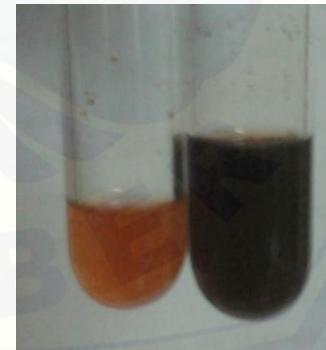
$$= \sqrt{\frac{0,004096 + 0,000049 + 0,003249}{2}}$$

$$= 0,061$$

$$\text{CV} = \frac{0,061}{6,635} \times 100\%$$

$$= 0,916\%$$

Lampiran D. Identifikasi Golongan Senyawa Kimia

Senyawa	Hasil	Kopi Arabika	Kelopak Bunga Rosella	Kontrol Positif
Alkaloid	Hasil positif ditandai dengan terbentuknya endapan cokelat sampai hitam setelah penambahan reagen Bouchardat	Positif (+) 	Negatif (-) 	 (<i>Piper nigrum</i>)
Flavonoid	Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna merah intensif setelah penambahan serbuk seng dan HCl	Positif (+) 	Positif (+) 	 (<i>Canarium indicum</i>)

Tanin	Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna biru tinta atau hitam setelah penambahan FeCl_3	Positif (+) 	Negatif (-) 	 (Camellia sinensis)
Saponin	Hasil positif ditandai dengan terbentuknya buih setinggi 1-10 cm dan dengan penambahan 1 tetes HCl 2N buih tidak hilang setelah pengocokan dan penambahan HCl 2N	Positif (+) 	Positif (+) 	 (Canarium indicum)

Lampiran E. Perhitungan % Randemen Ekstrak Hasil Fraksinasi

$$\% \text{ Randemen Ekstrak} = \frac{\text{berat fraksi yang dihasilkan}}{\text{berat ekstrak yang digunakan}} \times 100 \%$$

Daun Kopi Arabika

Fraksi Eter

Berat Cawan	= 12,4367 gram
Berat Cawan + Fraksi Eter	= 13,4762 gram
Fraksi Eter	= 1,0395 gram
% Randemen	= $\frac{1,0395}{5} \times 100 \%$
	= 20,79 %

Fraksi Air

Berat Cawan	= 12,7864 gram
Berat Cawan + Fraksi Air	= 14,7541 gram
Fraksi Air	= 1,9677 gram
% Randemen	= $\frac{1,9677}{5} \times 100 \%$
	= 39,354 %

Kelopak Bunga Rosella

Fraksi Eter

Berat Cawan	= 12,0432 gram
Berat Cawan + Fraksi Eter	= 16,7563 gram
Fraksi Eter	= 4,7131 gram
% Randemen	= $\frac{4,7131}{9} \times 100 \%$
	= 52,3677 %

Fraksi Air

Berat Cawan	= 12,7864 gram
Berat Cawan + Fraksi Air	= 14,7141 gram
Fraksi Air	= 2,9277 gram

$$\begin{aligned}\% \text{ Randemen} &= \frac{2,9277}{9} \times 100 \% \\ &= 32,53 \%\end{aligned}$$

Kombinasi Kelopak Bunga Rosella : Daun Kopi Arabika (1 : 2)

Fraksi Eter

$$\begin{aligned}\text{Berat Cawan} &= 12,3765 \text{ gram} \\ \text{Berat Cawan + Fraksi Eter} &= 14,7896 \text{ gram} \\ \text{Fraksi Eter} &= 2,4131 \text{ gram} \\ \% \text{ Randemen} &= \frac{2,4131}{9} \times 100 \% = 26,8122 \%\end{aligned}$$

Fraksi Air

$$\begin{aligned}\text{Berat Cawan} &= 12,1345 \text{ gram} \\ \text{Berat Cawan + Fraksi Air} &= 15,7867 \text{ gram} \\ \text{Fraksi Air} &= 3,6522 \text{ gram} \\ \% \text{ Randemen} &= \frac{3,652}{9} \times 100 \% \\ &= 40,58 \%\end{aligned}$$

Kombinasi Kelopak Bunga Rosella : Daun Kopi Arabika (1 : 1)

Fraksi Eter

$$\begin{aligned}\text{Berat Cawan} &= 10,4590 \text{ gram} \\ \text{Berat Cawan + Fraksi Eter} &= 12,1034 \text{ gram} \\ \text{Fraksi Eter} &= 1,6444 \text{ gram} \\ \% \text{ Randemen} &= \frac{1,6444}{9} \times 100 \% \\ &= 18,2711 \%\end{aligned}$$

Fraksi Air

$$\begin{aligned}\text{Berat Cawan} &= 12,7864 \text{ gram} \\ \text{Berat Cawan + Fraksi Air} &= 15,4365 \text{ gram} \\ \text{Fraksi Air} &= 2,6501 \text{ gram} \\ \% \text{ Randemen} &= \frac{2,6501}{9} \times 100 \% \\ &= 29,4455 \%\end{aligned}$$

Kombinasi Kelopak Bunga Rosella : Daun Kopi Arabika (2 : 1)

Fraksi Eter

$$\begin{aligned}
 \text{Berat Cawan} &= 12,9432 \text{ gram} \\
 \text{Berat Cawan + Fraksi Eter} &= 14,5678 \text{ gram ml} \\
 \text{Fraksi Eter} &= 1,6246 \text{ gram} \\
 \% \text{ Randemen} &= \frac{1,6246}{9} \times 100 \% \\
 &= 18,0511 %
 \end{aligned}$$

Fraksi Air

$$\begin{aligned}
 \text{Berat Cawan} &= 11,6021 \text{ gram} \\
 \text{Berat Cawan + Fraksi Air} &= 15,7098 \text{ gram} \\
 \text{Fraksi Air} &= 4,1077 \text{ gram} \\
 \% \text{ Randemen} &= \frac{4,1077}{9} \times 100 \% \\
 &= 45,6411 %
 \end{aligned}$$

Lampiran F. Perhitungan Pembuatan Larutan Uji Ekstrak**Fraksi Air Ekstrak Metanol Daun Kopi Arabika****Replikasi 1 dan 2**

Larutan induk

$$\begin{aligned}
 \frac{25 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} &= 1000 \text{ ppm} \rightarrow \frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 300 \text{ ppm} \\
 \frac{50 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} &= 2000 \text{ ppm} \rightarrow \frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2000 \text{ ppm} = 200 \text{ ppm}
 \end{aligned}$$

Pengenceran

$$\begin{aligned}
 \frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 200 \text{ ppm} &= 20 \text{ ppm} \\
 \frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 200 \text{ ppm} &= 40 \text{ ppm} \\
 \frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 200 \text{ ppm} &= 60 \text{ ppm} \\
 \frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 300 \text{ ppm} &= 90 \text{ ppm} \\
 \frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 300 \text{ ppm} &= 150 \text{ ppm}
 \end{aligned}$$

Replikasi 3

Larutan Induk

$$\frac{25,1 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 1004 \text{ ppm} \rightarrow \frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1004 \text{ ppm} = 301,2 \text{ ppm}$$

$$\frac{50 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2000 \text{ ppm} \rightarrow \frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2000 \text{ ppm} = 200 \text{ ppm}$$

Pengenceran

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 200 \text{ ppm} = 20 \text{ ppm}$$

$$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 200 \text{ ppm} = 40 \text{ ppm}$$

$$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 200 \text{ ppm} = 60 \text{ ppm}$$

$$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 301,2 \text{ ppm} = 90,36 \text{ ppm}$$

$$\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 301,2 \text{ ppm} = 150,6 \text{ ppm}$$

Fraksi Air Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella**Replikasi 1 dan 2**

Larutan Induk

$$\frac{135 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 5400 \text{ ppm}$$

$$\frac{150 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 6000 \text{ ppm}$$

Pengenceran

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 6000 \text{ ppm} = 600 \text{ ppm}$$

$$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 6000 \text{ ppm} = 1200 \text{ ppm}$$

$$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 6000 \text{ ppm} = 1800 \text{ ppm}$$

$$\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1800 \text{ ppm} = 900 \text{ ppm}$$

$$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 5400 \text{ ppm} = 1620 \text{ ppm}$$

$$\frac{4 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 5400 \text{ ppm} = 2160 \text{ ppm}$$

Replikasi 3

Larutan Induk

$$\frac{134,9 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 5396 \text{ ppm}$$

$$\frac{150 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 6000 \text{ ppm}$$

Pengenceran

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 6000 \text{ ppm} = 600 \text{ ppm}$$

$$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 6000 \text{ ppm} = 1200 \text{ ppm}$$

$$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 6000 \text{ ppm} = 1800 \text{ ppm}$$

$$\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1800 \text{ ppm} = 900 \text{ ppm}$$

$$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 5396 \text{ ppm} = 1618,8 \text{ ppm}$$

$$\frac{4 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 5396 \text{ ppm} = 2158,4 \text{ ppm}$$

Fraksi Eter Ekstrak Metanol Daun Kopi Arabika**Replikasi 1**

Larutan Induk

$$\frac{25 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 1000 \text{ ppm}$$

$$\frac{50 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2000 \text{ ppm}$$

Pengenceran

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 100 \text{ ppm}$$

$$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 300 \text{ ppm}$$

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2000 \text{ ppm} = 200 \text{ ppm}$$

$$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2000 \text{ ppm} = 400 \text{ ppm}$$

$$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2000 \text{ ppm} = 600 \text{ ppm}$$

$$\frac{4 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2000 \text{ ppm} = 800 \text{ ppm}$$

Replikasi 2 dan 3

Larutan Induk

$$\frac{25,2 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 1008 \text{ ppm}$$

$$\frac{50 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2000 \text{ ppm}$$

Pengenceran

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1008 \text{ ppm} = 100,8 \text{ ppm}$$

$$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1008 \text{ ppm} = 302,4 \text{ ppm}$$

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2000 \text{ ppm} = 200 \text{ ppm}$$

$$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2000 \text{ ppm} = 400 \text{ ppm}$$

$$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2000 \text{ ppm} = 600 \text{ ppm}$$

$$\frac{4 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2000 \text{ ppm} = 800 \text{ ppm}$$

Fraksi Eter Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella

Replikasi 1, 2 dan 3

Larutan Induk

$$\frac{0,048 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 1200 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,072 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 1800 \text{ ppm}$$

Pengenceran

$$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1200 \text{ ppm} = 240 \text{ ppm}$$

$$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1200 \text{ ppm} = 360 \text{ ppm}$$

$$\frac{4 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1200 \text{ ppm} = 480 \text{ ppm}$$

$$\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1200 \text{ ppm} = 600 \text{ ppm}$$

$$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1800 \text{ ppm} = 540 \text{ ppm}$$

$$\frac{4 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1800 \text{ ppm} = 720 \text{ ppm}$$

$$\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1800 \text{ ppm} = 900 \text{ ppm}$$

Fraksi Air Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Kopi Arabika dan Kelopak Bunga Rosella**Replikasi 1, 2 dan 3**

Larutan Induk

$$\frac{25 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 1000 \text{ ppm}$$

$$\frac{50 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2000 \text{ ppm}$$

Pengenceran

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 100 \text{ ppm}$$

$$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 300 \text{ ppm}$$

$$\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 500 \text{ ppm}$$

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2000 \text{ ppm} = 200 \text{ ppm}$$

$$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2000 \text{ ppm} = 400 \text{ ppm}$$

$$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2000 \text{ ppm} = 600 \text{ ppm}$$

$$\frac{4 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2000 \text{ ppm} = 800 \text{ ppm}$$

Fraksi Eter Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Kopi Arabika dan Kelopak Bunga Rosella**Replikasi 1, 2 dan 3**

Larutan Induk

$$\frac{25 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 1000 \text{ ppm}$$

$$\frac{50 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2000 \text{ ppm}$$

Pengenceran

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 100 \text{ ppm}$$

$$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 300 \text{ ppm}$$

$$\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 500 \text{ ppm}$$

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2000 \text{ ppm} = 200 \text{ ppm}$$

$$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2000 \text{ ppm} = 400 \text{ ppm}$$

$$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2000 \text{ ppm} = 600 \text{ ppm}$$

Lampiran G. Perhitungan Pembuatan Larutan Vitamin C

Replikasi 1,2 dan 3

Larutan Induk

$$\frac{25 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 1000 \text{ ppm}$$

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 100 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 50 \text{ ppm}$$

Pengenceran

$$\frac{0,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 100 \text{ ppm} = 5 \text{ ppm}$$

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 100 \text{ ppm} = 10 \text{ ppm}$$

$$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 100 \text{ ppm} = 20 \text{ ppm}$$

$$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 100 \text{ ppm} = 30 \text{ ppm}$$

$$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 50 \text{ ppm} = 15 \text{ ppm}$$

$$\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 50 \text{ ppm} = 25 \text{ ppm}$$

Lampiran H. Perhitungan Pembuatan Larutan DPPH

Konsentrasi DPPH yang digunakan yaitu 0,1 mM (Amin et al, 2013 ; Marinova dan Batchvarov, 2011)

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

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

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

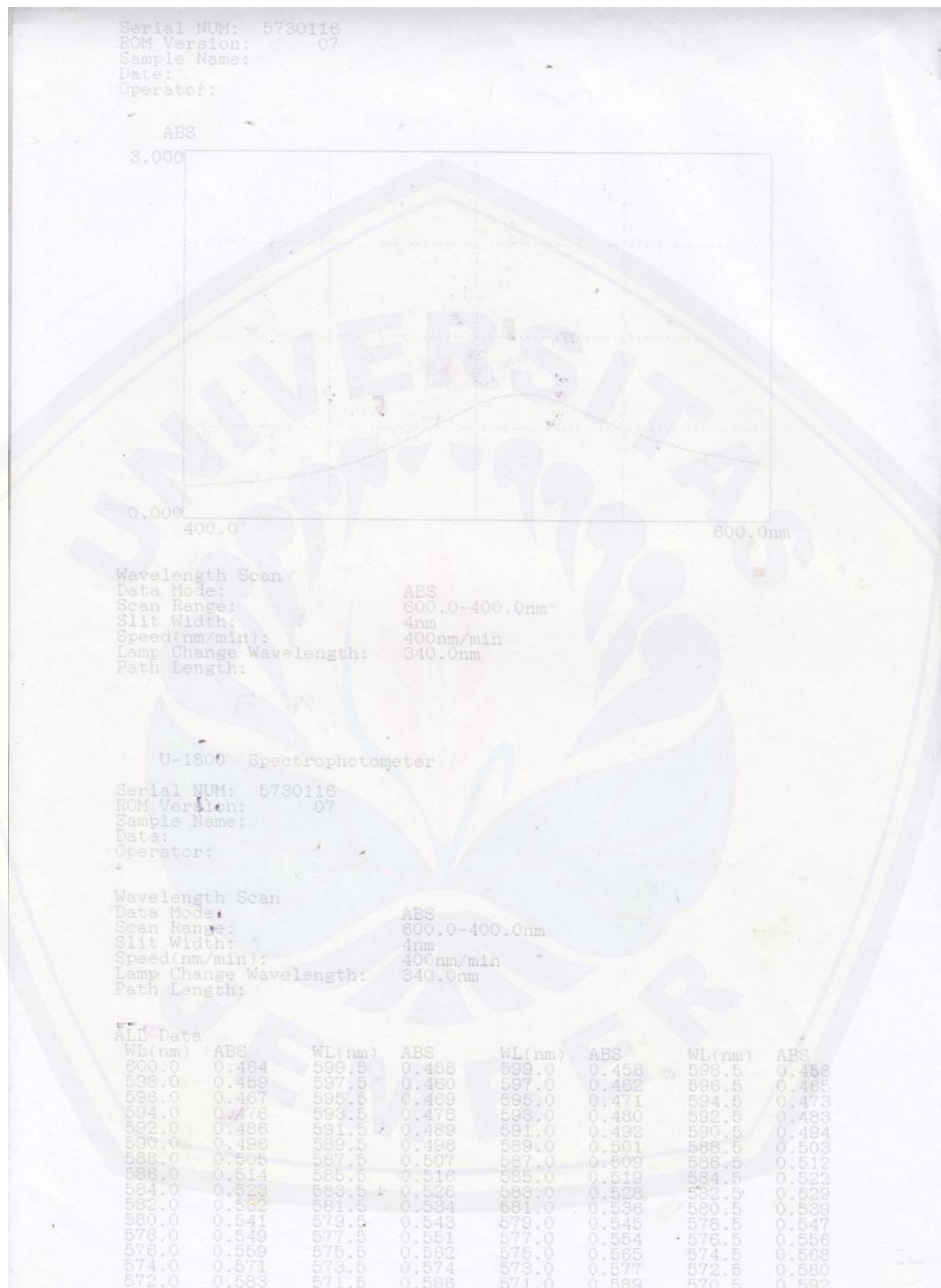
Mr DPPH (C18H12N5O6: *Mr* = 394.33) (Molyneux, 2004)

$$\begin{aligned} &= \frac{0,0001 \text{ g/mr}}{L} \times 394,33 \\ &= 39,433 \text{ g/L} \\ &= 0,039433 \text{ g/L} \\ &= 39,433 \text{ mg/L} \\ &= 39,433 \text{ ppm} = 40 \text{ ppm} \end{aligned}$$

Penimbangan

$$\frac{2 \text{ mg}}{50 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40 \text{ ppm}$$

Lampiran I. Penetapan Panjang Gelombang Maksimum DPPH



592.0	0.840	580.0	0.661	558.0	0.675	556.0	0.692	554.0	0.709	552.0	0.727	550.0	0.746	548.0	0.762	546.0	0.783	544.0	0.801	542.0	0.821	540.0	0.842	538.0	0.863	536.0	0.883	534.0	0.905	532.0	0.925	530.0	0.946	528.0	0.965	526.0	0.982	524.0	0.997	522.0	1.009	520.0	1.017	518.0	1.022	516.0	1.024	514.0	1.024	512.0	1.021	510.0	1.014	508.0	1.006	506.0	0.994	504.0	0.978	502.0	0.960	500.0	0.940	498.0	0.917	496.0	0.894	494.0	0.870	492.0	0.845	490.0	0.820	488.0	0.797	486.0	0.772	484.0	0.746	482.0	0.720	480.0	0.696	478.0	0.671	476.0	0.647	474.0	0.623	472.0	0.593	470.0	0.578	468.0	0.558	466.0	0.537	464.0	0.518	462.0	0.499	460.0	0.481	458.0	0.464	456.0	0.449	454.0	0.434	452.0	0.419	450.0	0.404	448.0	0.392	446.0	0.381	444.0	0.370	442.0	0.361	440.0	0.352	438.0	0.345	436.0	0.337	434.0	0.331	432.0	0.325	430.0	0.318	428.0	0.313	426.0	0.307	424.0	0.301	422.0	0.295	420.0	0.289	418.0	0.286	416.0	0.281	414.0	0.277	412.0	0.272	410.0	0.270	408.0	0.267	406.0	0.264	404.0	0.262	402.0	0.261	400.0	0.262																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																											
0.840	0.661	0.675	0.692	0.709	0.727	0.746	0.762	0.783	0.801	0.821	0.842	0.863	0.883	0.905	0.925	0.946	0.965	0.982	0.997	1.009	1.017	1.022	1.024	1.024	1.024	1.021	1.014	1.006	1.000	0.997	0.994	0.990	0.987	0.984	0.982	0.980	0.978	0.976	0.974	0.972	0.970	0.968	0.966	0.964	0.962	0.960	0.958	0.956	0.954	0.952	0.950	0.948	0.946	0.944	0.942	0.940	0.938	0.936	0.934	0.932	0.930	0.928	0.926	0.924	0.922	0.920	0.918	0.916	0.914	0.912	0.910	0.908	0.906	0.904	0.902	0.900	0.898	0.896	0.894	0.892	0.890	0.888	0.886	0.884	0.882	0.880	0.878	0.876	0.874	0.872	0.870	0.868	0.866	0.864	0.862	0.860	0.858	0.856	0.854	0.852	0.850	0.848	0.846	0.844	0.842	0.840	0.838	0.836	0.834	0.832	0.830	0.828	0.826	0.824	0.822	0.820	0.818	0.816	0.814	0.812	0.810	0.808	0.806	0.804	0.802	0.800	0.798	0.796	0.794	0.792	0.790	0.788	0.786	0.784	0.782	0.780	0.778	0.776	0.774	0.772	0.770	0.768	0.766	0.764	0.762	0.760	0.758	0.756	0.754	0.752	0.750	0.748	0.746	0.744	0.742	0.740	0.738	0.736	0.734	0.732	0.730	0.728	0.726	0.724	0.722	0.720	0.718	0.716	0.714	0.712	0.710	0.708	0.706	0.704	0.702	0.700	0.698	0.696	0.694	0.692	0.690	0.688	0.686	0.684	0.682	0.680	0.678	0.676	0.674	0.672	0.670	0.668	0.666	0.664	0.662	0.660	0.658	0.656	0.654	0.652	0.650	0.648	0.646	0.644	0.642	0.640	0.638	0.636	0.634	0.632	0.630	0.628	0.626	0.624	0.622	0.620	0.618	0.616	0.614	0.612	0.610	0.608	0.606	0.604	0.602	0.600	0.598	0.596	0.594	0.592	0.590	0.588	0.586	0.584	0.582	0.580	0.578	0.576	0.574	0.572	0.570	0.568	0.566	0.564	0.562	0.560	0.558	0.556	0.554	0.552	0.550	0.548	0.546	0.544	0.542	0.540	0.538	0.536	0.534	0.532	0.530	0.528	0.526	0.524	0.522	0.520	0.518	0.516	0.514	0.512	0.510	0.508	0.506	0.504	0.502	0.500	0.498	0.496	0.494	0.492	0.490	0.488	0.486	0.484	0.482	0.480	0.478	0.476	0.474	0.472	0.470	0.468	0.466	0.464	0.462	0.460	0.458	0.456	0.454	0.452	0.450	0.448	0.446	0.444	0.442	0.440	0.438	0.436	0.434	0.432	0.430	0.428	0.426	0.424	0.422	0.420	0.418	0.416	0.414	0.412	0.410	0.408	0.406	0.404	0.402	0.400	0.398	0.396	0.394	0.392	0.390	0.388	0.386	0.384	0.382	0.380	0.378	0.376	0.374	0.372	0.370	0.368	0.366	0.364	0.362	0.360	0.358	0.356	0.354	0.352	0.350	0.348	0.346	0.344	0.342	0.340	0.338	0.336	0.334	0.332	0.330	0.328	0.326	0.324	0.322	0.320	0.318	0.316	0.314	0.312	0.310	0.308	0.306	0.304	0.302	0.300	0.298	0.296	0.294	0.292	0.290	0.288	0.286	0.284	0.282	0.280	0.278	0.276	0.274	0.272	0.270	0.268	0.266	0.264	0.262	0.260	0.258	0.256	0.254	0.252	0.250	0.248	0.246	0.244	0.242	0.240	0.238	0.236	0.234	0.232	0.230	0.228	0.226	0.224	0.222	0.220	0.218	0.216	0.214	0.212	0.210	0.208	0.206	0.204	0.202	0.200	0.198	0.196	0.194	0.192	0.190	0.188	0.186	0.184	0.182	0.180	0.178	0.176	0.174	0.172	0.170	0.168	0.166	0.164	0.162	0.160	0.158	0.156	0.154	0.152	0.150	0.148	0.146	0.144	0.142	0.140	0.138	0.136	0.134	0.132	0.130	0.128	0.126	0.124	0.122	0.120	0.118	0.116	0.114	0.112	0.110	0.108	0.106	0.104	0.102	0.100	0.098	0.096	0.094	0.092	0.090	0.088	0.086	0.084	0.082	0.080	0.078	0.076	0.074	0.072	0.070	0.068	0.066	0.064	0.062	0.060	0.058	0.056	0.054	0.052	0.050	0.048	0.046	0.044	0.042	0.040	0.038	0.036	0.034	0.032	0.030	0.028	0.026	0.024	0.022	0.020	0.018	0.016	0.014	0.012	0.010	0.008	0.006	0.004	0.002	0.000

Lampiran J. Perhitungan Konsentrasi Larutan Uji untuk Pengujian Peredaman Radikal Bebas

Larutan Uji 0,3 ml ditambahkan larutan DPPH ad 1,5 ml

Fraksi Air Ekstrak Metanol Daun Kopi Arabika**Replikasi 1 dan 2**

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 20 \text{ ppm} = 4 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 40 \text{ ppm} = 8 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 60 \text{ ppm} = 12 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 90 \text{ ppm} = 18 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 150 \text{ ppm} = 30 \text{ ppm}$$

Replikasi 3

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 20 \text{ ppm} = 4 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 40 \text{ ppm} = 8 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 60 \text{ ppm} = 12 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 90,36 \text{ ppm} = 18,072 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 150,6 \text{ ppm} = 30,12 \text{ ppm}$$

Fraksi Air Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella**Replikasi 1 dan 2**

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 600 \text{ ppm} = 120 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 1200 \text{ ppm} = 240 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 1800 \text{ ppm} = 360 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 900 \text{ ppm} = 180 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 1620 \text{ ppm} = 324 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 2160 \text{ ppm} = 432 \text{ ppm}$$

Replikasi 3

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 600 \text{ ppm} = 120 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 1200 \text{ ppm} = 240 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 1800 \text{ ppm} = 360 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 900 \text{ ppm} = 180 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 1618,8 \text{ ppm} = 323,76 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 2158,4 \text{ ppm} = 431,68 \text{ ppm}$$

Fraksi Eter Ekstrak Metanol Daun Kopi Arabika**Replikasi 1**

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 100 \text{ ppm} = 20 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 300 \text{ ppm} = 60 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 200 \text{ ppm} = 40 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 400 \text{ ppm} = 80 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 600 \text{ ppm} = 120 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 800 \text{ ppm} = 160 \text{ ppm}$$

Replikasi 2 dan 3

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 100,8 \text{ ppm} = 20,16 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 302,4 \text{ ppm} = 60,48 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 200 \text{ ppm} = 40 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 400 \text{ ppm} = 80 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 600 \text{ ppm} = 120 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 800 \text{ ppm} = 160 \text{ ppm}$$

Fraksi Eter Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella**Replikasi 1, 2 dan 3**

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 240 \text{ ppm} = 48 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 360 \text{ ppm} = 72 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 480 \text{ ppm} = 96 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 600 \text{ ppm} = 120 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 540 \text{ ppm} = 108 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 720 \text{ ppm} = 144 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 900 \text{ ppm} = 180 \text{ ppm}$$

Fraksi Air Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Kopi Arabika dan Kelopak Bunga Rosella

Replikasi 1, 2 dan 3

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 100 \text{ ppm} = 20 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 300 \text{ ppm} = 60 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 500 \text{ ppm} = 100 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 200 \text{ ppm} = 40 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 400 \text{ ppm} = 80 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 600 \text{ ppm} = 120 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 800 \text{ ppm} = 160 \text{ ppm}$$

Fraksi Eter Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Kopi Arabika dan Kelopak Bunga Rosella

Replikasi 1, 2 dan 3

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 100 \text{ ppm} = 20 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 300 \text{ ppm} = 60 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 500 \text{ ppm} = 100 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 200 \text{ ppm} = 40 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 400 \text{ ppm} = 80 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 600 \text{ ppm} = 120 \text{ ppm}$$

Vitamin C

Replikasi 1, 2 dan 3

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 5 \text{ ppm} = 1 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 10 \text{ ppm} = 2 \text{ ppm}$$

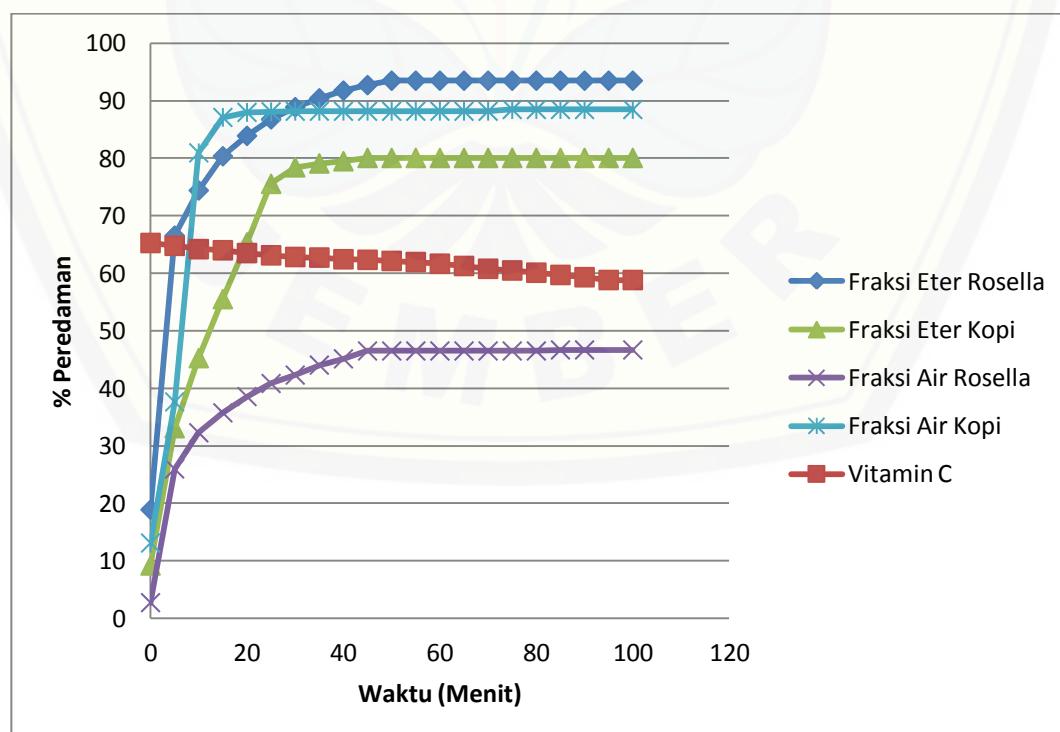
$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 20 \text{ ppm} = 4 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 30 \text{ ppm} = 6 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 15 \text{ ppm} = 3 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 250 \text{ ppm} = 5 \text{ ppm}$$

Lampiran K. Optimasi Waktu Inkubasi



Waktu (menit)	% Peredaman				
	Fraksi Air Daun Kopi Arabika 200 ppm	Fraksi Air Kelopak Bunga Rosella 540 ppm	Fraksi Eter Daun Kopi Arabika 120 ppm	Fraksi Eter Kelopak Bunga Rosella 240 ppm	Vitamin C 5 ppm
5	37,634	25,979	33,077	66,538	64,780
10	80,938	32,269	45,254	74,401	64,195
15	87,096	35,733	55,512	80,345	64,000
20	87,976	38,559	65,388	83,892	63,512
25	88,074	40,838	75,551	86,768	63,121
30	88,172	42,297	78,427	88,878	62,829
35	88,172	44,029	79,098	90,412	62,731
40	88,172	45,123	79,482	91,754	62,439
45	88,172	46,490	80,057	92,713	62,341
50	88,172	46,490	80,057	93,480	62,146
55	88,172	46,490	80,057	93,480	61,951
60	88,172	46,490	80,057	93,480	61,658
65	88,172	46,490	80,057	93,480	61,268
70	88,172	46,490	80,057	93,480	60,780
75	88,465	46,490	80,057	93,480	60,487
80	88,465	46,490	80,057	93,480	60,097
85	88,465	46,672	80,057	93,480	59,707
90	88,465	46,672	80,057	93,480	59,317
95	88,465	46,672	80,057	93,480	58,829
100	88,465	46,672	80,057	93,480	58,829

Lampiran L. Perhitungan % Peredaman dan Nilai IC₅₀

Sampel	IC ₅₀ (ppm)	Rata-rata IC ₅₀	SD	CV
Fraksi Air	26,566	26,201	0,323	1,233
Daun Kopi	26,086			
Arabika	25,951			
Fraksi Air	231,415	230,560	0,967	0,419
Kelopak	229,510			
Bunga Rosella	230,755			
Fraksi Eter	73,374	73,321	0,241	0,328
Daun Kopi	73,531			
Arabika	73,057			
Fraksi Eter	62,830	62,407	0,541	0,868
Kelopak	61,797			
Bunga Rosella	62,595			
Fraksi Air	83,828	83,381	0,435	0,522
Daun Kopi : Kelopak	83,356			
Rosella (1 : 2)	82,958			
Fraksi Air	62,402	62,405	0,342	0,549
Daun Kopi : Kelopak	62,749			
Rosella (1 : 1)	62,063			
Fraksi Air	57,060	57,170	0,227	0,398
Daun Kopi : Kelopak	57,432			
Rosella (2 : 1)	57,018			
Fraksi Eter	65,161	65,685	0,466	0,709
Daun Kopi :	65,844			

Kelopak Rosella (1 : 2)	66,052			
Fraksi Eter Daun Kopi : Kelopak Rosella (1 : 1)	69,671	69,678	0,853	1,225
	70,535			
	68,827			
Fraksi Eter Daun Kopi : Kelopak Rosella (2 : 1)	70,862	71,094	0,087	0,123
	71,266			
	71,153			
Vitamin C	3,261	3,265	0,003	0,111
	3,265			
	3,268			

$$\% \text{ Peredaman} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100 \%$$

Fraksi Air Daun Kopi Arabika

Replikasi 1

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman
4	0,768	18,816
8	0,737	22,093
12	0,654	30,866
18	0,596	36,997
20	0,560	40,803
30	0,425	55,074

Absorbansi Kontrol = 0,946

Perhitungan % Peredaman

$$4 \text{ ppm} = \frac{0,946 - 0,768}{0,946} \times 100 \% = 18,816 \%$$

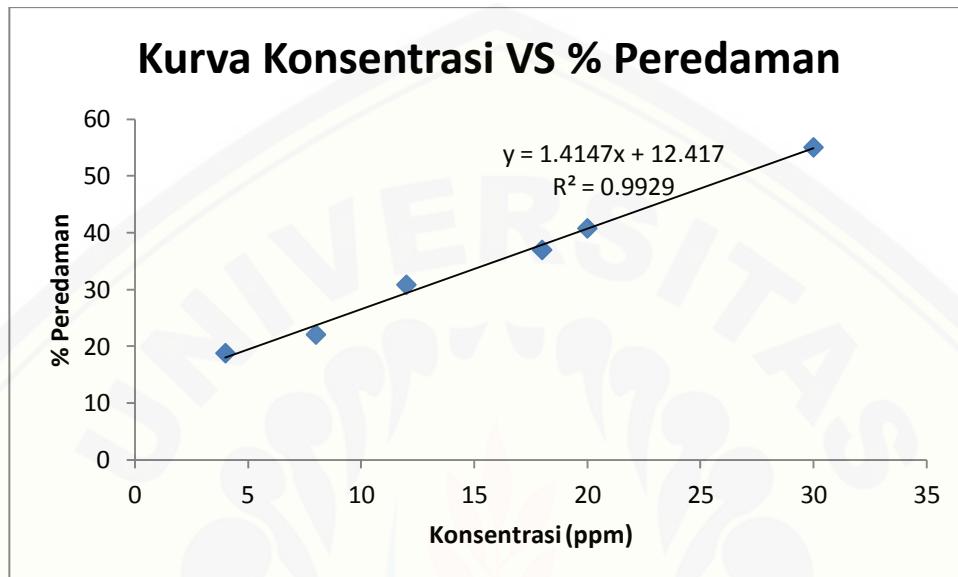
$$8 \text{ ppm} = \frac{0,946 - 0,737}{0,946} \times 100 \% = 22,093 \%$$

$$12 \text{ ppm} = \frac{0,946 - 0,654}{0,946} \times 100 \% = 30,866 \%$$

$$18 \text{ ppm} = \frac{0,946 - 0,596}{0,946} \times 100 \% = 36,997 \%$$

$$20 \text{ ppm} = \frac{0,946 - 0,560}{0,946} \times 100 \% = 40,803 \%$$

$$30 \text{ ppm} = \frac{0,946 - 0,425}{0,946} \times 100 \% = 55,074 \%$$



Persamaan regresi : $y = 1,4147x + 12,417$

$$R^2 = 0,9929$$

Perhitungan IC₅₀

$$50 = 1,4147x + 12,417$$

$$x = \frac{50 - 12,417}{1,4147}$$

$$x = 26,566$$

$$IC_{50} = 26,566 \text{ ppm}$$

Replikasi 2

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman
4	0,769	18,710
8	0,738	21,987
12	0,651	31,183
18	0,593	37,315
20	0,556	41,226
30	0,417	55,919

Absorbansi Kontrol = 0,946

Perhitungan Persen Peredaman

$$4 \text{ ppm} = \frac{0,946 - 0,769}{0,946} \times 100 \% = 18,710 \%$$

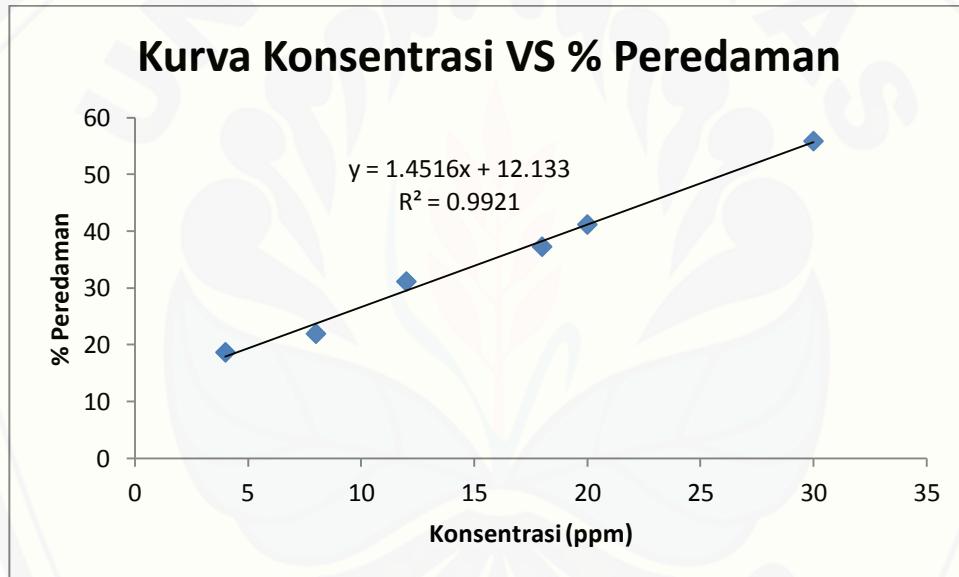
$$8 \text{ ppm} = \frac{0,946 - 0,738}{0,946} \times 100 \% = 21,987 \%$$

$$12 \text{ ppm} = \frac{0,946 - 0,651}{0,946} \times 100 \% = 31,183 \%$$

$$18 \text{ ppm} = \frac{0,946 - 0,593}{0,946} \times 100 \% = 37,315 \%$$

$$20 \text{ ppm} = \frac{0,946 - 0,556}{0,946} \times 100 \% = 41,226 \%$$

$$30 \text{ ppm} = \frac{0,946 - 0,417}{0,946} \times 100 \% = 55,919 \%$$



Persamaan regresi : $y = 1,4516x + 12,133$

$R^2 = 0,9921$

Perhitungan IC₅₀

$$50 = 1,4516x + 12,133$$

$$x = \frac{50 - 12,133}{1,4516}$$

$$x = 26,086$$

$$IC_{50} = 26,086 \text{ ppm}$$

Replikasi 3

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman
4	0,771	18,498
8	0,735	22,304
12	0,653	30,972
18	0,593	37,315
20	0,555	41,331
30	0,414	56,236

Absorbansi Kontrol = 0,946

Perhitungan Persen Peredaman

$$4 \text{ ppm} = \frac{0,946 - 0,771}{0,946} \times 100 \% = 18,498 \%$$

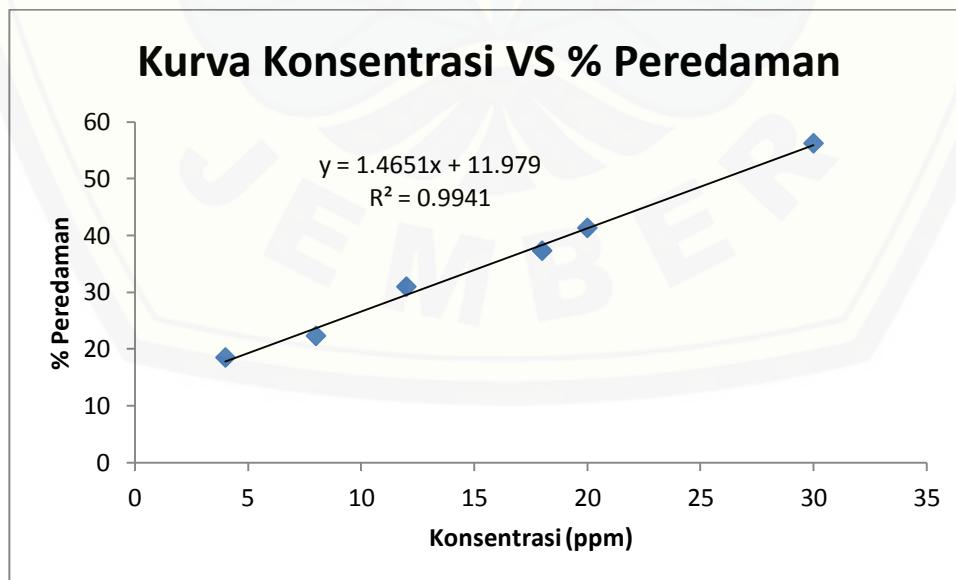
$$8 \text{ ppm} = \frac{0,946 - 0,735}{0,946} \times 100 \% = 22,304 \%$$

$$12 \text{ ppm} = \frac{0,946 - 0,653}{0,946} \times 100 \% = 30,972 \%$$

$$18 \text{ ppm} = \frac{0,946 - 0,593}{0,946} \times 100 \% = 37,315 \%$$

$$20 \text{ ppm} = \frac{0,946 - 0,556}{0,946} \times 100 \% = 41,331 \%$$

$$30 \text{ ppm} = \frac{0,946 - 0,414}{0,946} \times 100 \% = 56,236 \%$$



Persamaan regresi : $y = 1,4651x + 11,979$

$R^2 = 0,9941$

Perhitungan IC₅₀

$$50 = 1,4651x + 11,979$$

$$x = \frac{50 - 11,979}{1,4651}$$

$$x = 25,951$$

$$IC_{50} = 25,951 \text{ ppm}$$

$$\text{Rata-rata } IC_{50} = \frac{26,566 + 26,086 + 25,951}{3} = 26,201 \text{ ppm}$$

$$SD = 0,323$$

$$CV = 1,233 \text{ %}$$

Fraksi Air Kelopak Bunga Rosella

Replikasi 1

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman
120	0,571	37,390
180	0,525	42,434
240	0,430	52,851
324	0,368	59,649
360	0,320	64,912
432	0,232	74,561

$$\text{Absorbansi Kontrol} = 0,912$$

Perhitungan % Peredaman

$$120 \text{ ppm} = \frac{0,912 - 0,571}{0,921} \times 100 \% = 37,390 \%$$

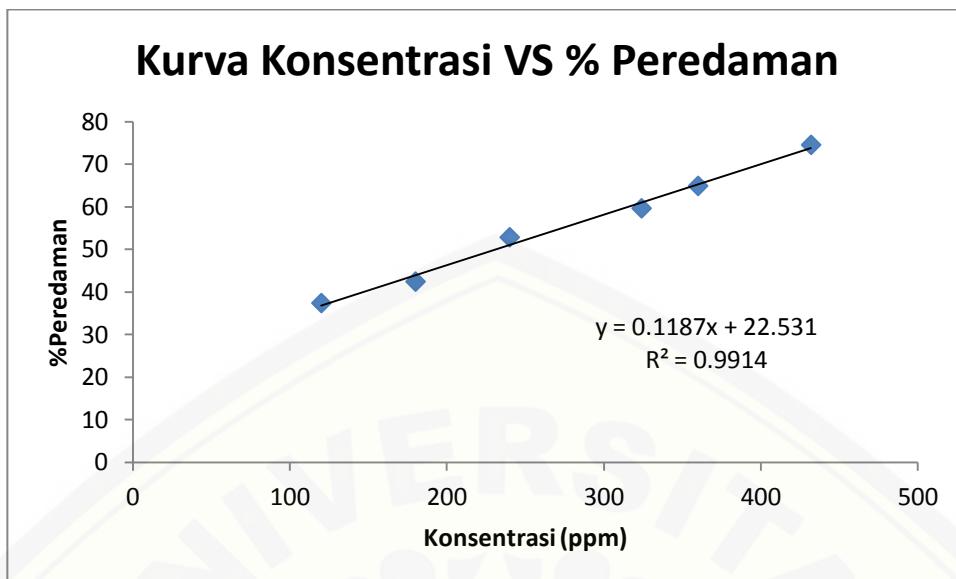
$$180 \text{ ppm} = \frac{0,912 - 0,525}{0,921} \times 100 \% = 42,434 \%$$

$$240 \text{ ppm} = \frac{0,912 - 0,430}{0,921} \times 100 \% = 52,851 \%$$

$$324 \text{ ppm} = \frac{0,921 - 0,368}{0,921} \times 100 \% = 59,649 \%$$

$$360 \text{ ppm} = \frac{0,921 - 0,320}{0,921} \times 100 \% = 64,912 \%$$

$$432 \text{ ppm} = \frac{0,921 - 0,232}{0,921} \times 100 \% = 74,561 \%$$



Persamaan regresi : $y = 0,1187x + 22,531$

$R^2 = 0,9914$

Perhitungan IC₅₀

$$50 = 0,1187x + 22,531$$

$$x = \frac{50 - 22,531}{0,1187}$$

$$x = 231,415$$

$$IC_{50} = 231,415 \text{ ppm}$$

Replikasi 2

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman
120	0,566	37,938
180	0,527	42,214
240	0,432	52,631
324	0,364	60,087
360	0,315	65,460
432	0,226	75,219

Absorbansi Kontrol = 0,912

Perhitungan % Peredaman

$$120 \text{ ppm} = \frac{0,912 - 0,566}{0,921} \times 100 \% = 37,938 \%$$

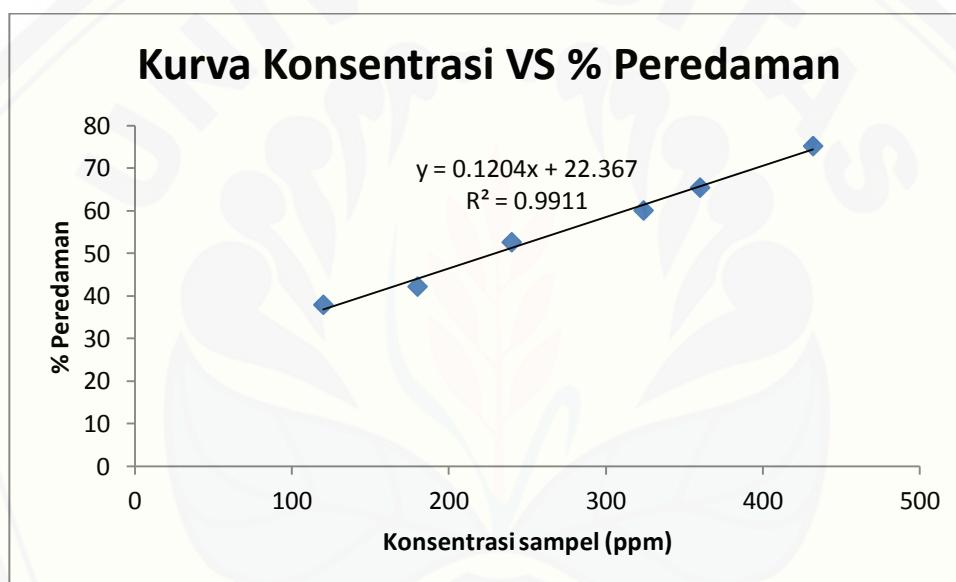
$$180 \text{ ppm} = \frac{0,912 - 0,527}{0,912} \times 100 \% = 42,214 \%$$

$$240 \text{ ppm} = \frac{0,912 - 0,432}{0,912} \times 100 \% = 52,631 \%$$

$$324 \text{ ppm} = \frac{0,921 - 0,364}{0,921} \times 100 \% = 60,087 \%$$

$$360 \text{ ppm} = \frac{0,921 - 0,315}{0,921} \times 100 \% = 65,460 \%$$

$$432 \text{ ppm} = \frac{0,921 - 0,226}{0,921} \times 100 \% = 75,219 \%$$



Persamaan regresi : $y = 0,1204x + 22,367$

$$R^2 = 0,9911$$

Perhitungan IC₅₀

$$50 = 0,1204x + 22,367$$

$$x = \frac{50 - 22,367}{0,1204}$$

$$x = 229,510$$

$$IC_{50} = 229,150 \text{ ppm}$$

Replikasi 3

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman
120	0,576	36,842
180	0,528	42,105
240	0,432	52,631
324	0,359	60,635
360	0,311	65,899
432	0,219	75,986

Absorbansi Kontrol = 0,912

Perhitungan % Peredaman

$$120 \text{ ppm} = \frac{0,912 - 0,576}{0,912} \times 100 \% = 36,842 \%$$

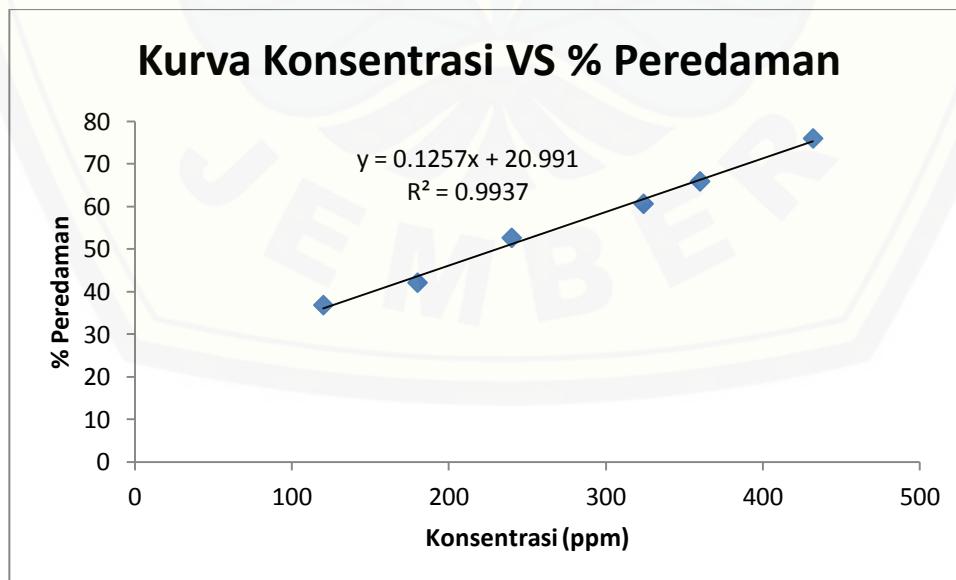
$$180 \text{ ppm} = \frac{0,912 - 0,528}{0,912} \times 100 \% = 42,105 \%$$

$$240 \text{ ppm} = \frac{0,912 - 0,432}{0,912} \times 100 \% = 52,631 \%$$

$$324 \text{ ppm} = \frac{0,912 - 0,359}{0,912} \times 100 \% = 60,635 \%$$

$$360 \text{ ppm} = \frac{0,912 - 0,311}{0,912} \times 100 \% = 65,899 \%$$

$$432 \text{ ppm} = \frac{0,912 - 0,219}{0,912} \times 100 \% = 75,986 \%$$



Persamaan regresi : $y = 0,1257x + 20,991$

$R^2 = 0,9937$

Perhitungan IC₅₀

$$50 = 0,1257x + 20,991$$

$$x = \frac{50 - 20,991}{0,1257}$$

$$x = 230,755$$

$$IC_{50} = 230,755 \text{ ppm}$$

$$\text{Rata-rata } IC_{50} = \frac{231,415 + 229,510 + 230,755}{3} = 230,560$$

$$SD = 0,967$$

$$CV = 0,419 \%$$

Fraksi Eter Daun Kopi Arabika

Replikasi 1

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman
20	0,672	29,039
40	0,615	35,058
60	0,548	42,133
80	0,455	51,953
120	0,254	73,178
160	0,137	85,533

$$\text{Absorbansi Kontrol} = 0,947$$

Perhitungan % Peredaman

$$20 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,672}{0,947} \times 100 \% = 29,039 \%$$

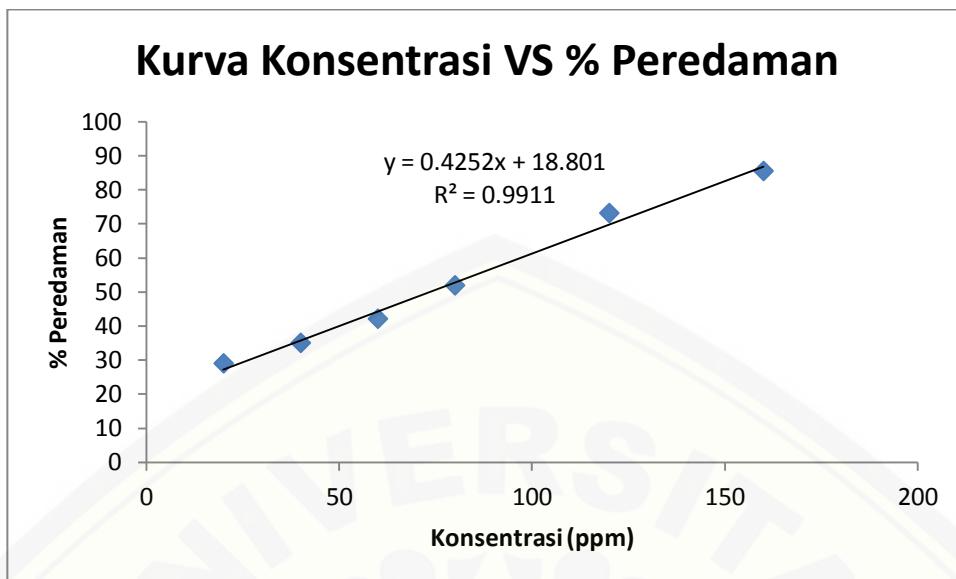
$$40 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,615}{0,947} \times 100 \% = 35,058 \%$$

$$60 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,548}{0,947} \times 100 \% = 42,133 \%$$

$$80 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,455}{0,947} \times 100 \% = 51,953 \%$$

$$120 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,254}{0,947} \times 100 \% = 73,178 \%$$

$$160 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,137}{0,947} \times 100 \% = 85,533 \%$$



Persamaan regresi : $y = 0,4252x + 18,801$

$R^2 = 0,9911$

Perhitungan IC₅₀

$$50 = 0,4252x + 18,801$$

$$x = \frac{50 - 18,801}{0,4252}$$

$$x = 73,374$$

$$IC_{50} = 73,374 \text{ ppm}$$

Replikasi 2

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman
20	0,668	29,461
40	0,612	35,374
60	0,548	42,133
80	0,460	51,425
120	0,257	72,861
160	0,142	85,005

Absorbansi Kontrol = 0,947

Perhitungan % Peredaman

$$20 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,668}{0,947} \times 100 \% = 29,461 \%$$

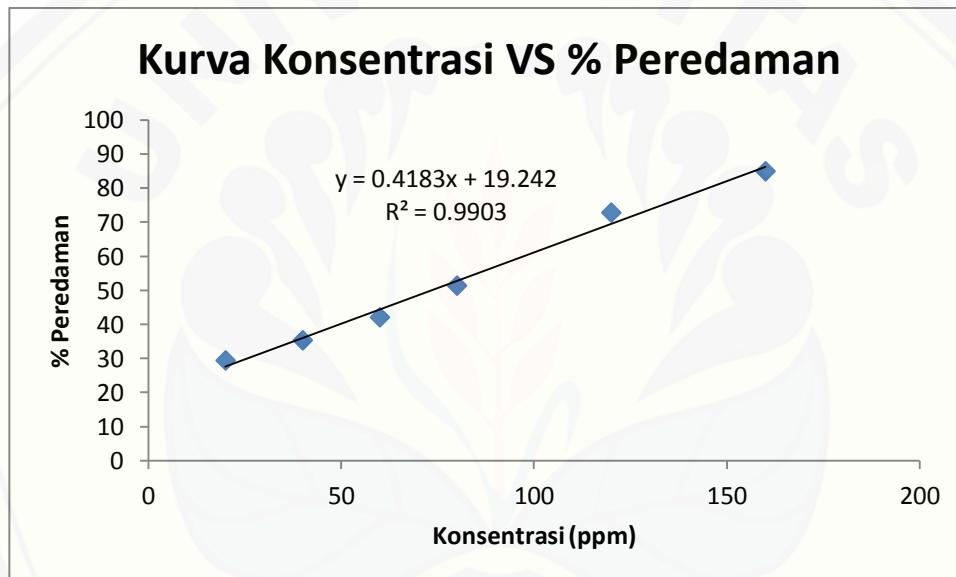
$$40 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,612}{0,947} \times 100 \% = 35,374 \%$$

$$60 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,548}{0,947} \times 100 \% = 42,133 \%$$

$$80 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,460}{0,947} \times 100 \% = 51,425 \%$$

$$120 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,257}{0,947} \times 100 \% = 72,861 \%$$

$$160 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,142}{0,947} \times 100 \% = 85,005 \%$$



Persamaan regresi : $y = 0,4183x + 19,242$

$$R^2 = 0,9903$$

Perhitungan IC₅₀

$$50 = 0,4183x + 19,242$$

$$x = \frac{50 - 19,242}{0,4183}$$

$$x = 73,531$$

$$IC_{50} = 73,531 \text{ ppm}$$

Replikasi 3

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman
20	0,661	30,200
40	0,609	35,691
60	0,546	42,344
80	0,457	51,742
120	0,260	72,544
160	0,146	85,582

Absorbansi Kontrol = 0,947

Perhitungan % Peredaman

$$20 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,661}{0,947} \times 100 \% = 30,200 \%$$

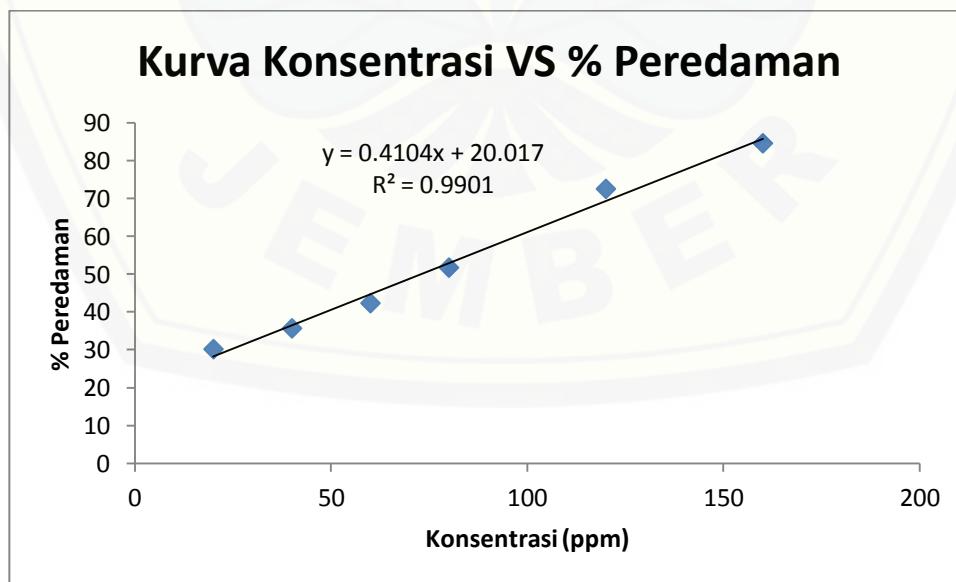
$$40 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,609}{0,947} \times 100 \% = 35,691 \%$$

$$60 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,546}{0,947} \times 100 \% = 42,344 \%$$

$$80 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,457}{0,947} \times 100 \% = 51,742 \%$$

$$120 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,260}{0,947} \times 100 \% = 72,544 \%$$

$$160 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,146}{0,947} \times 100 \% = 84,582 \%$$



Persamaan regresi : $y = 0,4104x + 20,017$

$R^2 = 0,9901$

Perhitungan IC₅₀

$$50 = 0,4104x + 20,017$$

$$x = \frac{50 - 20,017}{0,4104}$$

$$x = 73,057$$

$$IC_{50} = 73,057 \text{ ppm}$$

$$\text{Rata-rata } IC_{50} = \frac{73,374 + 73,530 + 73,057}{3} = 73,321 \text{ ppm}$$

$$SD = 0,241$$

$$CV = 0,328 \%$$

Fraksi Eter Kelopak Bunga Rosella

Replikasi 1

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman
48	0,521	44,984
72	0,453	52,164
96	0,373	60,612
108	0,326	65,575
120	0,322	65,997
144	0,225	76,241
180	0,150	84,160

$$\text{Absorbansi Kontrol} = 0,947$$

Perhitungan % Peredaman

$$48 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,521}{0,947} \times 100 \% = 44,984 \%$$

$$72 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,453}{0,947} \times 100 \% = 52,164 \%$$

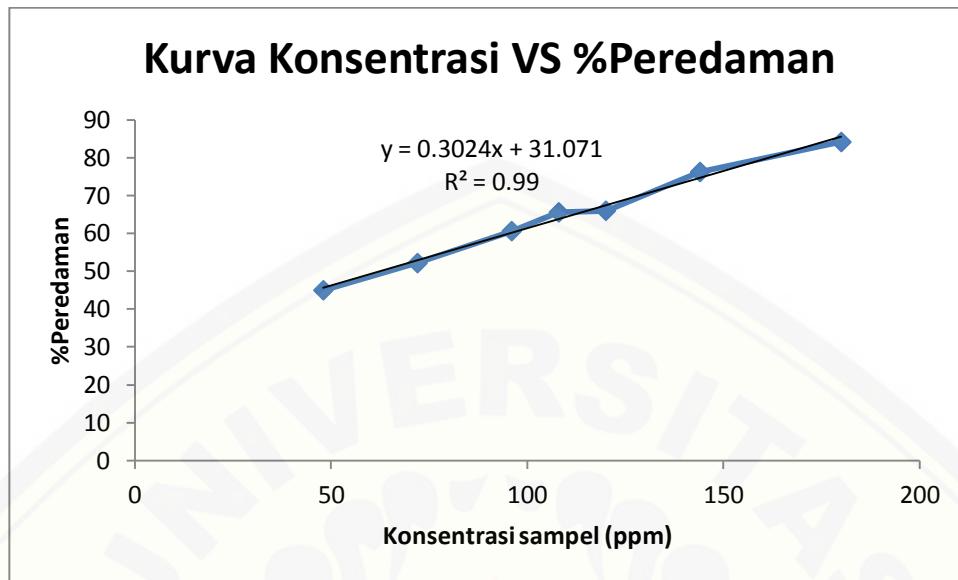
$$96 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,373}{0,947} \times 100 \% = 60,612 \%$$

$$108 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,326}{0,947} \times 100 \% = 65,575 \%$$

$$120 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,322}{0,947} \times 100 \% = 65,997 \%$$

$$144 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,225}{0,947} \times 100 \% = 76,240 \%$$

$$180 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,150}{0,947} \times 100 \% = 84,160 \%$$



Persamaan regresi : $y = 0,3024x + 31,071$

$R^2 = 0,99$

Perhitungan IC₅₀

$$50 = 0,3024x + 31,071$$

$$x = \frac{50 - 31,071}{0,3024}$$

$$x = 62,595$$

$$IC_{50} = 62,595 \text{ ppm}$$

Replikasi 2

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman
48	0,519	45,195
72	0,450	52,481
96	0,370	60,929
108	0,326	65,575
120	0,322	65,997
144	0,223	76,451
180	0,150	84,160

Absorbansi Kontrol = 0,947

Perhitungan % Peredaman

$$48 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,519}{0,947} \times 100 \% = 45,195 \%$$

$$72 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,450}{0,947} \times 100 \% = 52,481 \%$$

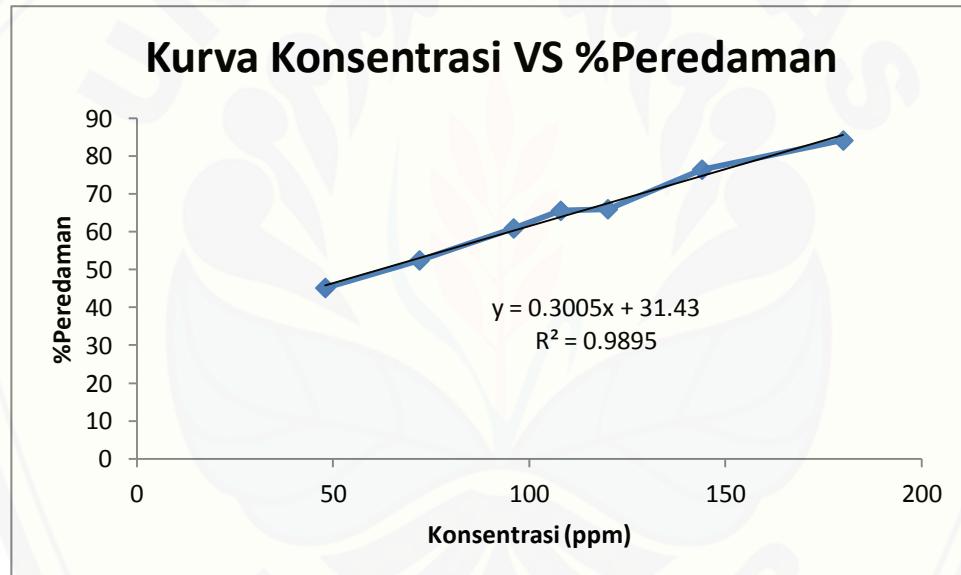
$$96 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,370}{0,947} \times 100 \% = 60,929 \%$$

$$108 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,326}{0,947} \times 100 \% = 65,575 \%$$

$$120 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,322}{0,947} \times 100 \% = 65,997 \%$$

$$144 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,223}{0,947} \times 100 \% = 76,451 \%$$

$$180 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,150}{0,947} \times 100 \% = 84,160 \%$$



Persamaan regresi : $y = 0,3005x + 31,430$

$R^2 = 0,9895$

Perhitungan IC₅₀

$$50 = 0,3005x + 31,430$$

$$x = \frac{50 - 31,430}{0,3005}$$

$$x = 61,797$$

$$\text{IC}_{50} = 61,797 \text{ ppm}$$

Replikasi 3

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman
48	0,520	45,089
72	0,452	52,270
96	0,371	60,823
108	0,329	65,258
120	0,319	66,314
144	0,225	76,240
180	0,152	83,949

Absorbansi Kontrol = 0,947

Perhitungan % Peredaman

$$48 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,520}{0,947} \times 100 \% = 45,089 \%$$

$$72 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,452}{0,947} \times 100 \% = 52,270 \%$$

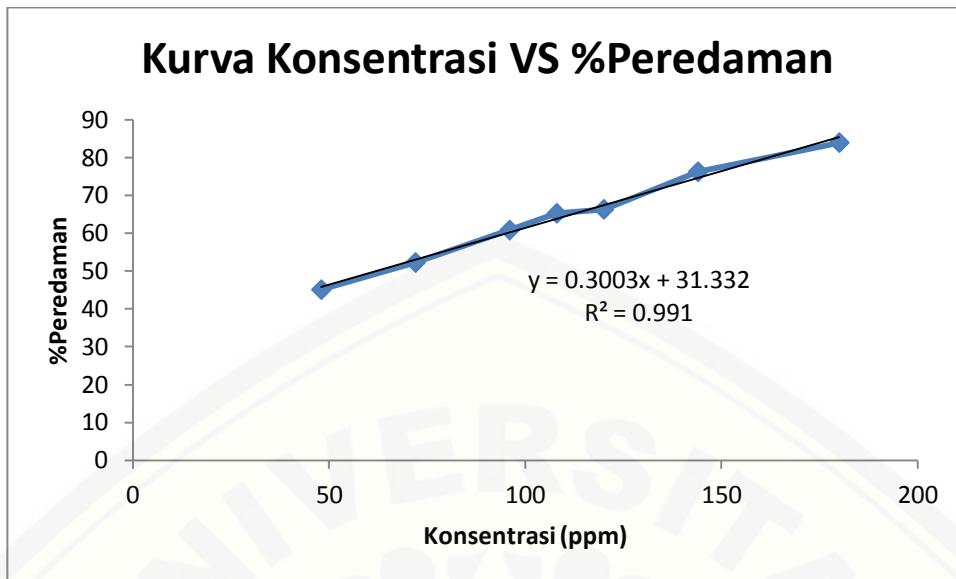
$$96 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,371}{0,947} \times 100 \% = 60,823 \%$$

$$108 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,329}{0,947} \times 100 \% = 65,258 \%$$

$$120 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,319}{0,947} \times 100 \% = 66,314 \%$$

$$144 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,225}{0,947} \times 100 \% = 76,240 \%$$

$$180 \text{ ppm} = \frac{0,947 - 0,152}{0,947} \times 100 \% = 83,949 \%$$



Persamaan regresi : $y = 0,3003x + 31,332$

$R^2 = 0,991$

Perhitungan IC₅₀

$$50 = 0,3003x + 31,332$$

$$x = \frac{50 - 31,332}{0,3003}$$

$$x = 62,830$$

$$IC_{50} = 62,830 \text{ ppm}$$

$$\text{Rata-rata } IC_{50} = \frac{62,830 + 61,797 + 62,595}{3} = 62,407 \text{ ppm}$$

$$SD = 0,541$$

$$CV = 0,868 \%$$

Fraksi Air Daun Kopi : Kelopak Rosella (1 : 2)

Replikasi 1

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman
20	0,679	23,015
40	0,602	31,746
60	0,542	38,548
80	0,432	51,020
100	0,378	57,142
120	0,319	63,832

Absorbansi Kontrol = 0,882

Perhitungan % Peredaman

$$20 \text{ ppm} = \frac{0,882 - 0,679}{0,882} \times 100 \% = 23,015 \%$$

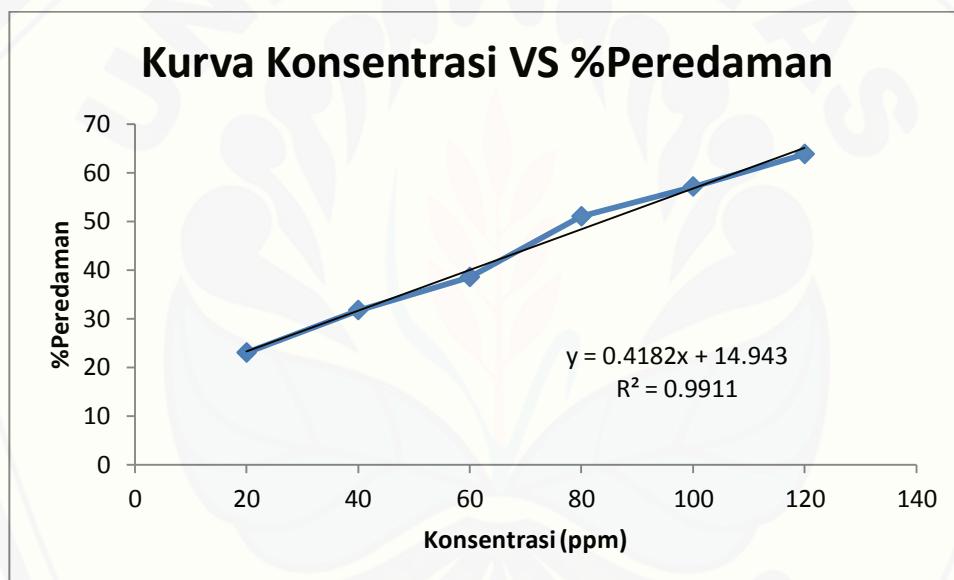
$$40 \text{ ppm} = \frac{0,882 - 0,602}{0,882} \times 100 \% = 31,746 \%$$

$$60 \text{ ppm} = \frac{0,882 - 0,542}{0,882} \times 100 \% = 38,548 \%$$

$$80 \text{ ppm} = \frac{0,882 - 0,432}{0,882} \times 100 \% = 51,020 \%$$

$$100 \text{ ppm} = \frac{0,882 - 0,378}{0,882} \times 100 \% = 57,142 \%$$

$$120 \text{ ppm} = \frac{0,882 - 0,319}{0,882} \times 100 \% = 63,832 \%$$



Persamaan regresi : $y = 0,4182x + 14,943$

$$R^2 = 0,9911$$

Perhitungan IC₅₀

$$50 = 0,4182x + 14,943$$

$$x = \frac{50 - 14,943}{0,4182}$$

$$x = 83,828$$

$$IC_{50} = 83,828 \text{ ppm}$$

Replikasi 2

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman
20	0,682	22,675
40	0,603	31,632
60	0,541	38,662
80	0,432	51,020
100	0,374	57,596
120	0,315	64,285

Absorbansi Kontrol = 0,882

Perhitungan % Peredaman

$$20 \text{ ppm} = \frac{0,882 - 0,682}{0,882} \times 100 \% = 22,675 \%$$

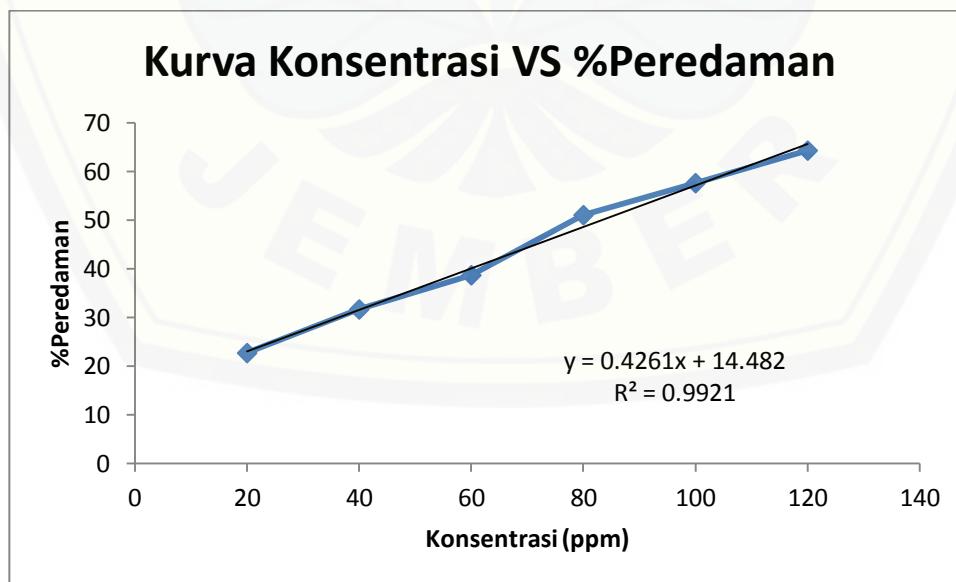
$$40 \text{ ppm} = \frac{0,882 - 0,603}{0,882} \times 100 \% = 31,632 \%$$

$$60 \text{ ppm} = \frac{0,882 - 0,541}{0,882} \times 100 \% = 38,662 \%$$

$$80 \text{ ppm} = \frac{0,882 - 0,432}{0,882} \times 100 \% = 51,020 \%$$

$$100 \text{ ppm} = \frac{0,882 - 0,374}{0,882} \times 100 \% = 57,596 \%$$

$$120 \text{ ppm} = \frac{0,882 - 0,315}{0,882} \times 100 \% = 64,285 \%$$



Persamaan regresi : $y = 0,4261x + 14,482$

$R^2 = 0,9921$

Perhitungan IC₅₀

$$50 = 0,4261x + 14,482$$

$$x = \frac{50 - 14,482}{0,4261}$$

$$x = 83,356$$

$$IC_{50} = 83,356 \text{ ppm}$$

Replikasi 3

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman
20	0,686	22,222
40	0,605	31,405
60	0,540	38,775
80	0,430	51,247
100	0,372	57,823
120	0,311	64,739

$$\text{Absorbansi Kontrol} = 0,882$$

Perhitungan % Peredaman

$$20 \text{ ppm} = \frac{0,882 - 0,686}{0,882} \times 100 \% = 22,222 \%$$

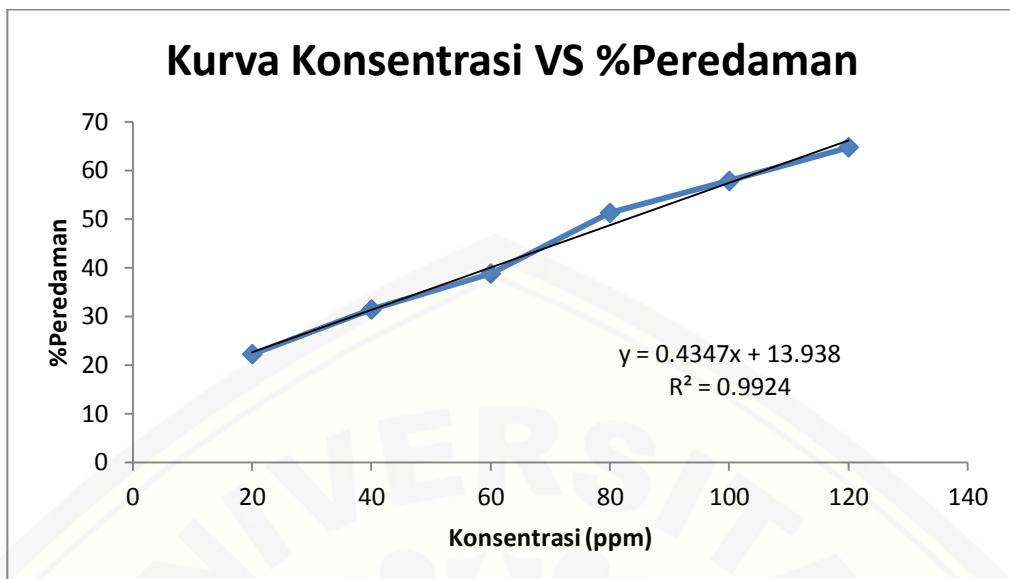
$$40 \text{ ppm} = \frac{0,882 - 0,605}{0,882} \times 100 \% = 31,405 \%$$

$$60 \text{ ppm} = \frac{0,882 - 0,540}{0,882} \times 100 \% = 38,775 \%$$

$$80 \text{ ppm} = \frac{0,882 - 0,430}{0,882} \times 100 \% = 51,247 \%$$

$$100 \text{ ppm} = \frac{0,882 - 0,372}{0,882} \times 100 \% = 57,823 \%$$

$$120 \text{ ppm} = \frac{0,882 - 0,311}{0,882} \times 100 \% = 64,739 \%$$



Persamaan regresi : $y = 0,4347x + 13,938$

$R^2 = 0,9924$

Perhitungan IC₅₀

$$50 = 0,4347x + 13,398$$

$$x = \frac{50 - 13,398}{0,4347}$$

$$x = 82,958$$

$$IC_{50} = 82,958 \text{ ppm}$$

$$\text{Rata-rata } IC_{50} = \frac{83,828 + 83,356 + 82,958}{3} = 83,381 \text{ ppm}$$

$$SD = 0,435$$

$$CV = 0,522 \%$$

Fraksi Air Daun Kopi : Kelopak Rosella (1 : 1)

Replikasi 1

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman
40	0,635	39,523
60	0,531	49,428
80	0,445	57,619
100	0,355	66,190
120	0,295	71,904
160	0,156	85,142

Absorbansi Kontrol = 1,050

Perhitungan % Peredaman

$$40 \text{ ppm} = \frac{1,050 - 0,635}{1,050} \times 100 \% = 39,523 \%$$

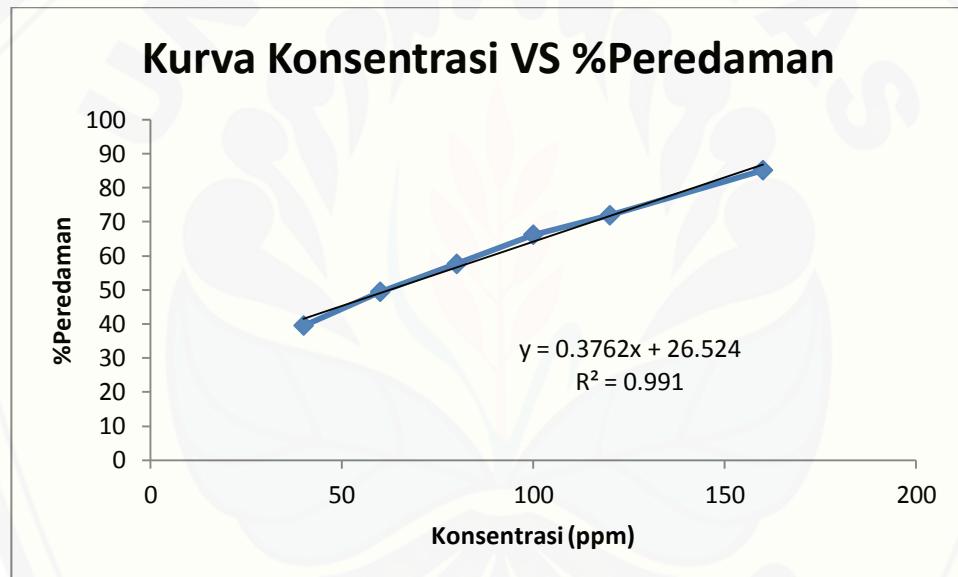
$$60 \text{ ppm} = \frac{1,050 - 0,531}{1,050} \times 100 \% = 49,428 \%$$

$$80 \text{ ppm} = \frac{1,050 - 0,445}{1,050} \times 100 \% = 57,619 \%$$

$$100 \text{ ppm} = \frac{1,050 - 0,355}{1,050} \times 100 \% = 66,190 \%$$

$$120 \text{ ppm} = \frac{1,050 - 0,295}{1,050} \times 100 \% = 71,904 \%$$

$$160 \text{ ppm} = \frac{1,050 - 0,156}{1,050} \times 100 \% = 85,142 \%$$



Persamaan regresi : $y = 0,3762x + 26,524$

$R^2 = 0,991$

Perhitungan IC₅₀

$$50 = 0,3762x + 26,524$$

$$x = \frac{50 - 26,524}{0,3762}$$

$$x = 62,403$$

$$IC_{50} = 62,403 \text{ ppm}$$

Replikasi 2

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman
40	0,640	39,047
60	0,529	49,619
80	0,445	57,619
100	0,365	65,238
120	0,277	73,619
160	0,152	85,523

Absorbansi Kontrol = 1,050

Perhitungan % Peredaman

$$40 \text{ ppm} = \frac{1,050 - 0,640}{1,050} \times 100 \% = 39,047 \%$$

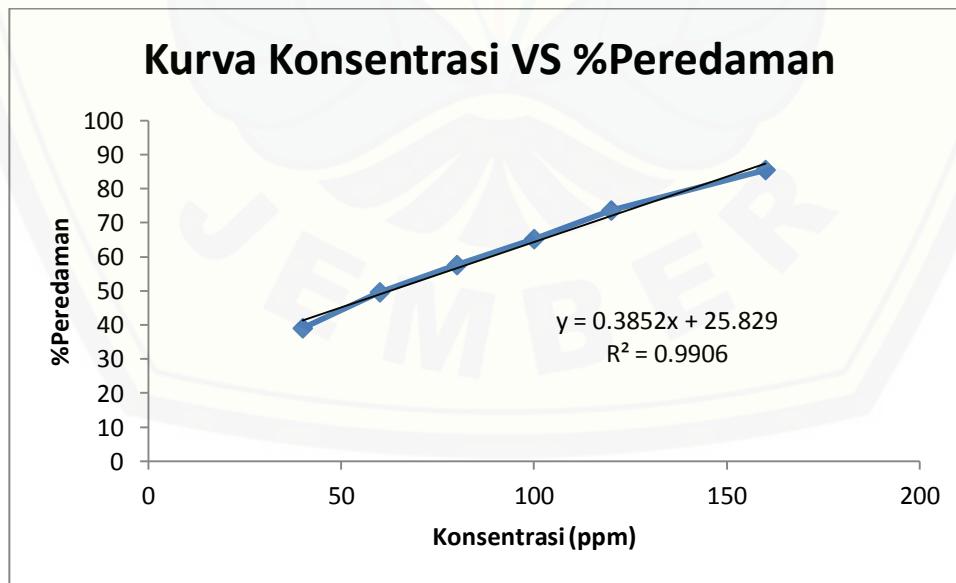
$$60 \text{ ppm} = \frac{1,050 - 0,529}{1,050} \times 100 \% = 49,619 \%$$

$$80 \text{ ppm} = \frac{1,050 - 0,445}{1,050} \times 100 \% = 57,619 \%$$

$$100 \text{ ppm} = \frac{1,050 - 0,365}{1,050} \times 100 \% = 65,238 \%$$

$$120 \text{ ppm} = \frac{1,050 - 0,277}{1,050} \times 100 \% = 73,619 \%$$

$$160 \text{ ppm} = \frac{1,050 - 0,152}{1,050} \times 100 \% = 85,523 \%$$



Persamaan regresi : $y = 0,3852x + 25,829$

$R^2 = 0,9906$

Perhitungan IC₅₀

$$50 = 0,3852x + 25,829$$

$$x = \frac{50 - 25,829}{0,3852}$$

$$x = 62,749$$

$$IC_{50} = 62,749 \text{ ppm}$$

Replikasi 3

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman
40	0,639	39,142
60	0,527	49,809
80	0,443	57,809
100	0,353	66,380
120	0,270	74,285
160	0,138	86,857

Absorbansi Kontrol = 1,050

Perhitungan % Peredaman

$$40 \text{ ppm} = \frac{1,050 - 0,639}{1,050} \times 100 \% = 39,142 \%$$

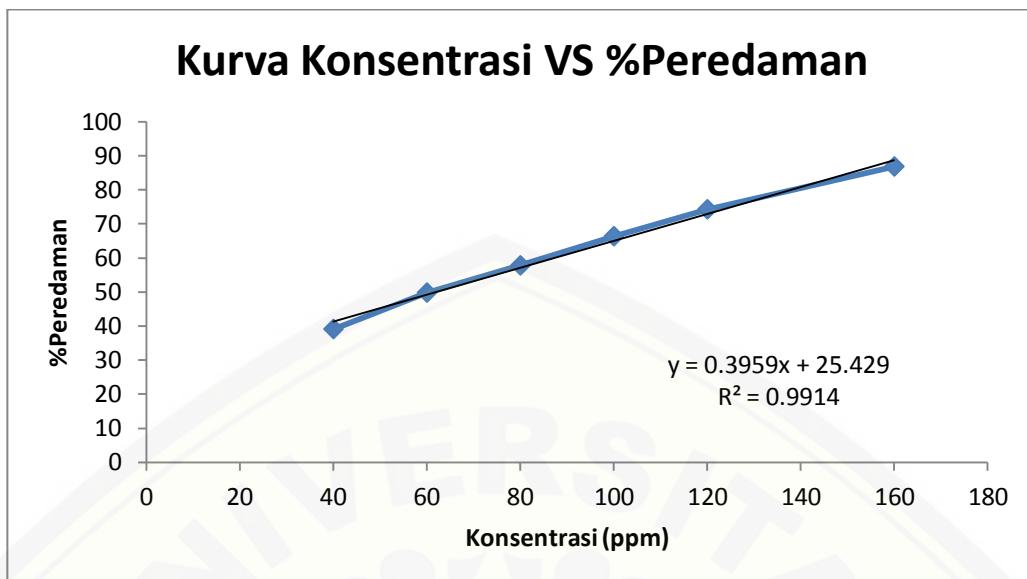
$$60 \text{ ppm} = \frac{1,050 - 0,527}{1,050} \times 100 \% = 49,809 \%$$

$$80 \text{ ppm} = \frac{1,050 - 0,443}{1,050} \times 100 \% = 57,809 \%$$

$$100 \text{ ppm} = \frac{1,050 - 0,353}{1,050} \times 100 \% = 66,380 \%$$

$$120 \text{ ppm} = \frac{1,050 - 0,270}{1,050} \times 100 \% = 74,285 \%$$

$$160 \text{ ppm} = \frac{1,050 - 0,138}{1,050} \times 100 \% = 86,857 \%$$



Persamaan regresi : $y = 0,3959x + 25,429$

$R^2 = 0,9914$

Perhitungan IC50

$$50 = 0,3959x + 25,429$$

$$x = \frac{50 - 25,429}{0,3959}$$

$$x = 62,063$$

$$IC_{50} = 62,063 \text{ ppm}$$

$$\text{Rata-rata } IC_{50} = \frac{62,402 + 62,749 + 62,063}{3} = 62,405 \text{ ppm}$$

$$SD = 0,342$$

$$CV = 0,549 \%$$

Fraksi Air Daun Kopi : Kelopak Rosella (2 : 1)

Replikasi 1

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman
20	0,680	30,256
40	0,594	39,076
60	0,455	53,333
80	0,356	63,487
100	0,256	73,743
120	0,187	80,820

Absorbansi Kontrol = 0,975

Perhitungan % Peredaman

$$20 \text{ ppm} = \frac{0,975 - 0,680}{0,975} \times 100 \% = 30,256 \%$$

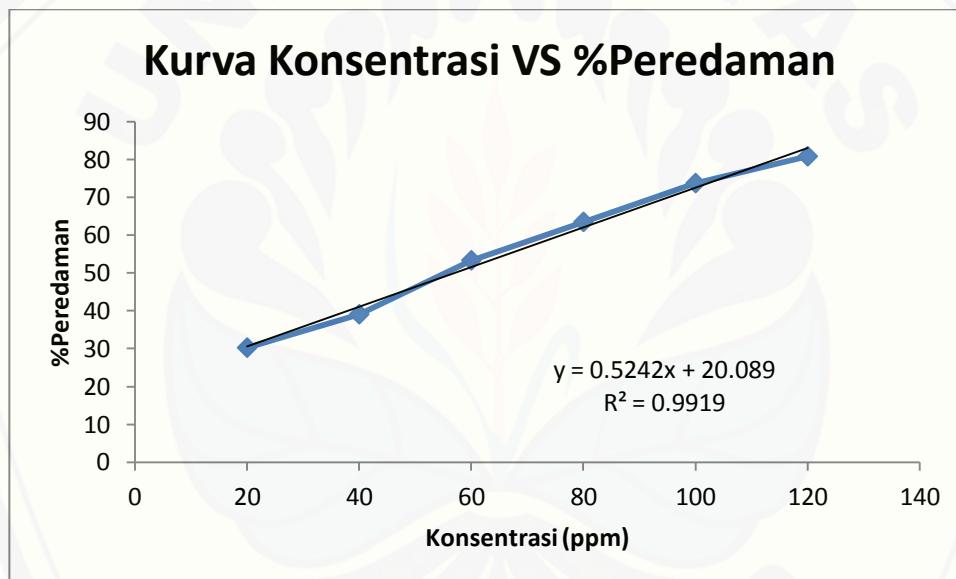
$$40 \text{ ppm} = \frac{0,975 - 0,594}{0,975} \times 100 \% = 39,076 \%$$

$$60 \text{ ppm} = \frac{0,975 - 0,455}{0,975} \times 100 \% = 53,333 \%$$

$$80 \text{ ppm} = \frac{0,975 - 0,356}{0,975} \times 100 \% = 63,487 \%$$

$$100 \text{ ppm} = \frac{0,975 - 0,256}{0,975} \times 100 \% = 73,743 \%$$

$$120 \text{ ppm} = \frac{0,975 - 0,187}{0,975} \times 100 \% = 80,820 \%$$



Persamaan regresi : $y = 0,5242x + 20,089$

$$R^2 = 0,9919$$

Perhitungan IC₅₀

$$50 = 0,5242x + 20,089$$

$$x = \frac{50 - 20,089}{0,5242}$$

$$x = 57,060$$

$$IC_{50} = 57,060 \text{ ppm}$$

Replikasi 2

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman
20	0,698	28,410
40	0,590	39,487
60	0,453	53,538
80	0,354	63,692
100	0,248	74,564
120	0,184	81,128

Absorbansi Kontrol = 0,975

Perhitungan % Peredaman

$$20 \text{ ppm} = \frac{0,975 - 0,698}{0,975} \times 100 \% = 28,410 \%$$

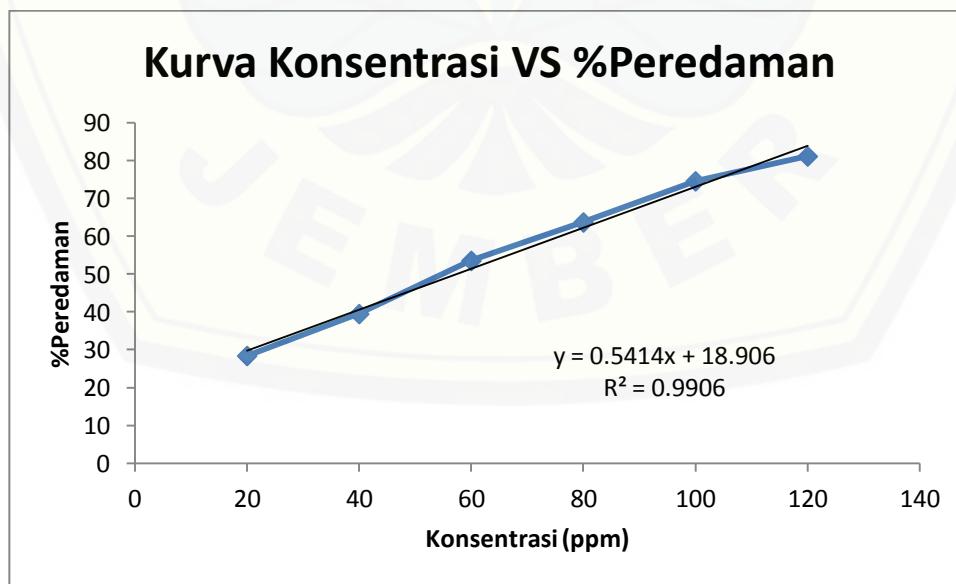
$$40 \text{ ppm} = \frac{0,975 - 0,590}{0,975} \times 100 \% = 39,487 \%$$

$$60 \text{ ppm} = \frac{0,975 - 0,453}{0,975} \times 100 \% = 53,538 \%$$

$$80 \text{ ppm} = \frac{0,975 - 0,354}{0,975} \times 100 \% = 63,692 \%$$

$$100 \text{ ppm} = \frac{0,975 - 0,248}{0,975} \times 100 \% = 75,564 \%$$

$$120 \text{ ppm} = \frac{0,975 - 0,184}{0,975} \times 100 \% = 81,128 \%$$



Persamaan regresi : $y = 0,5414x + 18,906$

$R^2 = 0,9906$

Perhitungan IC₅₀

$$50 = 0,5414x + 18,906$$

$$x = \frac{50 - 18,906}{0,5414}$$

$$x = 57,432$$

$$IC_{50} = 57,432 \text{ ppm}$$

Replikasi 3

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman
20	0,702	28,000
40	0,587	39,794
60	0,449	53,948
80	0,350	64,102
100	0,243	75,076
120	0,175	82,051

$$\text{Absorbansi Kontrol} = 0,975$$

Perhitungan % Peredaman

$$20 \text{ ppm} = \frac{0,975 - 0,702}{0,975} \times 100 \% = 28,000 \%$$

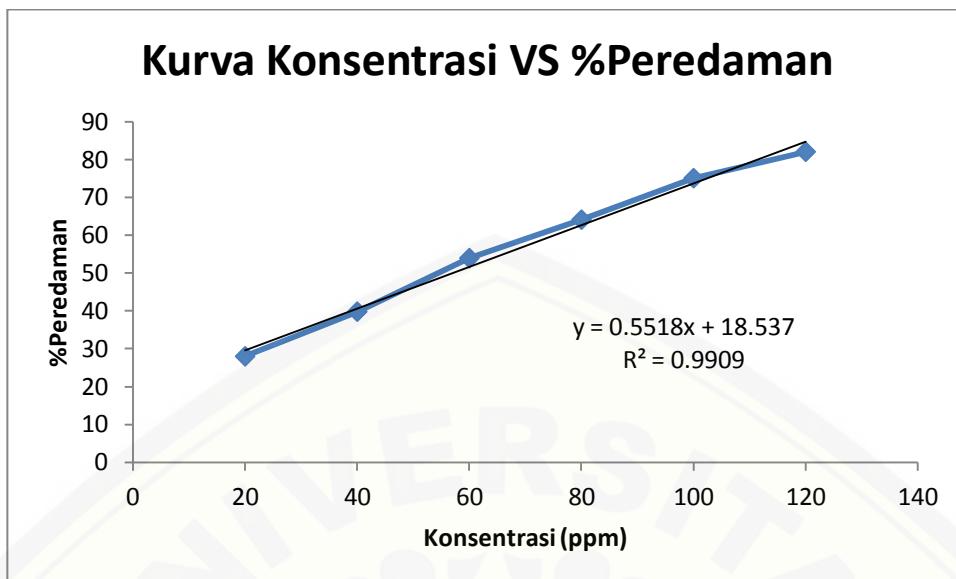
$$40 \text{ ppm} = \frac{0,975 - 0,587}{0,975} \times 100 \% = 39,794 \%$$

$$60 \text{ ppm} = \frac{0,975 - 0,449}{0,975} \times 100 \% = 53,948 \%$$

$$80 \text{ ppm} = \frac{0,975 - 0,350}{0,975} \times 100 \% = 64,102 \%$$

$$100 \text{ ppm} = \frac{0,975 - 0,243}{0,975} \times 100 \% = 75,076 \%$$

$$120 \text{ ppm} = \frac{0,975 - 0,175}{0,975} \times 100 \% = 82,051 \%$$



Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman
20	0,899	27,849
40	0,769	38,282
60	0,636	48,956
80	0,521	58,186
100	0,434	65,168
120	0,348	72,070

Absorbansi Kontrol = 1,246

Perhitungan % Peredaman

$$20 \text{ ppm} = \frac{1,246 - 0,899}{1,246} \times 100 \% = 27,849 \%$$

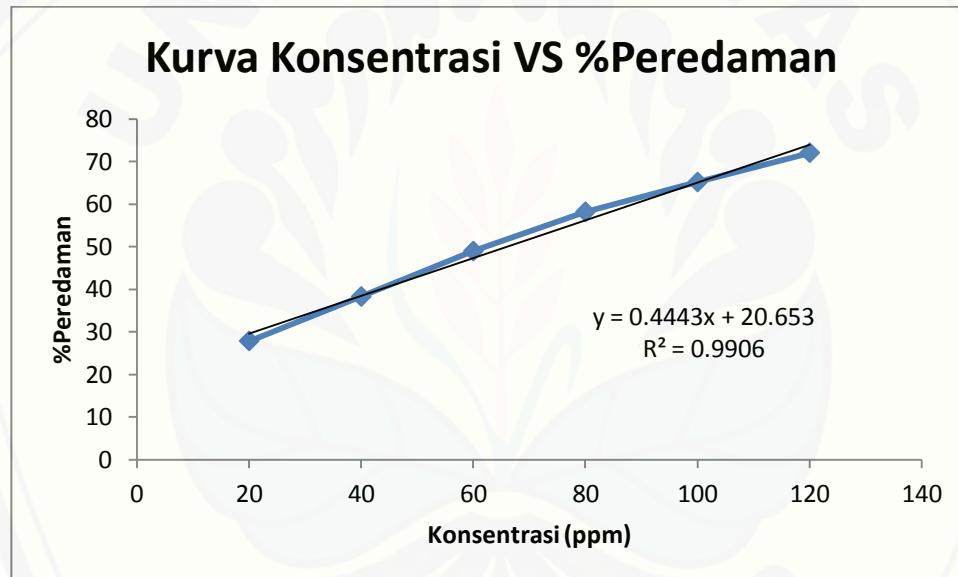
$$40 \text{ ppm} = \frac{1,246 - 0,769}{1,246} \times 100 \% = 38,282 \%$$

$$60 \text{ ppm} = \frac{1,246 - 0,636}{1,246} \times 100 \% = 48,956 \%$$

$$80 \text{ ppm} = \frac{1,246 - 0,521}{1,246} \times 100 \% = 58,186 \%$$

$$100 \text{ ppm} = \frac{1,246 - 0,434}{1,246} \times 100 \% = 65,168 \%$$

$$120 \text{ ppm} = \frac{1,246 - 0,348}{1,246} \times 100 \% = 72,070 \%$$



Persamaan regresi : $y = 0,4443x + 20,653$

$R^2 = 0,9906$

Perhitungan IC₅₀

$$50 = 0,4443x + 20,653$$

$$x = \frac{50 - 20,653}{0,4443}$$

$$x = 66,052$$

$$IC_{50} = 66,052 \text{ ppm}$$

Replikasi 2

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman
20	0,898	27,929
40	0,767	38,443
60	0,636	48,956
80	0,521	58,186
100	0,432	65,329
120	0,346	72,231

Absorbansi Kontrol = 1,246

Perhitungan % Peredaman

$$20 \text{ ppm} = \frac{1,246 - 0,898}{1,246} \times 100 \% = 27,929 \%$$

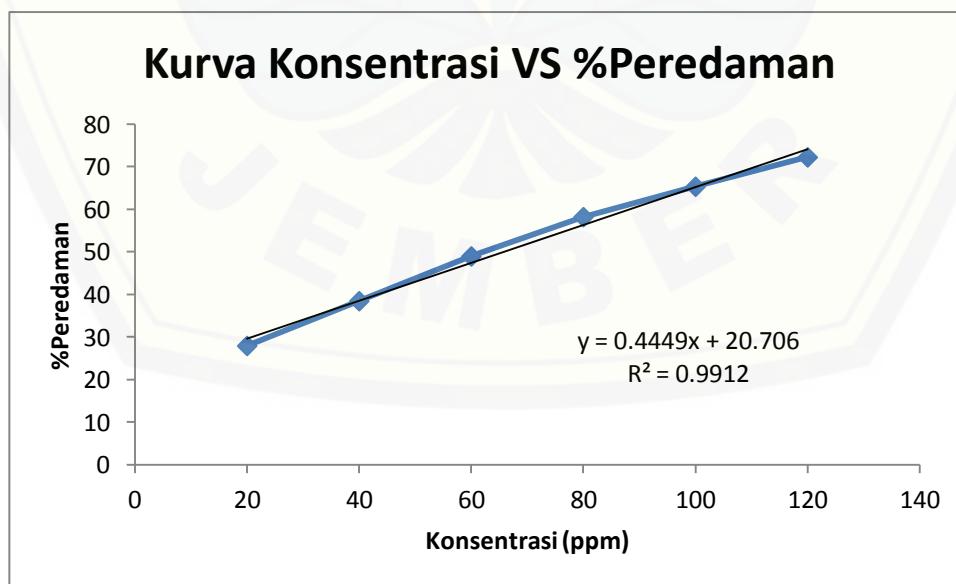
$$40 \text{ ppm} = \frac{1,246 - 0,767}{1,246} \times 100 \% = 38,443 \%$$

$$60 \text{ ppm} = \frac{1,246 - 0,636}{1,246} \times 100 \% = 48,956 \%$$

$$80 \text{ ppm} = \frac{1,246 - 0,521}{1,246} \times 100 \% = 58,186 \%$$

$$100 \text{ ppm} = \frac{1,246 - 0,432}{1,246} \times 100 \% = 65,329 \%$$

$$120 \text{ ppm} = \frac{1,246 - 0,346}{1,246} \times 100 \% = 72,231 \%$$



Persamaan regresi : $y = 0,4449x + 20,706$

$R^2 = 0,9912$

Perhitungan IC₅₀

$$50 = 0,4449x + 20,706$$

$$x = \frac{50 - 20,706}{0,4449}$$

$$x = 65,844$$

$$IC_{50} = 65,844 \text{ ppm}$$

Replikasi 3

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman
20	0,893	28,330
40	0,762	38,844
60	0,629	49,518
80	0,519	58,346
100	0,429	65,569
120	0,347	72,150

$$\text{Absorbansi Kontrol} = 1,246$$

Perhitungan % Peredaman

$$20 \text{ ppm} = \frac{1,246 - 0,893}{1,246} \times 100 \% = 28,330 \%$$

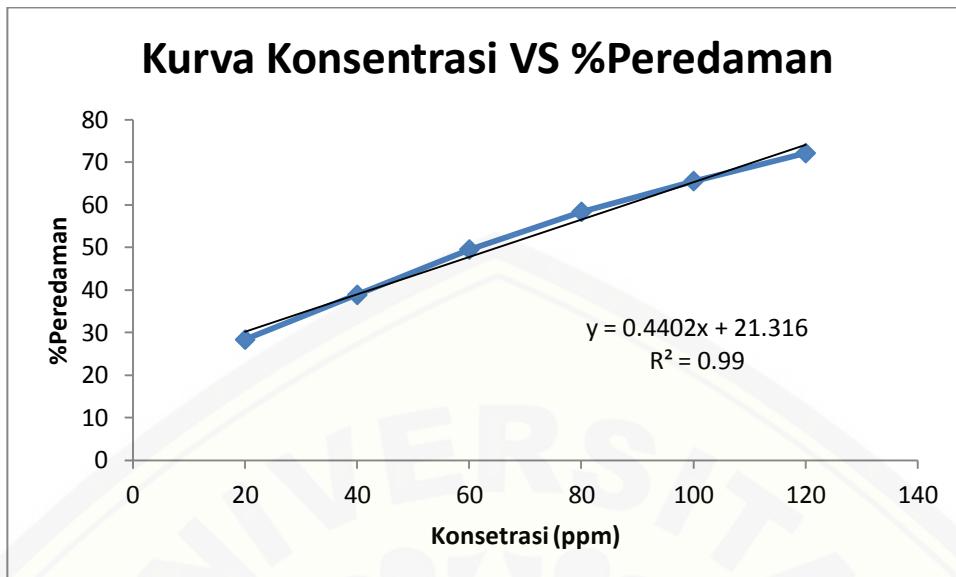
$$40 \text{ ppm} = \frac{1,246 - 0,762}{1,246} \times 100 \% = 38,844 \%$$

$$60 \text{ ppm} = \frac{1,246 - 0,629}{1,246} \times 100 \% = 49,518 \%$$

$$80 \text{ ppm} = \frac{1,246 - 0,519}{1,246} \times 100 \% = 58,346 \%$$

$$100 \text{ ppm} = \frac{1,246 - 0,429}{1,246} \times 100 \% = 65,569 \%$$

$$120 \text{ ppm} = \frac{1,246 - 0,347}{1,246} \times 100 \% = 72,150 \%$$



Persamaan regresi : $y = 0,4402x + 21,316$

$R^2 = 0,99$

Perhitungan IC50

$$50 = 0,4402x + 21,316$$

$$x = \frac{50 - 21,316}{0,4402}$$

$$x = 65,161$$

$$IC_{50} = 65,161 \text{ ppm}$$

$$\text{Rata-rata } IC_{50} = \frac{65,161 + 65,844 + 66,052}{3} = 65,685 \text{ ppm}$$

$$SD = 0,466$$

$$CV = 0,709 \%$$

Fraksi Eter Daun Kopi : Kelopak Rosella (1 : 1)

Replikasi 1

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman
20	0,848	26,643
40	0,729	36,937
60	0,629	45,588
80	0,530	54,152
100	0,406	64,878
120	0,287	75,173

Absorbansi Kontrol = 1,156

Perhitungan % Peredaman

$$20 \text{ ppm} = \frac{1,156 - 0,848}{1,156} \times 100 \% = 26,643 \%$$

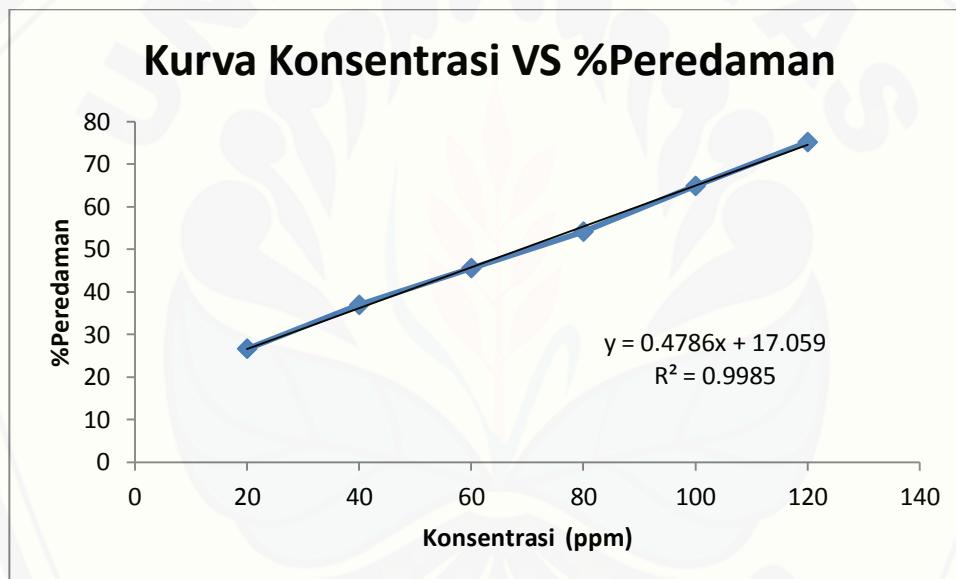
$$40 \text{ ppm} = \frac{1,156 - 0,729}{1,156} \times 100 \% = 36,937 \%$$

$$60 \text{ ppm} = \frac{1,156 - 0,629}{1,156} \times 100 \% = 45,588 \%$$

$$80 \text{ ppm} = \frac{1,156 - 0,530}{1,156} \times 100 \% = 54,152 \%$$

$$100 \text{ ppm} = \frac{1,156 - 0,406}{1,156} \times 100 \% = 64,878 \%$$

$$120 \text{ ppm} = \frac{1,156 - 0,287}{1,156} \times 100 \% = 75,173 \%$$



Persamaan regresi : $y = 0,4786x + 17,059$

$R^2 = 0,9985$

Perhitungan IC₅₀

$$50 = 0,4786x + 17,059$$

$$x = \frac{50 - 17,059}{0,4786}$$

$$x = 68,827$$

$$IC_{50} = 68,827 \text{ ppm}$$

Replikasi 2

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman
20	0,855	26,038
40	0,741	35,899
60	0,638	44,809
80	0,539	53,373
100	0,417	63,927
120	0,296	74,394

Absorbansi Kontrol = 1,156

Perhitungan % Peredaman

$$20 \text{ ppm} = \frac{1,156 - 0,855}{1,156} \times 100 \% = 26,038 \%$$

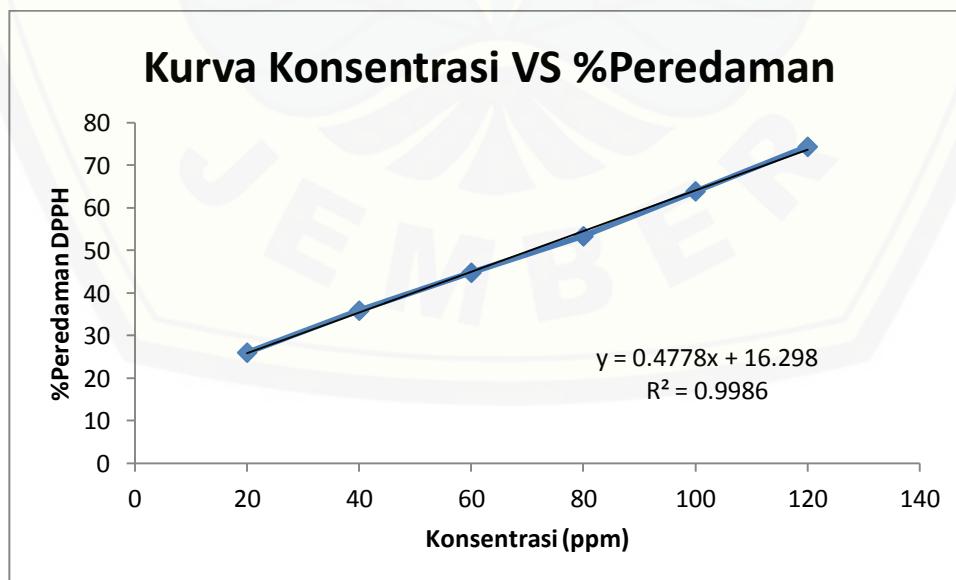
$$40 \text{ ppm} = \frac{1,156 - 0,741}{1,156} \times 100 \% = 35,899 \%$$

$$60 \text{ ppm} = \frac{1,156 - 0,638}{1,156} \times 100 \% = 44,809 \%$$

$$80 \text{ ppm} = \frac{1,156 - 0,539}{1,156} \times 100 \% = 53,373 \%$$

$$100 \text{ ppm} = \frac{1,156 - 0,417}{1,156} \times 100 \% = 63,927 \%$$

$$120 \text{ ppm} = \frac{1,156 - 0,296}{1,156} \times 100 \% = 74,394 \%$$



Persamaan regresi : $y = 0,4778x + 16,298$

$R^2 = 0,9986$

Perhitungan IC₅₀

$$50 = 0,4778x + 16,298$$

$$x = \frac{50 - 16,298}{0,4778}$$

$$x = 70,535$$

$$IC_{50} = 70,535 \text{ ppm}$$

Replikasi 3

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman
20	0,851	26,384
40	0,735	38,418
60	0,634	45,155
80	0,535	53,719
100	0,412	64,359
120	0,290	74,913

$$\text{Absorbansi Kontrol} = 1,156$$

Perhitungan % Peredaman

$$20 \text{ ppm} = \frac{1,156 - 0,851}{1,156} \times 100 \% = 26,384 \%$$

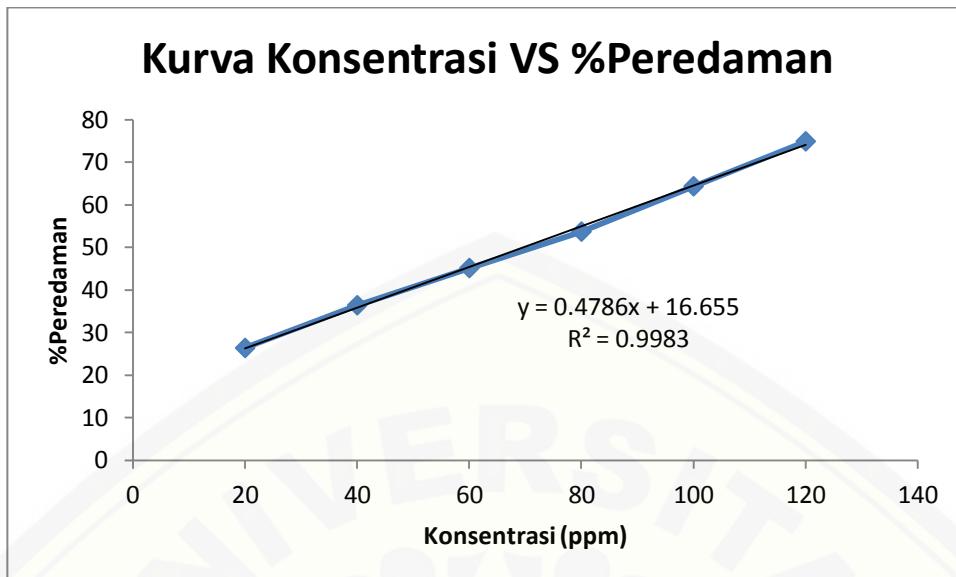
$$40 \text{ ppm} = \frac{1,156 - 0,735}{1,156} \times 100 \% = 36,418 \%$$

$$60 \text{ ppm} = \frac{1,156 - 0,634}{1,156} \times 100 \% = 45,155 \%$$

$$80 \text{ ppm} = \frac{1,156 - 0,535}{1,156} \times 100 \% = 53,719 \%$$

$$100 \text{ ppm} = \frac{1,156 - 0,412}{1,156} \times 100 \% = 64,359 \%$$

$$120 \text{ ppm} = \frac{1,156 - 0,290}{1,156} \times 100 \% = 74,913 \%$$



Persamaan regresi : $y = 0,4786x + 16,655$

$R^2 = 0,9983$

Perhitungan IC₅₀

$$50 = 0,4786x + 16,655$$

$$x = \frac{50 - 16,655}{0,4786}$$

$$x = 69,671$$

$$IC_{50} = 69,671 \text{ ppm}$$

$$\text{Rata-rata } IC_{50} = \frac{69,671 + 70,535 + 68,827}{3} = 69,678 \text{ ppm}$$

$$SD = 0,853$$

$$CV = 0,853 \%$$

Fraksi Eter Daun Kopi : Kelopak Rosella (2 : 1)

Replikasi 1

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman
20	0,875	23,178
40	0,734	35,557
60	0,635	44,249
80	0,520	54,345
100	0,385	66,198
120	0,298	73,836

Absorbansi Kontrol = 1,139

Perhitungan % Peredaman

$$20 \text{ ppm} = \frac{1,139 - 0,875}{1,139} \times 100 \% = 23,178 \%$$

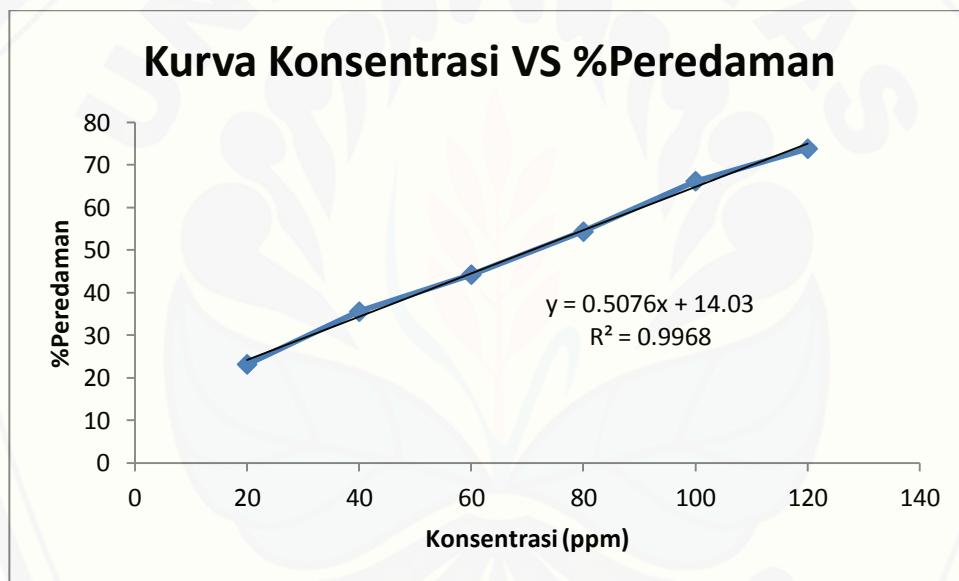
$$40 \text{ ppm} = \frac{1,139 - 0,734}{1,139} \times 100 \% = 35,557 \%$$

$$60 \text{ ppm} = \frac{1,139 - 0,635}{1,139} \times 100 \% = 44,249 \%$$

$$80 \text{ ppm} = \frac{1,139 - 0,520}{1,139} \times 100 \% = 54,345 \%$$

$$100 \text{ ppm} = \frac{1,139 - 0,385}{1,139} \times 100 \% = 66,198 \%$$

$$120 \text{ ppm} = \frac{1,139 - 0,298}{1,139} \times 100 \% = 73,836 \%$$



Persamaan regresi : $y = 0,5076x + 14,03$

$$R^2 = 0,9968$$

Perhitungan IC₅₀

$$50 = 0,5076x + 14,03$$

$$x = \frac{50 - 14,03}{0,5076}$$

$$x = 70,862$$

$$IC_{50} = 70,862 \text{ ppm}$$

Replikasi 2

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman
20	0,876	22,819
40	0,732	35,506
60	0,636	43,964
80	0,520	54,185
100	0,386	65,991
120	0,299	73,656

Absorbansi Kontrol = 1,135

Perhitungan % Peredaman

$$20 \text{ ppm} = \frac{1,135 - 0,876}{1,135} \times 100 \% = 22,819 \%$$

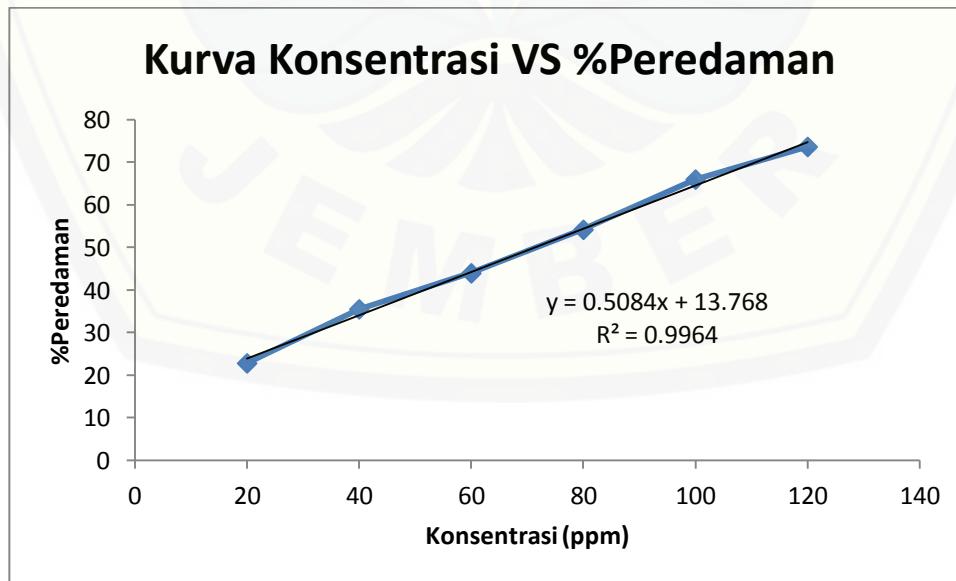
$$40 \text{ ppm} = \frac{1,135 - 0,732}{1,135} \times 100 \% = 35,506 \%$$

$$60 \text{ ppm} = \frac{1,135 - 0,636}{1,135} \times 100 \% = 43,964 \%$$

$$80 \text{ ppm} = \frac{1,135 - 0,520}{1,135} \times 100 \% = 54,185 \%$$

$$100 \text{ ppm} = \frac{1,135 - 0,386}{1,135} \times 100 \% = 65,991 \%$$

$$120 \text{ ppm} = \frac{1,135 - 0,299}{1,135} \times 100 \% = 73,656 \%$$



Persamaan regresi : $y = 0,5084x + 13,768$

$R^2 = 0,9964$

Perhitungan IC₅₀

$$50 = 0,5084x + 13,768$$

$$x = \frac{50 - 13,768}{0,5084}$$

$$x = 71,266$$

$$IC_{50} = 71,266 \text{ ppm}$$

Replikasi 3

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman
20	0,874	22,995
40	0,730	35,682
60	0,636	43,964
80	0,520	54,185
100	0,386	65,991
120	0,299	73,656

$$\text{Absorbansi Kontrol} = 1,135$$

Perhitungan % Peredaman

$$20 \text{ ppm} = \frac{1,135 - 0,874}{1,135} \times 100 \% = 22,995 \%$$

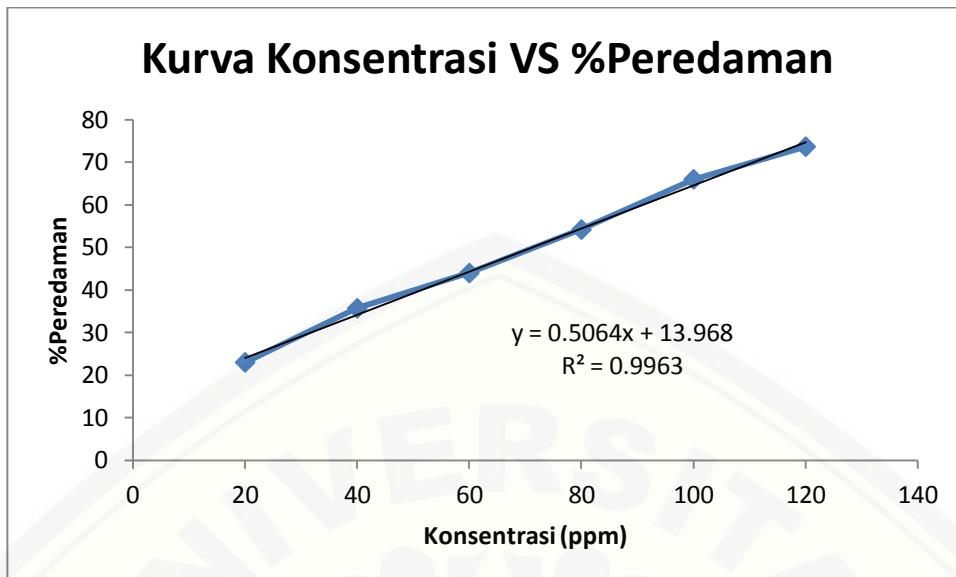
$$40 \text{ ppm} = \frac{1,135 - 0,730}{1,135} \times 100 \% = 35,682 \%$$

$$60 \text{ ppm} = \frac{1,135 - 0,636}{1,135} \times 100 \% = 43,964 \%$$

$$80 \text{ ppm} = \frac{1,135 - 0,520}{1,135} \times 100 \% = 54,185 \%$$

$$100 \text{ ppm} = \frac{1,135 - 0,386}{1,135} \times 100 \% = 65,991 \%$$

$$120 \text{ ppm} = \frac{1,135 - 0,299}{1,135} \times 100 \% = 73,656 \%$$



Persamaan regresi : $y = 0,5064x + 13,968$

$R^2 = 0,9963$

Perhitungan IC₅₀

$$50 = 0,5064x + 13,968$$

$$x = \frac{50 - 13,968}{0,5064}$$

$$x = 71,153$$

$$IC_{50} = 71,153 \text{ ppm}$$

$$\text{Rata-rata } IC_{50} = \frac{70,862 + 71,266 + 71,153}{3} = 71,094 \text{ ppm}$$

$$SD = 0,087$$

$$CV = 0,123 \%$$

Vitamin C

Replikasi 1

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman
1	0,774	19,792
2	0,631	34,611
3	0,534	44,663
4	0,415	56,994
5	0,253	73,782
6	0,106	89,015

Absorbansi Kontrol = 0,965

Perhitungan % Peredaman

$$1 \text{ ppm} = \frac{0,965 - 0,774}{0,965} \times 100 \% = 19,792 \%$$

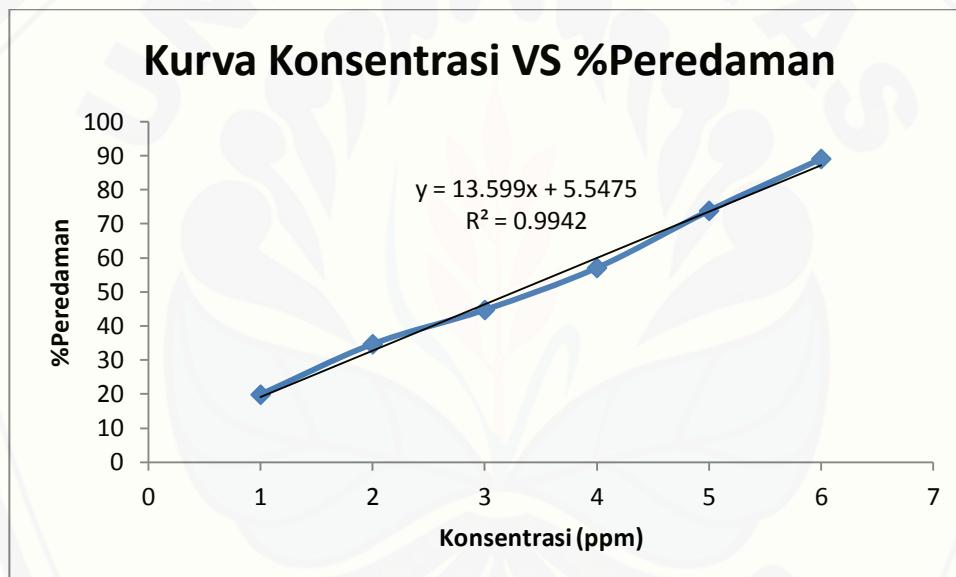
$$2 \text{ ppm} = \frac{0,965 - 0,631}{0,965} \times 100 \% = 34,611 \%$$

$$3 \text{ ppm} = \frac{0,965 - 0,534}{0,965} \times 100 \% = 44,663 \%$$

$$4 \text{ ppm} = \frac{0,965 - 0,415}{0,965} \times 100 \% = 56,994 \%$$

$$5 \text{ ppm} = \frac{0,965 - 0,253}{0,965} \times 100 \% = 73,782 \%$$

$$6 \text{ ppm} = \frac{0,965 - 0,106}{0,965} \times 100 \% = 89,015 \%$$



Persamaan regresi : $y = 13,599x + 5,5475$

$R^2 = 0,9942$

Perhitungan IC₅₀

$$50 = 13,599x + 5,5475$$

$$x = \frac{50 - 5,5475}{13,599}$$

$$x = 3,268$$

$$IC_{50} = 3,268 \text{ ppm}$$

Replikasi 2

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman
1	0,770	20,207
2	0,636	34,093
3	0,529	45,181
4	0,419	56,580
5	0,248	74,300
6	0,109	88,704

Absorbansi Kontrol = 0,965

Perhitungan % Peredaman

$$1 \text{ ppm} = \frac{0,965 - 0,770}{0,965} \times 100 \% = 20,207 \%$$

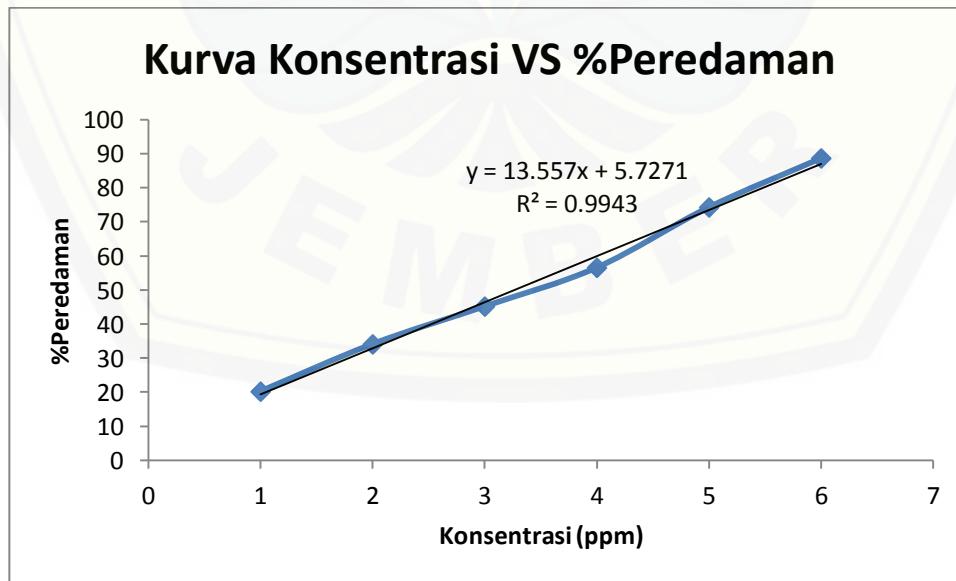
$$2 \text{ ppm} = \frac{0,965 - 0,636}{0,965} \times 100 \% = 34,093 \%$$

$$3 \text{ ppm} = \frac{0,965 - 0,529}{0,965} \times 100 \% = 45,181 \%$$

$$4 \text{ ppm} = \frac{0,965 - 0,419}{0,965} \times 100 \% = 56,580 \%$$

$$5 \text{ ppm} = \frac{0,965 - 0,248}{0,965} \times 100 \% = 74,300 \%$$

$$6 \text{ ppm} = \frac{0,965 - 0,109}{0,965} \times 100 \% = 88,704 \%$$



Persamaan regresi : $y = 13,557x + 5,7271$

$R^2 = 0,9943$

Perhitungan IC₅₀

$$50 = 13,557x + 5,7271$$

$$x = \frac{50 - 5,7271}{13,557}$$

$$x = 3,265$$

$$IC_{50} = 3,265 \text{ ppm}$$

Replikasi 3

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman
1	0,772	20,000
2	0,632	34,507
3	0,532	44,870
4	0,416	56,891
5	0,252	73,886
6	0,103	89,326

$$\text{Absorbansi Kontrol} = 0,965$$

Perhitungan % Peredaman

$$1 \text{ ppm} = \frac{0,965 - 0,772}{0,965} \times 100 \% = 20,000 \%$$

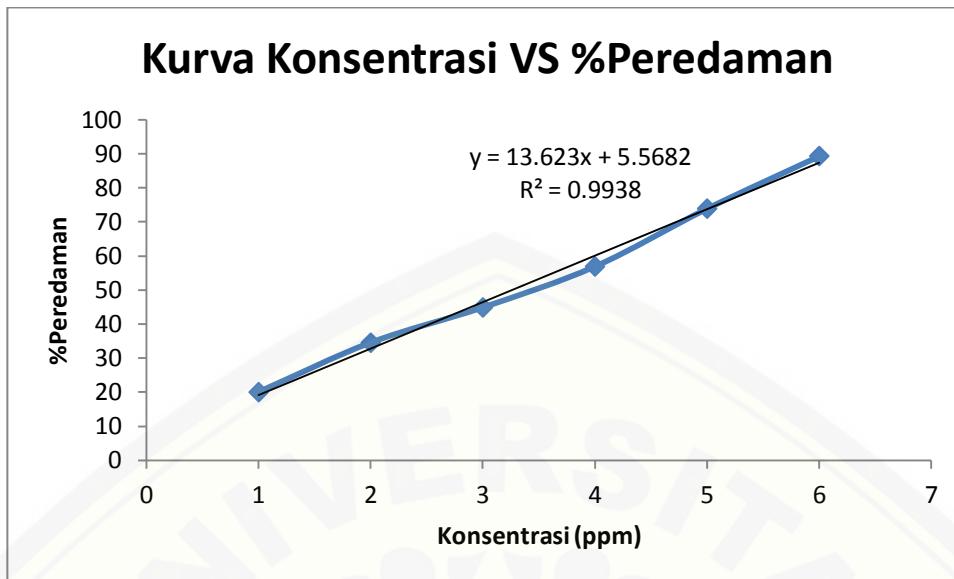
$$2 \text{ ppm} = \frac{0,965 - 0,632}{0,965} \times 100 \% = 34,507 \%$$

$$3 \text{ ppm} = \frac{0,965 - 0,532}{0,965} \times 100 \% = 44,870 \%$$

$$4 \text{ ppm} = \frac{0,965 - 0,416}{0,965} \times 100 \% = 56,891 \%$$

$$5 \text{ ppm} = \frac{0,965 - 0,252}{0,965} \times 100 \% = 73,886 \%$$

$$6 \text{ ppm} = \frac{0,965 - 0,103}{0,965} \times 100 \% = 89,326 \%$$



Persamaan regresi : $y = 13,623x + 5,5682$

$R^2 = 0,9938$

Perhitungan IC₅₀

$$50 = 13,623x + 5,5682$$

$$x = \frac{50 - 5,5682}{13,623}$$

$$x = 3,261$$

$$IC_{50} = 3,261 \text{ ppm}$$

$$\text{Rata-rata } IC_{50} = \frac{3,261 + 3,265 + 3,268}{3} = 3,265 \text{ ppm}$$

$$SD = 0,003$$

$$CV = 0,111 \%$$

Lampiran M. Hasil Analisa Data

Uji Normalitas

Tests of Normality

Sample	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IC50 Vitamin C	.204	3	.	.993	3	.843
Fraksi Air Kopi	.306	3	.	.905	3	.402
Fraksi Air Rosella	.247	3	.	.969	3	.662
Fraksi Eter Kopi	.254	3	.	.963	3	.632
Fraksi Eter Rosella	.302	3	.	.910	3	.418
Fraksi Air Rosella Kopi 6 : 3	.189	3	.	.998	3	.906
Fraksi Eter Rosella Kopi 6 :3	.300	3	.	.913	3	.430
Fraksi Air Rosella Kopi 4,5 :4,5	.175	3	.	1.000	3	.990
Fraksi Eter Rosella Kopi 4,5 :4,5	.176	3	.	1.000	3	.988
Fraksi Air Rosella Kopi 3 : 6	.352	3	.	.825	3	.176
Fraksi Eter Rosella Kopi 3 : 6	.279	3	.	.939	3	.524

a. Lilliefors Significance Correction

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data normal.

Uji Homogenitas dan ANOVA Satu Arah

Test of Homogeneity of Variances

IC50

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.002	10	22	.084

Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa data homogen, sehingga dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA.

Uji ANOVA

ANOVA					
IC50					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	97587.428	10	9758.743	3.915E4	.000
Within Groups	5.483	22	.249		
Total	97592.911	32			

Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan ($p<0,05$), sehingga dapat dilanjutkan uji *Pos Hoc LSD*.

Uji LSD

Multiple Comparisons

(I) Sample	(J) Sample	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Vitamin C	Fraksi Air Kopi	-22.935333*	.407628	.000	-23.78070	-22.08996
	Fraksi Air Rosella	227.295333*	.407628	.000	-228.14070	-226.44996
	Fraksi Eter Kopi	-70.055000*	.407628	.000	-70.90037	-69.20963
	Fraksi Eter Rosella	-59.141667*	.407628	.000	-59.98704	-58.29630
	Fraksi Air Rosella Kopi 6 : 3	-80.115000*	.407628	.000	-80.96037	-79.26963
	Fraksi Eter Rosella Kopi 6 : 3	-62.420000*	.407628	.000	-63.26537	-61.57463

	Fraksi Air Rosella Kopi 4,5 :4,5	-59.139333*	.407628	.000	-59.98470	-58.29396
	Fraksi Eter Rosella Kopi 4,5 :4,5	-66.412333*	.407628	.000	-67.25770	-65.56696
	Fraksi Air Rosella Kopi 3 : 6	-53.904333*	.407628	.000	-54.74970	-53.05896
	Fraksi Eter Rosella Kopi 3 : 6	-67.828000*	.407628	.000	-68.67337	-66.98263
Fraksi Air Kopi	Vitamin C	22.935333*	.407628	.000	22.08996	23.78070
	Fraksi Air Rosella	204.360000*	.407628	.000	-205.20537	-203.51463
	Fraksi Eter Kopi	-47.119667*	.407628	.000	-47.96504	-46.27430
	Fraksi Eter Rosella	-36.206333*	.407628	.000	-37.05170	-35.36096
	Fraksi Air Rosella Kopi 6 : 3	-57.179667*	.407628	.000	-58.02504	-56.33430
	Fraksi Eter Rosella Kopi 6 :3	-39.484667*	.407628	.000	-40.33004	-38.63930
	Fraksi Air Rosella Kopi 4,5 :4,5	-36.204000*	.407628	.000	-37.04937	-35.35863
	Fraksi Eter Rosella Kopi 4,5 :4,5	-43.477000*	.407628	.000	-44.32237	-42.63163
	Fraksi Air Rosella Kopi 3 : 6	-30.969000*	.407628	.000	-31.81437	-30.12363
	Fraksi Eter Rosella Kopi 3 : 6	-44.892667*	.407628	.000	-45.73804	-44.04730
Fraksi Air Rosella	Vitamin C	227.295333*	.407628	.000	226.44996	228.14070
	Fraksi Air Kopi	204.360000*	.407628	.000	203.51463	205.20537
	Fraksi Eter Kopi	157.240333*	.407628	.000	156.39496	158.08570
	Fraksi Eter Rosella	168.153667*	.407628	.000	167.30830	168.99904

	Fraksi Air Rosella Kopi 6 : 3	147.180333*	.407628	.000	146.33496	148.02570
	Fraksi Eter Rosella Kopi 6 : 3	164.875333*	.407628	.000	164.02996	165.72070
	Fraksi Air Rosella Kopi 4,5 :4,5	168.156000*	.407628	.000	167.31063	169.00137
	Fraksi Eter Rosella Kopi 4,5 :4,5	160.883000*	.407628	.000	160.03763	161.72837
	Fraksi Air Rosella Kopi 3 : 6	173.391000*	.407628	.000	172.54563	174.23637
	Fraksi Eter Rosella Kopi 3 : 6	159.467333*	.407628	.000	158.62196	160.31270
Fraksi Eter Kopi	Vitamin C	70.055000*	.407628	.000	69.20963	70.90037
	Fraksi Air Kopi	47.119667*	.407628	.000	46.27430	47.96504
	Fraksi Air Rosella	-157.240333*	.407628	.000	-158.08570	-156.39496
	Fraksi Eter Rosella	10.913333*	.407628	.000	10.06796	11.75870
	Fraksi Air Rosella Kopi 6 : 3	-10.060000*	.407628	.000	-10.90537	-9.21463
	Fraksi Eter Rosella Kopi 6 : 3	7.635000*	.407628	.000	6.78963	8.48037
	Fraksi Air Rosella Kopi 4,5 :4,5	10.915667*	.407628	.000	10.07030	11.76104
	Fraksi Eter Rosella Kopi 4,5 :4,5	3.642667*	.407628	.000	2.79730	4.48804
	Fraksi Air Rosella Kopi 3 : 6	16.150667*	.407628	.000	15.30530	16.99604
	Fraksi Eter Rosella Kopi 3 : 6	2.227000*	.407628	.000	1.38163	3.07237
Fraksi Eter Rosella	Vitamin C	59.141667*	.407628	.000	58.29630	59.98704
	Fraksi Air Kopi	36.206333*	.407628	.000	35.36096	37.05170
	Fraksi Air Rosella	-168.153667*	.407628	.000	-168.99904	-167.30830

Fraksi Eter Kopi	-10.913333*	.407628	.000	-11.75870	-10.06796
Fraksi Air Rosella Kopi 6 : 3	-20.973333*	.407628	.000	-21.81870	-20.12796
Fraksi Eter Rosella Kopi 6 :3	-3.278333*	.407628	.000	-4.12370	-2.43296
Fraksi Air Rosella Kopi 4,5 :4,5	.002333	.407628	.002	-.84304	.84770
Fraksi Eter Rosella Kopi 4,5 :4,5	-7.270667*	.407628	.000	-8.11604	-6.42530
Fraksi Air Rosella Kopi 3 : 6	5.237333*	.407628	.000	4.39196	6.08270
Fraksi Eter Rosella Kopi 3 : 6	-8.686333*	.407628	.000	-9.53170	-7.84096
Fraksi Air Rosella Vitamin C Kopi 6 : 3	80.115000*	.407628	.000	79.26963	80.96037
Fraksi Air Kopi	57.179667*	.407628	.000	56.33430	58.02504
Fraksi Air Rosella	147.180333*	.407628	.000	-148.02570	-146.33496
Fraksi Eter Kopi	10.060000*	.407628	.000	9.21463	10.90537
Fraksi Eter Rosella	20.973333*	.407628	.000	20.12796	21.81870
Fraksi Eter Rosella Kopi 6 :3	17.695000*	.407628	.000	16.84963	18.54037
Fraksi Air Rosella Kopi 4,5 :4,5	20.975667*	.407628	.000	20.13030	21.82104
Fraksi Eter Rosella Kopi 4,5 :4,5	13.702667*	.407628	.000	12.85730	14.54804
Fraksi Air Rosella Kopi 3 : 6	26.210667*	.407628	.000	25.36530	27.05604
Fraksi Eter Rosella Kopi 3 : 6	12.287000*	.407628	.000	11.44163	13.13237
Fraksi Eter Rosella Vitamin C Kopi 6 :3	62.420000*	.407628	.000	61.57463	63.26537
Fraksi Air Kopi	39.484667*	.407628	.000	38.63930	40.33004
Fraksi Air Rosella	164.875333*	.407628	.000	-165.72070	-164.02996

	Fraksi Eter Kopi	-7.635000*	.407628	.000	-8.48037	-6.78963
	Fraksi Eter Rosella	3.278333*	.407628	.000	2.43296	4.12370
	Fraksi Air Rosella Kopi 6 : 3	-17.695000*	.407628	.000	-18.54037	-16.84963
	Fraksi Air Rosella Kopi 4,5 :4,5	3.280667*	.407628	.000	2.43530	4.12604
	Fraksi Eter Rosella Kopi 4,5 :4,5	-3.992333*	.407628	.000	-4.83770	-3.14696
	Fraksi Air Rosella Kopi 3 : 6	8.515667*	.407628	.000	7.67030	9.36104
	Fraksi Eter Rosella Kopi 3 : 6	-5.408000*	.407628	.000	-6.25337	-4.56263
Fraksi Air Rosella Vitamin C Kopi 4,5 :4,5	Fraksi Air Kopi	59.139333*	.407628	.000	58.29396	59.98470
	Fraksi Air Rosella	36.204000*	.407628	.000	35.35863	37.04937
		168.156000*	.407628	.000	-169.00137	-167.31063
	Fraksi Eter Kopi	-10.915667*	.407628	.000	-11.76104	-10.07030
	Fraksi Eter Rosella	-.002333*	.407628	.002	-.84770	.84304
	Fraksi Air Rosella Kopi 6 : 3	-20.975667*	.407628	.000	-21.82104	-20.13030
	Fraksi Eter Rosella Kopi 6 :3	-3.280667*	.407628	.000	-4.12604	-2.43530
	Fraksi Eter Rosella Kopi 4,5 :4,5	-7.273000*	.407628	.000	-8.11837	-6.42763
	Fraksi Air Rosella Kopi 3 : 6	5.235000*	.407628	.000	4.38963	6.08037
	Fraksi Eter Rosella Kopi 3 : 6	-8.688667*	.407628	.000	-9.53404	-7.84330
Fraksi Eter Rosella Vitamin C Kopi 4,5 :4,5	Fraksi Air Kopi	66.412333*	.407628	.000	65.56696	67.25770
	Fraksi Air Rosella	43.477000*	.407628	.000	42.63163	44.32237
		160.883000*	.407628	.000	-161.72837	-160.03763

	Fraksi Eter Kopi	-3.642667*	.407628	.000	-4.48804	-2.79730
	Fraksi Eter Rosella	7.270667*	.407628	.000	6.42530	8.11604
	Fraksi Air Rosella Kopi 6 : 3	-13.702667*	.407628	.000	-14.54804	-12.85730
	Fraksi Eter Rosella Kopi 6 :3	3.992333*	.407628	.000	3.14696	4.83770
	Fraksi Air Rosella Kopi 4,5 :4,5	7.273000*	.407628	.000	6.42763	8.11837
	Fraksi Air Rosella Kopi 3 : 6	12.508000*	.407628	.000	11.66263	13.35337
	Fraksi Eter Rosella Kopi 3 : 6	-1.415667*	.407628	.002	-2.26104	-.57030
Fraksi Air Rosella Vitamin C Kopi 3 : 6	Fraksi Air Kopi	53.904333*	.407628	.000	53.05896	54.74970
	Fraksi Air Rosella	30.969000*	.407628	.000	30.12363	31.81437
	Fraksi Eter Kopi	173.391000*	.407628	.000	-174.23637	-172.54563
	Fraksi Eter Rosella	-16.150667*	.407628	.000	-16.99604	-15.30530
	Fraksi Air Rosella Kopi 6 : 3	-5.237333*	.407628	.000	-6.08270	-4.39196
	Fraksi Eter Rosella Kopi 6 :3	-26.210667*	.407628	.000	-27.05604	-25.36530
	Fraksi Air Rosella Kopi 4,5 :4,5	-8.515667*	.407628	.000	-9.36104	-7.67030
	Fraksi Eter Rosella Kopi 4,5 :4,5	-5.235000*	.407628	.000	-6.08037	-4.38963
	Fraksi Eter Rosella Kopi 3 : 6	-12.508000*	.407628	.000	-13.35337	-11.66263
	Fraksi Eter Rosella Kopi 3 : 6	-13.923667*	.407628	.000	-14.76904	-13.07830
Fraksi Eter Rosella Vitamin C Kopi 3 : 6	Fraksi Air Kopi	67.828000*	.407628	.000	66.98263	68.67337
	Fraksi Air Rosella	44.892667*	.407628	.000	44.04730	45.73804
		159.467333*	.407628	.000	-160.31270	-158.62196

Fraksi Eter Kopi	-2.227000*	.407628	.000	-3.07237	-1.38163
Fraksi Eter Rosella	8.686333*	.407628	.000	7.84096	9.53170
Fraksi Air Rosella Kopi 6 : 3	-12.287000*	.407628	.000	-13.13237	-11.44163
Fraksi Eter Rosella Kopi 6 :3	5.408000*	.407628	.000	4.56263	6.25337
Fraksi Air Rosella Kopi 4,5 :4,5	8.688667*	.407628	.000	7.84330	9.53404
Fraksi Eter Rosella Kopi 4,5 :4,5	1.415667*	.407628	.002	.57030	2.26104
Fraksi Air Rosella Kopi 3 : 6	13.923667*	.407628	.000	13.07830	14.76904

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran N. Lembar Identifikasi Tanaman Tanaman Kopi Arabika



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jl. Kalimantan 37 Jember Jawa Timur
Telp 0331-330225

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI

No. 16.3.0/UN25.1.9/TU/2016

Berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke Herbarium Jemberiense, Laboratorium Botani dan Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Jember oleh :

Nama : Mohammad Hafidi H

NIM : 122210101030

Jur./Fak./PT : Farmasi / Universitas Jember

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut adalah :

Coffea arabica L. {Syn. *Coffea corymbulosa* Bertol.; *Coffea laurifolia* Salisb.; *Coffea moka* Heynh.; *Coffea sundana* Miq.; *Coffea vulgaris* Moench; Family – Rubiaceae ; Vernacular name –; Kopi (Jav.), Kopi Arabika (Ind.)}

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 20 Juni 2016

Ketua Laboratorium



Drs. Ahmad Sjaifullah, M.Sc, Ph.D.
NIP 195910091986021001

Dra. Dwi Setyati, M.Si
NIP. 19640417199103200

Determined by Fuad Bahrul Ulum, S.Si, M.Sc.

Tanaman Rosella

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jl. Kalimantan 37 Jember Jawa Timur
Telp 0331-330225

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI

No. 1092./UN25.1.9/TU/2016

Berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke Herbarium Jemberiense, Laboratorium Botani dan Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Jember oleh :

Nama : Yadi Setiadi

NIM : 122210101059

Jur./Fak./PT : F. Farmasi/ Universitas Jember

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut adalah :

Hibiscus sabdariffa L. {Syn. *Abelmoschus cruentus* (Bertol.) Walp.; *Furcaria sabdariffa* Ulbr.; *Hibiscus cruentus* Bertol.; *Hibiscus fraternus* L.; Family – Malvaceae; Vernacular name – Rosela, Rosella (Ind.), Asam paya, asam kumbang, dan Asam susur (Mal.)}

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 20 April 2016

Mengetahui,



Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc, Ph.D.
NIP 195910091986021001

Ketua Laboratorium

Dra. Dwi Setyati, M.Si
NIP. 19640417199103200