



ANALISIS FITOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAUN KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*) BERDASARKAN PERBEDAAN KETINGGIAN TEMPAT TUMBUH

Purina Dwi Nintowati^{1*}, Solichatun², Suratman³

^{1,2,3}Program Studi Biosain, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret Surakarta, Indonesia

*Email: purinawidiabrizam@gmail.com

DOI: <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v12i2.13601>

Submit: 03-11-2024; Revised: 12-12-2024; Accepted: 18-12-2024; Published: 30-12-2024

ABSTRAK: Daun Kopi Robusta diketahui memiliki antioksidan tinggi yang mampu menstabilkan serangan radikal bebas. Berdasarkan ketinggian tempat tumbuhnya kopi Robusta memiliki perbedaan karakter diantaranya menghasilkan mutu dan citarasa yang berbeda antara satu dengan lainnya. Penelitian ini bertujuan mengetahui kandungan senyawa fitokimia serta mengetahui aktivitas antioksidan daun kopi Robusta berdasarkan perbedaan ketinggian tempat tumbuh. Metode pengambilan sampel yang dilakukan dengan menggunakan metode *Purposive Sampling* pada beberapa ketinggian di antaranya: 511 mdpl, 434 mdpl, 354 mdpl, 204 mdpl, 122 mdpl serta penelitian laboratorium untuk uji fitokimia dan antioksidan. Analisis data menggunakan uji Anova, DMRT dan uji korelasi *Bivariate* untuk mengetahui korelasi ketinggian tempat dengan aktifitas antioksidan. Hasil penelitian menunjukkan kelima ketinggian tempat terdapat senyawa alkaloid dan flavonoid. Inhibisi aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada ketinggian 511 mdpl dengan persentase $61,89\% \pm 8,08^b$, sedangkan Inhibisi aktivitas antioksidan terendah terdapat pada ketinggian 122 mdpl dengan persentase $31,92\% \pm 7,38^a$. Aktifitas antioksidan pada kelima ketinggian tempat tergolong antioksidan sangat kuat dengan nilai $IC_{50} < 50$. Ketinggian tempat berpengaruh signifikan ($P < 0,05$) terhadap inhibisi antioksidan. Ketinggian tempat memiliki korelasi positif terhadap aktivitas antioksidan.

Kata Kunci: antioksidan, ketinggian tempat tumbuh, kopi robusta.

ABSTRACT: Robusta Coffee Leaves are known to have high antioxidants that can stabilize free radical attacks. Based on the height of the place where Robusta Coffee grows, it has different characteristics, including producing different qualities and flavors from one another. This study aims to determine the content of phytochemical compounds and the antioxidant activity of Robusta coffee leaves based on differences in the height of the place where it grows. The research method used was sampling at several heights including 511 masl, 434 masl, 354 masl, 204 masl, 122 masl, and laboratory research for phytochemical and antioxidant tests. Data analysis used the ANOVA, DMRT, and Bivariate correlation tests to determine the correlation between height and antioxidant activity. The results showed that all five heights contained alkaloid and flavonoid compounds. The highest inhibition of antioxidant activity was found at an altitude of 511 masl with a percentage of $61.89\% \pm 8.08^b$, while the lowest inhibition of antioxidant activity was found at an altitude of 122 masl with a percentage of $31.92\% \pm 7.38^a$. Antioxidant activity at all five altitudes is classified as a very strong antioxidant with an IC_{50} value < 50 . Altitude has a significant effect ($P < 0.05$) on antioxidant inhibition. Altitude has a positive correlation with antioxidant activity.

Keywords: antioxidants, altitude of growth, robusta coffee.

How to Cite: Nintowati, P., Solichatun, S., & Suratman, S. (2024). Analisis Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Berdasarkan Perbedaan Ketinggian Tempat Tumbuh. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, 12(2), 2317-2333. <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v12i2.13601>



Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi is Licensed Under a CC BY-SA [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/).



PENDAHULUAN

Kopi Robusta (*Coffea canephora*) merupakan salah satu jenis kopi yang banyak dibudidayakan di Indonesia dan menjadi salah satu komoditas unggulan (Budi *et al.*, 2020). Kopi Robusta merupakan jenis tanaman dengan cita rasa yang khas dan banyak diminati masyarakat. Khasiat kopi yang sudah umum dikenal orang sejak dulu adalah mengurangi rasa kantuk dan lelah. Selama ini pemanfaatan tanaman kopi secara komersial hanya terfokus pada pengolahan biji kopi saja, sedangkan daun kopi Robusta merupakan bagian dari tanaman kopi yang belum banyak dimanfaatkan (Ristiana, 2017). Daun kopi dapat dimanfaatkan sebagai produk pangan maupun sebagai bahan campuran alami untuk fortifikasi pangan. Masyarakat belum banyak mengetahui bahwa daun kopi dapat dimanfaatkan sebagai produk pangan seperti pembuatan keripik daun kopi dan teh herbal daun kopi (Mety *et al.*, 2021).

Kopi adalah salah satu minuman dengan kandungan senyawa kimia yang kompleks. Salah satu senyawa dalam kopi yaitu alkaloid. Alkaloid pada kopi Robusta memiliki ciri rasa yang pahit karena disebabkan oleh kandungan kafeinnya. Kopi Robusta mengandung alkaloid xantin (purin), yakni kafein 1%-2% (Budiman, 2015). Pada tanaman kopi tidak hanya memiliki senyawa alkaloid saja tetapi terdapat senyawa flavonoid juga. Salah satu senyawa flavonoid yang terdapat pada daun kopi Robusta adalah senyawa polifenol (Tian *et al.*, 2018). Kopi diketahui mengandung polifenol yang merupakan senyawa flavonoid yang dikategorikan sebagai salah satu antioksidan kuat. Flavonoid sebagai salah satu kelompok senyawa fenolik yang terdapat pada jaringan tumbuhan dan berperan sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidatif flavonoid bersumber pada kemampuan mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengikat logam (Gusti *et al.*, 2022).

Perbedaan ketinggian tempat tumbuh juga berpengaruh terhadap kandungan senyawa kimia pada biji kopi. Ekstrak biji kopi Robusta yang berasal dari daerah pegunungan memiliki kandungan senyawa fitokimia yang lebih tinggi dibandingkan dengan daerah dataran rendah. Perbedaan ketinggian tempat tumbuh akan mempengaruhi perbedaan cuaca terutama perbedaan suhu udara (Asfaw *et al.*, 2019). Berdasarkan penelitian sebelumnya pada tahun 2017, 2018, dan 2020 dengan membandingkan aktifitas antioksidan pada biji kopi Robusta di beberapa pegunungan di Pulau Jawa dengan ketinggian, 680 mdpl, 817 mdpl, dan 900 mdpl. Pada penelitian ini menegaskan bahwa pada ketinggian 900 mdpl memiliki karakter senyawa fitokimia serta antioksidan ekstrak biji kopi Robusta lebih kuat dibandingkan pada ketinggian 680 mdpl dan 817 mdpl (Evi *et al.*, 2018).

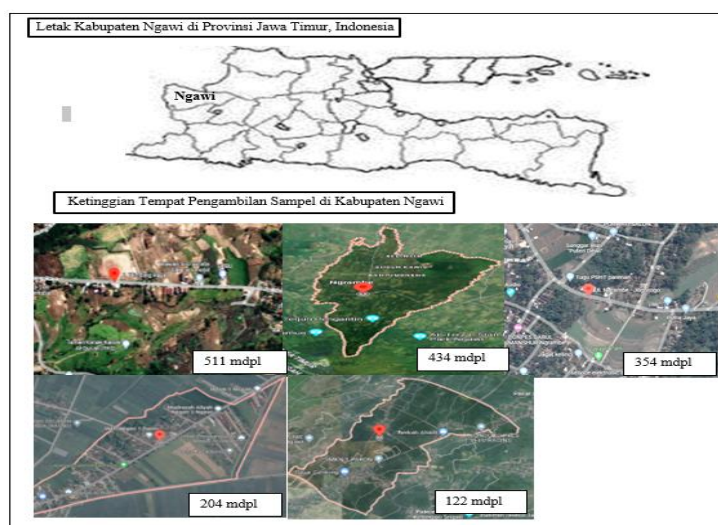
Penelitian lain menunjukkan adanya hubungan antara ketinggian tempat terhadap kandungan fitokimia dan aktifitas antioksidan pada kopi Robusta. Penelitian Novi (2020) pada beberapa wilayah dataran tinggi menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak biji kopi Robusta yang tumbuh di ketinggian tempat tertinggi memiliki aktivitas antioksidan paling kuat dibandingkan dengan kopi Robusta dari dataran rendah, hal ini dikarenakan perbedaan ekologi tempat tumbuh yang berbeda sehingga diperoleh hasil yang berbeda. Kopi yang tumbuh pada ketinggian tempat yang lebih tinggi mempunyai

komponen senyawa kimia lebih banyak dibanding kopi yang tumbuh pada ketinggian tempat lebih rendah.

Penelitian yang dilakukan Hasanah (2017) menjelaskan bahwa perbedaan aktifitas antioksidan dari masing-masing ekstrak biji kopi Robusta dapat secara langsung ataupun tidak langsung dipengaruhi oleh beberapa hal termasuk iklim dan ketinggian tempat tempat tumbuh. Aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada ketinggian tempat tertinggi juga. Beberapa penelitian tersebut hanya terfokus pada aktifitas antioksidan biji kopi saja, sedangkan daun kopi belum banyak diteliti kandungan fitokimia dan aktivitas antioksidannya. Penelitian aktivitas antioksidan pada daun kopi di suatu wilayah yang sama dan terdiri dari dataran tinggi maupun rendah belum banyak dilakukan. Dengan demikian, diperlukan studi untuk mengetahui kandungan senyawa fitokimia serta aktivitas antioksidan daun kopi Robusta berdasarkan lima ketinggian tempat tumbuh di wilayah yang sama.

METODE

Metode pengambilan sampel yang dilakukan dengan menggunakan metode *Purposive Sampling* pada beberapa ketinggian di antaranya: 511 mdpl, 434 mdpl, 354 mdpl, 204 mdpl, 122 mdpl serta penelitian laboratorium untuk uji fitokimia dan antioksidan. Sampel daun kopi Pada kelima ketinggian tempat tersebut dilakukan 3 kali ulangan dalam pengambilan sampel dari 3 pohon berbeda, sehingga didapatkan 15 sampel daun kopi Robusta. Masing – masing sampel daun kopi diambil 300 g untuk diuji kandungan fitokimia, serta diuji nilai aktivitas antioksidannya. Pengukuran faktor abiotik dilakukan dengan mengukur suhu, intensitas cahaya, pH tanah, kelembaban tanah, suhu udara, dan ketinggian tempat. Pengukuran faktor abiotik dilakukan sekitar pukul 08.00 – 10.00 WIB. Penelitian dilakukan pada bulan Januari 2024 sampai Maret 2024. Uji fitokimia, analisis kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan daun kopi Robusta dilaksanakan di Laboratorium MIPA Terpadu, Universitas Sebelas Maret, Surakarta, Jawa Tengah. Lokasi pengambilan sampel daun kopi Robusta dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Lokasi Pengambilan Sampel Kopi Robusta di Kabupaten Ngawi, Jawa Timur, Indonesia (Google Maps, 2023)

Alat yang digunakan diantaranya: neraca/timbangan, tabung reaksi, erlenmeyer, labu ukur, pengaduk, corong, pipet tetes, botol berwarna coklat, chamber, pipa kapiler, alat sinar UV. Alat yang digunakan untuk analisis kadar flavonoid adalah neraca/timbangan, pipet tetes, tabung reaksi, erlenmeyer, dan spektrofotometer UV-Vis. Bahan yang digunakan diantaranya: 300 gram daun kopi Robusta, aquades, ethanol 96%, bismut (III) nitrat, asam nitrat pekat, kalium iodida, HCl pekat, logam Mg, plat silika G₆₀F₂₅₄, etil asetat, n-butanol, asam asetat, AlCl₃ 10 %, kuersetin yang disediakan di Laboratorium Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret, Surakarta, Jawa Tengah, Indonesia.

Pembuatan Ekstrak

Daun kopi Robusta sebanyak 300 g dicuci, kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 60⁰ C selama 60 menit. Sampel daun yang sudah kering kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender hingga terbentuk simplisia (Rintis, 2019). Simplisia ditimbang sebanyak 50 g dan dimaserasi dengan 500 ml etanol 96%. Simplisia yang sudah dimaserasi diaduk setiap 8 jam sekali selama 3 hari. Proses maserasi tersebut diulang 2 kali. Semua sampel hasil maserasi dipekatkan dengan rotary evaporator dengan suhu 70⁰ C sampai didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental yang sudah didapat, kemudian dihitung rendemennya menggunakan rumus persentase rendemen ekstrak.

$$\text{Rendemen Ekstrak (\%)} = \frac{\text{Bobot Ekstrak yang Didapat (g)}}{\text{Simplisia yang Dieskrak (g)}} \times 100$$

(Devi *et al.*, 2017).

Skrining Fitokimia Uji Alkaloid dengan Reagen Dragendroff

Reagen Dragendroff dibuat dengan dua campuran. Campuran pertama yaitu 0,8 g bismut (III) nitrat dilarutkan dalam 20 ml asam nitrat kedalam erlenmeyer. Campuran kedua adalah 27 mg kalium iodida dilarutkan dalam 50 ml akuades. Campuran pertama dan kedua digabungkan, kemudian ditambahkan aquades sebanyak 100 ml sehingga menghasilkan warna orange. Ekstrak kental daun kopi Robusta sebanyak 5 g diletakkan pada tabung reaksi. Ekstrak tersebut dicampurkan dengan reagen Dragendroff. Hasil yang menunjukkan positif alkaloid dengan membentuk warna cokelat kemerahan (Widiastuti *et al.*, 2014).

Skrining Fitokimia Uji Flavonoid dengan Reagen Wilstatter

Uji flavonoid dapat dilakukan secara kualitatif dengan uji Wilstatter. Uji Wilstatter dapat dilakukan dengan cara menimbang 5 gram ekstrak kental kopi Robusta kemudian ditambahkan dengan 2-4 tetes HCl pekat dan 2-3 potong kecil logam Mg, apabila memberikan warna orange-merah dan terdapat endapan cokelat muda maka reaksinya positif (Sawiji *et al.*, 2022).

Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Alkaloid

Uji kromatografi lapis tipis menggunakan eluen fase gerak dan fase diam. Pada KLT uji alkaloid, eluen fase gerak menggunakan perbandingan 9 ml etil asetat: 2 ml methanol 96%: 2 ml air. Fase diam menggunakan plat silika G₆₀F₂₅₄

dengan ukuran 3 x 7 cm. Plat silika tersebut ditandai pada batas atas 0,5 cm dan batas bawah 1 cm. Batas atas menunjukkan bahwa proses penyerapan eluen sampel telah mencapai batas, sedangkan batas bawah digunakan untuk meneteskan sampel. Ekstrak kental diteteskan ke plat silika $G_{60}F_{254}$ menggunakan pipa kapiler. Plat silika tersebut dimasukkan ke dalam chamber yang berisi eluen fase gerak. Eluen fase gerak akan naik ke permukaan plat silika, sehingga terbentuk noda pada plat silika. Plat silika diangkat dari chamber dan didiamkan sebentar hingga kering. Setelah plat silika kering, selanjutnya disemprot menggunakan reagen Dragendroff sebanyak 3 kali. Identifikasi noda yang terbentuk pada plat silika $G_{60}F_{254}$ diamati di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Noda orange kemerahan menunjukkan sampel positif alkaloid. Setelah identifikasi noda, kemudian diukur nilai R_f (Retention Factor). Pengukuran nilai R_f menggunakan rumus:

$$R_f = \frac{\text{Jarak Rambat yang Ditempuh Fraksi}}{\text{Jarak Rambat yang Ditempuh Fase Gerak}}$$

(Elsa, 2018).

Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Uji Flavonoid

Fase diam yang digunakan adalah Plat silika gel $G_{60}F_{254}$ dengan ukuran 3 x 7 cm. Plat silika tersebut ditandai pada batas atas 0,5 cm dan batas bawah 1 cm. Batas atas menunjukkan bahwa proses penyerapan eluen sampel telah mencapai batas, sedangkan batas bawah digunakan untuk meneteskan sampel. Eluen fase gerak menggunakan perbandingan 4 ml n-butanol: 1 ml asam asetat: 5 ml air. Ekstrak kental diteteskan ke plat silika $G_{60}F_{254}$ menggunakan pipa kapiler. Plat silika tersebut dimasukkan ke dalam chamber yang berisi eluen fase gerak. Eluen fase gerak akan naik ke permukaan plat silika, sehingga terbentuk noda pada plat silika. Plat silika diangkat dari chamber dan didiamkan sebentar hingga kering. Setelah plat silika kering, selanjutnya disemprot menggunakan $AlCl_3$ 1%. Identifikasi noda yang terbentuk pada plat silika $G_{60}F_{254}$ di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Noda berwarna putih atau merah muda menunjukkan sampel positif flavonoid. Setelah identifikasi noda, kemudian diukur nilai R_f (Retention Factor) dengan menggunakan rumus:

$$R_f = \frac{\text{Jarak Rambat yang Ditempuh Fraksi}}{\text{Jarak Rambat yang Ditempuh Fase Gerak}}$$

(Elinur et al., 2024)

Analisis Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)

Analisis aktivitas antioksidan diawali dengan mencampurkan 100 ml etanol 96% pada 10 ml sampel daun kopi Robusta. Campuran sampel tersebut diencerkan dengan variasi 5 ppm, 6 ppm, 7 ppm, 8 ppm dan 9 ppm. Tahap selanjutnya pembuatan larutan stok DPPH 50 ppm dengan menimbang 5 mg DPPH ditambahkan 100 ml etanol 96%. Larutan stok tersebut dilapisi dengan aluminium foil dan disimpan pada suhu ruang (27-28°C). Tahap selanjutnya adalah pembuatan



larutan kontrol dengan mencampurkan 2 ml etanol 96% dan 1 ml larutan stok DPPH 50 ppm. Penentuan absorbansi sampel dengan melarutkan 2 ml sampel dan 2 ml larutan DPPH, kemudian diuji dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 420 – 520 nm (Anugrah *et al.*, 2021). Setelah didapatkan hasil absorbansi pada sampel, kemudian dihitung persentase (%) inhibisi yang diperoleh dari rumus di bawah ini:

$$A = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%$$

Keterangan:

A :Inhibisi antioksidan

A0 :Absorbansi pada DPPH tanpa sampel (blangko)

A1 :Absorbansi pada DPPH setelah ditambah sampel.

Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian kemudian di analisis secara statistik dengan uji Anova (*Analysis of Variance*). Dari hasil uji Anova, jika nilai signifikansi > 0.05 maka tidak ada pengaruh yang signifikan pada aktivitas antioksidan dengan ketinggian tempat. Apabila nilai signifikansi < 0.05, maka terdapat pengaruh yang signifikan pada aktivitas antioksidan dengan ketinggian tempat. Jika hasil uji Anova signifikan, dilanjutkan dengan uji DMRT (Arif *et al.*, 2023). Setelah diuji Anova serta DMRT, selanjutnya diuji korelasi antara ketinggian tempat dengan aktivitas antioksidan menggunakan *Correlate Bivariate* (Arif *et al.*, 2023).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pengukuran Faktor Abiotik

Faktor abiotik merupakan elemen non hidup dalam suatu ekosistem yang memiliki pengaruh besar terhadap kehidupan organisme. Pada ekosistem terestrial, faktor-faktor abiotik seperti suhu, kelembapan, pH tanah, intensitas cahaya, serta kandungan nutrisi tanah menjadi elemen utama yang memengaruhi kelangsungan hidup flora dan fauna (Yanmei *et al.*, 2023). Hasil pengukuran faktor abiotik pada tanaman kopi Robusta dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Faktor Abiotik Pada Tanaman Kopi Robusta

Ketinggian Tempat (mdpl)	pH Tanah	Intensitas Cahaya (Lux)	Kelembapan Udara (%)	Suhu Udara (° C)	Kelembapan Tanah (%)
122	7	3573	61	29,7	30
204	7	1093	64	31,6	40
354	6.8	1148	62	33,2	50
434	6.8	1205	68	32,8	68
511	7	603	74	28,4	50

Berdasarkan data pada Tabel 1, diketahui bahwa pH tanah pada kelima ketinggian tergolong netral dengan kisaran 6,8 – 7. Tanah yang memiliki pH 7 atau netral dapat menyebabkan aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan ph asam (Parvesh *et al.*, 2021). Intensitas cahaya tertinggi terdapat pada ketinggian tempat

122 mdpl yaitu 3573 lux, sedangkan intensitas cahaya terendah terdapat pada ketinggian tempat 511 mdpl yaitu 603 lux. Intensitas cahaya berpengaruh terhadap pertumbuhan primer suatu tanaman dan berpengaruh terhadap aktivitas metabolit sekunder khususnya kadar flavonoid pada tanaman kopi Robusta. Tinggi tanaman dan biomassa di atas permukaan tanah meningkat seiring dengan peningkatan intensitas cahaya, dan intensitas cahaya bermanfaat untuk meningkatkan kandungan karotenoid, total fenol, vitamin C, selulosa, total flavon, dan apigenin pada suatu tanaman (Yanmei *et al.*, 2023).

Kelembaban udara dan suhu udara memiliki keterkaitan terhadap pertumbuhan tanaman dan pembentukan metabolit sekunder. Suhu 20⁰C – 37 ⁰C merupakan suhu yang baik untuk proses fotosintesis tanaman dan aktivitas metabolit sekunder dalam merespon stres seperti stres abiotik atau biotik. Parameter kelembaban udara memiliki hubungan atau korelasi dengan suhu udara pada suatu tempat tumbuh bagi tanaman. Semakin rendah suhu udara pada suatu wilayah maka kelembaban udara akan semakin tinggi (Mirwais *et al.*, 2023). Kelembaban udara dapat mempengaruhi suatu tanaman karena berpengaruh dalam mencegah dehidrasi pada kutikula dan mencegah terjadinya cekaman air pada tanaman. Kelembaban udara tinggi dapat menyebabkan rendahnya kadar flavonoid total pada tumbuhan (Ndour *et al.*, 2016).

Persentase kelembaban tanah yang tertinggi terdapat pada ketinggian 434 mdpl yaitu 68%, sedangkan persentase kelembaban tanah yang terendah terdapat pada ketinggian 122 mdpl yaitu 30%. Faktor lingkungan yang mempengaruhi sintesis metabolit sekunder dapat berupa stres atau cekaman tempat tanaman hidup. Salah satu cekaman lingkungan yaitu kelembaban tanah. Kelembaban tanah yang tinggi menyebabkan tingginya kadar flavonoid dan nilai antioksidan, sedangkan kelembaban tanah yang rendah menyebabkan rendahnya kadar flavonoid dan nilai antioksidan (Yulia *et al.*, 2020).

Hasil Rendemen Ekstrak

Rendemen ekstrak adalah perbandingan antara berat ekstrak yang dihasilkan dengan berat biomassa sel yang digunakan sebagai bahan baku. Rendemen ekstrak dihitung dengan mengalikan perbandingan berat akhir (berat ekstrak) dengan berat awal (berat biomassa sel) dengan 100%. Rendemen dari suatu sampel diperlukan untuk mengetahui banyaknya ekstrak yang diperoleh selama proses ekstraksi (Hasnaeni *et al.*, 2019). Hasil rendemen ekstrak daun kopi Robusta dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Rendemen Ekstrak Daun Kopi Robusta

Ketinggian Tempat (mdpl)	Massa Simplisia (g)	Rata-Rata Massa Ekstrak (g)	Rendemen (%)
122	15	4	24.6
204	15	2,6	17.3
354	15	2,8	18.6
434	15	3.2	21.3
511	15	2.4	16

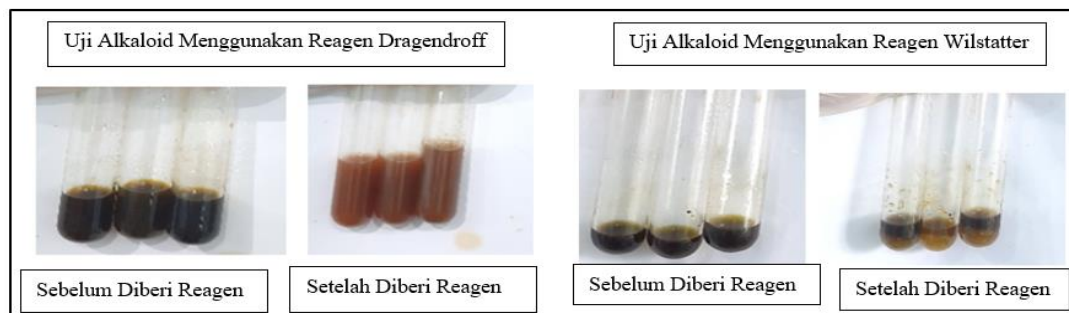
Berdasarkan data pada Tabel 2, diketahui bahwa persentase rendemen pada daun kopi Robusta secara keseluruhan yaitu lebih dari 10%. Rendemen dikatakan baik jika nilainya lebih dari 10%. Hasil rendemen berhubungan dengan senyawa aktif dari suatu sampel, apabila nilai rendemen tinggi maka komponen senyawa aktif yang terkandung di dalamnya juga tinggi (Wardaningrum *et al.*, 2019).

Hasil Skrining Fitokimia

Ekstrak daun kopi Robusta dari lima ketinggian tempat mengandung senyawa alkaloid yang ditunjukkan adanya warna coklat pada sampel setelah diberi reagen Dragendorff (Gambar 2). Warna coklat yang terbentuk tersebut merupakan alkaloid yang bereaksi dengan reagen Dragendorff. Salah satu komponen penyusun reagen Dragendorff yaitu bismut nitrat yang mengandung garam bismut. Garam bismut ini mengandung ion Bi^{3+} yang mudah terhidrolisis membentuk menjadi ion bismutit (BiO^+) (Ergina *et al.* 2014). Ekstrak daun kopi juga mengandung senyawa flavonoid yang ditunjukkan dengan adanya warna coklat muda dan endapan putih kecokelatan setelah diberi reagen Wilstatter (Gambar 2). Pada uji warna menggunakan pereaksi Wilstatter memperoleh hasil positif (Tabel 3). Pengujian ini dilakukan dengan menambah Mg dan HCl pekat. Penambahan HCl pekat digunakan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil. Glikosil akan tergantikan oleh H^+ dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Reduksi dengan Mg dan HCl pekat dapat menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna coklat atau orange (Armelia *et al.*, 2023). Hasil uji fitokimia dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Kopi Robusta

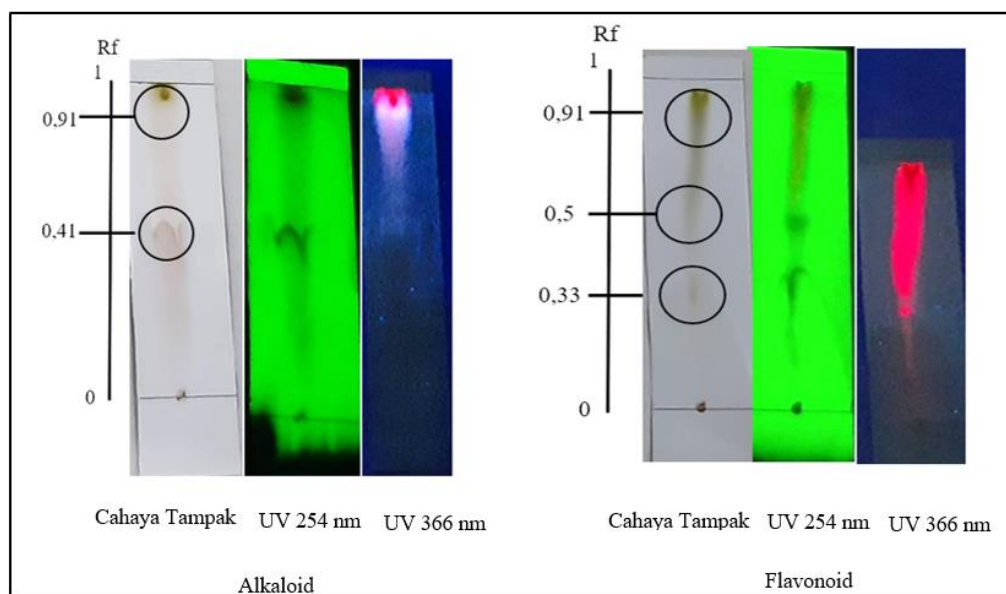
Golongan Senyawa	Uji dengan Reagen			Uji dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	
	Pereaksi	Hasil Pengamatan	Keterangan	Warna Pada Sinar UV 366 nm.	Nilai Rf
Alkaloid	Dragendorff	Warna coklat	+	Merah muda, Putih	0.41 0.91
Flavonoid	Wilstatter	Warna coklat tua, terdapat endapan coklat muda	+	Merah	0.33 0.5 0.91



Gambar 2. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Kopi Robusta

Hasil Uji Fitokimia Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Uji kromatografi lapis tipis (KLT) adalah metode untuk memisahkan campuran berdasarkan perbedaan kepolaran antara sampel dan pelarut (Elsa, 2018). Berdasarkan Gambar 3 hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menunjukkan bahwa ekstrak daun kopi Robusta mengandung senyawa alkaloid. Kandungan senyawa alkaloid ditunjukkan adanya warna merah muda pada pengamatan sinar UV 366 nm dengan nilai Rf yang baik yaitu 0,41 dan 0,91. Apabila nilai Rf memiliki nilai yang sama maka senyawa tersebut dapat dikatakan memiliki jenis yang sama atau mirip dengan pembandingnya (Qinghu *et al.*, 2016). Menurut hasil penelitian Hiroshi (2016) tanaman kopi Robusta mengandung dua jenis alkaloid berbeda. Jenis alkaloid tersebut diantaranya kafein (1,3,7- *N*-trimethylxanthine) dan trigonelin (asam 1- *N*-metilnikotinat) Kafein adalah salah satu senyawa golongan alkaloid xantina dengan struktur kimia 1,3,7 trimethylxanthine yang dapat ditemukan pada komoditas kopi. Karakteristik kafein pada kopi Robusta diantaranya dapat larut dalam air, mempunyai aroma wangi tetapi rasanya sangat pahit. Kafein bersifat basa monodik yang lemah dan dapat memisah dengan penguapan air (Widagyo *et al.*, 2013). Alkaloid Trigonelin adalah alkaloid yang dihasilkan dari metabolisme niasin membentuk asam 6-hidroksinikotinat bebas. Trigonelin pada tanaman kopi Robusta terakumulasi pada biji dan daun kopi. Karakteristik trigonelin diantaranya mudah larut dalam air atau alkohol hangat, kurang larut dalam alkohol dingin, dan sedikit larut dalam kloroform atau eter. Trigonelin adalah metil betain dari asam nikotinat yang menyebabkan rasa pahit pada biji serta daun kopi (Hiroshi, 2016). Hasil kromatografi lapis tipis dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Daun Kopi Robusta

Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) juga menunjukkan bahwa ekstrak daun kopi Robusta mengandung senyawa flavonoid. Kandungan senyawa flavonoid ditunjukkan adanya warna merah muda pada pengamatan sinar UV 366

nm (Gambar 1) dengan nilai Rf yaitu 0,33, 0,5, dan 0,91 (Tabel 2). Nilai Rf merupakan perbandingan jarak yang ditempuh eluen dan fase gerak pada plat KLT, serta digunakan sebagai nilai perbandingan relatif antar sampel. Nilai Rf dapat dijadikan bukti dalam identifikasi senyawa. Apabila nilai Rf memiliki nilai yang sama maka senyawa tersebut dapat dikatakan memiliki jenis yang sama atau mirip dengan pembandingnya (Qinghu *et al.*, 2016). Menurut hasil penelitian Deanna (2018) jenis flavonoid yang terdapat pada kopi Robusta diantaranya asam klorogenat, epigallocatechin, antosianin dan quercetin. Asam klorogenat merupakan senyawa fenolik yang umumnya ditemui pada biji kopi ataupun pada daun kopi dengan konsentrasi yang tinggi mencapai 7-10%. Asam klorogenat terbentuk dari ester asam transkinamat, seperti asam kafeat, dengan asam quinat dan berperan penting pada karakteristik kopi yaitu rasa pahit dan aroma wangi dari biji kopi (Ardiansyah *et al.*, 2018). Oksidasi dari asam klorogenat yang diikuti oleh polimerisasi (gabungan dari monomer-monomer) menyebabkan pembentukan quinon yang menyebabkan warna merah kecoklatan pada biji kopi Robusta, serta dapat melindungi tumbuhan kopi dari mikroorganisme, serangga dan radiasi UV (Naeli dan Muchtaridi, 2018).

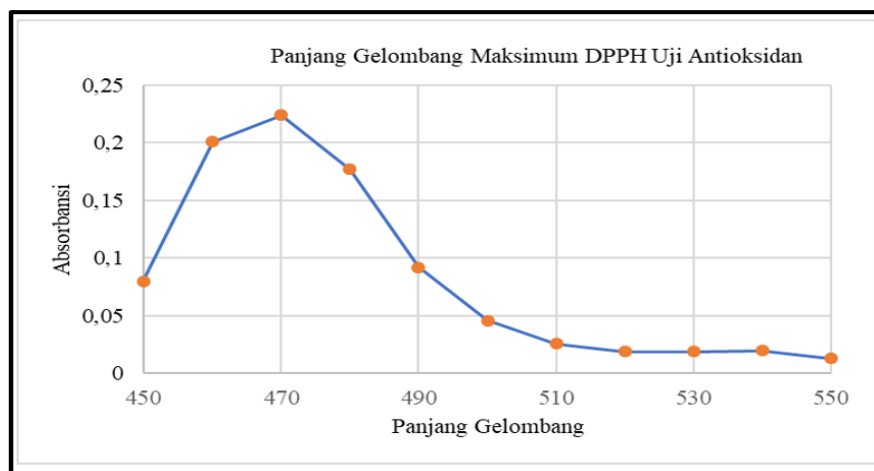
Epigallocatechin merupakan flavonoid yang paling melimpah pada tanaman kopi. Pada tanaman kopi Robusta epigallocatechin banyak terdapat pada daun, khususnya pada daun yang sudah tua dan berwarna hijau tua. Epigallocatechin memiliki sifat antioksidan dan penangkal radikal bebas yang kuat. Kemampuan ini terkait dengan struktur hidroksil, yang memiliki kemampuan mengikat ion hidrogen yang membersihkan radikal bebas (Nadine *et al.*, 2022). Antosianin termasuk dalam golongan flavonoid dan merupakan turunan polifenol. Antosianin memiliki struktur utama yang terdiri dari dua cincin aromatik benzene (C₆H₆) yang dihubungkan dengan tiga atom karbon. Tanaman kopi Robusta mengandung antosianin, terutama pada kulit bijinya. Antosianin adalah senyawa organik yang berfungsi sebagai zat warna alami pada tumbuhan. Antosianin dapat memberikan warna merah, ungu, biru, jingga, dan hitam pada tumbuhan. Selain pada kulit, antosianin juga terdapat pada daun kopi yang dapat memberikan warna hijau kehitaman pada daun kopi Robusta. Selain sebagai zat warna, antosianin juga memiliki beberapa fungsi lain, yaitu melindungi tanaman dari cekaman biotik dan abiotik, melindungi tanaman dari radiasi sinar UV-B, berperan penting dalam perbanyakan tanaman serta dalam mekanisme pertahanan tanaman (Shidiq, 2022).

Quercetin adalah pentahidroksiflavan dan 7-hidroksiflavanol serta merupakan flavonol yang tersebar luas di tanaman. Senyawa ini merupakan antioksidan seperti banyak senyawa heterosiklik fenolik lainnya. Quercetin merupakan salah satu flavonoid yang paling melimpah dalam tanaman terutama bagian daun. Pada daun kopi robusta quersetin menyebabkan adanya rasa pahit pada daun. Quercetin berwarna kuning dan berbentuk padat kristal yang tidak larut dengan etanol. Quersetin yang terdapat pada daun kopi Robusta akan membentuk endapan berwarna putih kekuningan jika dilarutkan dalam etanol (Xiu *et al.*, 2018).

Hasil Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan mengukur absorbansi larutan stok DPPH 50 ppm pada rentang panjang gelombang 420 – 520 nm

(Anugrah *et al.*, 2021). Panjang gelombang maksimum yang diperoleh yaitu gelombang 470 nm dengan nilai absorbansi 0,224 nm. Panjang gelombang maksimum dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Grafik Panjang Gelombang Maksimum Uji Antioksidan Ekstrak Daun Kopi Robusta

Setelah mendapatkan panjang gelombang maksimum dan mengukur absorbansi pada sampel dan DPPH, selanjutnya menghitung persentase inhibisi antioksidan. Inhibisi antioksidan adalah kemampuan senyawa antioksidan dalam sampel untuk menangkap radikal bebas pada konsentrasi larutan uji. Persentase inhibisi dapat diketahui dari beberapa konsentrasi Sampel diantaranya 5 ppm, 6 ppm, 7 ppm, 8 ppm, dan 9 ppm. Dari ke lima konsentrasi sampel tersebut didapatkan rata-rata dari persentase inhibisinya.

Inhibisi antioksidan adalah parameter yang menunjukkan kemampuan antioksidan untuk menghambat radikal bebas. Parameter ini diukur dengan persen inhibisi atau aktivitas antioksidan. Inhibisi antioksidan juga dapat diukur dengan IC₅₀ (inhibition concentration), yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH. Semakin kecil nilai IC₅₀, maka antioksidan tersebut semakin kuat dalam menangkalkan radikal bebas (Hasanah, 2017). Rata-rata inhibisi dan nilai IC₅₀ aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rata-Rata Inhibisi dan Nilai IC₅₀ Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun kopi Robusta

Sampel	Rata-Rata Persentase Inhibisi (%) ± SD	Nilai IC ₅₀ (ppm)	± Standar Deviasi Nilai IC ₅₀
A (122 mdpl)	31,92±7,38 ^a	10,84	± 3,89
B (204 mdpl)	37,69±15,27 ^a	2,36	
C (354 mdpl)	38,36±16,61 ^a	1,44	
D (434 mdpl)	46,08±9,43 ^{ab}	7,68	
E (511 mdpl)	61,89±8,08 ^b	4,33	

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada baris dan kolom yang sama tidak berbeda nyata pada DMRT ($P > 0,05$). Nilai IC₅₀ dari sampel A sampai E menunjukkan antioksidan sangat kuat (IC₅₀ < 50).

Persen inhibisi (% aktivitas antioksidan) merupakan salah satu parameter yang menunjukkan kemampuan suatu antioksidan dalam menghambat radikal bebas. Persentase inhibisi dapat digunakan untuk menghitung nilai IC₅₀ dengan membuat regresi linear antara konsentrasi larutan dengan nilai inhibisi (Pratiwi *et al.*, 2023). Berdasarkan hasil pada Tabel 4, dapat diketahui persentase inhibisi antioksidan paling tinggi terdapat pada ketinggian 511 dengan nilai 61,89%, sedangkan persentase inhibisi antioksidan terendah terdapat pada ketinggian 122 mdpl dengan nilai 31,92%.

Pada hasil uji Anova nilai signifikansi yaitu 0.008 yang artinya $< 0,05$ (kurang dari 0,05), maka terdapat perbedaan secara signifikan pada rata-rata persentase inhibisi dengan aktivitas antioksidan. Jika pengujian Anova memiliki hasil signifikan $> 0,05$ maka tidak ada perbedaan signifikan pada rata-rata hasil uji begitupun sebaliknya, jika hasil signifikan $< 0,05$ maka terdapat perbedaan signifikan pada rata-rata hasil uji (Arif *et al.*, 2023).

Berdasarkan hasil Anova yang menyatakan bahwa terdapat perbedaan secara signifikan pada rata-rata persentase inhibisi dengan aktivitas antioksidan, kemudian diuji lanjut dengan DMRT. Berdasarkan hasil uji DMRT, pada ketinggian 511 mdpl mengalami perbedaan secara nyata dengan persentase inhibisi pada ketinggian 122 mdpl, 204 mdpl dan 354 mdpl. Hal ini dapat dilihat bahwa nilai persentase inhibisi pada ketinggian 511 mdpl sebesar 61,89 % yang jauh lebih tinggi dibanding nilai inhibisi pada ketinggian 122 mdpl yaitu 31,92%, 204 mdpl 37,69 dan 354 mdpl dengan nilai 38,36%. Persentase inhibisi pada ketinggian 122 mdpl, 204 mdpl, 354 mdpl dan 434 mdpl tidak mengalami perbedaan secara nyata, karena memiliki nilai persentase inhibisi yang tidak terlalu berbeda jauh. Persentase inhibisi pada ketinggian 434 mdpl dengan 511 mdpl tidak mengalami perbedaan secara nyata, karena nilai persentase inhibisi pada ketinggian 434 mdpl yaitu 46,08% dan nilai persentase inhibisi pada ketinggian 511 mdpl yaitu 61,89 % memiliki jarak persentase nilai inhibisi yang tidak terlalu jauh, dibandingkan dengan ketinggian 122 mdpl, 204 mdpl, 354 mdpl.

Penetapan aktivitas antioksidan dapat diketahui dengan melihat nilai IC₅₀ (*inhibitory concentration*). Nilai IC₅₀ dapat diperoleh dari persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi larutan (x) dengan % inhibisi (y). Konsentrasi sampel dihitung dengan nilai x yang diperoleh dengan cara memasukkan angka 50 sebagai y dalam persamaan regresi linier yang diperoleh dari grafik konsentrasi dengan % inhibisi. Semakin rendah nilai IC₅₀, maka semakin tinggi aktivitas antioksidan. Semakin tinggi nilai IC₅₀, maka semakin rendah aktivitas antioksidannya. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC₅₀ kurang dari 50, kuat (50-100), sedang (100- 150), dan lemah (151-200) (Pratiwi *et al.*, 2023).

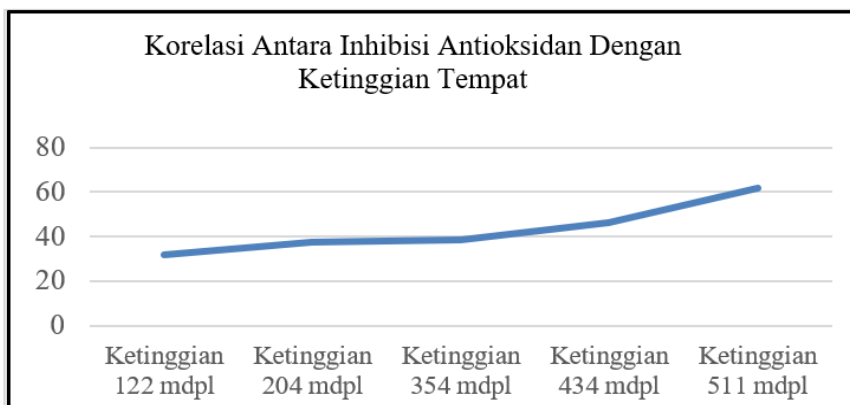
Semakin rendah nilai IC₅₀, maka aktivitas antioksidan semakin tinggi. Semakin tinggi nilai IC₅₀, maka aktivitas antioksidan semakin rendah (Pratiwi *et al.*, 2023). Berdasarkan Tabel 4, kelima ketinggian memiliki antioksidan sangat kuat, hal tersebut ditunjukkan dengan nilai IC₅₀ dari kelima ketinggian tempat tersebut kurang dari 50, dimana pada ketinggian 122 mdpl memiliki nilai IC₅₀ 10,84, ketinggian 204 mdpl memiliki nilai IC₅₀ 2,36, ketinggian 354 mdpl memiliki

nilai IC_{50} 1,44, ketinggian 434 mdpl memiliki nilai IC_{50} 7,68, dan ketinggian 511 mdpl memiliki nilai IC_{50} 4,33.

Berdasarkan uji Anova menggunakan nilai IC_{50} , aktivitas antioksidan memiliki nilai signifikansi 0,614 dengan hasil signifikansi $> 0,05$. Artinya nilai IC_{50} tidak terlalu berpengaruh signifikan terhadap aktivitas antioksidan. Ketinggian tempat tumbuh kopi Robusta di Kabupaten Ngawi, Provinsi Jawa Timur, Indonesia tidak terlalu berpengaruh secara signifikan terhadap aktivitas antioksidan pada daun kopi Robusta. Hal ini dapat dibuktikan bahwa aktivitas antioksidan pada kelima ketinggian tempat tersebut memiliki aktivitas antioksidan yang sama yaitu antioksidan kuat.

Korelasi Antara Inhibisi Antioksidan dengan Ketinggian Tempat

Hasil uji korelasi antara ketinggian tempat dengan aktivitas antioksidan menggunakan *Correlate Bivariate* didapatkan nilai pearson *pearson correlation* sebesar 0,715 yang artinya ketinggian tempat dengan persentase inhibisi antioksidan memiliki korelasi positif. Dari nilai tersebut tingkat kekuatan korelasi antara ketinggian tempat tumbuh dengan aktivitas antioksidan daun kopi robusta menunjukkan korelasi sedang antara 0,61 – 0,80. Korelasi positif yang terjadi pada kelima ketinggian tempat dengan aktivitas antioksidan daun kopi Robusta dapat dibuktikan bahwa persentase inhibisi antioksidan dari ketinggian rendah ke ketinggian yang lebih tinggi mengalami kenaikan secara signifikan (Arif *et al.*, 2023). Grafik korelasi antara inhibisi antioksidan dengan ketinggian tempat yang dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Grafik Korelasi Antara Inhibisi Antioksidan Ekstrak Daun Kopi Robusta dengan Ketinggian Tempat

Nilai signifikansi pada pearson correlation 0,00-0,20 menunjukkan tidak ada korelasi antara ketinggian tempat dengan aktivitas antioksidan. Nilai signifikansi pada pearson correlation 0,21-0,40 menunjukkan korelasi lemah antara ketinggian tempat dengan aktivitas antioksidan. Nilai signifikansi pada pearson correlation 0,41-0,60 menunjukkan korelasi sedang antara ketinggian tempat dengan aktivitas antioksidan. Nilai pearson correlation 0,61-0,80 menunjukkan korelasi kuat antara ketinggian tempat dengan aktivitas antioksidan. Nilai pearson correlation 0,81-1,00 menunjukkan korelasi sempurna antara ketinggian tempat dengan aktivitas antioksidan (Arif *et al.*, 2023).



SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa daun kopi robusta dari kelima ketinggian tempat tumbuh mengandung senyawa alkaloid dan flavonoid. Hasil skrining fitokimia senyawa alkaloid menunjukkan adanya warna kecoklatan pada sampel daun kopi yang diberi reagen Dragendroff. Senyawa flavonoid menunjukkan adanya warna cokelat tua dan terdapat endapan cokelat muda pada sampel daun kopi setelah diberi reagen Wilstatter. Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menunjukkan adanya senyawa alkaloid dengan nilai R_f 0,41 dan nilai R_f 0,91, serta terdapat warna merah muda dan putih pada pengamatan dibawah sinar UV 366 nm. Senyawa flavonoid yang dihasilkan dari uji KLT menunjukkan adanya warna merah pada pengamatan dibawah sinar UV 366 nm dengan nilai R_f 0,33, 0,5 dan 0,91. Nilai R_f pada uji KLT alkaloid dan flavonoid memiliki nilai sesuai dengan kriteria R_f pada alkaloid dan flavonoid yaitu 0,2 sampai 0,8. Persentase inhibisi antioksidan paling tinggi terdapat pada ketinggian 511 dengan nilai 61,89%, sedangkan persentase inhibisi antioksidan terendah terdapat pada ketinggian 122 mdpl dengan nilai 31,92%. Aktivitas antioksidan dari kelima ketinggian tempat menunjukkan antioksidan sangat kuat, karena memiliki nilai IC_{50} yaitu kurang dari 50. Ketinggian tempat tumbuh pada tanaman kopi Robusta di Kabupaten Ngawi, berpengaruh secara signifikan terhadap persentase inhibisi antioksidan, serta memiliki korelasi yang sedang.

SARAN

Pada penelitian selanjutnya sebaiknya perlu dilakukan uji aktivitas metabolit sekunder tanin dan saponin pada daun Kopi Robusta dari berbagai ketinggian tempat khususnya di Kabupaten Ngawi, Jawa Timur, Indonesia untuk memaksimalkan pemanfaatannya dimasyarakat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang terkait dan berkontribusi dalam penelitian ini, sehingga penelitian dapat terlaksana dengan baik. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada pihak pengulas jurnal dalam mengevaluasi, meninjau dan menilai jurnal yang diajukan untuk dipertimbangkan dalam proses publikasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Anugrah, P. M. D., Kamoda., Maria, N., Indrawanti, K., Eka, A., Halidah, R., & Elpira, A. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Alga Cokelat *Sargassum* sp. Dengan Metode 1,1- Difenil-2-Pikrihidrasil (DPPH). *Pattimura Medical Review*, 3(1), 60-72. <https://doi.org/10.30598/pamerivol3issue1page60-72>
- Ardiansyah, D., Tjota, H., & Kiyat, W. E. (2018). Peran Enzim dalam Meningkatkan Kualitas Kopi. *Jurnal Penelitian Ilmu Eksakta*, 19(2), 86-91. <https://doi.org/10.33319/agtek.v19i2.25>.
- Arif., Dzaki, A. A., & Rizky, M. R. (2023). Anova dan Tukey HSD Perbandingan Produksi Padi Antara Tiga Kabupaten di Provinsi Jambi. *Jurnal Statistika Universitas Jambi*, 2(1), 23- 31. <https://doi.org/10.22437/multiproximity.v2i1.25908>.



- Armelia, R. B., Selpida, H., & Aktsar, R. A. (2023). Penetapan Kadar Flavonoid Total Buah Dengan (*Dillenia serrata*) Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Makassar Natural Product Journal*, 1(10), 86-101.
- Asfaw, M. D, Kassa, S. M., Lungu, E. M., & Bewket, W. (2019). Effect of Temperature and Rainfall in Plant - Herbivore Interactions at Different Altitude. *Ecological Modeling*, 406, 50-59. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2019.05.011>.
- Budi, D., Wahyu, M., Yusianto., & Atina, R. (2020). Karakterisasia Kopi Bubuk Robusta (*Coffea canephora*) Tulungrejo Terfermentasi Dengan Ragi *Saccharomyces cerevisiae*. *Jurnal Agroindustri*, 10(2), 129-138. <https://doi.org/10.31186/j.agroindustri.10.2.129-138>.
- Budiman H. (2015). Isolasi dan Identifikasi Alkaloid Pada Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta* Lindl. Ex De Will) dengan Cara Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi*. Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Muhammadiyah Klaten.
- Deanna, M. M. (2019). "A Review of the Science Behind Colorful Plant-Based Foods and Practical Strategies for "Eating the Rainbow," *Journal of Nutrition and Metabolism*, 19, 1-19. <https://doi.org/10.1155/2019/2125070>.
- Devi, Y. P., Siti, S., & Nurwantoro. (2017). Antioksidan dan Kadar Fenol Berbagai Ekstrak Daun Kopi (*Coffea* sp.). *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 6(2), 89-92. <https://doi.org/10.17728/jatp.205>.
- Dinas Ketahanan Pangan dan Pertanian. (2023). *Pameran Produk Unggulan UMKM Kabupaten Ngawi*. Ngawi: Dinas Ketahanan Pangan dan Pertanian.
- Elinur, N., Ade, F., & Erwan, K. (2024). Identifikasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Akar Bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk). *Jurnal farmasi: IKIFA*.3(3):54-58.
- Elsa. (2018). Optimalisasi Variasi Pelarut dan Variasi lama Ekstraksi Ultrasonik Senyawa Aktif Alkaloid pada Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* L) Serta Identifikasi Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Evi, I.W., Esti, P., Trisni, F. N., & Novi, F. U. (2018). Uji Karakteristik Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora* Pierre) Dari Bogor, Bandung Dan Garut Dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). *Fitofarmaka Jurnal Ilmiah Farmasi*, 8(1), 59-66. <https://doi.org/10.33751/jf.v8i1.1172>.
- Gusti, I., Yogi, A. R. R., Pand, D., & Fitriani, P. E., Teknologi, I., Bali, K., & Yogi, G. A. (2022). Analisis Kadar Kafein dan Antioksidan Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Terfermentasi *Saccharomyces cerevisiae* . *Itepa: Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 11(2), 373-381. <https://doi.org/10.24843/itepa.2022.v11.i02.p18>.
- Hasanah, M. B. (2017). Daya Antioksidan Ekstrak Dan Fraksi Daun Kopi Robusta (*Coffea robusta*) Terhadap Pereaksi DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 4(2), 42-49. <https://doi.org/10.15416/ijpst.v4i2.10456>.



- Hasnaeni., Wisdawati., & Usman, S. (2019). Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Dan Kadar Fenolik Ekstrak Tanaman Kayu Beta-Beta (*Lunasia amara* Blanco). *Jurnal Farmasi Galenika: Galenika Journal of Pharmacy*, 5(2), 175–182. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2019.v5.i2.13599>.
- Hiroshi, A. (2016). Metabolism of Alkaloids in Coffee Plants. *Brazilian journal of Plant Physiology*, 18(1), 1–8. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202006000100001>.
- Mety, H., Jayanti, S., Rukiah, L., Endang, S., & Nopryeni. (2021). Pelatihan Pembuatan Keripik Daun Kopi Di Desa Cugung Lalang Kecamatan Kepahiang Kabupaten Kepahiang. *Jurdimas: Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat Royal*, 4(2), 41 – 146. <https://doi.org/10.33330/jurdimas.v4i2.954>.
- Mirwais, M. Q., Ashley, B. M., & Courtney, A. S. (2023). Environmental Factors Regulate Plant Secondary Metabolites. *Plant*, 12(3), 1-27. <https://doi.org/10.3390/plants12030447>.
- Nadine, T., Marc, C. S., Valerie, S., Patrik, B., Marina, R., Steffen, S., Yanyan, Z., Heike, F., & Dirk, W. L. (2022). Risk Assessment of Caffeine and Epigallocatechin Gallate in Coffee Leaf Tea. *Foods*, 11(3), 1-20. <https://doi.org/10.3390/foods11030263>.
- Naeli, F., & Muchtaridi. (2018). Tinjauan Kimia dan Aspek Farmakologi Senyawa Asam Klorogenat Pada Biji Kopi: Review. *Farmaka Suplemen*. 14(1), 214-227.
- Ndour, D., Diouf, D., Bimpong, I. K., Sow, A., Kanfany, G., & Manneh B. (2016). Agro-Morphological Evaluation of Rice (*Oryza sativa* L.) for Seasonal Adaptation in the Sabelian Environment. *Agronomy*, 6(8), 1-17. <https://doi.org/10.3390/agronomy6010008>.
- Novi, F. U. (2020). *Potensi Antioksidan dari Biji Kopi Robusta 9 Daerah di Pulau Jawa*. Bogor: Lembaga Penelitian dan Pengabdian Pada Masyarakat Universitas Pakuan.
- Parvesh, D., Sushila, S., Seema, S., Sheetal., Promila., & Ritu. (2021). Effect of solvent pH on antioxidant and phytochemical activities of *Mulhatti* aerial parts (*Glycyrrhiza glabra* L.) *Journal of Antioxidant Activity*. 2 (3), 1-9. <https://doi.org/10.14302/issn.2471-2140.jaa-21-4027>.
- Pratiwi, A. R. H., Yusran., Islawati., & Artati. (2023). Analisis Kadar Antioksidan Pada Ekstrak Daun Binahong Hijau *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis. *Jurnal Biologi Makasar*, 8(2), 66-74.
- Qinghu, W., Jinmei, J., Nayintai, D., Narenchaoketu, H., Jingjing, H., & Baiyinmuqier, B. (2016). Anti- Inflammatory Effects, Nuclear Magnetic Resonance Identification and High- Performance Liquid Chromatography Isolation Of The Total flavonoids From *Artemisia frigida*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 24, 385 – 391. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2015.11.004>.
- Ristiana, D. (2017). Aktivitas Antioksidan Dan Kadar Fenol Berbagai Ekstrak Daun Kopi (*Coffea* Sp.) Potensi Aplikasi Bahan Alami Untuk Fortifikasi Pangan. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 6(2), 89–92. <https://doi.org/10.17728/jatp.205>.



- Rubani, A. (2022). Pengaruh Ketinggian Lokasi Tumbuh Terhadap Kadar Total Flavanoid Dan Daya Antioksidan Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) R.M.King & H.Rob). *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Sawiji, R.T., Oriana, E., La, J., Komang, I., & Musthika T. 2022. Formulasi Dan Uji Aktivitas Antioksidan Body Lotion Ekstrak Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 8(2), 255–265. <https://doi.org/10.51352/jim.v8i2.629>.
- Shidiq, D. N. (2022). Ekstraksi Antosianin Kulit Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Pada Berbagai Suhu Berbantu Gelombang Ultrasonik dengan Pelarut Asam Asetat. *Skripsi*. Universitas Semarang.
- Tian, Y., Wang., Qing, L., & Kai, S. B. (2018). Bioactive flavonoids In Medicinal Plants: Structure, Activity and Biological Fateasian. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13, 12 – 23. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2017.08.004>.
- Wardaningrum, R. Y., Susilo, J., & Dyahariesti. (2019). Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Terpurifikasi Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L.) dengan Vitamin E. *Skripsi*. Universitas Ngudi Waluyo Semarang.
- Widagyo, D. R., Velina, A. B., Aylianawati., & Nani, I. (2013). Ekstraksi Kafeina dari Serbuk Kopi Java Robusta dengan Pelarut Minyak Wagung. *Widya Teknik*, 12(1), 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.12.073>.
- Widiastuti, A. E. S. (2014). Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus* Murr.). *Skripsi*. Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Xiu, M. C., Zhili, M., & David, D. K. (2018). Effects of processing method and age of leaves on phytochemical profiles and bioactivity of coffee leaves. *Food Chemistry*, 249, 143-153.
- Yanmei, Q., Xuanxuan, L., Chunyan, L., Qianwen, C., Shaobo, C., Lihong, S., Dalong, S., Xin, G., Zhongqun, H., & Xiaoting Z. (2023). Effect of Light Intensity on Celery Growth and Flavonoid Synthesis. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1-12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1326218>.
- Yulia, K. W., Elizabeth, B., & Elok, K. (2020). Korelasi Antara Aktivitas Antioksidan dengan Kandungan Senyawa Fenolik dan Lokasi Tumbuh Tanaman *Celosia argentea* Linn. *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi*, 22(2), 136-142.