



Aktivitas Antioksidan Buah Kopi Hijau Merapi The Antioxidant Activity of Green Coffee Cherries at Merapi

Isnindar^{1*}, S. Wahyuono², dan S. Widyarini³

¹ Fakultas Kedokteran, Prodi Farmasi, Universitas Tanjungpura, isnindar@yahoo.com

² Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, subagusw@yahoo.com

³ Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, sitarina.widyarini@gmail.com

*email korespondensi : isnindar@yahoo.com

Abstrak: Kopi digemari karena memiliki citarasa, aroma khas, dan mengandung komponen bioaktif yang dapat berperan sebagai antioksidan seperti kafein, sterol (stigmasterol, sitosterol), diterpens pentasiklik (methylcafestol, cafestol, kahweol). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan (IC₅₀) ekstrak kloroform, larut metanol 80% dan endapan metanol 80% dari buah kopi hijau merapi menggunakan metode DPPH(2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Ekstrak kloroform buah kopi hijau diperoleh dari penyarian maserasi. Hasil ekstrak kloroform ditambahkan dengan fase gerak metanol 80% untuk menghasilkan dua fase yaitu larut metanol 80% dan endapan metanol 80%. Selanjutnya diuji aktivitas antioksidan (IC₅₀) menggunakan metode DPPH dengan variasi konsentrasi dengan spektrofotometer. Penelitian ini menggunakan vitamin C sebagai kontrol positif. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak kloroform memiliki aktivitas antioksidan (IC₅₀) sebesar 2.21 mg/mL, larut metanol 80% sebesar 1.88 mg/mL, endapan metanol 80% sebesar 3.66 mg/mL, dan vitamin C sebagai kontrol positif sebesar 2.38 µg/mL.

Abstract : Coffee is popular because it has a flavor, a distinctive odors, and contains bioactive components that can act as antioxidants such as caffeine, sterols (stigmasterol, sitosterol), pentasiklik diterpens (methylcafestol, cafestol, kahweol). The objective of this research is to know the antioxidant activity (IC₅₀) of chloroform extract, dissolve 80% methanol and 80% methanol from green merapi coffee using DPPH method (2,2-diphenyl-1-picrilhidrazil). Chloroform extract of green coffee bean was obtained from maceration extraction. Chloroform extract was added with 80% methanol as mobile phase resulting two phases that are 80% diluted-methanol and 80% precipitated-methanol. The antioxidant activity (IC₅₀) was then tested using DPPH method with concentration variation with spectrophotometers. This study used vitamin C as a positive control. The results showed chloroform extract had antioxidant activity (IC₅₀) of 2.21 mg/mL, 80% diluted-methanol of 1.88 mg/mL, 80% precipitated-methanol of 3.66 mg/mL, and vitamin C as a positive control of 2.38 µg/mL

Keywords: green coffee, antioxidant, dpph, spectrophotometers

1. Pendahuluan

Radikal bebas dapat dipicu keberadaannya oleh makanan, polusi udara dari asap kendaraan dan asap rokok (Yougson, 1998). Sebab itu tubuh kita memerlukan suatu substansi penting yakni antioksidan yang dapat membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dengan meredam dampak negatif senyawa ini. Antioksidan adalah suatu senyawa yang mampu berinteraksi dengan radikal bebas sebelum merusak molekul molekul dalam tubuh (Panglossi, 2006) atau menetralkan radikal bebas sehingga diharapkan dengan pemberian antioksidan proses tua dihambat serta dapat mencegah terjadinya kerusakan tubuh dari timbulnya penyakit degeneratif. Senyawa antioksidan yang berasal dari luar tubuh terdiri dari dua macam yang didasarkan pada sumbernya, yaitu antioksidan sintetik dan antioksidan alami. Pengembangan antioksidan alamiah dimaksudkan untuk pengobatan preventif sebagai alternatif yang aman digunakan serta tidak menimbulkan efek samping, serta untuk industri makanan dan peningkatan perekonomian masyarakat dalam pembudidayaan bahan obat tradisional. Adanya peningkatan minat untuk mendapatkan antioksidan tersebut karena antioksidan alami selain dapat melindungi tubuh dari serangan radikal bebas mampu memperlambat terjadinya penyakit kronik yang disebabkan ROS, sebagai penghambat oksidasi lipid yang menyebabkan ketengikan dan kerusakan makanan (Gulcin I, 2004;Zupko I, 2001).

Senyawa antioksidan alami banyak tersebar pada beberapa jenis tumbuhan, sayuran, biji-bijian, serta buah buahan.Indonesia mempunyai buah buahan yang melimpah dan tak jarang mempunyai aktivitas antioksidan.Salah satunya adalah buah kopi hijau yang diperoleh dari perkebunan gunung merapi yang terletak di wilayah Propinsi Daerah Istimewa Yogyakarta. Produk buah kopi hijau adalah produk limbah dari hasil panen buah yang terbuang yaitu buah yang masih hijau dan belum masak yang merupakan salah satu usaha pemanfaatan limbah. Buah kopi hijau mengandung kafein, senyawa fenolik, dengan asam klorogenat (Clifford MN, 1999). Kadar kafein pada kopi hijau (*C. arabica* dan *C.canephora*) masing masing 1,45% dan 2,38% (Bicho NC, 2013). Hasil penelitian lain menunjukkan kandungan kimia buah kopi hijau yaitu sterol (stigmasterol, sitosterol), diterpens pentasiklik (methylcafestol, cafestol, kahweol) (Kurzrock T, 2001). Alkohol diterpen, diterpen dan tripterpen ester dan seramid. (Gonzales AG, 2001). Kopi mengandung beberapa spesies xanthin seperti kafein (Hostettmann K, 2000), teobromin dan teofilin (Nardhini M, 2002;Kiyohara C, 1999). Senyawa fenolik, 200-550 mg per cangkir di minuman kopi (Kiyohara C, 1999). Asam *chlorogenic* seperti *caffeic*, asam *ferulic*, dan *p-coumaric*, asam *caffeoylquinic*, dengan asam *5-O-caffeoyl-quinic*, *eruloyl* asam *quinic* dan *di-caffeoyl-quinic* yang terkonjugasi dengan tirosin, tryptophane atau fenilalanin dan Proanthocyanidin (Arts ICW, 2000;Clifford MN, 2004). Kopi juga sumber penting dari polifenol seperti asam kafeat, asam klorogenat, asam kumarat, asam ferulat, asam sinapat (Hecimovic I, 2011). Polifenol merupakan senyawa kimia yang bekerja sebagai antioksidan kuat didalam kopi (Almada PD). Kopi hijau dan panggang (*5-O-caffeoyl-quinic*) memiliki aktivitas antiradikal (Daglia M, 2004). Hasil penelitian Sukohar dkk, (2011) kafein dan asam klorogenat pada biji kopi robusta di Lampung memiliki aktivitas antioksidan masing masing sebesar 21.41 ppm dan 5.86 ppm menggunakan metode DPPH. Perbedaan kandungan kimiawi dan kadar kafein dari biji kopi tergantung pada jenis kopi (Kitzberger CSG, 2013), wilayah geografi, dan proses pemanggangan (Dias RCE, 2013). Pengujian aktivitas antioksidan pada buah kopi hijau merapi dilakukan dengan menggunakan metode penangkap radikal DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) selanjutnya akan diukur nilai IC₅₀ (aktivitas antioksidan) dari buah kopi hijau merapi dalam ekstrak kloroform, larut metanol 80%, dan endapan metanol 80%. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan (IC₅₀) ekstrak kloroform, larut metanol 80% dan endapan metanol 80% dari buah kopi hijau merapi menggunakan metode DPPH(2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).

2. Metodologi Penelitian

2.1. Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah kopi hijau yang dipanen pada bulan maret 2015 yang diperoleh dari perkebunan kopi Dusun Petung Desa Kepuharjo, Cangkringan Sleman. Bahan pendukung yang digunakan adalah vitamin C, DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) (sigma Aldrich), pelarut kloroform, metanol, metanol 80%, etil asetat dan aquades. Bahan kimia yang digunakan berderajat pro analisis E. Merck.

2.2. Ekstrak dan fraksi

Sejumlah simplisia buah kopi hijau dimaserasi dengan pelarut kloroform dalam bejana selama 3x24 jam, setiap 1x24 jam pelarut diganti dan dilakukan pengadukan sesering mungkin. Kemudian filtrat disaring dan dipekatkan dengan *vaccum rotary evaporator* dan penangas air hingga diperoleh ekstrak kloroform. Selanjutnya ekstrak kloroform dilarutkan di dalam pelarut metanol 80%. Ekstrak di vortex dan disonifikator. Filtrat dikeringkan dengan penangas air hingga diperoleh partisi larut metanol 80%. Sisa endapan atau yang tidak larut metanol 80% disebut residu

2.3. Aktivitas penangkapan radikal DPPH

Sejumlah 10 mg ekstrak kloroform, larut metanol 80% dan endapan metanol 80% dilarutkan dengan 1ml pelarut kloroform. Larutan ini digunakan sebagai larutan induk dan nantinya akan dibuat seri kadar sesuai konsentrasi yang diinginkan. Kadar ekstrak kloroform yang digunakan adalah 0,20mg/mL, 1,02mg/mL, 2,04mg/mL, 3,06mg/mL dan 4,08mg/mL. Kadar larut metanol 80% yang digunakan adalah 0,21mg/mL, 1,03 mg/mL, 2,06mg/mL, 3,09mg/mL, dan 4,12mg/mL. Kadar endapan metanol 80% yang digunakan adalah 0,20mg/mL, 1,02mg/mL, 2,04mg/mL, 3,06mg/mL dan 4,08mg/mL. Untuk uji kuantitatif digunakan pelarut berderajat pro analisis (p.a). Demikian juga pembanding vitamin C dibuat dengan konsentrasi 1 mg/mL. Larutan ini digunakan sebagai larutan induk dan nantinya akan dibuat seri kadar sesuai konsentrasi yang diinginkan yaitu 1µg/mL, 2µg/mL, 2,5µg/mL, 3µg/mL, 3,5µg/mL, dan 4 µg/mL. Sejumlah kurang lebih 15,8 mg serbuk DPPH dilarutkan dengan metanol dan divortex untuk membantu kelarutan. Larutan kemudian dipindahkan kedalam labu takar lalu metanol ditambahkan sampai 100,0 mL. Larutan disimpan dalam wadah gelap berlapis aluminium foil dan disimpan pada suhu -4⁰C. Masing masing sejumlah ekstrak kloroform, larut metanol 80%, endapan metanol 80% dan vitamin C direaksikan dengan 1,0 mL DPPH dan ditambah metanol sampai 5,0 mL pada labu takar. Ekstrak diukur pada panjang gelombang maksimum DPPH.

2.4. Analisis data

Data yang diperoleh dari uji kuantitatif aktivitas antioksidan metode DPPH adalah persen penangkapan radikal DPPH. Besarnya aktivitas penangkapan radikal DPPH dihitung dengan persamaan berikut :

$$\text{Aktivitas Antioksidan (\%)} = \frac{\text{Abs.kontrol} - \text{Abs.sampel}}{\text{Abs.kontrol}} \times 100\%$$

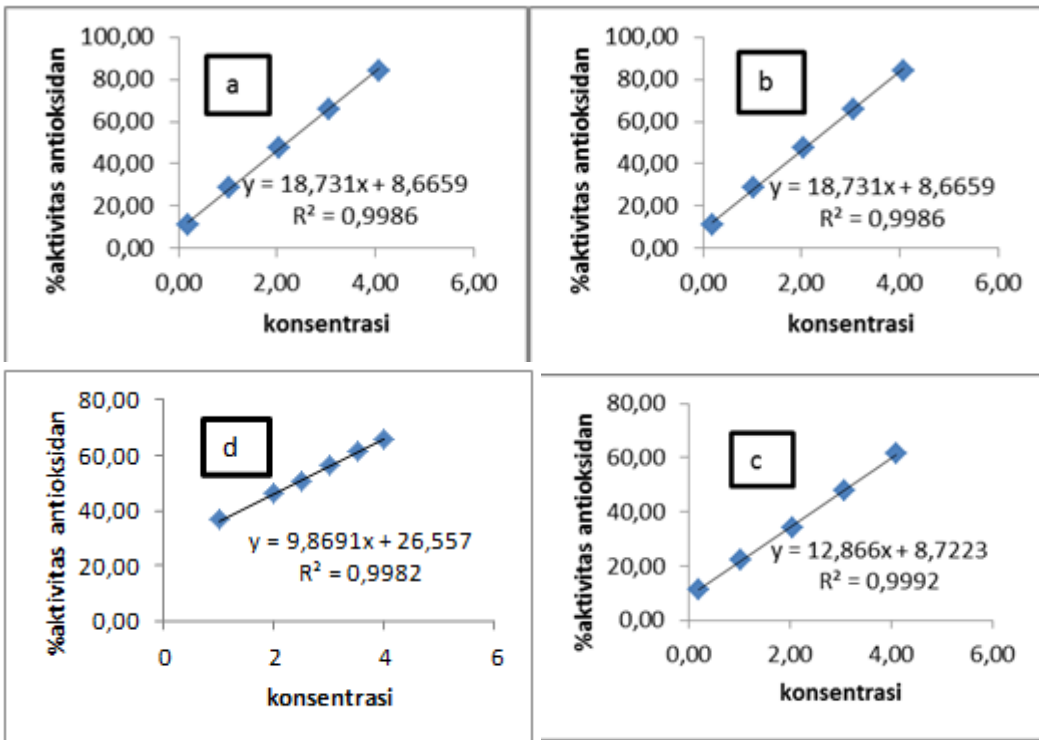
IC₅₀ dihitung dengan analisis regresi linier antara konsentrasi sampel vs persen penangkapan radikal DPPH.

3. Hasil dan Pembahasan

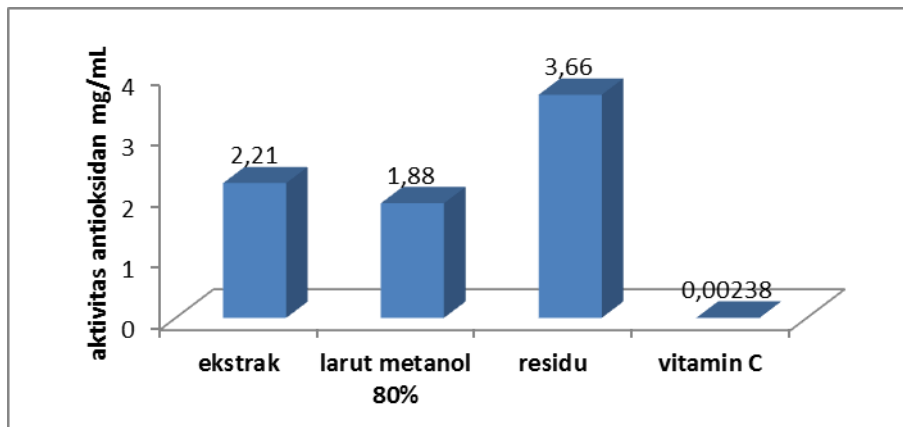
Buah kopi hijau merapi diperoleh dari perkebunan kopi Dusun Petung Desa Kepuharjo, Cangkringan Sleman. Buah kopi yang diambil adalah buah kopi yang berwarna hijau dari hasil limbah panen buah kopi. Ekstrak dibuat dengan sejumlah buah kopi hijau yang diekstraksi menggunakan pelarut kloroform metode maserasi. Pelarut kloroform digunakan untuk menarik senyawa senyawa yang bersifat semipolar yaitu spesies xanthin seperti kafein (Hostettmann K, 2000), teobromin dan teofilin (Nardhini M, 2002; Kiyohara C, 1999), Hasil penelitian lain yaitu

sterol (stigmasterol, sitosterol), diterpens pentasiklik (methylcafestol, cafestol, kahweol) (Kurzrock T, 2001).

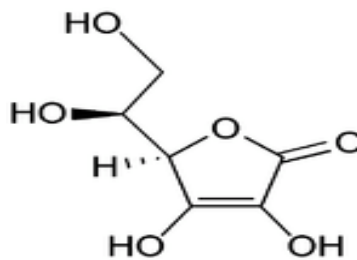
Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan penangkapan radikal (*radical scavenging*) terhadap radikal DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Metode penangkapan radikal DPPH ini merupakan metode kuantitatif. Prinsip metode ini yaitu didasarkan pada kemampuan suatu senyawa uji untuk menangkap radikal dan mengurangi intensitas warna radikal DPPH yang berwarna ungu menjadi berwarna kuning yang diukur oleh spektrofotometer pada panjang gelombang 515 nm (Prior dkk., 2005). Pengukuran panjang gelombang maksimum ditentukan dengan scanning panjang gelombang DPPH 0,4 mM dalam metanol pada λ 400-600 nm dan hasil menunjukkan bahwa DPPH memiliki panjang gelombang maksimum pada 515 nm. Literatur menyebutkan bahwa radikal DPPH bersifat stabil dan memiliki panjang gelombang maksimum antara 515-520 nm (Molyneux, 2004; Prior dkk., 2005). Sedangkan radikal DPPH membutuhkan waktu tertentu untuk bereaksi dengan senyawa antioksidan sehingga perlu dilakukan *operating time* dan dilakukan pada sampel uji sehingga dapat diprediksi kestabilan kompleks antara radikal DPPH dengan senyawa antioksidan. Penelitian ini mempunyai rata-rata kestabilan absorbansi DPPH pada menit ke-30 setelah direaksikan dan menit ke-30 ditetapkan sebagai *operating time* untuk semua senyawa uji. Pengukuran aktivitas antioksidan metode DPPH secara umum dilakukan pada menit ke-30 (Kim dan Jang., 2010). Meskipun pada kondisi sebenarnya, waktu reaksi antara sampel dengan DPPH sangat bervariasi tergantung pada senyawanya (Geckil dkk., 2005; Plazonic dkk., 2009). Gambar 1 menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak berbanding lurus dengan aktivitas penangkapan radikal DPPH. Semakin besar konsentrasi senyawa antioksidan maka aktivitas penangkapan radikal DPPH semakin besar. Senyawa antioksidan mampu mereduksi radikal DPPH sehingga menyebabkan penurunan absorbansi DPPH yang ditandai dengan perubahan warna ungu menjadi kuning. Persamaan regresi linier antara hubungan konsentrasi senyawa antioksidan dan persen penangkapan radikal DPPH dapat digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} senyawa antioksidan. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak kloroform memiliki aktivitas antioksidan sebesar 2.21 mg/mL, larut metanol 80% sebesar 1.88 mg/mL, endapan metanol 80% sebesar 3.66 mg/mL, dan vitamin C sebagai kontrol positif sebesar 2.38 μ g/mL. Semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas antioksidannya semakin poten. Adanya perbedaan nilai aktivitas antioksidan pada ekstrak kloroform, larut metanol 80% dan endapan metanol 80% kemungkinan disebabkan adanya pengaruh pelarut yang digunakan. Hasil penelitian menunjukkan larut metanol 80% memiliki aktivitas antioksidan (IC_{50}) lebih besar dibandingkan ekstrak kloroform dan endapan metanol 80%. Sehingga dapat disimpulkan bahwa kepolaran pelarut mempengaruhi nilai aktivitas antioksidan (IC_{50}) menggunakan metode DPPH. Histogram nilai IC_{50} ekstrak kloroform, larut metanol 80%, endapan metanol 80%, dan vitamin C sebagai kontrol positif dapat dilihat pada gambar 2. Perbandingan yang digunakan adalah vitamin C yang memiliki aktivitas antioksidan yang poten dan berperan sebagai donor atom hidrogen pada senyawa radikal bebas, sehingga radikal bebas diubah menjadi bentuk yang lebih stabil dan kurang reaktif. Struktur vitamin C dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 1. Kurva regresi linier antara konsentrasi ekstrak (a), fraksi larut metanol 80% (b), residu (c) dan vitamin C (d) dengan persen aktivitas antioksidan



Gambar 2. Histogram nilai IC_{50} ekstrak (a), fraksi larut metanol 80% (b), residu (c) dan vitamin C (d) dengan metode DPPH



Gambar 3. Struktur vitamin C

4. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terhadap aktivitas antioksidan buah kopi hijau merapi menggunakan metode DPPH dapat disimpulkan IC₅₀ ekstrak kloroform memiliki aktivitas antioksidan sebesar 2.21 mg/mL, larut metanol 80% sebesar 1.88 mg/mL, endapan metanol 80% sebesar 3.66 mg/mL, dan vitamin C sebagai kontrol positif sebesar 2.38 µg/mL.

Daftar Pustaka

- Almada PD (2009) *Pengaruh Perubahan Proses Dekafeinasi Kopi dalam Reaktor Kolom Tunggal Terhadap Mutu Kopi*. Universitas Pertanian Bogor.
- Arts ICW, Van De Putte B, H. (2000) 'Catechin Contents of Food Commonly consumed in the Netherlands 2 Tea, Wine, Fruits Juices and Chocolate Milk', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, p. 48.
- Bicho, N. C., Lidon, F. C., Ramalho, J. C. and Leitão, A. E. (2013) 'Quality assessment of Arabica and Robusta green and roasted coffees - A review', *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 25(12), pp. 945–950. doi: 10.9755/ejfa.v25i12.17290.
- Clifford, M.N., 1999. Chlorogenic acids and other cinnamates - nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **79**: 362–372.
- Clifford, M. N. and Knight, S. (2004) 'Food Chemistry The cinnamoyl – amino acid conjugates of green robusta coffee beans', *Food Chemistry*, 87(3), pp. 457–463. doi: 10.1016/j.foodchem.2003.12.020.
- Daglia M, Racchi M, Papetti A, Lanni C, Govoni S, G. G. (2004) 'In vitro and ex Vivo Antihydroxyl Radical Activity of Green and Roasted Coffee', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, pp. 1700–1704.
- Dias RCE, Alves ST, B. M. (2013) 'Spectrophotometric Method for Quantification of Kahweol in Coffee', *Journal of Food Composition and Analysis*, 31, pp. 137–143.
- Geckil, H., Ates, B., Durmaz, G., Erdogan, S., Yilmaz, I., 2005, Antioxidant, Free Radical Scavenging and Metal Chelating Characteristics of Propolis, *American J. Biochem. Biotech.*, 1(1), 27-31.
- González, A. G., Pablos, F., Martín, M. J., León-Camacho, M. and Valdenebro, M. S. (2001) 'HPLC analysis of tocopherols and triglycerides in coffee and their use as authentication parameters', *Food Chemistry*, 73(1), pp. 93–101.
- Gülçin, I., Uguz, M. T., Oktay, M., Beydemir, S. and Küfrevioglu, Ö. I. (2004) 'Evaluation of the antioxidant and antimicrobial activities of clary sage (*Salvia sclarea* L.)', *Turk J Agric For*, 28(1), pp. 25–33.
- Hečimović, I., Belščak-Cvitanović, A., Horžić, D. and Komes, D. (2011) 'Comparative study of polyphenols and caffeine in different coffee varieties affected by the degree of roasting', *Food Chemistry*, 129(3), pp. 991–1000. doi: 10.1016/j.foodchem.2011.05.059.
- Hostettmann, K., Marston, a., Ndjoko, K. and Wolfender, J. L. (2000) *The Potential of African Plants as a Source of Drugs*, *Current Organic Chemistry*. doi: 10.2174/1385272003375923.
- Kim JK., and J ang J H., 2010, the first total synthesis of 2,3,6 tri bromo-4,5-dihydroxyb enzyl methyl ether (TDB) and its antioxidant activity, *Bull. Korean Chem Soc.*, 23 (5), 661-662.
- Kitzberger et al (2013) 'Composition and Analysis Diterpenes in green and roasted coffee of *Coffea arabica* cultivars growing in the same edapho-climatic conditions, *Journal of Food Composition and Analysis*, 30, pp. 52–57.
- Kiyohara, C., Kono, S., Honjo, S., Todoroki, I., Sakurai, Y., Nishiwaki, M., Hamada, H., Nishikawa, H., Koga, H., Ogawa, S. and Nakagawa, K. (1999) 'Inverse association between coffee drinking and serum uric acid concentrations in middle-aged Japanese males.', *The British journal of nutrition*, 82, pp. 125–130.
- Kurzrock, T. and Speer, K. (2001) 'Diterpenes and diterpene esters in coffee', *Food Reviews International*, 17(December 2011), pp. 37–41. doi: 10.1081/FRI-100108532.

- Molyneux, P., 2004, The Use of A Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *Songklanarin J. Sci. Technol.*, 26(2), 211-219.
- Nardhini M, Cirillo E, S. C. (2002) 'Absorption of Phenolic Acids in Humans After Coffee Consumption', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, pp. 573-574.
- Panglossi, H.V., 2006. *Antioxidants: New Research*. Nova Publishers.
- Plazonic, A., Bucar, F., Males, Z., Mornar, A., Nigovic, B., & Kujundzic, N. 2009, Identification and Quantification of Flavonoids and Phenolic Acids in Burr Parsley (*Caucalis platycarpos* L.), Using High-Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection and Electrospray Ionization Mass Spectrometry, *Mol.*, 14(7), 2466-2490
- Prior, R.L., Wu, X., dan Schaich, K., 2005. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 4290-4302.
- Sukohar, A., Setiawan, FF., Wirakusumah, Herry, SS., 2011, Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Sitotoksik Kafein Dan Asam Klorogenat Dari Biji Kopi Robusta Lampung, *Jurnal Medika Planta* -Vol.1, No.4
- Youngson, Robert, 1998, *Antioksidan: Manfaat Vitamin C Dan E Bagi Kesehatan*, Diterjemahkan Oleh Susi Parwoko, Hal 77, Arcan, Jakarta.
- Zupko I, Hohmann J, Redein D, Falkay G, Janicsak G, Mathe, I. (2001) 'antioxidants activity of leaves of saliva species in enzym-dependent and enzym independent system of lipid peroxidation and their phenolic constituents', *Planta Med*, 6, pp. 366-368.