

**OPTIMASI PROSES EKSTRAKSI DAN UJI AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN METODE DPPH DAUN KOPI ROBUSTA
(*Coffea canephora*)**

Skripsi



Oleh :

**NUR FITRIANI
08061281823058**

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
2022**


HALAMAN PENGESAHAN MAKALAH HASIL PENELITIAN

Judul Makalah : Optimasi Proses Ekstraksi dan Uji Aktivitas Antioksidan
Metode DPPH Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*.)
Nama Mahasiswa : Rheina Eka Mulia
NIM : 08061281823058
Jurusan : Farmasi


Telah dipertahankan dihadapan pembimbing dan pembahas pada Seminar Hasil di Jurusan farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Uniiiversitas Sriwijaya pada tanggal 19 April 2022 serta telah diperbaiki, diperiksa, dan disetujui dengan saran yang diberikan.

Inderalaya, 23 April 2022

Ketua:

1. Dr. Shaum Shiyan, M.Sc., Apt. (.....)
NIP.198605282012121005

Anggota


2. Vitri Agustiarini, M.Farm., Apt. (.....)
NIP.199308162019032025

3. Indah Solihah, M.Sc., Apt. (.....)
NIP. 198803082019032015

4. Drs. Sadakata Sinulingga, M.Kes., Apt (.....)
NIP.195808021986031002

Kepala Jurusan Farmasi
Fakultas MIPA UNSRI




Dr. ter. nat. Mardiyanto, M.Si., Apt
NIP. 197103103101998021002

HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Makalah : Optimasi Proses Ekstraksi dan Uji Aktivitas Antioksidan
Metode DPPH Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*.)
Nama Mahasiswa : Rheina Eka Mulia
NIM : 08061281823058
Jurusan : Farmasi

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Sidang Skripsi Jurusan farmasi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Uniiiversitas Sriwijaya pada
tanggal 25 Mei 2022 serta telah diperbaiki, diperiksa, dan disetujui dengan
masukan panitia sidang skripsi.

Inderalaya, 27 Mei 2022

Ketua:

1. Dr. Shaum Shiyan, M.Sc., Apt.
NIP.198605282012121005


(.....)

Anggota

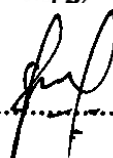
2. Vitri Agustiarini, M.Farm., Apt.
NIP.199308162019032025

(.....)

3. Indah Solihah, M.Sc., Apt.
NIP. 198803082019032015

(.....)


4. Drs. Sadakata Sinulingga, M.Kes., Apt
NIP.195808021986031002

(.....)

Mengetahui,

Kepala Jurusan Farmasi
Fakultas MIPA UNSRI




Dr. rer.nat. Mardiyanto, M.Si., Apt
NIP. 197103103101998021002

HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Nur Fitriani
NIM : 08061281823058
Fakultas/Jurusan : MIPA/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 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.

Indralaya, 1 Maret 2022

Penulis,



Nur Fitriani

08061281823058

**HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK
KEPENTINGAN AKADEMIS**

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

Nama : Nur Fitriani
NIM : 08061281823058
Fakultas/Jurusan : MIPA/Farmasi
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya “hak bebas royalti non-eksklusif (*non-exclusively royalty-free right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul “Optimasi Proses Ekstraksi dan Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*)” beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan hak bebas royalti non-eksklusif ini, Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalih media/memformat, 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, 25 Mei 2022

Penulis,



Nur Fitriani

NIM. 08061281823058

HALAMAN PERSEMBAHAN DAN MOTTO

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Assalamualaikum warahmatullah wabarakatuh

**Skripsi ini saya persembahkan kepada bapak, ibu, mbak, mas, dan adikku
tercinta, keluarga besar, dosen, almamater, sahabat, serta teman
seperjuangan di Farmasi Unsri 2018 yang saya sayangi.**

“Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan”

(QS. Al-Insyirah: 5)

Motto

“Man jadda wajada”

“Man Shabara Zhafira”

“Man saara ala darbi washala”

Wassalamualaikum warahmatullah wabarakatuh

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan atas kehadiran ALLAH SWT, karena atas restu dan juga ridhonya skripsi yang berjudul “Optimasi Ekstraksi Menggunakan *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) dan Uji Aktivitas Antioksidan dari Dun Kopi Robusta (*Coffea canephora*)” ini bisa terselesaikan dengan baik.

Sholawat beserta salam selalu tercurahkan kepada baginda, suri tauladan, ya maulana Muhammad SAW, yang kita nanti- nantikan syafaatnya kelak di hari kiamat. Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak karena keterbatasan ilmu pengetahuan penulis. Oleh karena itu, penulis ucapkan terimakasih kepada:

1. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam yang telah memberikan bantuan kepada penulis.
2. Bapak Dr. rer.nat, Mardiyanto, M.Si., selaku ketua jurusan Farmasi Universitas Sriwijaya
3. Bapak Dr. Apt. Shaum Shiyon, S.Farm., M.Sc., selaku dosen pembimbing utama dan Ibu Apt. Vitri Agustiarini, M.Farm., selaku dosen pembimbing kedua yang dengan ikhlas telah menyempatkan waktu luangnya, memberikan bimbingan, saran, dan ilmu pengetahuan kepada penulis, sehingga penyusunan skripsi ini bisa terlaksana dengan baik.
4. Bapak DR. Nirwan Syarif, M.Si., selaku pembimbing akademik yang telah bersedia memberikan bimbingan kepada penulis selama penulis menjadi mahasiswa.

5. Seluruh Dosen dan Staf jurusan Farmasi Universitas Sriwijaya yang telah memberikan ilmu selama perkuliahan, juga pengalaman baik kepada penulis.
6. Bapak, ibuk, mbak, mas yang sudah memberikan dukungan, biaya, semangat, serta doa yang menjadi kekuatan penulis.
7. Teman-teman seangkatan dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Semoga semua kebaikan yang telah diberika kepada penulis mendapat balasan yang lebih baik dari Allah SWT. Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis menerima saran dan juga kritik yang membangun dari semua pihak untuk kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini bisa memberikan banyak manfaat.

Palembang, 27 juli 2021

Penulis

**Optimization of Extraction Process and Antioxidant Activity Test Method
DPPH Robusta Coffee Leaves (*Coffea canephora*)**

**Nur Fitriani
08061281823058**

ABSTRACT

Free radicals in normal amounts have many benefits for the body, while in excess they will cause oxidative stress and cause various degenerative diseases, so antioxidants are needed to neutralize them. Robust coffee leaves contain compounds of alkaloids, flavonoids, phenolics, and triterpenoid so that they have good antioxidant activity. This study aims to determine the condition of the extraction of robust coffee leaves which are optimum assisted by ultrasound by varying the solvent concentration, time, and the ratio between solute: solvent. Determination of the best extraction conditions was carried out using a factorial design by looking at the % yield, Total Chlorogenic Content (TCC), Total Phenolic Content (TPC), and the resulting IC₅₀ value. Based on Design Expert 12® analysis, the solvent concentration factor, extraction time, and the ratio between solute: solvent affect the % yield, TCC, TPC and IC₅₀ values of robust coffee leaves. The best UAE extraction conditions were obtained at 96% methanol concentration, 30 minutes extraction time and 1:20 ratio, which were selected based on the highest desirability value. UAE extraction using 96% methanol for 30 minutes and a ratio of 1:20 resulted in a % yield of 32.133%, TCC 218,181 mg CGA/g extract, TPC 94,225 mg GAE/g extract, and IC₅₀ of 53,447µg/mL.

Keywords : Ultrasound Assisted Extraction (UAE), TCC,TPC, antioxidant, IC₅₀, factorial design

Optimasi Proses Ekstraksi dan Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*)

**Nur Fitriani
08061281823058**

ABSTRAK

Radikal bebas dalam jumlah normal memiliki banyak manfaat untuk tubuh, sementara apabila jumlahnya berlebih akan menyebabkan terjadinya stres oksidatif dan menimbulkan berbagai penyakit degeneratif, sehingga diperlukan antioksidan untuk menetralsirkannya. Daun kopi robusta mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik, dan triterpenoid sehingga memiliki aktivitas antioksidan yang baik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kondisi ekstraksi daun kopi robusta yang optimum berbantuan *ultrasound* dengan memvariasikan konsentrasi pelarut, waktu, dan ratio antara *solute: solvent*. Penentuan kondisi ekstraksi terbaik dilakukan menggunakan desain faktorial dengan melihat kadar % rendemen, *Total Chlorogenic Content* (TCC), *Total Phenolik Content* (TPC), dan nilai IC_{50} yang dihasilkan. Berdasarkan analisis *Design Expert 12®*, faktor konsentrasi pelarut, waktu ekstraksi, dan ratio antara *solute: solvent* berpengaruh terhadap kadar % rendemen, TCC, TPC dan nilai IC_{50} daun kopi robusta. Kondisi ekstraksi UAE terbaik diperoleh pada konsentrasi metanol 96%, waktu ekstraksi 30 menit dan ratio 1:20 yang dipilih berdasarkan nilai desirability tertinggi. Ekstraksi UAE menggunakan metanol 96% selama 30 menit dan ratio 1:20 menghasilkan kadar % rendemen sebesar 32,133%, TCC 218,181 mg CGA/g ekstrak, TPC 94,225 mg GAE/g ekstrak, dan IC_{50} sebesar 53,447 μ g/mL.

Kata kunci: *Ultrasonic-Assisted Extraction* (UAE), TCC, TPC, IC_{50} antioksidan, desain faktorial

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	
HALAMAN PENGESAHAN MAKALAH HASIL PENELITIAN.....	..i
HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH.....	iii
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	
UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN DAN MOTO	v
KATA PENGANTAR.....	vi
ABSTRACT	viii
ABSTRAK	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan	4
1.4 Manfaat	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Tanaman Kopi	6
2.1.1 Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>).....	7
2.1.2 Kandungan Kimia.....	9
2.2 Senyawa Fenolik.....	9
2.2.1 Asam Klorogenat.....	11
2.3 Radikal Bebas.....	12
2.4 Antioksidan	14
2.4.1 Cara Kerja Antioksidan.....	14
2.4.2 Macam-Macam Antioksidan.....	15
2.4.3 Senyawa Antioksidan Alami.....	16
2.4.4 Metode Pengujian Antioksidan.....	16
2.5 Ekstraksi.....	18
2.5.1 <i>Ultrasonic Assisted Ektraction</i> (UAE).....	19
2.6 Spektoskopi UV VIS	21
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	23
3.1 Waktu dan Tempat.....	23
3.2 Alat dan Bahan	23
3.2.1 Alat	23
3.2.2 Bahan	23

3.2.2.1	Variabel Penelitian.....	23
3.2.2.2	Bahan Penelitian.....	24
3.3	Pengambilan dan Identifikasi Sampel.....	24
3.4	Preparasi Bahan.....	25
3.4.1	Pembuatan Simplisia	25
3.4.2	Optimasi Ekstraksi.....	25
3.5	Ekstraksi UAE.....	26
3.6	Skrining Fitokimia	26
3.6.1	Uji Alkaloid.....	26
3.6.2	Uji Flavonoid.....	27
3.6.3	Uji Fenolik.....	27
3.6.4	Uji Saponin.....	27
3.6.5	Uji Sterid dan Triterpenoid.....	27
3.7	Analisis Respon.....	27
3.7.1	Uji Kadar Asam Klorogenat.....	28
3.7.1.1	Pembuatan Larutan Baku Asam Klorogenat.....	28
3.7.1.2	Pembuatan Larutan Uji Ekstrak.....	28
3.7.1.3	Penetapan Kadar.....	28
3.7.2	Penetapan Kadar Fenolik Total.....	29
3.7.2.1	Pembuatan Larutan Baku Asam Galat.....	29
3.7.2.2	Pembuatan Larutan Uji Ekstrak.....	29
3.7.2.3	Penetapan Kadar.....	29
3.7.2.4	Perhitungan.....	29
3.7.3	Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH.....	30
3.7.3.1	Pembuatan Larutan DPPH.....	29
3.7.3.2	Penetapan Panjang Gelombang Maksimum DPP.....	30
3.7.3.3	Pembuatan Larutan Standar Asam Klorogenat.....	30
3.7.3.4	Pembuatan Larutan Uji Ekstrak.....	31
3.7.3.5	Pengukuran Aktivitas Antioksidan.....	31
3.7.3.6	Perhitungan IC ₅₀	31
3.8	Analisis Data Menggunakan Desain Expert 12.....	32
3.9	Standarisasi Ekstrak.....	32
3.9.1	Pemeriksaan Organoleptis.....	32
3.9.2	Penetapan Kadar Air.....	32
3.9.3	Penetapan Kadar Abu.....	33
3.9.4	Penetapan Susut Pengeringan.....	33
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....		34
4.1	.Identifikasi Sampel Tanaman	35
4.2	.Preparasi Sampel Tanaman	35
4.3	.Orientasi Esktraksi dan skrining Fitokimia	36
4.3.1	Orientasi Esktraksi.....	36
4.3.2	Skrining Fitokimia.....	37
4.4	.Pemodelan Menggunakan <i>Central Comopite Desain</i>	38
4.4.1	Hasil Pemodelan CCD	38

4.4.2 Parameter Statistik Pemodelan CCD	39
4.4.3 Fitting Model Persen Rendemen	39
4.4.4 Fitting Model Kadar Klorogenat Total	42
4.4.5 Fitting Model Total Fenolik	46
4.4.6 Fittig Model Aktivitas Antioksidan	51
4.5 .Optimasi dan Verifikasi	55
4.5.1 Optimasi	55
4.5.2 Verifikasi.....	55
4.6 .Karakterisasi Ekstrak Optimal	56
4.6.1 Pemeriksaan Organleptis Esktrak.....	56
4.6.2 Penetapan Kadar Air	57
4.6.3 Penetapan Kadar Abu.....	57
4.6.4 Penetapan Susut Pengeringan.....	58
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	59
DAFTAR PUSTAKA	60

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tanaman Kopi.....	7
2. Daun kopi robusta (<i>Coffea canephora</i>)	8
3. Grafik fitting model persen rendemen.....	40
4. Kurva baku asam klorogenat.....	43
5. Grafik fitting model TCC.....	44
6. Kurva baku asam galat.....	47
7. Grafik fitting model TPC.....	49
8. Grafik fitting model IC ₅₀	53

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Optimasi Ekstraksi.....	26
2. Hasil Skrining Fitokimia Daun Kopi Robusta.....	37
3. Hasil Run Menggunakan <i>Desain Expert</i>	38
4. Paraameter Statistik Permodelan CCD.....	39
5. Hasil Absorbansi Asam Klorogenat.....	43
6. Hasil Perhitungan Total Asam Klorogenat.....	44
7. Hasil Absorbansi Asam Galat.....	47
8. Hasil Perhitungan Total Asam Galat.....	48
9. Hasil Perhitungan IC ₅₀	52
10. Point Prediction Hasil Optimasi.....	55
11. Hasil Verifikasi	56
12. Hasil Pemeriksaan Organoleptis	57
13. Hasil Penetapan Kadar Air.....	57
14. Hasil Penetapan Kadar Abu	58
15. Hasil Penetapan Susut Pengeringan.....	58

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Umum Penelitian.....	71
2. Skema Uji Kadar Asam Klorogenat.....	72
3. Skema Uji Kadar Fenolik Total.....	73
4. Skema Uji Aktivitas Antioksidan.....	74
5. Dokumentasi Hasil Penimbangan Ekstrak.....	75
6. Skrining Daun Kopi Robusta.....	78
7. Perhitungan Nilai Rendemen Ekstrak.....	79
8. Perhitungan Pengenceran untuk Penentuan TCC.....	80
9. Perhitungan Kadar Asam Klorogenat.....	83
10. Perhitungan Pengenceran untuk Penentuan TPC.....	85
11. Perhitungan Kadar Fenolik Total	88
12. Perhitungan Pembuatan Larutan DPPH 0,05 mM.....	90
13. Perhitungan Pengenceran untuk Uji Aktivitas Antioksidan.....	91
14. Perhitungan Persen Inhibisi.....	93
15. Tabel Absorbansi dan % Inhibisi Ekstrak.....	94
16. Kurva Kalibrasi Masing-Masing Ekstrak.....	99
17. Perhitungan Nilai IC ₅₀	101
18. Verifikasi Hasil Optimasi.....	102
19. Standarisasi Ekstrak Optimal.....	106
20. Hasil Determinasi Sampel Daun Kopi Robusta.....	107
21. Sertifikat Analisis Asam Klorogenat.....	108

22. Sertifikat Analisis Asam Galat.....	109
23. Hasil Run Optimasi Menggunakan <i>Desain Expert</i> 12.....	111

DAFTAR SINGKATAN

UAE	: <i>Ultrasonic Assisted Extraction</i>
CGA	: <i>Chlorogenic Acid</i>
GAE	: <i>Gallic Acid</i>
CCD	: <i>Central Composite Desain</i>
RSM	: <i>Respon Surface Methodology</i>
TCC	: <i>Total Chlorogenic Content</i>
TPC	: <i>Total Phenolik Content</i>
DX	: <i>Desain Expert</i>
LDL	: <i>Low Density Lipoprotein</i>

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Radikal bebas adalah suatu molekul mandiri yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan (Yuslianti, 2018). Radikal bebas dalam jumlah normal memiliki banyak manfaat untuk tubuh, diantaranya untuk mengurangi peradangan (antiinflamasi) dan membunuh bakteri, sementara apabila jumlahnya berlebih akan menyebabkan terjadinya stres oksidatif (Yuslianti, 2018). Kondisi tersebut akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya (Sibuea, 2003).

Tubuh mempunyai kemampuan homeostasis. Homeostasis merupakan mekanisme tubuh untuk mempertahankan keseimbangan dalam menghadapi berbagai kondisi yang dialaminya (Ardhiyanti dkk, 2015). Sehingga, apabila kadar radikal bebas dalam tubuh berlebih, maka tubuh secara spontan akan memproduksi zat antioksidan.

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menghalangi reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif (Sogandi dan Rabima, 2019). Antioksidan berperan sebagai inhibitor yang bekerja menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas tak reaktif yang relatif stabil sehingga dapat melindungi sel. Apabila radikal bebas didalam tubuh terlalu banyak maka antioksidan endogen tidak mampu menetralsirkannya, sehingga diperlukan asupan antioksidan dari luar tubuh (eksogen) (Yuslianti, 2018).

Tumbuhan yang mengandung antioksidan banyak kita temukan di lingkungan sekitar kita. Salah satu tumbuhan yang berpotensi memiliki aktivitas antioksidan adalah daun kopi robusta (*Coffea canephora*) Pristiana (2017). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Natalia (2013) daun kopi robusta mengandung senyawa metabolit sekunder, diantaranya adalah alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, tanin, kuinon, steroid, triterpenoid, dan kumarin. Flavonoid dapat mendonorkan ion hidrogen dan meningkatkan ekspresi gen antioksidan endogen pada tubuh, sehingga dapat menetralsir efek toksik dari radikal bebas (Sumardika dan Jawi, 2011) Hasil skrining fitokimia tersebut dapat menjadi dasar bahwa daun kopi robusta memiliki potensi besar sebagai sumber agen antioksidan alami.

Penelitian mengenai aktivitas antioksidan kopi robusta telah dibuktikan oleh Beksono (2014) menggunakan bagian biji kopi robusta dari ekstrak etanol dengan nilai IC_{50} sebesar 140,24 $\mu\text{g/mL}$ dan tergolong sebagai antioksidan sedang. Penelitian lain dilakukan oleh Cahyani (2015) dan Hasanah (2017) menggunakan daun kopi robusta tua menghasilkan nilai IC_{50} berturut turut sebesar $7,519 \pm 0,029$ $\mu\text{g/ml}$ dan 43,83 $\mu\text{g/ml}$ yang menunjukkan aktivitas antioksidan sangat kuat.

Ekstraksi memiliki peran penting untuk menentukan kualitas dan kuantitas dari metabolit sekunder yang dihasilkan dari suatu tanaman. Kandungan senyawa flavonoid dan kapasitas antioksidan dari ekstrak tanaman sangat bergantung pada kondisi ekstraksi dan komposisi senyawa kimia dalam sel tanaman (Lapornik et al., 2005; Ksouri et al., 2008). Metode ekstraksi yang sering digunakan selama ini adalah maserasi, namun metode ini memiliki beberapa kekurangan diantaranya

membutuhkan waktu ekstraksi yang lama dan boros pelarut.

Ekstraksi dengan metode *ultrasonic assisted extraction* (UAE) menjadi solusi untuk kekurangan tersebut. Metode ini mudah dan ekonomis, dengan memanfaatkan gelombang ultrasonik, yaitu gelombang suara dengan frekuensi lebih besar dari 20 kHz. Keuntungan dari ekstraksi menggunakan UAE ini diantaranya adalah dapat meningkatkan hasil ekstraksi, menggunakan suhu rendah, dan volume pelarut yang sedikit (Dye dan Rathod, 2013). Terdapat keunggulan lain dari metode ultrasonik ini yaitu lebih aman dan proses ekstraksinya lebih cepat. Hal tersebut disebabkan karena penggunaan gelombang ultrasonik dalam membantu proses ekstraksi mampu memicu peningkatan permeabilitas dinding sel, memunculkan gelembung spontan (kavitasi) didalam fase cair dibawah titik didihnya dan kerusakan pada sel semakin meningkat (List dan Schmidt, 1989).

Terdapat berbagai faktor yang berpengaruh dalam ekstraksi yaitu waktu, konsentrasi pelarut, dan ratio antara *solute* dan *solvent* yang digunakan pada saat ekstraksi. Tiga faktor tersebut penggunaannya sangat bervariasi, sehingga bisa menentukan kualitas dan kuantitas ekstrak yang dihasilkan. Teboukeu dkk (2018) mengatakan bahwa konsentrasi pelarut metanol untuk melarutkan ekstrak daun kopi robusta yang paling optimal adalah sebesar 79,66% sementara Audina (2021) melakukan ekstraksi daun kopi robusta menggunakan metanol absolute. Pristiana (2017) melakukan ekstraksi dengan menggunakan perbandingan 1:5, sedangkan Kristiningrum (2014) menggunakan perbandingan 1: 20. Penelitian yang dilakukan oleh Pandey dkk.(2018) dengan menggunakan waktu 10 menit dan Saifullah

dkk.(2020) yang menggunakan waktu selama 30 menit memberikan hasil fenolik total yang tidak jauh berbeda yaitu berturut turut sebesar 83,53 mg QE/g dw dan 86,68863 mg QE/g dw.

Parameter waktu, konsentrasi pelarut, dan ratio antara *solute* dan *solvent* yang dilakukan oleh penelitian sebelumnya memberikan hasil yang bervariasi, oleh karena itu penelitian ini melakukan optimasi proses ekstraksi daun kopi robusta yang sudah tua menggunakan metode *ultrasound assisted extraction*. Daun kopi yang dipilih dalam penelitian ini adalah daun kopi yang sudah tua karena mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Pristiana (2017) bahwa kadar fenol tertinggi pada ekstrak terdapat pada daun kopi tua dengan nilai sebesar $77,42 \pm 3,87$ mg eq. as. galat/g ekstrak. Penentuan ekstrak terbaik dilakukan dengan mengukur % rendemen, total CGA (*Chlorogenic Acid*), total fenolik, dan aktivitas antioksidannya. Setelah penelitian ini dilakukan, diharapkan dapat diketahui kondisi ekstraksi terbaik untuk ekstraksi senyawa aktif dalam daun kopi sehingga menghasilkan efek antioksidan yang optimal.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan permasalahan penelitian dan teori yang didukung oleh (Dye dan Rathod, 2013) maka perlu dilakukan modifikasi kondisi ekstraksi modern menggunakan ultrasound untuk memperoleh ekstrak yang optimum dibandingkan metode ekstraksi konvensional. Rumusan masalah yang diperoleh adalah sebagai berikut.

1. Apakah ekstraksi menggunakan metode UAE akan menghasilkan ekstrak yang optimum dibandingkan metode ekstraksi konvensional dengan variabel

respon persen rendemen, *Total Chlorogenic Content* (TCC), *Total Phenolik Content* (TPC), dan aktivitas antioksidan?

2. Bagaimana kondisi ekstraksi daun kopi robusta yang optimal menggunakan UAE berdasarkan nilai *desirability* tertinggi yang diperoleh dari *Design-expert*?
3. Bagaimana daya aktivitas antioksidan yang diperoleh dari ekstrak daun kopi robusta menggunakan metode UAE?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian yang akan dilakukan memiliki beberapa tujuan, yakni:

1. Membuktikan bahwa ekstraksi menggunakan metode UAE akan menghasilkan ekstrak yang optimum dibandingkan metode ekstraksi konvensional dengan variabel respon persen rendemen, *Total Chlorogenic Content* (TCC), *Total Phenolik Content* (TPC), dan aktivitas antioksidan.
2. Menghitung dan mengetahui daya aktivitas antioksidan yang diperoleh dari ekstrak daun kopi robusta menggunakan metode UAE.
3. Menentukan kondisi model ekstrak daun kopi robusta yang optimal menggunakan UAE berdasarkan nilai *desirability* tertinggi yang diperoleh dari *Design-expert*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini diantaranya adalah dapat menjadi referensi pada penelitian-penelitian selanjutnya mengenai efisiensi alat *ultrasound-assisted extraction* dalam menghasilkan ekstrak daun kopi robusta yang baik, sehingga didapatkan aktivitas antioksidan yang maksimal. Selain itu, hasil penelitian ini

dapat digunakan sebagai pedoman bagi mahasiswa atau peneliti lain untuk melakukan penelitian lebih lanjut.

DAFTAR PUSTAKA

- Aini, Q., 2016, *Uji Aktivitas Antioksidan Antara Fraksi Etil Asetat dan Etanol dari Ekstrak Etanolik Daun Kopi Robusta (Coffea canephora Peirre ex Froehner)*, Skripsi Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung, Semarang.
- Al-Daihan, S. & Bhat, R.S. 2012, Antibacterial activities of extracts of leaf, fruit, seed, and bark of Phoenix dactylifera, *African Journal of Biotechnology*, 14: 59 – 63.
- Aninditya.2020, Analisis Komposisi Kimia dan Antioksidan Serbuk Biji Salak Padang Sidempuan (*Salacca sumatrana becc*), *Jurnal Education and development*, 8(4) : 403-406.
- Anwar, K., Rahmanto, B., Triyasmono, L., Rizki, M. I., Halwany, W & Lestari, F., 2017, The Influence of Leaf Age on Total Phenolic, Flavonoids, and Free Radical Scavenging Capacity of Aquilaria beccariana, *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 8(1S): 129-133.
- Ardhiyanti Yulrina, Risa Pitriani, Ika Putri Damayanti. 2015, *Panduan Lengkap Keterampilan Dasar Kebidanan I*, Slemaan Yogyakarta : Deepublish.
- Arifin, B dan Ibrahim, S. 2018, Struktur, Bioaktivitas dan Antioksidan Flavonoid, *Jurnal Zarah*, 6(1): 21-29.
- Audina, anggi.2021, *Kemampuan Antifungi Ekstrak Metanol Daun Kopi Robusta (coffea canephora) Terhadap Pertumbuhan Cendawan Pascapanen*, Skripsi, FMIPA USU, Sumatera Utara.

- Babaei R, Jabbari A, Yamini Y. 2006, Solid - Liquid Extraction of Fatty Acids of Some Variety of Iranian Rice in Closed Vessel in The Absence and Presence of Ultrasonic Waves. *Asian J Chem.* 18(1):57–64.
- 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
- Budiman, H., 2015, *Prospek Tinggi Bertanam Kopi*, Yogyakarta : Pustaka BaruPress
- Cahyani, 2015. *Perbandingan Kadar Fenol Total Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Methanol Daun Kopi Robusta Dan Kopi Arabika*. Skripsi, S.Farm, Farmasi. Universitas Jember. Indonesia.
- Depkes RI. 1977, *Materia medika Indonesia*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, Indonesia.
- Depkes RI. 2000, *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*, Direktur Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta, Indonesia.
- Dey, S., Rathod, V.K. 2013, Ultrasound assisted extraction of β -carotene from *Spirulina platensis*, *Ultrasonics Sonochemistry*, 20: 271 – 276.
- Dharmaraj, S., Jamaludin, A. M., Razak, H .M., Valliappan, R., Ahmad, N. A., and Ismail, Z. A., 2006, The Classification of *Phyllanthus niruri* Linn, According to Location by Infrared Spectroscopy, *Vibrational Spectrosc*, 41 : 68-72
- DolatowskiZJ,StadnikJ,StasiakD. 2007, *Applications of Ultrasound in Food*

Technology. Acta Sci Pol, Technol Aliment, 6(3):89–99.

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

Farah, Adriana, 2012. *Coffe: Emergng Health Effect Disease Prevention*. Blackwell Publihsing.

Firdianny, I., Rahmiyani, I., Irasutisna, K. 2013. Antioxidant Capacities From Various Leaves Extracts of Four Varieties Mangoes Using DPPH, ABTS Assays and Correlation With Total Phenolic, Flavonoid, Carotenoid. *Int.J Pharmacy and Pharmaceutical Sci*. 5:189-194.

Garg, N., Abdel-Aziz, S.M., & Aeron, A., 2016, *Microbes in Food and Health*, Springer, Switzerland 42-45.

Haerani, Ani *et al.* 2018, Antioksidan Untuk Kulit, *Farmaka*,16 (2).

Halvorsen, B.L., Holte, K., Myhrstad, M.C.W., Barikmo, I., Hvattum, E., Remberg, S.F., Wold, A., Haffner, K., Baugerd, H., Andersen, L., Moskaug, J., Jacobs, D.R. 2002. A Systematic Screening of Total Antioxidant in Dietary Plants. *American Society for Nutritional Sci*. pp.461-471.

Harborne, J.B. 1987, *Metode fitokimia: Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*, edisi ke-2 , ITB, Bandung, Indonesia.

Hasanah, Mauizatul, Bella Maharani, Ensiwi Munarsih. (2017), Daya Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Kopi Robusta (*Coffea robusta*) Terhadap Pereaksi DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), *IJPST*, 4 (2):42-

49.

Herawati, H. Dan Sukohar, A. 2013. Pengaruh Asam Klorogenat Kopi Robusta Lampung Terhadap Ekspresi *Cyclin D1* dan *Caspase 3* pada Cell Lines HEP-G2. *Seminar Nasional Sains dan Teknologi V*. Lampung: Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Hulupi R, Martini E. 2013. *Pedoman Budidaya dan Pemeliharaan Tanaman Kopi di Kebun Campur*. World Agroforestry Centre (ICRAF) Southeast Asia Regional Program. Bogor,

Ibrahim, A.M., Yunita and H.S, Feronika. 2015. Pengaruh suhu dan lama waktu ekstraksi terhadap sifat kimia dan fisik pada pembuatan minuman sari jahe merah dengan kombinasi penambahan madu sebagai pemanis. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3 (2):530-541.

Indrawati, Ni Luh., Razimin., 2013, *Bawang Dayak : Si Umbi Ajaib Penakluk Aneka Penyakit*. PT AgroMedia Pustaka. Jakarta.

Isnindar, Wahyuono, S. & Setyowati, E. P. 2011, Isolasi dan identifikasi senyawa antioksidan daun kesemek (*diospyros kaki* Thunb.) dengan metode DPPH (2,2-Difenil-1 Pikrilhidrazil), *Majalah Obat Tradisional*, 16(3):157–164.

Kardono, L. B. S., Artanti, N., Dewiyanti, I. D., Basuki, T., Padmawinata, K. 2003. *Selected Indonesian Medical Plants: Monographs and Description Volume 1*. Jakarta. Gramedia

Kartika, Ika dkk. 2019, Isolasi Senyawa Flavonoid yang Berpotensi Memiliki Aktivitas Antioksidan dari Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora pierre*

ex). SPESIA,5(2).

Khaira, Kuntum. Menangkal Radikal Bebas dengan Anti-Oksidan. 2010, 2 (2);
183-7

Kikuzaki H, Hisamoto M, Hirose K, Akiyama K, Taniguchi H. Antioxidant
properties of ferulic acid and its related compounds. J Agric Food Chem.
2002;50(7):2161-8

Kristiningrum . 2013, *Potensi Daun Kopi Arabika dan Robusta Sebagai Sumber
Antioksidan Alami*. Fakultas Farmasi Universitas Jember, Universitas
Jember.

Lai, Y.H., Lim Y.Y., 2011, *Evaluation of Antioxidant Activities of the
Methanolic Extract of Selected Ferns in Malaysia*. IPCBEE 20.

Langsethm, L., (1995) *Oxidants, antioxidants and disease prevention*, ILSI Press,
Washinton, DC.

Lapornik, B., Prosek, M. & Wondra, A.G. 2005, Comparison of extracts prepared
from plant by-products using different solvent and extraction time, J Food
Eng, 71(2): 214 – 222.

List, P.H dan P.C. Schmidt. 1989. *Phytopharmaceutical Technology*. CRC Press,
Boston. Liu, Q dan H. Yao. 2007. Antioxidant activities of barley seeds
extract. Food Chemistry. 107: 732-737.

Liu, D., Li, Y. G., Xu, H., Sun, S. Q., and Wang, Z. T., 2008, Differentiation of
The Root of Cultivated Ginseng, Mountain Cultivated Ginseng and
Mountain Wild Ginseng using FT-IR and TwoDimensional Correlation IR
Spectroscopy. J. Mol. Struc., 883-884 : 228-235

- Malla, M.Y., Sharma, M., Saxena, R.C., Mr, M.L., Mir, A.H. & Bhat, S.H. 2013, Phytochemical screening and spectroscopic determination of total phenolic and flavonoid content of *Eclipta alba* Linn, *J Nat Prod Plant Res*, 3(2): 86 – 91.
- Manastas, A. 2014. *Teknologi Penanganan Pasca Panen Kopi Robusta*. Kanisius. Yogyakarta.
- 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.
- Maria Anna Dewajanti. 2019, Peranan Asam Klorogenat Tanaman Kopi Terhadap Penurunan Kadar Asam Urat dan Beban Oksidatif, *Jurnal kedokteran Meditek*, 25(1):46-51
- Marques, L. M. C. 2011. *Natural Antioxidants Extraction and Their Incorporation into Model Pharmaceutical Systems*. Dissertation. Faculdade de Ciencias e Tecnologia. Universidade Nova de Lisboa
- Mason TJ. 1990. *Sonochemistry: The Use of Ultrasonic in Chemistry*. Volume ke-1. Cambridge (UK): Royal Society of Chemistry.
- McClements DJ. 1995. Advances in the application of ultrasonic in food analysis and processing. *Trends Food Sci. Techn.* 6:293-299.
- Molyneux P. 2004. The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioksidan activity. *Songklanakarinn J Sci Technol.* 26 (2):211-219
- Mukhriani. (2014). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa

Aktif. 7:361- 367.

Mulja M. 1990. *Aplikasi Spektrofotometer UV-VIS*. Mecphiso. Surabaya. Hal 3.

Mulyono. 2009. *Kamus Kimia*. Jakarta: PT Bumi Aksara

Naes, T., Isaksson, T., Fearn, T., and Davies, T., 2002, *A User Friendly Guide to Multivariate Calibration and Classification*, NIR Publication, Chichester.

Najiyati, S. dan Danarti. 2007. *Kopi: Budidaya dan Penanganan Lepas Panen*. PenebarSwadaya, Jakarta.

Natalia, D. 2013, Uji aktivitas antioksidan dengan metode peredaman radikal bebas dpph dan uji toksisitas secara bslt dari ekstrak daun kopi (*Coffea robusta* (L.) Linden), diakses pada tanggal 12 agustus 2021, (http://perpusffup.or.id/index.php?p=show_detail&id=7136)

Neldawati, Ratnawulan, & Gusnedi, 2013, *Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat*, *Pillar of Physics* 2, 76-83

Novianto, Agil. 2018, Uji Kandungan Fenolik Total dan Pengaruhnya terhadap Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Bentuk Sediaan Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*), *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia* 5 (2). Kurang halaman

Ovando, C., Hernandez, D. *et al.* 2009, Chemical Studies of Anthocyanins: A Review, *Food Chemistry*, 113, 859-871.

Pristiana, dkk. 2017, Aktivitas Antioksidan dan Kadar Fenol Berbagai Ekstrak Daun Kopi (*Coffea sp.*) : Potensi Aplikasi Bahan Alam untuk Fortifikasi Pangan, *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 6(2).

- Rahardjo, Pudji. 2012. *Kopi Panduan Budidaya dan Pengolahan Kopi Arabika dan Robusta*. Jakarta: PenebarSwadaya.
- Rahayu, Triastuti dan TutiRahayu. 2009. Uji Antijamur Kombucha Coffee terhadap *Candida albicans* dan *Tricophyton mentagrophytes*. *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi* , 10(1).
- Rijayanti, R.P. 2014. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (Mangifera feotida L.) Terhadap Staphylococcus aureus Secara In-Vitro*. Skripsi. Universitas Tanjungpura Pontianak.
- Robins. 2007, *Buku Ajar Patologi*. Vol 1, Edisi 7. Jakarta Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Robinson, T., 1995. *Kandungan organik tumbuhan tingkat tinggi*. Bandung: Penerbit ITB.
- Rohaeti, E., Heryanto, R., Rafi, M., Kurniasari, I., and Darusman, L. K., 2006, Rapid Analysis of Total Flavonoids from Medicinal Herb: Interpretation of Chemometrics on Infrared Spectra of *Phyllanthus niruri*, Prosiding of The 2006 Seminar on Analytical Chemistry 9 Maret 2006, Departemen Kimia Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Rohaeti, E., R. Heryanto, M. Rafi, A. Wahyuningrum, dan L. K. Darusman. 2011. Prediksi Kadar Flavonoid Total Tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) Menggunakan Kombinasi Spektroskopi IR Dengan Regresi Kuadrat Terkecil Parsial. *Kimia*. 5 (2): 101-108.
- Sarker SD, Latif Z, & Gray AI. 2006. Natural products isolation. In: Sarker SD Latif Z, & Gray AI, editors. *Natural Products Isolation*. 2nd ed. Totowa

- (New Jersey). Humana Press Inc. hal. 6-10, 18.
- Shahidi, F. dan Naczk, M., (1995) Food Phenolics. Technomicpub.Co. Inc. Lancaster-Basel.
- Shirsath SR, Sonawane SH, Gogate PR. *Intensification of Extraction of Natural Products Using Ultrasonic Irradiations—A Review of Current Status*. Chem Eng Process Process Intensif. 2012;53:10–23.
- Shiyan Shaum, Herlina, dkk. 2017, Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanolik Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Pada Tikus Diabetes Tipe 2 yang Diberi Diet Lemak Tinggi dan Sukrosa, *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis*, 3 (2): 1-7
- Sibuea, P. 2003, *Antioksidan Senyawa Ajaib Penangkal Penuaan Dini*, Sinar Harapan, Jogjakarta, Indonesia.
- Simaremare, E.S. 2014, Skrining fitokimia ekstrak daun gatal, *Pharmacy*, **11(1)**: 98-107.
- Sogandi dan Rabima, 2019, Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dan Potensinya sebagai Antioksidan, *journal of scientific and applied chemistry*, 22(5).
- Sumardika IW dan Jawi IM. 2011. Ekstrak Air Daun Ubi Jalar Ungu Memperbaiki Profil Lipid dan Meningkatkan Kadar SOD Darah Tikus yang Diberi Makanan Tinggi Kolesterol. *Jurnal Ilmiah Kedokteran* 43(2):67-70
- Surh, Y-J., (2003) Cancer Chemopreventive with Dietary Phytochemicals. *Nat. Rev. Cancer*, 3: 768-780.
- Suryo, 2008. *Genetika Manusia*, Yogyakarta : Gadjah Mada University Press

- Teboukeu, Gires Boungo, Fabrice Tonfack Djikeng .2018, Optimization of the extraction of natural antioxidants from *Coffea robusta* leaves and evaluation of their ability to preserve Palm olein from oxidation during accelerated storage, WILEY Food Science Nutrition, (1754-1761).
- Tian-yang W., Qing Li., Kai-Shun Bi. 2018, Bioactive Flavonoids in Medicinal Plants: Structure, Activity and Biological Feteasian, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13, 12-23
- Tjitrosoepomo, G. (2007). *TaksonomiTumbuhan (Spermatohyta)*. Gadjah Mada. University Press. Yogyakarta.
- Tice, R. 1998. *Chlorogenic Acid [327-97-9] and Caffeic Acid [331-39-5] : Review of Toxicological Literature*. North Carolina : ILS.
- Ukoha, P.O., Cemaluk, E.A.C., Nnamdi, O.L & Madus, E.P., 2011, Tannins and other phytochemical of the Samanaea saman pods and their antimicrobial activities. *African Journal of Pure and Applied Chemistry* 5(8), 237-244.
- Utami. 2009. Potensi daun alpukat (*Persea americana* Mill) sebagai sumber antioksidan alami. *Jurnal Teknik Kimia UPN Jawa Timur*. 2(1) : 58-64.
- Versari, A., Parpinello, G. P., Scazzina, F., and Rio, D. D., 2010. Prediction of Total Antioxidant Capacity of Red Wine by Fourier Transform Infrared Spectroscopy, *Food Control*, 21 : 786–789
- Wang, J. & Weller, C.L. 2006, Recent advance in extraction of nutraceuticals from from plants, *J Food Eng*, 17: 300 – 312
- Warongan, Marino Novri, Sri Sudewi & adithya Yudistira. 2017, Analisis

Fingerprint Daun Gedi Hijau (*Abelmoschus manihot L*) Untuk Memprediksi Aktivitas Antioksidan Menggunakan Analisis Spektroskopi IR dengan Partial Least Squareregression, *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi*, Vol. 6(4): 157-164.

Widyasanti, Asri, Dinda Nuraini Maulfia, & Dadan Rohdiana. 2019, Karakterisasi Mutu Ekstrak Teh Putih (*Camellia sinensis*) yang Dihasilakn dari Metode Maserasi Bertingkat dengan Pelarut n-Heksana, Aseton 70% dan Etanol 96%, *Jurnal Teknik Pertanian Lampung*, Vol. 8(4): 293-299.

Williams, A.R. 1983. *Panel Discussion on Mechanisms and Biological Effects*. Academic Press.

Winata EW, Yunianta. EkstraksiAntosianinBuahMurbei (*Morus alba L.*) Metode Ultrasonik Bath (Kajian Waktu dan Rasio Bahan : Pelarut). *J Pangan dan Agroindustri*. 2015;3(2):773–83.

Yanlinastuti, 2016, Pengaruh Konsentrasi Pelarut untuk Menentukan Kadar Zirkonium dalam Paduan U-Zr Dengan Menggunakan Metode Trofometri UV-VIS, ISSN, No 17

Yaqin, M. A., dan Nurmilawati, M. 2015. *Pengaruh Ekstrak Kopi Robusta (Caffearobusta) sebagaiPenghambatPertumbuhan Staphylococcus aureus*.Surakarta: Pendidikan Biologi FKIP UNS.

Yuslianti. 2018. *Buku Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan*, Yogyakarta : Deepublish.

Yusmarini. 2011. Senyawa polifenol pada kopi: pengaruh pengolahan,

metabolisme dan hubungannya dengan kesehatan. *Jurnal SAGU*. 10(2): 22-30.

Yunika, Mentari Sari, dkk.2019.Analisis Senyawa Asam Klorogenat dalam Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Menggunakan HPLC,*Analytical and Environmental Chemistry*, 4(02), 86-93