

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN SITOTOKSIK SERTA
PENETAPAN KADAR FENOLIK TOTAL EKSTRAK AKTIF
DAUN KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*)**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi
(S.Farm.) di bidang studi Farmasi pada Fakultas MIPA**



Oleh :

SEPTI BUANASARI

08111006034

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

2016

HALAMAN PENGESAHAN MAKALAH SEMINAR HASIL

Judul Makalah : Uji Aktivitas Antioksidan dan Sitotoksik serta Penetapan
Kadar Fenolik Total Ekstrak Aktif Daun Kopi Robusta
(*Coffea canephora*)
Nama Mahasiswa : Septi Buanasari
NIM : 08111006034
Jurusan : FARMASI

Telah dipertahankan di hadapan Pembimbing dan Pembahas pada Seminar Hasil Penelitian di Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 1 November 2016 dan telah diperbaiki, diperiksa, serta disetujui sesuai masukan yang diberikan.

Indralaya, 06 Desember 2016

Pembimbing :

1. Fitrya, M.Si., Apt.
NIP. 197212101999012001
2. Annisa Amriani, M.Farm., Apt.
NIPUS. 198412292015107201

(.....)
(.....)

Pembahas :

1. Herlina, M.Kes., Apt.
NIP. 197107031998022001
2. Najma Annuria Fithri, S.Farm., M.Sc., Apt.
NIP. 198803252015042002
3. Indah Solihah, M.Sc., Apt.
NIPUS. 19880308201507201

(.....)
(.....)
(.....)

Mengetahui,
Ketua Program Studi Farmasi
FMIPA Universitas Sriwijaya

(.....)

Dr.rer.nat. Mardiyanto, M.Si., Apt.
NIP. 197103101998021002

HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Makalah : Uji Aktivitas Antioksidan dan Sitotoksik serta Penetapan
Kadar Fenolik Total Ekstrak Aktif Daun Kopi Robusta
(*Coffea canephora*)
Nama Mahasiswa : Septi Buanasari
NIM : 08111006034
Jurusan : FARMASI

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Sidang Ujian Skripsi Program
Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA)
Universitas Sriwijaya pada tanggal 19 Desember 2016 dan telah diperbaiki,
diperiksa, serta disetujui sesuai dengan saran yang diberikan.

Inderalaya, 20 Desember 2016

Ketua :

1. Herlina, M.Kes., Apt.
NIP. 197107031998022001

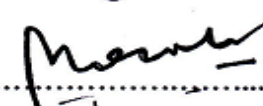
(..........)

Anggota :

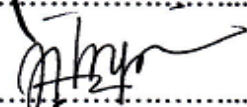
1. Dr.rer.nat. Mardiyanto, M.Si., Apt.
NIP. 197103101998021002

(..........)

2. Dr. Hj. Budi Untari, M.Si., Apt.
NIP. 195810261987032002

(..........)

3. Fitrya, M.Si., Apt.
NIP. 197212101999012001

(..........)

4. Annisa Amriani, M.Farm., Apt.
NIPUS. 198412292015107201

(..........)

Mengetahui
Ketua Program Studi Farmasi
Fakultas MIPA, UNSRI


Dr.rer.nat. Mardiyanto, M.Si., Apt.
NIP. 197103101998021002

HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Septi Buanasari

NIM : 08111006034

Fakultas/Program Studi : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Farmasi

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata satu (S1) dari Universitas Sriwijaya maupun perguruan tinggi lain. Semua informasi yang dimuat dalam skripsi ini yang berasal dari penulis lain baik yang dipublikasikan atau tidak telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar. Semua isi dari skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Inderalaya, 20 Desember 2016

Penulis,



Septi Buanasari
NIM. 08111006034

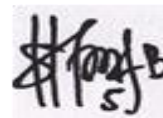
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswi : Septi Buanasari
NIM : 08111006034
Fakultas/Program Studi : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Farmasi
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya “hak bebas royalti non-eksklusif” (*non-exclusively royalty-freeright*) atas karya ilmiah saya yang berjudul: “Uji Aktivitas Aktioksidan dan Sitotoksik serta Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Aktif Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*)” beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan hak bebas royalti non-eksklusif ini, Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalihmedia/memformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir atau skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Inderalaya, 20 Desember 2016



Septi Buanasari
NIM. 08111006034

HALAMAN PERSEMBAHAN DAN MOTTO



(Dengan menyebut nama Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang)

“Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari sesuatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap”

(Q.S Al-Insyirah 5-8)

“Rencana Allah itu lebih baik dari rencanamu, jadi tetaplah berjuang dan berdoa, hingga kau akan menemukan bahwa ternyata memang Allah memberikan yang terbaik untukmu”

(M Agus Syafii).

Alhamdulillahil robbil alamin.

Sembah sujud serta syukurku kepada Allah SWT

Berkat taburan berkah dan kasih sayang-Mu

Satu tahap telah ku lewati

Namun...Ini bukan akhir dari segalanya

Melainkan awal dari satu kesuksesan

Dengan rahmat Allah SWT yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang.

Dengan ini saya persembahkan skripsi ini untuk Ibu, Bapak, dan kakak-kakakku tercinta yang telah memberikan dukungan moril dan materil selama ini, serta para sahabat dan teman-teman seperjuangan

Farmasi 2011.

Man Jadda Wajada “Barang siapa yang bersungguh-sungguh pasti akan berhasil”

Where there is a will there is a way “Dimana ada kemauan, pasti akan ada jalan”

“Jangan pernah meremehkan impian, walau setinggi apapun, sesungguhnya Allah Maha mendengar”

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah, Tuhan Semesta Alam yang atas rahmat dan karunia-Nyalah, shalawat serta salam penulis sampaikan kepada Nabi Muhammad SAW. Berkat karunia dan izin dari Allah SWT, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Aktioksidan dan Sitotoksik serta Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Aktif Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*)”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat mendapatkan gelar Sarjana Farmasi di program studi Farmasi pada Fakultas MIPA Universitas Sriwijaya. Selain itu, skripsi ini ditulis untuk memberikan informasi mengenai potensi daun kopi robusta sebagai agen antioksidan alami dalam terapi penyakit degeneratif terhadap uji sitotoksik.

Penulis menyadari bahwa dalam penelitian maupun penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Allah S.W.T atas nikmat kesehatan, rezeki, waktu, hidayah, dan kesempatan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
2. Ibu (Masrohati) dan Bapak (Asnawi MR) tercinta yang selalu memberikan kasih sayang, memanjatkan doa yang tak henti-hentinya, menasehati, memberi semangat, memotivasi, hingga memberikan dukungan moril dan materil yang tak ternilai. Kakak-kakakku (Marlinda, Desi, Novi, dan Janu) tersayang yang selalu memberikan warna kehidupan untuk semangat, bantuan dan motivasi.
3. Keluarga besar Alm. Muhammad Rasyid dan Alm. Mat Nanang, yang selalu memberikan motivasi dan semangat yang tiada henti-hentinya yang tidak bernilai harganya.
4. Rektor Universitas Sriwijaya dan Dekan Fakultas MIPA serta Ketua Program Studi Farmasi atas sarana dan prasarana yang diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dengan baik dan lancar.
5. Ibu Fitrya, M.Si., Apt. selaku pembimbing pertama, dan Bapak Shaum Shiyon, M.Sc., Apt. serta Ibu Annisa Amriani, M.Farm., Apt. sebagai dosen pembimbing

kedua yang telah bersedia meluangkan waktu dan kesabaran dalam membimbing, memberikan ilmu, arahan, bantuan, motivasi, dan kepercayaan kepada saya dalam menyelesaikan penelitian serta penulisan skripsi ini.

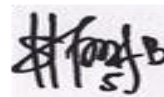
6. Ibu Herlina, M.kes., Apt. Ibu Najmah Annuria Fithri, M.Sc., Apt. dan Ibu Indah Solihah, M.Sc., Apt. sebagai dosen pembahas seminar proposal dan hasil yang telah banyak memberikan masukan dan saran dalam penulisan proposal dan makalah hasil.
7. Bapak Dr.rer.nat. Mardiyanto, M.Si., Apt. Ibu Dr. Budi Untari, M.Si., Apt., Ibu Herlina, M.kes., Apt. sebagai dosen pembahas sidang yang telah banyak memberikan masukan dan saran dalam penyusunan skripsi ini.
8. Seluruh dosen, staf, dan analis Program Studi Farmasi FMIPA Universitas Sriwijaya yang telah memberikan pengetahuan, wawasan, dan bantuan dalam studi sehingga penulis bisa menyelesaikan studi dengan baik dan lancar.
9. Sahabat tersayangku (Teteh Evi, Mbak Nella, Teka, Rendi, dan Rekal) terimakasih atas doa dan semangat yang telah diberikan selama ini untuk menguatkan dalam proses penyelesaian skripsi.
10. Sahabat kost riamandala (Umi, Selvi, Yunis, Nisa, Nikoy, Mimi, Desti, Cika, dan Sari) yang telah setia menemani, memberi bantuan yang tak terhitung, menyemangati, memberi canda tawa, serta selalu mendengarkan keluh kesah dari awal perkuliahan hingga terselesainya skripsi ini yang selalu setia membantu saat kesusahan.
11. Sahabat seperjuanganku skripsi dan sahabat tercantik (Diny, Kiki Puji, Soimah, Winta, Iin, Rinda, Marta, Ria, dan Riska) yang selalu mendengarkan curahan hati, menjadi tempat berbagi ilmu, memberikan arti kebersamaan, nasihat, masukan, semangat, perhatian, keceriaan, serta bantuan hingga terselesaikannya skripsi ini.
12. Partner daun kopi (Della dan Kakpi), partner lab (Hasti, Fanny, Arimia, dan Dea), serta teman-teman lainnya yang telah memberikan banyak bantuan saat penelitian dan penyusunan skripsi.
13. Teman-teman dan penyemangatkku selama ini (Arsya, Raka, Siti, Dimas, Didot,

Randi Unyuk, Gita Z, Debi, Apriyul, Rio Gumay, dan Mareta) yang telah berperan sebagai sahabat serta memberi semangat, memberi canda dan tawa, serta setia mendengarkan keluh kesah hingga terselesaikannya skripsi ini.

14. Teman-teman seperjuangan Farmasi 2011, Zona kanan dan kiri terima kasih untuk kenangan, canda, tawa, cerita, suka, dan duka kita lewati selama 5 tahun bersama. Kalian telah banyak memberikan pelajaran dan mewarnai hari-hariku, kalian luar biasa kesuksesan menanti kita.
15. Adik-adik tingkatku Farmasi 2012, 2013, 2014, dan 2015 yang telah memberikan canda tawa, suka duka, inspirasi, semangat, bantuan, serta kenangan selama perkuliahan.
16. Semua pihak yang telah memberikan bantuan baik langsung maupun tidak langsung yang namanya tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis sangat bersyukur dan berterimakasih atas segala kebaikan, bantuan, dukungan, dan motivasi yang diberikan dari semua pihak yang telah membantu selama penelitian dan penyusunan skripsi ini. Semoga Allah memberkahi dan membalas setiap kebaikan semua pihak yang membantu. Penulis menyadari dalam penulisan skripsi ini masih banyak terdapat kekurangan, oleh karena itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk perbaikan dimasa yang akan datang. Semoga skripsi ini dapat memberikan banyak manfaat untuk kemajuan ilmu pengetahuan

Inderalaya, 20 Desember 2016
Penulis,



Septi Buanasari
08111006034

Antioxidant, Cytotoxic Activities, and Phenolic Total Assay of Robusta Coffee Leaves Active Extract

Septi Buanasari
08111006034

ABSTRACT

Coffea canephora leaves contains alkaloid, flavonoid, and phenolic which are potential for antioxidant activity and cytotoxic. The purpose of this research is to determine activity, cytotoxic, and assay of phenolic total from active extract of robusta coffee leaves. Determination of antioxidant activity was conducted using n-hexane, ethyl acetate, and ethanolic extract with DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) method and quercetin as comparison. The result of antioxidant activity study showed that each extract with quercetin comparison have n-hexane value IC_{50} 539.40 $\mu\text{g/ml}$, ethyl acetate 79.64 $\mu\text{g/ml}$, ethanol extract 22.91 $\mu\text{g/ml}$, and quercetin 4.57 $\mu\text{g/ml}$. Ethanolic extract as antioxidant activity and the most reactive compare other extracts and stated as active extract. Determination of cytotoxic activity with BSLT method was performed on ethanol extract and has LC_{50} value 108.14 $\mu\text{g/ml}$. The content of total phenolic used Folin-Ciocalteu reagent method showed total phenolic contents result of ethanol extract was 115.76 mg/g.

Keyword(s): *coffea canephora*, antioxidant, cytotoxic, total phenolic.

Uji Aktivitas Antioksidan dan Sitotoksik serta Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Aktif Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*)

Septi Buanasari
08111006034

ABSTRAK

Daun kopi robusta (*Coffea canephora*) mengandung alkaloid, flavonoid, dan fenolik yang berpotensi memiliki aktivitas antioksidan dan sitotoksik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan, sitotoksik, dan penetapan kadar fenolik total ekstrak aktif daun kopi robusta. Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan terhadap ekstrak n-heksan, etil asetat, dan etanol menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dan pembanding kuersetin. Hasil penelitian aktivitas antioksidan pada masing-masing ekstrak dengan kuersetin sebagai pembanding adalah ekstrak n-heksan dengan nilai IC_{50} 539,40 $\mu\text{g/mL}$, etil asetat 79,64 $\mu\text{g/mL}$, ekstrak etanol 22,91 $\mu\text{g/mL}$, dan IC_{50} kuersetin 4,57 $\mu\text{g/mL}$. Ekstrak etanol sebagai aktivitas antioksidan sangat aktif dibanding ekstrak lain dan dinyatakan sebagai ekstrak aktif. Penentuan aktivitas sitotoksik dengan metode BSLT dilakukan pada ekstrak etanol memiliki nilai LC_{50} 108,14 $\mu\text{g/mL}$. Kandungan kadar fenolik total dengan metode reagen Folin-Ciocalteu menunjukan hasil kadar fenolik total pada ekstrak etanol yaitu 115,76 mg/g.

Kata kunci: *Coffea canephora*, antioksidan, sitotoksik, fenolik total.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN MAKALAH HASIL.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN MAKALAH HASIL	iii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH	iv
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	v
HALAMAN PERSEMBAHAN DAN MOTTO.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
ABSTRACT	x
ABSTRAK	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
 BAB I PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	 5
2.1 Uraian Tanaman Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>)	5
2.2 Kandungan Kimia dan Efek Farmakologi Daun Kopi.....	6
2.3 Ekstraksi	8
2.4 Antioksidan dan Peranannya.....	9
2.5 Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan	10
2.6 Uji Aktivitas Sitotoksik	11
2.7 Deskripsi Larva <i>Artemia salina</i>	13
2.7.1 Klasifikasi <i>Artemia salina</i>	13
2.7.2 Morfologi <i>Artemia salina</i>	14
2.7.3 Habitat <i>Artemia salina</i>	15
2.7.4 Uji BSLT (<i>Brine Shrimp Lethality Test</i>)	16
2.8 Senyawa Fenolik	17
2.8.1 Penetapan Kadar Fenolik	18
 BAB III METODOLOGI PENELITIAN	 20
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	20
3.2 Alat dan Bahan.....	20
3.2.1 Alat	20
3.2.2 Bahan	20
3.3 Prosedur Penelitian	21
3.3.1 Pengambilan Sampel	21

	3.3.2 Determinasi	21
	3.3.3 Uji Fitokimia	21
	3.3.4 Penyiapan Sampel dan Pembuatan Ekstrak	23
	3.3.5 Uji Kualitatif Ekstrak dengan KLT	24
3.4	Uji Aktivitas Antioksidan	25
	3.4.1 Penetapan Panjang Gelombang DPPH	25
	3.4.2 Kuersetin.....	25
	3.4.3 Ekstrak Daun Kopi Robusta	26
3.5	Uji Sitotoksik dengan Metode BSLT	27
	3.5.1 Penyiapan Larva <i>Artemia salina</i>	27
	3.5.2 Pengujian Sitotoksik Larva <i>Artemia salina</i>	27
3.6	Penetapan Kadar Fenolik Total.....	28
	3.6.1 Asam Galat	28
	3.6.1 Pembuatan Larutan Uji.....	28
	3.6.2 Uji Kadar Fenolik Total	29
3.7	Analisis Data	30
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	30
	4.1 Determinasi Tanaman	30
	4.2 Skrining Fitokimia	30
	4.3 Ekstraksi Sampel.....	34
	4.4 Uji Kualitatif KLT	37
	4.5 Uji Aktivitas Antioksidan	42
	4.6 Uji Aktivitas Sitotoksik	50
	4.7 Uji Penetapan Kadar Fenolik Total	59
	4.8 Analisis Data	62
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	65
	5.1 Kesimpulan	65
	5.2 Saran	65
	DAFTAR PUSTAKA	66
	LAMPIRAN	74

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH.....	11
Tabel 2. Klasifikasi tingkat toksisitas uji BSLT	17
Tabel 3. Hasil skrining fitokimia dari simplisia daun kopi robusta	30
Tabel 4. Karakteristik ekstrak daun kopi robusta	35
Tabel 5. Hasil rata-rata pengukuran absorbansi	46
Tabel 6. Persamaan regresi linier dan nilai IC_{50}	47
Tabel 7. Hasil pengujian BSLT	55

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman kopi robusta <i>Coffea canephora</i> (a) pohon kopi robusta (b) buah kopi robusta	5
Gambar 2. Struktur (a) asam klorogenat (b) mangiferin	7
Gambar 3. Reaksi perendaman DPPH	11
Gambar 4. Larva <i>Artemia salina</i>	16
Gambar 5. Reaksi uji Wagner	32
Gambar 6. Reaksi flavonoid dengan NaOH	33
Gambar 7. Hasil KLT alkaloid (a) ekstrak EtOAc (b) ekstrak etanol.....	38
Gambar 8. Reaksi uji dragendorff dengan alkaloid	39
Gambar 9. Hasil KLT fenolik (a) ekstrak EtOAc (b) ekstrak etanol	40
Gambar 10. Reaksi fenolik dengan FeCl ₃	41
Gambar 11. Reaksi senyawa terpenoid H ₂ SO ₄	41
Gambar 12. Hasil KLT triterpenoid/steroid	42
Gambar 13. Reaksi perendaman radikal DPPH	43
Gambar 14. Kurva kalibrasi standar kuersetin	45
Gambar 15. Kurva perbandingan	47
Gambar 16. Reaksi DPPH oleh flavonoid	50
Gambar 17. Kurva hubungan log konsentrasi dengan probit	56
Gambar 18. Struktur quinoid	59
Gambar 19. Reaksi Folin–Ciocalteu dengan senyawa fenol	60
Gambar 20. Kurva kalibrasi standar asam galat	62

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Skema Kerja Preparasi Ekstraksi Daun Kopi Robusta	74
Lampiran 2. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Pembanding Kuersetin	75
Lampiran 3. Uji Antioksidan Ekstrak Daun Kopi Robusta	75
Lampiran 4. Uji Sitotoksik dengan Metode BSLT	76
Lampiran 5. Uji Penetapan Kadar Fenolik Total	77
Lampiran 6. Hasil Determinasi	78
Lampiran 7. Hasil Skrining Simplisia Daun Kopi Robusta	79
Lampiran 8. Perhitungan Persentase Rendemen Ekstrak.....	81
Lampiran 9. Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum DPPH	82
Lampiran 10. Tabel % Inhibisi	83
Lampiran 11. Pengukuran Nilai IC ₅₀	85
Lampiran 12. Tabel Probit	87
Lampiran 13. Perhitungan LC ₅₀ Sitotoksik	88
Lampiran 14. Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat	89
Lampiran 15. Perhitungan Fenolik Total	90
Lampiran 16. Dokumentasi Pribadi	91
Lampiran 17. Analisis Data	94

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Radikal bebas atau *reactive oxygen species* (ROS) memiliki sifat tidak stabil, sangat reaktif dan dapat merebut elektron dari molekul lain dalam upaya mendapatkan pasangan elektronnya. Menurut Astuti (2008) radikal bebas merupakan sebuah molekul atau atom yang mempunyai satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Radikal bebas yang berlebihan dapat menyerang tubuh dan menyebabkan penyakit degeneratif. Gangguan yang paling tinggi pada penyakit degeneratif adalah kanker, diabetes, hipertensi dan ginjal. Jumlah penderita penyakit degeneratif yang terus meningkat setiap tahunnya serta tingkat keparahan yang ditimbulkan memerlukan terapi farmakologi dan non farmakologi. Salah satu terapi farmakologi dan pencegahan yang dapat dilakukan adalah mengonsumsi makanan dan vitamin yang banyak mengandung antioksidan.

Antioksidan memiliki peran penting dalam menghambat atau mencegah penyakit degeneratif yang disebabkan oleh radikal bebas (Jaitak *et al.*, 2010). Senyawa antioksidan dapat menyumbangkan satu atau lebih elektronnya kepada radikal bebas, sehingga menjadi molekul yang normal kembali dengan menghentikan berbagai kerusakan yang timbul dan dapat mengurangi kerusakan oksidatif melalui pengurangan stress oksidatif, *reactive oxygen species* (ROS) dan *tumor necrosis factor alpha* (TNF- α) (Ashok *et al.*, 2002). Antioksidan mampu melindungi tubuh terhadap kerusakan yang disebabkan senyawa oksigen reaktif,

menghambat peroksidasi lipid pada makanan serta mampu menghambat terjadinya penyakit.

Pemanfaatan antioksidan yang banyak digunakan sebagai terapi penyakit degeneratif, juga penggunaan antioksidan saat ini adalah untuk mencegah terjadinya penyakit kanker. Salah satu uji untuk mengetahui potensi antikanker yaitu melakukan uji sitotoksik. Uji sitotoksik merupakan salah satu metode untuk memprediksi keberadaan senyawa yang bersifat toksik pada sel yang merupakan syarat mutlak untuk obat-obat antikanker (Kurnijasanti dkk., 2008). Metode uji sitotoksik menggunakan *brine shrimp lethality test* (BSLT) merupakan metode yang paling umum digunakan karena metode ini sangat sederhana dan akurat dalam melakukan skrining terhadap senyawa aktif ataupun ekstrak aktif dari bahan alam.

Satu tumbuhan yang memiliki potensi sebagai agen terapi dalam pengobatan tradisional dan berpotensi memiliki aktivitas antioksidan adalah daun kopi robusta (*Coffea canephora*). Menurut Aklimawati dkk. (2014) menyatakan bahwa kopi robusta sangat cocok dibudidayakan di Sumatera Selatan dibandingkan kopi arabika karena kopi robusta memiliki jumlah biji kopi yang dihasilkan lebih banyak.

Berdasarkan hasil penelitian Gunalan *et al.* (2012) mengidentifikasi adanya senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik, tanin, kuinon, steroid/triterpenoid, dan kumarin pada daun kopi robusta. Oleh karena itu, hasil skrining fitokimia tersebut menjadi dasar bahwa daun kopi robusta memiliki potensi besar sebagai sumber agen antioksidan alami. Kandungan metabolit sekunder dalam tumbuhan tersebut, bertanggung jawab dalam menghasilkan suatu efek farmakologis

tertentu. Metabolit sekunder tanaman dalam daun kopi robusta terutama alkaloid dan fenolik merupakan golongan senyawa terbesar yang diketahui sebagai metabolit yang aktif memiliki aktivitas antioksidan dan sitotoksik.

Penelitian mengenai aktivitas antioksidan kopi robusta telah dibuktikan oleh Beksono (2012) menggunakan bagian biji kopi robusta dari ekstrak etanol dengan nilai IC_{50} sebesar 140,24 $\mu\text{g/mL}$ dan tergolong sebagai antioksidan sedang menurut Kriteria Blois. Ekstraksi dan fraksinasi menggunakan pelarut n-heksan dan etil asetat menunjukkan adanya aktivitas antioksidan ekstrak kulit ari biji kopi robusta dengan nilai IC_{50} sebesar 556,67 $\mu\text{g/mL}$ dan 101,85 $\mu\text{g/mL}$ (Marcelinda dkk., 2016). Hasil penelitian Cahyani (2015) pada daun tanaman kopi arabika menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 13,678 $\mu\text{g/mL}$ terkait aktivitas antioksidan menggunakan ekstrak etanol. Jalur kekerabatan antara kopi arabika dengan kopi robusta sangat dekat, sehingga dapat diasumsikan potensi aktivitas antioksidan daun kopi robusta juga cukup besar.

Oleh karena itu, penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas antioksidan, sitotoksik serta penetapan kadar fenolik total dari ekstrak aktif daun kopi robusta. Penentuan antioksidan dilakukan dengan uji pendahuluan terkait nilai IC_{50} dari metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) pada ekstrak n-heksan, etil asetat, dan etanol daun kopi robusta. Harapan dari penelitian ini dapat diperoleh data antioksidan dengan nilai IC_{50} yang paling potensial. Selanjutnya, akan dilakukan uji sitotoksik dengan metode uji (BSLT) terhadap larva *Artemia salina* dan penetapan kadar fenolik total menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu ekstrak aktif terkait dengan aktivitasnya sebagai agen antioksidan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, permasalahan yang ada dalam penelitian dapat dirumuskan sebagai berikut:

1. Berapakah nilai IC_{50} aktivitas antioksidan ekstrak n-heksan, etil asetat, dan etanol daun kopi robusta?
2. Berapakah nilai LC_{50} aktivitas sitotoksik ekstrak aktif daun kopi robusta?
3. Berapakah kadar fenolik total ekstrak aktif daun kopi robusta?

1.3 Tujuan penelitian

1. Menentukan nilai IC_{50} aktivitas antioksidan ekstrak n-heksan, etil asetat, dan etanol daun kopi robusta.
2. Menentukan nilai LC_{50} sitotoksik ekstrak aktif daun kopi robusta.
3. Menentukan kadar fenolik total dari ekstrak aktif daun kopi robusta.

1.4 Manfaat penelitian

Penelitian ini diharapkan memberikan informasi ilmiah mengenai daun kopi robusta (*Coffea canephora*). Uji aktivitas ini diharapkan dapat memberi sumber antioksidan potensial yang dapat dikembangkan sebagai agen terapi penyakit metabolik dan degeneratif terhadap uji sitotoksik. Dengan demikian penelitian ini dapat memberikan sumbangan terhadap eksplorasi manfaat dan khasiat dari kopi robusta.

DAFTAR PUSTAKA

- Achary, V., Jena, S., Panda, K. & Panda, B. 2008, Aluminium induced oxidative stress and DNA damage in root cells of *Allium cepa* L., *Ecotoxicol and Environ Safety*; **70**: 300–310.
- Adhianata, H. 2012. Uji Aktivitas Senyawa Anti mikroba Ekstrak Mikroalga (*Tetraselmis chuii*) Metode Sonikasi. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya. Malang. Indonesia.
- Adva, M. 2007. Isolasi senyawa flavonoid aktif berkhasiat sitotoksik dari daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack.), *Jurnal Gradien*, **3(2)**: 262-266.
- Ainsworth, E.A. & Gillespie, K.M. 2007, Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using *Folin–Ciocalteu* reagent, *Nature protocols*, **2(4)**: 875-877.
- Aklimawati, L., Yusianto & Surip, M. 2014, Karakteristik Mutu dan Agribisnis Kopi Robusta di Lereng Gunung Tambora Sumbawa, *Majalah Pelita Perkebunan*, **30(2)**: 159-180
- Al-Daihan, S. & Bhat, R.S. 2012, Antibacterial Activities of Extracts of Leaf, Fruit, Seed, and Bark of Phoenix dactylifera. *African Journal of Biotechnology*, **11(42)**:10021-10025.
- Alfian, R. & Hari, S. 2012, Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella Merah (*Hibiscus Sabdariffalinn*) dengan Variasi Tempat Tumbuh Secara Spektrofotometri. *Jurnal ilmiah kefarmasian*, **2(1)**: 73-80.
- Anggrianti, P. 2008, Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol 70% Buah Kemukus (*Piper cubeba* L.) Terhadap Sel HeLa. *Skripsi*, S. Farm, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta, Indonesia.
- Antolovich, M., Prenzler, P., Patsalides, E., McDonald, S. & Robards, K. 2002, Methods for testing antioxidant activity, *R Soc Chem*, **127**:183-198.
- Arifuddin, M. 2013. Sitotoksitas Bahan Aktif Lamun Dari Kepulauan Spermonde Kota Makassar Terhadap *Artemia salina* (Linnaeus, 1758). *Skripsi*. S.Si, Fakultas Ilmu Kelautan Dan Perikanan, Universitas Hasanuddin, Makassar, Indonesia.
- Ashok, P., Rajani, G. P., Arulmozhi, S., Hulkoti, B.H. & Rajendra, R. 2002, Anti inflammatory and Anti Ulcerogenic Effect of *Crotalaria Juncea* Linn. In Albino Rats. *IJPT Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutic*, **5(2)**:141-144.
- Astuti, S. 2008, Isoflavon Kedelai dan Potensinya Sebagai Penangkap Radikal Bebas, *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*, **13(2)**: 126-136.

- Badan Pengawas Obat dan Makanan RI. 2013, *Pedoman Teknologi Formulasi Sediaan Berbasis Ekstrak*. Volume 2. Direktorat Obat Asli, Jakarta, Indonesia.
- Badarinath, A.V., Rao, K.M., Chetty, C.M.S., Ramkanth, S., Rajan T.V.S. & Gnanaprakash, K. 2010, A review on In-vitro Antioxidant Methods: Comparisons, Correlations and Considerations. *International Journal of Pharmaceutics Technology Research*, **2(2)**: 1276-1285.
- Beck, W.T., Mo, Y.Y. & Bhat, U.G. 2001. Cytotoxic signalling by inhibitor of DNA topoisomerase II. *Biochemical Society*, **29(6)**: 702–703.
- Beksono, H.R. 2014, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea Canephora*) dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil), *Skripsi*, S. Ked, Farmasi, FK, Uin Syarif Hidayatullah, Jakarta, Indonesia
- Blois, M.S. 1958, Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, **181**:1199-1200.
- Bode, A.M. & Dong, Z. 2015, Molecular targets of toffee phytochemicals caffeic acid and chlorogenic acid in chemoprevention, Dalam Preedy, V.R. (ed). *Coffee In Health And Disease Prevention*. 615-625. Elsevier Inc., London.
- Bodhi, W., Fatimawali & Oratmangun, S.A. 2014, Uji toksisitas ekstrak tanaman patah tulang (*Euphorbia tirucalli* L.) terhadap *Artemia salina* dengan metode *brine shrimp lethality test* (BSLT) sebagai studi pendahuluan potensi antikanker, *Jurnal Ilmiah Farmasi*, **3(3)**: 317-324.
- Bonifasius, N.M.H. 2009, Perbandingan uji tukey (uji beda nyata jujur (BNJ)) dengan uji fisher (uji beda nyata terkecil (BNT)) dalam uji lanjut data rancangan percobaan, *Majalah Ilmiah Panorama Nusantara*, **7**: 11-17.
- Cahyani, 2015. Perbandingan Kadar Fenol Total Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Methanol Daun Kopi Robusta Dan Kopi Arabika. *Skripsi*, S.Farm, Farmasi. Universitas Jember. Indonesia.
- Campa, C., Mondolot, A., Rakotondravao, A., Bindel L.P., Gargademec, A. & Couturon, E. 2012, A survey of mangiferin and hydroxycinnamic acid ester accumulation in coffee (*Coffea*) leaves: biological implications and uses, *Annals of Botany*, 1-19.
- Clarkson, P.M. & Thompson, H.S. 2000, Antioxidants: What Role do They Play in Physical Activity and Health, *Journal Clin Nutr. Biochem*, **72**: 637 - 46.
- Cowan, M.M. 1999. Plant products as antimicrobial agents, *Clin. Microbiol.Rev*, **12(4)**: 564
- Conejero, G., Noirot, M., Talamond, P. & Verdeil, J.L. 2014, Spectral analysis combined with advanced linear unmixing allows for histolocalization of phenolics in leaves of coffee trees, *Plant Sci*, **5(39)**: 1-7.

- Departemen Kesehatan RI. 1977, *Materia Medika Indonesia*, Direktorat Jendral POM, Jakarta, Indonesia.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Direktorat Jendral POM, Jakarta, Indonesia.
- Doyle, A. & Griffith, S.J.B. 2000, *Cell and Tissue Culture for Medical Research*, 49, John Willey and Sons, Ltd., New York, USA.
- Elliot, A.C. & Woodward, W.A. 2007, *Statistical analysis quick reference guidebook with SPSS example*, 1st edition, Sage Publications, London, UK.
- Erawati. 2012, Uji Aktivitas Antoksidan Ekstrak Daun *Gerciniadaedalanthera* Pierre Dengan Metode DPPH (1,1 Difenil Pikrilhidrazil) Dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Dari Fraksi Paling Aktif. *Skripsi*, S. Farm, Fakultas Farmasi, Universita Indonesia, Jakarta, Indonesia.
- Febriani, K. 2012, Uji aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi daun *Cocculus orbiculatus* (L.) DC. Dengan metode DPPH dan Identifikasi golongan Senyawa kimia dari fraksi aktif. *Skripsi*, S. Farm, Program Studi Farmasi, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia.
- Gandjar, I.G. & Rohman, A. 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta, Indonesia.
- Garrido, G., Gonzalez, D., Lemusa, Y., Garcia, D., Lodeiro, L., Quintero, G., *et al.* 2004, In vivo and in vitro anti-inflammatory activity of *Mangifera indica* L. extract (VIMANG®), *Pharmacol Res*, **50(2004)**:143–149.
- Goldberg, G. 2003, *Plants: Diet and Health*. I Owa State Press, Blackwell Publishing Company, 2121 State Avenue, Ames, USA.
- Green, R.J. 2004. *Antioxidant Activity of Peanut Plant Tissues*, Thesis. North Careline State University: Department of Food Science, Raleigh, USA.
- Gunalan, G., Myla, N. & 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, A. & Patil. 2007. *Free Radical Scavenging Activity of Polygala Chinensis* Linn. *Pharmacologylive*, **2**:245-253.
- Halliwel, B. 2007, Dietary polyphenols: good, bad, or indifferent for your health, *J. Cardiovascular Research*, **73**: 341-347.
- Hamdi & Bahrudin. 2014. *Metode penelitian kuantitatif aplikasi dalam pendidikan*. Sleman: Deepublish. Indonesia.
- Harborne, J.B. 1987, *Metode Fitokimia* (Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan), diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, Cetakan ke-2, ITB, Bandung, Indonesia.

- Hendrajaya, K. & Kesuma, D. 2003, Skrining fitokimia limbah rimpang *Acorus Calamus* L, yang telah terdestilasi minyak atsirinya, *Prosiding: Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia*, Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Jakarta, Indonesia.
- Hernani & Rahardjo. 2005, *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*, Penebar Swadaya, Jakarta, Indonesia.
- Hulupi, R. & Endri, M. 2013, Budidaya dan Pemeliharaan Tanaman Kopi di Kebun Campuran, Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia (*Indonesia Coffee and Cocoa Research Institute*), Sulawesi, Indonesia.
- Ikhlas, N. 2013, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Herba Kemangi (*Ocimum americanum* Linn) dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil), *Skripsi*, S. Ked, Farmasi, FK, Uin Syarif Hidayatullah, Jakarta, Indonesia.
- Iriti, M. & Varoni, M.E. 2013, Chemopreventive potential of flavonoids in oral squamous cell carcinoma in human studies. *Nutrients*; **5**; 2564-2576.
- Istimuyasaroh, H. & Tarwotjo, U. 2009, Mortalitas Pertumbuhan Nyamuk Anopheles Aconitus Karena Pemberian Ekstrak Daun Selasih *Oscimum basilicum*, *Bioma*, **11(2)**:59-63.
- Jaitak, V., Sharma, K., Kalia, K., Kumar, N. HP, S., Kaul, V., Singh, B., *et al.* 2010, Antioxidant activity of *Potentilla fulgens*: An alpine plant of western Himalaya. *Journal of Food Composition and Analysis*, **23(2)**: 142-147.
- Jeong, S.M., Kim, S.Y., Kim, D.R., Jo, S.C., Nam, K.C., Ahn, D.U., *et al.* 2004, Effect of Heat Treatment on the Antioxidant Activity of Extracts from Citrus Peels. *Journal Agric Food Chemistry*, **33**: 213-217.
- Johnson, I.T. 2001, Antioxidants and Antitumour Properties. In: Pokorny, J., N. Yanishlieva, M. Gordon, CRC Press, Cambridge, UK.
- Juniarti, D.O. & Yuhernita. 2009, Kandungan Senyawa Kimia Uji Toksisitas (*Brine Shrimp Lethality Test*) dan Antioksidan (*1,1-diphenyl-2-pikrilhydrazyl*) dari Ekstrak Daun Saga (*Abrus precatorius* L), *Makara Sains*, **13(1)**: 50-54.
- Kadaswarmi, C., Middleton, E. & Shukla, V.K. 1997, *Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects, and Applications*, AOCS Press, Illionis. USA.
- Kang, N.J., Ki, W.L., Bong, J.S., Sung, K.J., Mun, K.H., Ann, M.B. *et al.* 2009, Caffeic acid, a phenolic phytochemical in coffee, directly inhibits Fyn kinase activity and UVB-induced COX-2 expression. *Department of Agricultural Biotechnology and Research Institute for Agriculture and Life Sciences*, Seoul National University, Seoul 151-742, Republic of, **30(2)**: 321-330.
- Kanwar, A.S. 2007, Brine shrimp (*Artemia salina*) a marine animal for simple and rapid biological assays, *Chinese Clinical Med*, **2(4)**: 35-42.

- Katja, D.G. & Suryanto, E. 2009. Efek Penstabil Oksigen Singlet Ekstrak Pewarna dari Daun Bayam Terhadap Fotooksidasi Asam Linoleat, Protein, dan Asam askorbat. *Jounal Chem Prog*, 279-86.
- Kurnijasanti, R., Hamid, I.S. & Rahmawati, K. 2008, Efek sitotoksik in vitro dari ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap kultur sel kanker mieloma, *J. Penelit. Med. Eksakta*; **7(1)**: 48-5.
- Kurniati. 2012. Uji Antibakteri Ekstrak Rumput Laut (*Gracilaria* sp) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *staphylococcus aureus*. Universitas Sriwijaya. Indralaya. Indonesia
- Kusuma, U.D., Muslichah, S. & Ulfa, E.U. 2014, Uji Aktivitas Anti Hiperurisemia Ekstrak n-Heksana, Etil Asetat, dan Etanol 70% Biji Jinten Hitam (*Nigella sativa*) terhadap Mencit Hiperurisemia, *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*, **2(1)**: 116.
- Malla, M.Y., Sharma, M., Saxena, R.C., Mr, M.I., Mir, A.H. & Bhat, S.H. 2013, Phytochemical Screening and Spectroscopic Determination of Total Phenolic and Flavonoid Contents of *Eclipta alba* Linn. *J. Nat. Prod. Plant Resour*, **3(2)**: 86-91.
- Marcelinda, A., Ridhay, A. & Prismawiryanti. 2016, The Antioxidant Activity of Husk *Coffea* (*Coffea* sp) Extract Base on Various Levels of Polar Solvent. *Journal Online of Natural Science*. **5(1)**: 21-30.
- Marliana, S.D., Suryanti, V. & Suyono. 2005, Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Lambu Siam (*Sechium edule* J) dalam Ekstrak Etanol, **3(1)**:26-31.
- Meiyanto, E.S., Susidarti, S.A., Handayani, S. & Rahmi, F. 2008, Ekstrak etanolik biji buah pinang (*Areca catechu* L.) mampu menghambat proliferasi dan memacu apoptosis sel MCF-7, *Majalah Farmasi Indonesia*, **19(1)**: 12-19.
- Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putman, J.E., Jacobsen, L.B., Nichlols, D.E. & McLaughlin, J.L. 1982, Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent, *Planta Medica*. **45**: 31-34.
- Miller, H.E., Rigelhof, L., Marquart, A., Prakash, M. & Kanter. 2000, Antioxidant Content of Whole Grain Breakfast Cereals, Fruits and Vegetables, *Journal of The American College of Nutrition*. **19(3)**.
- Mirzaei, A., Nooshin, M. & Mehdi, G. 2013, Antioxidant Activity and Cytotoxicity of *Dorema aucheri* by *Artemia urmiana*: a Brine shrimp Lethality Test, *Life Science Journal*, **10(12)**.
- Molyneux, P. 2004, The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazil (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, Songklanakarin. *Journal Science Technology*, **26(2)**: 211-219.
- Mongkolsilp, S., Pongbupakit, I., Sae-lee, N. & Sitthithaworn, W. 2004. Radical Scavenging activity and total phenolic content of medical plants used in primary health care. *Jurnal of Pharmacy and Science*. **9(1)**:32-35.

- Muaja, A.D., Koleangan, H.S. & Runtuwene, M.R.J. 2013, Uji Toksisitas dengan Metode BSLT dan Analisis Kandungan Fitokimia Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC) dengan Metode Soxhletasi, *Jurnal FMIPA UNSRAT*, **2(2)**: 115-118.
- Mudjiman, A. 1988, *Udang Renik Air Asin (Artemia salina)*, Bhatara Karya Aksara, Jakarta, Indonesia.
- Murtijaya, J. & Lim Y.Y. 2007, Antioxidant properties of *Phyllanthus amarus* extracts as affected by different drying methods, *LWT-Food Sci. Technol*, **40**: 1664-1669.
- Mutia, D. 2010. Uji toksisitas akut ekstrak etanol buah anggur (*Vitisvinifera*) terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Artikel karya tulis ilmiah. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro. Indonesia.
- Najiyati, S. & Danarti. 2012, *Budidaya Tanaman Kopi dan Penanganan Pasca Panen*, Penebar Swadaya, Jakarta, Indonesia.
- Nina, S. & Erlida, W. 2015, Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kelengkeng (*Euphoria Longan* (L) Steud.) dengan Metode Penangkapan Radikal 2,2'-Difenil-1-Pikrilhidrazil, *Jurnal Pharmacia*, **1(5)**: 25-34.
- Nonthakaew, A., Matan, N., Aewsiri, T. & Matan, N. 2014, Caffeine in foods and its antimicrobial activity, *International Food Research Journal*, **22(1)**: 9-14.
- Nurjannah, D.A., Rurini, R. & Unggul, P. J., 2013, Aktivitas Antioksidan Dari Minyak Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Kering berdasarkan Aktivitas Antiradikal Yang Ditentukan Menggunakan *Electron Spin Resonance*, jurnal kimia, **1(2)**: 283 – 288.
- Nuswantari, D. 1998, *Kamus Saku Kedokteran Dorland* Edisi 25, EGC, Jakarta, Indonesia.
- Pelczar & Chan. 1988, *Dasar – Dasar Mikrobiologi*, Universitas Indonesia Press, Jakarta, Indonesia.
- Permawati, M. 2008, Karakteristik Ekstrak Air Daun Gandarusa (*Justicie gendarusa* Burm. F.) dan Pengaruhnya Terhadap Kadar Asam Urat Plasma Tikus Putih Jantan yang Diinduksi Kalium Oksonat. Farmasi, Universitas Indonesia, Depok. Indonesia.
- Prakash, A., Rigelhof, F. & Miller, E. 2001, *Antioxidan Activity*, *Analytical Progress Medallion Laboratories*.
- Pranata, R. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Kloroform Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus Lemairei* Britton dan Rose) Menggunakan Metode DPPH (1,1-Difenil -2-Pikrilhidrazil). Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak. Indonesia.

- Prastowo, B., Kurmawati, E., Rubijo., Siswanto., Indrawanto, C. & Munarso, S.J. 2010, *Budidaya dan Pasca Panen Kopi*, Bogor, Indonesia.
- Rahardjo, P. 2012, *Panduan Budidaya dan Pengolahan Kopi Arabika dan Robusta*, Penebar Swadaya, Jakarta, Indonesia.
- Rampe & Tombuku. 2015, Pengujian Fitokimia dan Toksisitas Ekstrak Etanol Jantung Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* LINN.) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Jurnal Sainsmat*, **4(2)**: 136 – 147.
- Ren, W., Qiao, Z., Wang, H., Zhu, L. & Zhang, L. 2003. Flavonoids: Promising Anticancer Agents, *Med Research Reviews*, **23(4)**:519-534.
- Reskianingsih, A. 2014, Uji tokisistas akut ekstrak metanol buah *Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan metode brine shrimp lethality test (BSLT), *Skripsi*, S. Ked, Program Studi Pendidikan Dokter, Universitas Islam Negeri, Jakarta, Indonesia.
- Reynertson, K.A. 2007, Ryochemical analysis of bioactive constituen from edible Myrtaceae fruit, *Disertation*, Ph.D, Biology Faculty, The City University, New York. USA.
- Rivai, H., Septika, R. & Boestari, A. 2013, Karakterisasi herba meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.) dengan analisa fluoresensi, *Jurnal Farmsi Higea*, **5(2)**: 15-2.
- Sarker, S.D., Latif, Z. & Grey, A.I. 2006. *Natural Products Isolation*. Humana Press, Totowwa, New Yersey.
- Sato, T., Kawamoto. A., Tamura. A., Tatsumi, Y. & Fujii, T. 1992, Mechanism of antioxidant action of pueraria glycoside (PG)-1 (an isoflavonoid) and mangiferin (a xanthonoid), *Chem Pharm Bull* **40**: 721-724.
- Sawyer, S.F. 2008, Analysis of variance: the fundamental concepts, *J. of Manual & Manipulative Therapy*, **17(2)**: 27-38.
- Sembiring, B., Ma'mun. & Ginting, E. 2006, Pengaruh kehalusan bahan dan lama ekstraksi terhadap mutu ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorriza* Roxb), *Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik*. **18**:(53-58).
- Septiyaningsih, D. 2010. Isolasi dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Biji Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.). *Skripsi Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Sebelas Maret*. Indonesia.
- Setiawati, A., Septisetyani, E.P., Wijayanti, T.R. & Rokhman, M.R. 2014. Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) Sebagai Agen Kemopreventif. *Cancer Chemoprevention Research Center*. Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. Indonesia.
- Singleton, V.L. & Rossi, J.A. 1965, *Colorimetry of Total Phenolic with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagent*, *Amer. J. Enol. Viticult*, **16**: 144-158.

- Sirait, M.B. 1987. *Dasar – Dasar Ekonomi Pertanian Sebagai Aspek Ilmu Ekonomi dan Ilmu Pertanian*. Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara, Medan. Indonesia.
- Soemirat, J. 2005, *Toksikologi Lingkungan*. Universitas Gajah Mada, Yogyakarta, Indonesia.
- Sumardika, I.W. & Jawi, I.W. 2012. Ekstrak Air Daun Ubi Jalar Ungu Memperbaiki Profil Lipid dan Meningkatkan Kadar SOD Darah Tikus yang Diberi Makanan Tinggi Kolesterol. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Medicina*, **43(2)**: 67-71.
- Sukohar, A., Setiawan., Firman, F.W. & Herry, S.S. 2011, Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Sitotoksik Kafein dan Asam Klorogenat dari Biji Kopi Robusta Lampung, *Jurnal Medika Planta*, **1(4)**: 11-26.
- Susanty, E. 2014, Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd), *Pharmacy*, **11(1)**: 98-107.
- Svehla, G. 1990, *Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro*, Penerbit Buku PT Kalman, Media Pustaka, Jakarta. Indonesia.
- Syamsuni, H.A. 2006, *Ilmu Resep*. Penerbit Buku Kedokteran, EGC, Jakarta, Indonesia.
- Tjay, T.H. & Rahardja, K. 2002. *Obat-obat Penting: Khasiat, Penggunaan, dan Efek-Efek Sampingnya*, Penerbit PT Elex Media Komputindo, Jakarta, Indonesia.
- Tzong, S.C. & Jiann, C.C. 1987, Acute toxicity of ammonia to larvae of the tiger prawn, *penaeus monodon*, *Aqua Culture*, **66**: 247-253.
- Umbas, A.P. 2002. Pengaruh Dosis Pengkayaan 0, 6, 7, 8, 9, 10 ml/ 400ml dan Waktu Dedah Terhadap Kinerja Pertumbuhan *Artemia salina*. Skripsi. Program Studi Budidaya Perairan. Institut Pertanian Bogor. Indonesia.
- Wahyono, Hakim, L., Nurlaila., Sulistio, M. & Ilyas, R. 2007. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanolik Terstandar dari Kulit Akar Senggugu (*Clerodendruserratum* L. Moon). *Majalah Farmasi Indonesia*, **18(1)**: 1-7.
- Widiyatni. 2010, Isolasi, Penentuan Struktur Senyawa Serta Uji Aktivitas Biologi Dari Ekstrak Etanol Tandan Tanaman (*Musa Paradisiaca*). Tesis. Universitas Indonesia Fakultas MIPA Program Magister Ilmu Kimia Kekhususan Kimia Hayati Depok. Indonesia.
- Woo, H.D. & Kim, J. 2013. Dietary Flavonoid Intake and Risk of Stomach and Colorectal Cancer. *Journal World of Gastroenterology*, **7**:1011-1019.
- Yoshimi, N., Kango, M., Masaki, K., Yasuhiro, Y., Toshiya, K., Zheng, Q., *et al.* 2000, The inhibitory effects of mangiferin, a naturally occurring glucosylxanthone, in bowel carcinogenesis of male F344 rats, *Cancer Letters*, **163(2001)**: 163-170.

Yuri, J.A., Amalia, N., Francisco., Alvaro, Q., Daniela, S., Ivan, R., *et al.* 2014, Total phenol and quercetin content and antioxidant activity in apples in response to thermal, light stress and to organic management. *Journal of Applied Botany and Food Quality*. **87**: 131 – 138.