

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL BIJI KOPI HIJAU ROBUSTA (*COFFEA CANEPHORA*) PADA BERBAGAI KETINGGIAN TEMPAT TUMBUH

I.W. Pebriarti, D.A. Susanti dan A. Purwanti, A.N. Diana, R.E. Lestari, B.K. Rindiantika

Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas dr. Soebandi

Corresponding author: iskiweni@uds.ac.id

ABSTRAK: Kopi (*Coffea canephora*) merupakan tanaman yang telah lama dibudidayakan di Indonesia dan menjadi salah satu sumber antioksidan alami. Komponen bioaktif utama di dalam biji kopi yang memiliki sifat antioksidan adalah senyawa fenol berupa asam klorogenat. Senyawa fenol akan bereaksi dengan radikal bebas dengan cara memberikan donor satu elektron dari gugus -OH sehingga dapat membentuk radikal bebas yang relatif stabil. Ketinggian tempat tumbuh kopi secara tidak langsung akan berpengaruh pada beberapa kondisi lingkungan yang berdampak pada kadar kandungan fenolik. Kopi dengan berbagai ketinggian tempat tumbuh yang berasal dari daerah lereng Gunung Argopura diperkirakan memiliki aktivitas antioksidan yang berbeda pula. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol biji hijau *C. canephora* yang diperoleh dari daerah Lereng Gunung Argopura pada berbagai ketinggian tempat tumbuh. Metode ekstraksi yang digunakan yaitu maserasi dengan pelarut etanol 96%. Penentuan aktivitas antioksidan dilaksanakan dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Aktivitas antioksidan dinyatakan berdasarkan nilai IC_{50} (Inhibitor Concentration 50%). Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan tertinggi diperoleh dari ekstrak etanol biji hijau *C. canephora* pada ketinggian ± 900 mdpl dengan nilai IC_{50} sebesar $45,144 \pm 0,274$ ppm. Semakin tinggi lingkungan tumbuh daerah penanaman, maka semakin tinggi pula stress lingkungan dengan kandungan bioaktif antioksidan yang lebih tinggi.

Kata Kunci: Biji kopi hijau; *Coffea canephora*; antioksidan; ketinggian tempat tumbuh

ABSTRACT: Coffee (*Coffea canephora*) is a plant that has long been cultivated in Indonesia and is a source of natural antioxidants. The main bioactive components in coffee beans that have antioxidant properties are phenol compounds in the form of chlorogenic acid. Phenol compounds reduce free radicals by donating one electron from the -OH group so that they can stabilize free radicals. The altitude where coffee grows will indirectly have an impact on several environmental conditions that affect the levels of phenolic content. Coffee with various altitudes where it grows from the slopes of Mount Argopura is estimated to have different antioxidant activities. This study aims to determine the antioxidant activity of the ethanolic extract of *C. canephora* green seeds obtained from the slopes of Mount Argopura at various altitudes where it grows. The extraction method used is maceration using 96% ethanol as solvent. Determination of antioxidant activity was carried out using the DPPH method (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Antioxidant activity is expressed based on the IC_{50} value (50% Inhibitor Concentration). The results showed that the highest antioxidant activity was obtained from the ethanolic extract of *C. canephora* green seeds at an altitude of ± 900 m with an IC_{50} value is $45,144 \pm 0,274$ ppm. Coffee growth slows down as the height of the growing site increases the environmental stress with higher antioxidant bioactive content.

Keyword: green coffee beans; *Coffea canephora*; antioxidant; the altitude of the grown site

PENDAHULUAN

Radikal bebas adalah suatu molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Elektron yang tidak berpasangan tersebut bersifat sangat tidak stabil dan dapat bereaksi cepat

dengan senyawa lain serta berusaha mengikat elektron yang berada disekitarnya untuk menghasilkan stabilitas. Radikal bebas tersebut dapat mengoksidasi asam nukleat, protein, lemak, bahkan DNA sel (Utami, 2020).

Tubuh manusia memiliki beberapa mekanisme untuk melawan stress oksidatif dengan cara memproduksi

antioksidan (antioksidan endogen) (Kurutas, 2016). Hepar secara alami mempunyai zat antioksidan endogen sebagai sistem protektor yang berperan sebagai barier utama terhadap kondisi stress oksidatif. Pasokan radikal bebas yang masif akan membutuhkan pasokan zat antioksidan eksogen (Hardiningtyas *et al.*, 2014).

Suatu senyawa memiliki aktivitas antioksidan bila senyawa tersebut mampu memberikan donor elektron sehingga dapat menunda atau mencegah terjadinya reaksi oksidasi radikal bebas (Dhurhanian and Novianto, 2019). Sumber antioksidan banyak dilaporkan berasal dari tanaman. Kopi adalah salah satu sumber antioksidan alami (Vignoli *et al.*, 2014).

Kopi Robusta (*C. canephora*) sangat cepat berkembang dan memiliki sifat yang lebih unggul, oleh karena itu *C. canephora* lebih banyak dibudidayakan oleh petani kopi di Indonesia. Senyawa fenol pada biji mentah *C. canephora* diyakini sebagai senyawa metabolit penyumbang aktivitas antioksidan terbesar. Senyawa fenol tersebut berupa asam klorogenat yang terdapat sekitar 90% dari total fenol (Mursu *et al.*, 2005; Mangiwa and Maryuni, 2019). Farah *et al* (2012) juga menyatakan bahwa asam klorogenat berpotensi dalam aktivitas biofarmakologi dan berkaitan erat dengan aktivitas antioksidan senyawa fenolik yang dapat memberikan efek positif terhadap berbagai penyakit degeneratif kronis. Asam klorogenat mempunyai aktifitas antioksidan yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan senyawa kafein yang juga mempunyai aktivitas antioksidan, sebab asam klorogenat mengandung lebih banyak gugus hidroksil yang akan mempengaruhi aktivitas antioksidan (Sukohar *et al.*, 2011).

Senyawa metabolit merupakan senyawa-senyawa hasil metabolisme sekunder, yang terdapat secara tidak merata dalam makhluk hidup dan dijumpai dalam jumlah yang sedikit. Ketinggian memiliki pengaruh yang signifikan terhadap pertumbuhan dan metabolisme tanaman dalam pembentukan metabolit sekunder. Ketinggian tempat tumbuh yang berbeda menyebabkan perbedaan terhadap kelembapan, intensitas cahaya matahari, suhu dan ketersediaan unsur hara (Supriadi *et al.*, 2016; Utami, 2020). Penelitian yang dilakukan oleh Heeger *et al* (2016) pada sampel kopi yang tumbuh di wilayah Kongo, Salvador, dan Honduras menunjukkan perbedaan kadar metabolit sekunder sebagai pengaruh dari perbedaan lokasi tempat tumbuh tanaman.

Kopi dengan berbagai ketinggian tempat tumbuh yang berasal dari daerah lereng Gunung Argopura diperkirakan memiliki aktivitas antioksidan yang berbeda pula. Penelitian ini dilaksanakan untuk menentukan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol biji hijau *C canephora* yang diperoleh dari daerah Lereng Gunung Argopura pada berbagai ketinggian tempat tumbuh berdasarkan nilai IC₅₀.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental laboratorium. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi yang meliputi pembuatan simplisia biji hijau *C canephora*, pembuatan ekstrak etanol biji hijau *C canephora*, dan uji aktivitas antioksidan. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (*1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl*). Suatu senyawa dinilai memiliki aktivitas antioksidan bila senyawa tersebut mampu mendonorkan atom hidrogen yang dimilikinya untuk berikatan dengan DPPH membentuk DPPH tereduksi yang ditandai dengan pudarnya warna ungu dan berubah menjadi kuning.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu pulper, huller, nampian, penumbuk biji kopi, timbangan analitik, alat tulis, kamera digital, maserator, *rotary evaporator*, oven, *timer*, botol dan vial coklat, pipet volume, ball pipet, labu ukur, beaker glass, mikropipet, blue tip, kuvet, Spektrofotometri UV-VIS, dan software SPSS.

Bahan yang digunakan meliputi masker, sarung tangan, etanol 96%, methanol p.a, aluminium foil, DPPH, standar kuersetin, tissue dan kertas saring. Sampel dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol biji hijau *C canephora* yang dipanen petik merah dan diperoleh dari daerah Lereng Gunung Argopura pada ketinggian 700, 800, dan 900 mdpl.

Langkah Penelitian

Sampel biji *C canephora* dikumpulkan, disortasi dan dijemur masing-masing berdasarkan ketinggian tempat tumbuh. Biji dikeringkan hingga kadar air sekitar 11% untuk memudahkan proses penghancuran biji mentah *C canephora*.

Simplisia pada masing-masing ketinggian selanjutnya ditimbang sebanyak 250 gram dan dimasukkan ke dalam maserator kemudian dibasahi dengan pelarut sampai terbasahi semua. Selanjutnya dituangi pelarut hingga volume pelarut yang digunakan sebanyak 1000 mL. Maserat kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C. Ekstrak diuapkan menggunakan oven pada suhu 40°C hingga bobot ekstrak konstan. Ekstrak kental disimpan dalam vial berwarna gelap.

Panjang gelombang dan waktu inkubasi kuersetin optimum ditentukan sebelum melaksanakan uji aktivitas antioksidan untuk mengetahui kondisi optimum yang menghasilkan kepekaan sampel dalam larutan uji secara maksimal. Larutan ekstrak sebanyak 250 µL dengan 5

macam konsentrasi (20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm) ditambahkan ke dalam larutan DPPH dalam methanol pa (40 ppm) sebanyak 500µL. Campuran tersebut diinkubasi di ruang gelap pada suhu kamar selama waktu inkubasi optimum. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan sebanyak tiga kali replikasi pada masing-masing sampel untuk meminimalisir terjadinya kesalahan dalam penentuan aktivitas antioksidan.

Pengolahan Data

Pengukuran absorbansi dilakukan menggunakan instrumen Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 516 nm. Besar persentase hambatan (inhibisi) selanjutnya dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

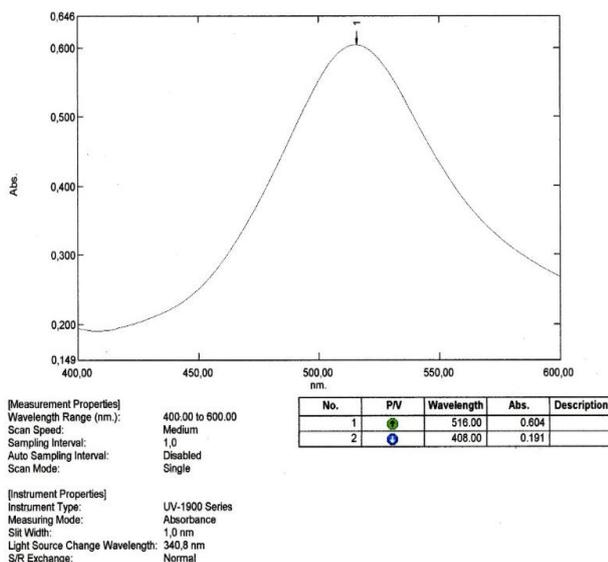
$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs. kontrol} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. kontrol}} \times 100\%$$

Konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk menangkap 50% radikal DPPH dinyatakan sebagai nilai konsentrasi hambatan 50% (IC₅₀). Nilai IC₅₀ diperoleh dengan cara mengganti y dengan angka 50 pada persamaan regresi linier $y = bx + a$ dari data % inhibisi yang dihasilkan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Optimasi Panjang Gelombang Maksimum

Optimasi panjang gelombang menggunakan larutan DPPH 40 ppm dalam methanol p.a pada rentang panjang gelombang 400 – 600 nm. Panjang gelombang yang dihasilkan adalah 516 nm sebagaimana yang terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil Optimasi Panjang Gelombang

Panjang gelombang tersebut juga digunakan pada penelitian Utami (2020) dalam menentukan aktivitas antioksidan ekstrak etanol biji *C canephora* yang telah disangrai medium. Penggunaan panjang gelombang maksimum bertujuan untuk memberikan serapan maksimum dan menghasilkan kepekaan dan keakuratan yang lebih tinggi (Utami, 2020).

Peredaman Larutan Standar

Pengukuran absorbansi terhadap campuran DPPH dengan larutan standar menghasilkan nilai % peredaman sebagaimana yang tercantum pada Tabel 1. Data konsentrasi larutan standar dan absorbansi digunakan untuk menentukan persamaan regresi linier yang diperlukan untuk menghitung nilai IC₅₀. Nilai rata-rata IC₅₀ yang diperoleh yaitu sebesar $4,4228 \pm 0,05758$ ppm.

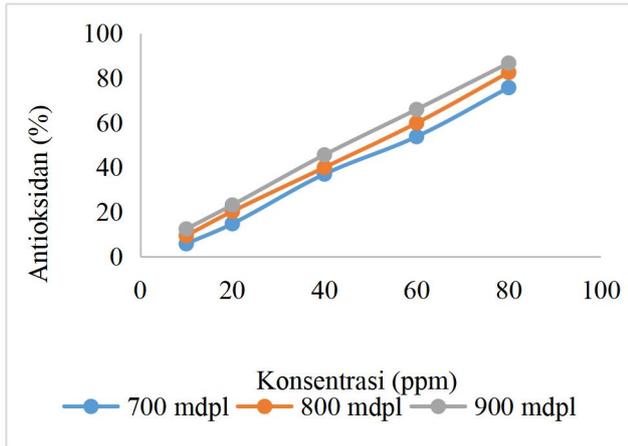
Tabel 1. Perhitungan % Peredaman dan IC₅₀

Konsentrasi	% Peredaman	Persamaan regresi	IC ₅₀
Replikasi 1:			
1	7,48	y= 11,6395x – 1,4806	4,4229
2	25,06		
4	45,64		
6	66,83		
8	92,02		
Replikasi 2:			
1	5,74	y= 12,0910x – 2,7799	4,3652
2	24,94		
4	46,38		
6	70,08		
8	92,89		
Replikasi 3:			
1	7,73	y= 11,8367x – 3,0321	4,4803
2	24,31		
4	40,52		
6	68,33		
8	92,52		

Absorbansi Kontrol : 0,802
 Rata-rata IC₅₀ : 4,4228
 SD : 0,05758
 RSD : 1,3%

Peredaman Larutan Sampel dan Nilai IC₅₀

Uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa larutan ekstrak pada ketinggian ± 900 mdpl pada konsentrasi yang sama memberikan % penghambatan paling besar sebagaimana yang terlihat pada Gambar 2. Persamaan regresi linier yang dihasilkan selanjutnya digunakan untuk menghitung nilai IC₅₀ sehingga diperoleh hasil sebagaimana yang tertera pada Tabel 2.



Gambar 2. Peredaman larutan ekstrak pada berbagai ketinggian tempat tumbuh

Tabel 2. Nilai IC₅₀ ekstrak etanol biji hijau *C. canephora* pada berbagai ketinggian tempat tumbuh

Ekstrak	IC ₅₀ (ppm)
Ekstrak 700 mdpl	54,782 ± 0,169
Ekstrak 800 mdpl	49,456 ± 0,454
Ekstrak 900 mdpl	45,144 ± 0,274

Aktivitas antioksidan paling tinggi dihasilkan oleh ekstrak etanol biji hijau *C. canephora* pada ketinggian ± 900 mdpl dengan nilai IC₅₀ sebesar 45,144 ± 0,274 ppm. Hasil ini serupa dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Utami (2020) pada biji *C. canephora* sangrai medium bahwa aktivitas antioksidan dihasilkan oleh ekstrak yang diperoleh dari tempat tumbuh yang paling tinggi.

Semakin tinggi lingkungan tempat tumbuhnya, biji kopi akan memiliki senyawa kimia dengan kandungan yang lebih tinggi (De Castro & Marraccini, 2006; Howard, 2011; Sridevi & Giridhar, 2013). Studi yang dilakukan oleh Wigati (2017) juga menunjukkan bahwa kandungan fenol terbesar terdapat pada biji kopi yang tumbuh di daerah yang paling tinggi.

Ketinggian dari masing-masing tempat pengambilan sampel yang berbeda secara tidak langsung membawa dampak terhadap kondisi lingkungan seperti suhu, kelembapan dan intensitas cahaya matahari (Liu et al., 2016). Semakin tinggi lingkungan tumbuh daerah penanaman, maka suhu lingkungan akan semakin rendah, kelembapan yang semakin tinggi, intensitas cahaya matahari semakin kecil, dan lama penyinaran yang semakin singkat. Kondisi tersebut menggambarkan bahwa semakin tinggi lingkungan tumbuh, maka semakin tinggi pula stress lingkungan yang diterima oleh suatu tanaman. Hal tersebut akan mempengaruhi karakter morfologi, pertumbuhan, maupun senyawa aktif yang terkandung pada suatu tanaman. Ketika tanaman mengalami stress, maka metabolit sekunder akan diproduksi secara meningkat sebagai upaya tanaman untuk melawan stress lingkungan tersebut (Commes &

Allen, 2007, Karamoy, 2009). Raharjo dan Darwati (2000) juga menginformasikan bahwa faktor lingkungan seperti cekaman defisit air pada daerah elevasi yang tinggi dapat meningkatkan metabolit sekunder pada tanaman obat. Informasi tersebut diperkuat oleh studi yang dilakukan oleh Yang *et al* (2018) yang menunjukkan bahwa cekaman defisit air akan meningkatkan kadar asam klorogenat pada tanaman. Sebaliknya, semakin rendah ketinggian tempat, maka temperatur lingkungan akan semakin tinggi. Kondisi tersebut berdampak pada naiknya temperatur dalam sel tanaman, kecepatan pergerakan (meningkatnya vibrasi, rotasi, dan reaksi translasi dari molekul-molekul) sehingga menyebabkan tabrakan antar molekul semakin sering terjadi dan laju reaksi berlangsung semakin cepat (Fatchurrozak, 2013).

KESIMPULAN

Aktivitas antioksidan paling tinggi dihasilkan oleh ekstrak etanol biji hijau *C. canephora* pada ketinggian tempat tumbuh ± 900 mdpl dengan nilai IC₅₀ sebesar 45,144 ± 0,274 ppm. Perbedaan ketinggian tempat tumbuh dapat menyebabkan perbedaan jumlah kandungan metabolit sekunder dalam biji hijau *C. canephora*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti menyampaikan terima kasih kepada Universitas dr Soebandi atas dukungan dan izin yang diberikan untuk menggunakan fasilitas dalam Laboratorium Terpadu Fakultas Ilmu Kesehatan yang diperlukan selama penelitian. Penelitian ini didanai melalui kegiatan Penelitian Program Kompetitif Nasional dan Penugasan di Perguruan Tinggi tahun anggaran 2022.

DAFTAR PUSTAKA

- Commes, D.A. & Allen, R.B. 2007. Effect of Size, Competition and Altitude on Tree Growth. *Jurnal Ecol.* Vol. 2 (95): 1084-1097.
- De Castro R.D. and Marraccini, P. 2006. Cytology, Biochemistry, and Molecular Changes During Coffee Fruit Development. *Brazilian Journal of Plant Physiology.* 18 (1): 175-199.
- Dhurhania, C.E. dan Novianto, A. 2019. Uji Kandungan Fenolik Total dan Pengaruhnya Terhadap Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Bentuk Sediaan Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*). *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia.* Vol 5(2): 62.
- Farah A, 2012 Coffee Constituens. In: *Coffe Emerging Health Effect and Disease Prevention 1st Edition.* John Wiley and Sons; New Jersey, 21-58.

- Fatchurrozak, Surato dan Sugiyarto. 2013. Pengaruh Ketinggian Tempat Terhadap Kandungan Vitamin C dan Zat Antioksidan Pada Buah *Carica pubescens*. *El - Vivo*. Vol. 1(1): Hal 24 -31.
- Hardiningtyas, S.D, Purwaningsih, S, Handharyani, E, 2014. Aktivitas Antioksidan dan Efek Hepatoprotektif Daun Bakau Api-Api Putih. *J. Pengolahan Hasil Perikan Indonesia*. Vol. 17 (1): 80-91.
- Heeger, A., Kosiska-Cagnazzo, A., Cantergiani, E., dan Andlauer, W. (2016). Bioactives of coffee cherry pulp and its utilisation for production of Cascara beverage. *Food Chemistry*, 221, 969–975
- Howard, B. 2011. Factors Influencing Cup Quality in Coffe (p.30). Rwanda: Global Coffee Quality Research Initiative.
- Karamoy, L., 2009. Hubungan Iklim dengan Pertumbuhan Kedelai. *Soil Environment*. Vol. 7(1): 65 – 68.
- Kurutas, E.B. 2016. The Importance of Antioxidants which Play the Role in Cellular Response Against Oxidative/Nitrosative Stress: Current State. *Nutr. J.* Vol 15(1): 71
- Liu, W., Yin, D., Li, Na., Hou, X., Wang, D., Li, D., dan Liu, J. (2016). Influence of environmental factors on the active substance production and antioxidant activity in *Potentilla fruticosa* L. and its quality assessment. *Scientific Reports*, 6(2015), 1-18
- Mangiwa, S., dan Maryuni, A.E. 2019. Skrining Fitokimia dan Uji Antioksidan Ekstrak Biji Kopi Sangrai Jenis Arabika (*Coffea arabica*) Asal Wamena dan Moanemani, Papua. *Jurnal Biologi Papua*. Vol. 11 (2): 103–109.
- Mursu, J., Volutilainen, S., Nurmuri, T., Alfthan, G., Virtanen, J.K., Rissanen, T. H., & Salonen, J. T. 2005. The Effect Of Coffee Consumption On Lipid Peroxidation And Plasma Total Homocysteine Concentration : Clinical Trial. *Free Radikal Biology and Medicine*. Vol. 34 (4): 527-534.
- Rahardjo, M. dan Darwati, I. 2000. Pengaruh Cekaman Air Terhadap Produksi dan Mutu *Simplisia Tempuyung (Sonchus arvensis L.)*. *Jurnal Littri*. Vol 6: 73-79.
- Sridevi, V. and Giridhar, P. 2013. Influence of Altitude Variation on Trigonelline Content During Ontogeny of *Coffea canephora* Fruit. *Journal of Food Studies*. 2 (1): 62-74.
- Sukohar, A., Setiawan, F.F., Wirakusumah, dan Sastramihardja, H.S. 2011. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Sitotoksik Kafein dan Asam Klorogenat dari Biji Kopi Robusta Lampung. *Medika Planta*. Vol. 1 (4): 1-16.
- Supriadi, H., Randriani, E., dan Towaha, J. 2016. Korelasi Antara Ketinggian Tempat, Sifat Kimia Tanah, Dan Mutu Fisik Biji Kopi Arabica Di Dataran Tinggi Garut. *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar*. Vol 3(1): 45-52/
- Utami, N.F. 2020. *Potensi Antioksidan dari Biji Kopi Robusta 9 Daerah di Pulau Jawa*. Lembaga Penelitian dan Pengabdian Pada Masyarakat Universitas Pakuan: Bogor.
- Vignoli J.A., Viegas M.C., Bassoli D.G., Benassi M.T. 2014. Roasting Process Affects Differently The Bioactive Compounds and The Antioxidant Activity of Arabica and Robusta Coffees. *Food Research International*. Vol. 61: 279-285.
- Wigati, E.I. 2017. Kandungan fenolik dan aktivitas antioksidan dari biji kopi robusta (*Coffea canephora* p.) di Provinsi Jawa Barat (Bandung, Bogor dan Garut). *Skripsi*. Program Studi Farmasi, Universitas Pakuan, Bogor.
- Yang, L., Wen, K-S., Ruan, X., Zhao, Y-X., Wei, F., and Wang, Q. 2018. Response of Plant Secondary Metabolites to Environmental Factors. *Molecules*. Vol. 23(762): 1 – 26.
- Yeni Nur Cahyani. 2015. Perbandingan Kadar Fenol Total Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Biji Kopi Robusta (*Coffea Canephora*) Dan Arabica (*Coffea Arabica*). *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Jember. Jember