

Uji Aktivitas Antioksidan dan Profil Fitokimia Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*), Biji Vanili (*Vanilla planifolia*), dan Kombinasi Keduanya dengan Berbagai Pelarut

Tests of Antioxidant Activity and Phytochemical Profile of Robusta Coffe Seeds (*Coffea canephora*), Vanilla Seeds (*Vanilla planifolia*), and the Combination of the Both With Various Solvents

Muhammad Andre Niljon^{1*}

Himmi Marsiarti²

Universitas YARSI, Jakarta
Pusat, Daerah Khusus Ibukota
Jakarta 10510, Indonesia

*email:

himmi.marsiarti@yarsi.ac.id

Abstrak

Kopi robusta (*Coffea canephora*) dan buah vanili (*Vanilla planifolia*) merupakan tanaman yang mengandung antioksidan. Tujuan Penelitian untuk menentukan aktivitas antioksidan tanaman tersebut dan kombinasi keduanya dengan berbagai pelarut (etanol, etil asetat dan air). Aktivitas antioksidan diukur menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Hasil penelitian buah vanili memiliki nilai IC_{50} 153,09 ppm pada ekstrak etanol, IC_{50} 176,69 ppm pada ekstrak etil asetat, dan IC_{50} 245,28 ppm pada ekstrak air. Biji kopi robusta memiliki nilai IC_{50} 18,96 ppm pada ekstrak etanol, IC_{50} 27,03 ppm pada ekstrak etil asetat, dan IC_{50} 20,13 ppm pada ekstrak air. Kombinasi vanili dan kopi memiliki nilai IC_{50} 39,40 ppm pada ekstrak etanol, IC_{50} 41,25 ppm pada ekstrak etil asetat, dan IC_{50} 38,60 ppm pada ekstrak air. Vitamin C sebagai standar pembandingan memiliki nilai IC_{50} 2,99 ppm. Hasil uji ANOVA menunjukkan nilai $p < 0.05$ yang menandakan terdapat perbedaan signifikan antara sampel dengan berbagai pelarut. Uji fitokimia menunjukkan buah vanili memiliki kandungan flavonoid dan fenolik.

Kata Kunci:

Antioksidan
DPPH
Fitokimia
Kopi Robusta
Vanili
Kombinasi

Keywords:

Antioxidant
DPPH
Phytochemicals
Robusta coffee
vanilla
Combination

Abstract

Robusta coffee (*Coffea canephora*) and vanilla fruit (*Vanilla planifolia*) are plants that contain antioxidants. The aim of the study was to determine the antioxidant activity of these plants and their combination. Activity was measured using the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method on ethanol, ethyl acetate, and water extracts. The results of the research on vanilla fruit had an IC_{50} value of 153.09 ppm in ethanol extract, IC_{50} 176.69 ppm in ethyl acetate extract, and IC_{50} 245.28 ppm in aqueous extract. Robusta coffee beans have an IC_{50} value of 18.96 ppm in the ethanol extract, an IC_{50} of 27.03 ppm in the ethyl acetate extract, and an IC_{50} of 20.13 ppm in the aqueous extract. The combination of vanilla and coffee had an IC_{50} value of 39.40 ppm for the ethanol extract, an IC_{50} of 41.25 ppm for the ethyl acetate extract, and an IC_{50} of 38.60 ppm for the aqueous extract. Vitamin C as a standard for comparison has an IC_{50} value of 2.99 ppm. The ANOVA test results showed a value of $p < 0.05$ which indicated that there were significant differences between samples with various solvents. Phytochemical tests showed that vanilla contain flavonoids and phenolics.



© 2023 The Authors. Published by Institute for Research and Community Services Universitas Muhammadiyah Palangkaraya. This is Open Access article under the CC-BY-SA License (<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>). DOI: <https://doi.org/10.33084/jsm.v9i2.4612>

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara dengan sumber daya alam yang melimpah. Salah satu subsektor basis sumber daya alam terbesar di Indonesia adalah sektor pertanian. Salah satunya kopi robusta (*Coffea canephora*) dan vanili (*Vanilla planifolia*). Kopi merupakan tanaman yang banyak ditemukan pada beberapa negara di belahan dunia dan telah dikonsumsi sebagai minuman. Negara maju dan negara berkembang, tidak ingin ketinggalan untuk

mengonsumsi kopi. Kopi yang paling sering beredar dipasaran berasal dari biji kopi robusta (*Coffea canephora*) dan biji kopi arabika (*Coffea arabica*). (Wang, Kan, 2012).

Kopi robusta memiliki ketahanan yang lebih tinggi dibanding kopi arabika. Kopi robusta lebih tahan terhadap hama dan penyakit dibandingkan kopi arabika. Selain itu kopi robusta dapat tumbuh di iklim apapun, tidak seperti kopi arabika yang sangat tergantung iklim dan cuaca. (Farah, et al., 2012). Tanaman kopi dapat

tumbuh optimal pada 0 - 10 °C LS dan 0 - 5°C LU. Untuk iklim yang dapat mempengaruhi pertumbuhan kopi rubusta pada elevasi 0 – 1500 mdpl dengan temperature rata-rata 21-24 °C. Di mana dengan curah hujan 2000-3000 mm/th dan keasaman tanah atau pH tanah 5.5 - 6.5 artinya tanah yang dalam banyak mengandung humus tanah yang lebih asam, dengan catatan fisik tanaman kopinya baik sesuai dengan fisiologi tumbuhan tanaman kopi. (Rahmat 2014).

Penelitian epidemiologis sebelumnya menyebutkan bahwa kopi memiliki beberapa manfaat untuk kesehatan yaitu dapat mencegah penyakit kronik. Salah satu zat dari kopi yang bermanfaat bagi kesehatan yaitu kandungan antioksidan kopi yang cukup tinggi. (Claudia Anesini, et al., 2010).

Vanili (*Vanilla planifolia*) adalah tanaman penghasil bubuk vanili yang mengandung vanilin dan bisa dijadikan pengharum makanan dan minuman. Untuk konsumsi langsung dari rumah tangga umumnya dalam bentuk bubuk. Penggunaannya langsung dicampurkan ke dalam bahan makanan atau minuman (Tim Karya Tani Mandiri, 2010). Vanili mengandung antioksidan tingkat tinggi. Ini memiliki properti obat penenang dan karenanya mengurangi kecemasan. Vanili juga digunakan sebagai obat aromaterapi yang dianggap sebagai aroma populer untuk memberikan efek afrodisiak. (Srinivasan, K, 2016). Antioksidan merupakan pertahanan pertama tubuh kita terhadap kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas dan sangat penting untuk menjaga kesehatan tubuh agar optimum. Antioksidan mampu menginaktivasi atau menstabilisasi radikal bebas sebelum radikal bebas menyerang sel. Antioksidan sangat penting dalam menjaga sel dan kesehatan sistemik. Secara keseluruhan radikal bebas terlibat dalam patogenesis kebanyakan penyakit, namun pembentukan radikal bebas (dalam tubuh kita) dapat dikontrol oleh antioksidan dalam tubuh kita. Ketika kadar antioksidan dalam tubuh kita tidak terlalu banyak kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas dapat berakumulasi dan menimbulkan dampak yang

cukup serius terhadap kesehatan. Antioksidan dapat ditemukan dalam berbagai zat seperti vitamin C, vitamin E atau beberapa sumber makanan contohnya kopi (Percival, Marks, 2016)

Skrining fitokimia merupakan metode yang digunakan untuk mempelajari komponen senyawa aktif yang terdapat pada sampel. Letak geografis, suhu, iklim dan kesuburan tanah suatu wilayah sangat menentukan kandungan senyawa kimia dalam suatu tanaman. Sampel tanaman yang digunakan dalam uji fitokimia dapat berupa daun, batang, buah, bunga dan akarnya yang memiliki khasiat sebagai obat-obatan tradisional (Agustina, et al. 2016).

Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui kandungan antioksidan dari kopi robusta dan biji vanili . Untuk uji aktivitas penangkap radikal dapat dilakukan dengan berbagai metode. Metode yang digunakan adalah metode DPPH (2,2-difenil-1- pikrilhidrazil). Metode ini sering digunakan karena memberikan hasil yang akurat, reliabel, relatif cepat dan praktis. (bath, et al, 2014).

METODOLOGI

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental yang dilakukan di Laboratorium Herbal Lantai II Universitas YARSI, Jakarta.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu : blender, *Vacum Rotary Evaporator*, Cawan penguap, Neraca analitik, Inkubator, Labu erlemeyer, Pipet tetes, Spektrofotometer UV-Vis, Kertas saring Whatman no. 41, Vial, dan alat-alat gelas lainnya.

Bahan

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : Ekstrak Biji Kopi Robusta, Ekstrak Buah Vanilli, Etanol teknis (96%), Etil asetat, Pereaksi Dragendorff, Pereaksi Mayer, Kloroform, Ammonia, H_2SO_4 , $FeCl_3$, HCl , Etanol, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH), Vitamin C.

Cara kerja

Pembuatan Ekstrak

Biji kopi robusta (*Coffea canephora*) 200 gram dimasukkan ke dalam erlemeyer dan kemudian dicampur dengan pelarut etanol 96% sebanyak 2000 mL sedangkan buah vanili (*Vanilla planifolia*) yang sudah kering 100 gram dimasukkan ke dalam erlemeyer dan kemudian dicampur dengan pelarut etanol 96% sebanyak 1000 mL sebanyak lalu diaduk dalam shaker selama 6 jam sampai homogen. Selanjutnya dimaserasi selama 36 jam. Filtrat yang diperoleh disaring menggunakan kertas Whatman no 41, dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40°C dalam kondisi vakum sampai pelarut yang terkondensasi tidak menetes.

Fraksinasi Ekstrak

Ekstrak etanol yang diperoleh kemudian difraksinasi dengan metode ekstraksi cair-cair. Ekstrak etanol kental yang berwujud pasta sebanyak 10 g dicampur dengan pelarut air panas 70 °C 100 mL sambil diaduk hingga terlarut semua. Larutan yang diperoleh dimasukkan ke dalam corong pemisah dan ditambah dengan heksan 150 mL dan dikocok kembali hingga tercampur secara merata, kemudian didiamkan hingga terbentuk 2 lapisan, dan dipisahkan. Fraksi air dicampur lagi dengan heksan 150 mL, diaduk dan kemudian dipisahkan. Perlakuan tersebut diulang sebanyak 3 kali. Fraksi heksan dari 3 ulangan fraksinasi digabungkan dan kemudian dievaporasi dengan *vacuum rotary evaporator* dalam kondisi vakum pada suhu 40 °C hingga pelarut yang terkondensasi tidak menetes dan diperoleh fraksi heksan (H). Fraksinasi dengan etil asetat dilakukan dengan cara yang sama dan akan diperoleh fraksi etil asetat (EA). Ekstrak dan fraksi dikemas dalam botol berwarna gelap dan disimpan suhu 10 °C

Menentukan nilai % Rendeman

Sebelum dilakukan penilaian % rendeman, masing-masing filtrat dari etanol, n-heksana, air dan etil asetat diuapkan menggunakan *vacum rotary evaporator* dengan suhu 40°C-50°C kecepatan 30 rpm hingga diperoleh

ekstrak dengan tekstur kental. Kemudian dituang di cawan penguap dengan suhu 50°C yang menghasilkan tekstur kental dari filtrat etanol, n-heksana, air dan etil asetat. Semua filtrat ditimbang dan hitung nilai rendeman.

Nilai rendeman % dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak kental}}{\text{Bobot simplisia yang diekstraksi}} \times 100\%$$

Pembuatan Larutan DPPH

DPPH dengan konsentrasi 160 mg/L dibuat dengan menimbang zat tersebut sebanyak 4,0 mg dan dilarutkan dalam 25 mL metanol di dalam labu ukur. Larutan yang dihasilkan disimpan di ruang gelap dan dilindungi dengan aluminium foil.

Persiapan Larutan Uji

Sampel ditimbang sebanyak 10 mg, kemudian dilarutkan dengan 10 ml etanol 96% sehingga didapatkan konsentrasi 500 ppm. Kemudian larutan induk dipipet sebanyak 10, 50, 100, 200 µL kedalam tabung reaksi yang telah ditera, untuk mendapatkan konsentrasi sampel 10, 50, 100, 200 ppm. Masing-masing tabung selanjutnya ditambahkan 1 mL larutan DPPH 1 mM dan ditambahkan dengan sampai 5 mL. Setelah homogen, tabung yang berisi larutan tersebut diinkubasi pada ruangan gelap selama 30 menit. Selanjutnya serapan diukur dengan spektrofotometer UV-visible pada panjang gelombang 515 nm.

Pembuatan Larutan Pembanding

Larutan pembanding Vitamin C dibuat dengan ditimbang sebanyak 10 mg Vitamin C, dimasukkan kedalam labu ukur 50 ml, kemudian ditambah etanol 20 ml, lalu dikocok sampai homogen, sehingga didapat konsentrasi larutan Vitamin C 500 ppm. Kemudian dibuat larutan uji pembanding dengan konsentrasi sebesar 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm dan 5 ppm

Perhitungan IC_{50}

Absorbansi diukur dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang serapan maksimum DPPH pada panjang gelombang 515nm. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan untuk masing-masing konsentrasi larutan uji dan larutan pembanding secara berurutan. Aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ Penghambatan} = \frac{\text{awal reaksi} - \text{setelah reaksi}}{\text{setelah reaksi}} \times 100\%$$

Keterangan:

Awal reaksi = Absorbansi DPPH kontrol pada λ maksimum sebelum direaksikan dengan larutan uji.

Setelah reaksi = Absorbansi DPPH pada λ maksimum setelah direaksikan dengan larutan sampel uji dan pembanding.

Nilai IC_{50} diperoleh dengan terlebih dahulu membuat persamaan garis yang menghubungkan antara % Inhibisi terhadap konsentrasi larutan uji masing-masing sampel (20, 40, 60, 80 dan 100 ppm) dan pembanding vitamin C (1, 2, 3, 4 dan 5 ppm). IC_{50} diperoleh dengan menghitung konsentrasi larutan uji yang bisa menghasilkan hambatan radikal bebas (% inhibisi) sebesar 50 berdasarkan persamaan garis regresi linear korelasi I dengan K menggunakan rumus :

$$Y = bx + a$$

y = Persen inhibisi (50)

x = Konsentrasi sampel (ppm)

a = Intercept (perpotongan garis di sumbu Y)

b = Slope (kemiringan)

Data yang diperoleh dari alat Spektrofotometri UV-Vis berupa absorbansi DPPH kontrol dan DPPH setelah direaksikan dengan larutan uji sampel dan pembanding pada berbagai konsentrasi, digunakan untuk menghitung

% Inhibisi. % Inhibisi digunakan untuk memperoleh IC_{50} . Penyajian data dalam bentuk tabulasi, hasil dianalisis dengan membandingkan nilai IC_{50} yang didapatkan dari pengujian antioksidan terhadap ekstrak kental, fraksi etil asetat, dan fraksi air.

Analisis Fitokimia Biji Kopi Robusta dan Buah Vanilli

Penelitian ini menggunakan metode maserasi untuk mendapatkan ekstrak etanol biji kopi robusta dan buah vanilli. Ekstrak cair yang didapatkan diuapkan menggunakan *vacuum rotatory evaporator*. Metode yang digunakan untuk mengidentifikasi kandungan kimia dalam ekstrak etanol biji kopi robusta dan buah vanilli adalah uji kualitatif dengan reaksi warna dan busa.

Uji Flavonoid

Sejumlah sampel di dalam tabung reaksi ditambahkan dengan:

- serbuk magnesium 0,1 mg dan 5 tetes asam klorida 37% dikocok kuat. Reaksi positif adanya flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna kuning, merah atau jingga.
- pereaksi asam sulfat 2N sebanyak 4 tetes. Reaksi positif adanya flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna kuning, merah atau jingga.
- pereaksi larutan natrium hidroksida 10% sebanyak 4 tetes. Reaksi positif adanya flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna kuning, merah atau jingga.

Uji Fenolik

Sampel yang telah dipanaskan dengan air ditambahkan dengan 4 tetes pereaksi besi (III) klorida 5%. Terbentuknya warna hijau hingga biru kehitaman menunjukkan adanya senyawa fenol.

Steroid dan Triterpenoid

Sampel ditambahkan eter, kemudian dipipet dan disaring. Eter pada filtrat diuapkan lalu ditambahkan pereaksi Lieberman-Buchard. Terbentuknya warna biru-hijau menunjukkan adanya senyawa steroid, sedangkan terbentuknya warna ungu menunjukkan adanya senyawa triterpenoid.

Saponin

Sampel ditambahkan dengan air lalu dipanaskan selama 15 menit. Kemudian dikocok kuat selama 30 detik. Senyawa saponin positif jika terbentuk busa yang stabil dengan tinggi 1 cm selama 5 menit dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes HCl 2N.

Tanin

Sampel yang telah dipanaskan dengan air ditambahkan dengan 4 tetes besi (III) klorida 1%. Terbentuknya larutan berwarna biru kehitaman menunjukkan adanya senyawa tannin

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan dengan cara membuat ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) dan buah vanilli (*Vanilla planifolia*) di maserasi, yang bertujuan untuk menguji aktivitas antioksidan biji kopi robusta, buah vanili serta kombinasi keduanya dengan metode DPPH dan profil fitokimia. Selanjutnya untuk mengetahui aktivitas antioksidan maka diberikan 6 perlakuan (konsentrasi) pada masing-masing sampel dari ekstrak biji kopi robusta, buah vanili, dan kombinasi keduanya. Larutan Vitamin C sebagai standar akan dibandingkan dengan hasil ekstrak biji kopi robusta, buah vanili, dan kombinasi keduanya. Berikutnya akan dibandingkan nilai aktivitas antioksidan yang di tentukan. Pengujian aktivitas antioksidan diulang sampai tiga kali (triplo) untuk masing-masing konsentrasi larutan uji dan larutan pembanding secara berurutan.

Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Kopi Ropbusta, Buah vanili dan Kombinasi Keduanya

Penelitian tentang pengujian aktivitas antioksidan biji kopi robusta, buah vanili dan kombinasi keduanya dilakukan. Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menyerap atau menetralsir radikal bebas sehingga mampu mencegah penyakit-penyakit degeneratif seperti kardiovaskuler, karsinogenesis, dan penyakit lainnya. Senyawa antioksidan adalah substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralsir radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap

sel normal, protein, dan lemak. Senyawa ini memiliki struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas (Murray, 2019). DPPH yang bereaksi dengan antioksidan yang terdapat pada sampel akan menghasilkan bentuk tereduksi difenil pikrilhidrazil. Reduksi DPPH yang berubah menjadi DPPH-H disebabkan adanya donor hidrogen dari senyawa hidroksil yang membuat radikal DPPH berubah warna menjadi kuning saat elektron berpasangan dengan antioksidan. Pengurangan intensitas warna yang terjadi berhubungan dengan jumlah elektron DPPH.

Metode DPPH menggunakan parameter IC_{50} yaitu menunjukkan konsentrasi uji yang mampu menangkap radikal bebas sebanyak 50% yang diperoleh melalui persamaan regresi. Nilai IC_{50} berbanding terbalik dengan kemampuan antioksidan suatu senyawa yang terkandung dalam bahan uji. Semakin kecil nilai IC_{50} suatu senyawa uji maka senyawa tersebut semakin aktif sebagai penangkal radikal bebas. Aktivitas antioksidan dapat diukur melalui metode DPPH. Efektivitas suatu sampel untuk menangkal radikal bebas dari metode DPPH dinamai dengan IC_{50} . Pengertian dari IC_{50} adalah konsentrasi yang dapat meredam 50% radikal bebas DPPH. Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin besar aktivitas antioksidannya. Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan kelompok sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm, kelompok kuat IC_{50} antara 50-100 ppm, kelompok sedang jika nilai IC_{50} 101-150 ppm, dan kelompok lemah jika nilai IC_{50} antara 150-200 ppm. (Widyasanti, 2022) (Molynoux, 2004)

Setelah itu dilakukan perhitungan nilai IC_{50} dari ekstrak biji kopi robusta dan buah vanili berdasarkan nilai inhibisi yang didapatkan. Nilai IC_{50} diperoleh dengan terlebih dahulu membuat persamaan garis yang menghubungkan antara % Inhibisi terhadap konsentrasi larutan uji masing-masing sampel dan pembanding vitamin C. Nilai IC_{50} diperoleh dengan menghitung konsentrasi larutan uji yang bisa

menghasilkan hambatan radikal bebas (% inhibisi) sebesar 50 berdasarkan persamaan garis regresi linear. Hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak biji kopi robusta, buah vanili dan kombinasi keduanya dapat dilihat pada Tabel I-3

Tabel I. Hasil Uji Penghambatan Aktivitas Antioksidan Rata-Rata dan Standar Deviasi Biji Kopi Robusta dan Standar Vitamin C

Sampel	Pengujian	Nilai IC ₅₀ (ppm)	Rata-rata	Standar Deviasi
Ekstrak etanol kombinasi	1	39,54	39,40	0,77
	2	40,09		
	3	38,57		
Ekstrak etil asetat kombinasi	1	43,39	41,25	2,12
	2	41,21		
	3	39,16		
Fraksi air kombinasi	1	38,47	38,60	0,12
	2	38,60		
	3	38,72		

Tabel II. Hasil Uji Penghambatan Aktivitas Antioksidan Rata-Rata dan Standar Deviasi Buah Vanili

Sampel	Pengujian	Nilai IC ₅₀ (ppm)	Rata-rata	Standar Deviasi
Ekstrak etanol Vanili	1	156,58	153,09	3,31
	2	150,00		
	3	152,68		
Ekstrak etil asetat Vanili	1	171,77	176,69	14,49
	2	170,89		

Fraksi air Vanili	3	196,41	245,28	7,21
	1	244,18		
	2	252,98		
	3	238,68		

Tabel III. Hasil Uji Penghambatan Aktivitas Antioksidan Rata-Rata dan Standar Deviasi Kombinasi Keduanya

Sampel	Pengujian	Nilai IC ₅₀ (ppm)	Rata-rata	Standar Deviasi
Ekstrak etanol kombinasi	1	39,54	39,40	0,77
	2	40,09		
	3	38,57		
Ekstrak etil asetat kombinasi	1	43,39	41,25	2,12
	2	41,21		
	3	39,16		
Fraksi air kombinasi	1	38,47	38,60	0,12
	2	38,60		
	3	38,72		

Hasil pengujian aktivitas antioksidan bahan sampel menunjukkan vitamin C sebagai standar memiliki antioksidan terbaik. Aktivitas antioksidan yang sangat kuat ditunjukkan dengan nilai IC₅₀ dibawah 50 ppm. Sampel ekstrak biji kopi robusta berupa ekstrak etanol biji kopi robusta dengan nilai IC₅₀ sebesar 18,96 ppm, ekstrak air biji kopi robusta dengan nilai IC₅₀ sebesar 20,13 ppm, dan ekstrak etil asetat nilai IC₅₀ sebesar 27,03 ppm.

Data tersebut menunjukkan bahwa antioksidan terkuat terdapat pada sampel ekstrak etanol dengan nilai IC₅₀ sebesar 18,96 ppm. Terdapat perbedaan dari penelitian yang dilakukan oleh Niputu (2020) yang memperoleh nilai IC₅₀ sebesar 40,24 ppm.

Perbedaan ini mungkin karena daerah pengambilan sampel diperoleh dari daerah Kerinci yang memiliki Rata-rata curah hujan tahunan adalah 2.991 mm, Rata-

rata temperatur antara 16°C hingga 28°C dengan ketinggian 3.805 m dpl dan merupakan gunung merapi aktif sehingga kondisi tanah menjadi tanah vulkanik. (Taman Nasional Kerinci Seblat, 2018) sedangkan survei sebelumnya diperoleh dari daerah Tambanan, Bali yang memiliki rata curah hujan 263 mm, Rata-rata temperatur berkisar 4 ketinggian 2.276 m dpl. (Pemerintah Kabupaten Tambanan, 2020)

Waktu panen juga mempengaruhi aktivitas antioksidan biji kopi hijau robusta. Dalam penelitian ini, biji kopi hijau robusta dipanen pada pagi hari. Pemanenan pada pagi hari dapat memperoleh kandungan metabolit sekunder yang maksimal. Sebab, jika dilakukan pada siang hari metabolit sekunder yang berperan sebagai antioksidan akan berkurang ketika sudah terpapar sinar UV dari matahari (Nganggu, 2016). Waktu panen sangat erat hubungannya dengan pembentukan senyawa aktif di dalam bagian tanaman yang akan dipanen. Waktu panen yang tepat pada saat bagian tanaman tersebut mengandung senyawa aktif dalam jumlah yang terbesar (Afandi & Hertiani, 2015). Asam klorogenat yang terkandung dalam biji kopi hijau juga rentan terhadap panas, oksigen, cahaya, dan kelembapan, karena adanya ikatan tak jenuh dalam molekulnya (Rosliuk et al., 2020) Sampel ekstrak buah vanili memiliki potensi antioksidan yang lemah. Ekstrak etanol buah vanili memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai 153,09 ppm, ekstrak etil asetat vanili dengan nilai IC_{50} 176,69 ppm dan ekstrak air buah vanili dengan nilai IC_{50} 245,28 ppm. Dari data tersebut disimpulkan bahwa aktivitas antioksidan terkuat terdapat pada sampel ekstrak etanol buah vanili, dengan nilai IC_{50} sebesar 153,09 ppm. Belum ada penelitian yang membahas tentang aktivitas antioksidan dari buah vanili, sehingga diambil pembandingan dari tumbuhan yang satu famili. Terdapat perbedaan dari penelitian yang dilakukan Prasetyo (2020). Pada penelitian tersebut bahan yang diteliti adalah denborium yang berfamili sama dengan vanili yaitu orhidaceae yang memperoleh nilai IC_{50} sebesar 353.94 ppm. Perbedaan ini terjadi karena

berbeda genus dan spesies serta memiliki perbedaan pada uji fitokimia yaitu vanili ditemukan adanya senyawa flavonoid sedangkan pada denborium tidak ditemukan. Sampel ekstrak kombinasi biji kopi robusta dan buah vanili memiliki antioksidan yang sangat kuat, kedua ekstrak kombinasi fraksi air tersebut memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 38,60 ppm dan kedua ekstrak kombinasi etanol tersebut memiliki aktivitas antioksidan sebesar 39,40 ppm, sedangkan kedua ekstrak etil asetat ekstrak kombinasi memiliki antioksidan kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 41,25 ppm. Data tersebut menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan terkuat terdapat pada sampel air dengan nilai IC_{50} sebesar 38,60 ppm, sehingga dapat disimpulkan bahwa antioksidan dalam biji kopi Robusta secara langsung membantu meningkatkan sebanyak 73% (3x lipatnya) antioksidan dalam buah vanili. Pada kombinasi meningkatkan aktivitas antioksidan buah vanili dan menurunkan aktivitas biji kopi robusta.

Ekstrak biji kopi robusta, buah vanili, dan kombinasi keduanya memiliki nilai IC_{50} lebih tinggi dibandingkan vitamin C, hal ini menunjukkan potensi antioksidan vitamin C lebih tinggi, karena ekstrak biji kopi robusta, vanili dan kombinasi keduanya mengandung senyawa kompleks yang belum dimurnikan, berbeda dengan vitamin C yang merupakan senyawa tunggal memiliki kemurnian yang tinggi dan berpotensi antioksidan.

Antioksidan dalam biji kopi Robusta tergolong antioksidan sangat kuat, sedangkan vanili tergolong lemah. Hal ini mungkin disebabkan oleh adanya perbedaan kandungan antioksidan pada kedua sampel, seperti fenol. Untuk mengetahui adanya pengaruh perbedaan pelarut biji kopi robusta, buah vanili dan kombinasi keduanya terhadap nilai aktivitas antioksidan maka dilakukan uji statistik *one-way* ANOVA. Pada uji ANOVA terdapat perbedaan pengaruh yang signifikan antara sampel dengan berbagai pelarut.

Kandungan fitokimia buah vanili (*Vanila planifolia*) terdapat kandungan flavonoid dan fenolik pada ekstrak etanol, etil asetat, dan air.

Hasil Uji Fitokimia Buah Vanili

Berikutnya dilakukan uji fitokimia ekstrak etanol, etil asetat, dan air buah vanilli (*Vanila planifolia*). Hal ini untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada buah vanili (*Vanila planifolia*). Dalam penelitian ini dilakukan pengujian fitokimia yaitu flavonoid, fenolik, steroid dan triterpenoid, saponin, dan tanin.

Pada penelintian ini menunjukkan fitokimia pada buah vanili dengan hasil positif pada senyawa flavonoid dan fenolik, lalu diperoleh hasil negatif pada steroid dan triterpenoid, saponin, dan tannin. Hasil analisis fitokimia Buah vanili tersebut dapat dilihat pada tabel 4:

Tabel IV. Hasil Uji Fitokimia Buah Vanili.

No	Metabolit Sekunder	Hasil		
		Etanol	Etil Asetat	Air
1.	Flavonoid	+	+	+
2.	Fenolik	+	+	+
3	Steroid	-	-	-
4	Triterpenoid	-	-	-
5	Saponin	-	-	-
6	Tanin	-	-	-

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan Aktivitas antioksidan pada biji kopi robusta (*Coffea canephora*) memiliki nilai terbaik pada fraksi etanol dengan nilai IC₅₀ 18,96 ppm, diikuti oleh fraksi air 20,13 ppm lalu fraksi etil asetat 27,03 ppm. Aktivitas antioksidan buah buah vanili (*Vanila planifolia*) memiliki nilai terbaik pada fraksi etanol dengan nilai IC₅₀ 153,09 ppm, diikuti oleh fraksi etil asetat 176,69 ppm. Lalu fraksi air 245,28 ppm. Aktivitas antioksidan kombinasi keduanya memiliki nilai terbaik pada fraksi air dengan nilai IC₅₀ 38,60 ppm, diikuti oleh fraksi etanol 39,40 ppm

lalu fraksi etil asetat 41,25 ppm. Pada uji ANOVA terdapat perbedaan pengaruh yang signifikan antara sampel dengan berbagai pelarut. Kandungan fitokimia buah vanili (*Vanila planifolia*) terdapat kandungan flavonoid dan fenolik pada ekstrak etanol, etil asetat, dan air.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada Rektor, Yayasan Universitas YARSI serta dosen pembimbing yang telah membantu sebagian dana penelitian dan semua pihak yang bekerjasama dalam membantu kelancaran penelitian ini.

REFERENSI

Farah, A. and Donangelo, C.M. (2006) Phenolic Compounds in Coffee. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18, 23-36.

Kadji, M. H., Runtuwene, M. R. & Citraningtyas, G. (2013). Uji Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Daun Soyogik (*Saurauia Bracteosa* Dc). *Pharmacoin*, 2.

Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radikal diphenyl picrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal Science of Technology*. 2:211-219.

Nganggu, Y . P . H. (2016). *Uji aktivitas antioksidan dan menggunakan metode radikal DPPH (1,1 Difenil 2-Pikrilhidrazil) dan penetapan kadar fenolik total fraksi etil asetat ekstrak etanol daun benalu scurrula ferruginea (Jack) danser pada tanaman tabebuia aurea (Manso) Benth. and Hook. f. Ex S. Moore.*

Niputu, U . A. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Maserat Air Biji Kopi (*coffea canephora*) Hijau Pupuan Dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)

Prasetyo, Y., Njudang, K., Wibowo, H.M.P. and Krisnawan, A.H. (2020). Evaluasi Pertumbuhan Suspensi Sel *Dendrobium anosmum* var. *gigantea* dan Aktivasnya sebagai Antioksidan. *MPI (Media Pharmaceutica Indonesiana)*. 3, 2

- Ramanaviciene, A., V. Mostovojus., I. Bachmatova., dan A. Ramanavicius. (2003). *Anti- bacterial Effect on Caffeine on Eschericia and Pseudomonas florescens. Journal Acta Medica Lituanua*, 10(4):185-188.
- Reddy, L. J., R. D. Jalli, B. Jose, dan S. Gopu. (2012). Evaluation of Antibacterial and Atioxidant Activities of The Leaf Essential Oil and Leaf extract of Citrus Aurantifolia L. *Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research* 2:346-53
- Rismunandar, dan Sukma, E., S. (2002). *Bertanam Panili*. Penerbit Penebar Swadaya. Jakarta
- Rosliuk, D., Rutkaite, R., Ivanauskas, L., & Jakstas, V . (2020). Interaction between cross- linked cationic starch microgranules and chlorogenic acid isomers in artichoke and green coffee bean aqueous extracts. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 1160(September), 122385. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2020.122385>
- Kesuma Sayuti dan Rina Yenrina. (2015). *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Andalas University Press, Padang.
- Solikha, R.M. (2016). Identifikasi Senyawa Triterpenoid dari Fraksi N-Heksana Ekstrak Rumpun Bambu (*Lophatherum gracile Brongn.*) dengan Metode UPLC-MS. Skripsi. UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Sagar, B. K., & Singh, R. P. (2011). Genesis And Development of DPPH Method of Antioxidant Assay. *J Food Sci Technol*, 48(4), 412–422
- Sulistyarini, I., Sari Arum, D. and Wicaksono, T. (Sekolah T. I. F. “Yayasan P. S. (2019) „Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga... (Sulistyarini, dkk)”, *Jurnal Ilmiah Cendikia Ekstata*, 5(9), pp. 56–62.
- Sunarni, T., Pramono, S. & Asmah, R., (2007), Flavonoid antioksidan penangkap radikal dari daun kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook f. & Th.), *Majalah Farmasi Indonesia*, 18(3), 111 - 116.
- Surwato dan Yuke Octavianty. (2012). *Budidaya 12 Tanaman Perkebunan Utama*. Penebar Swadaya: Jakarta.
- Susidarti, R.A., (2017). Ribuan Tanaman Herbal di Indonesia Belum Dimanfaatkan Secara Optimal. <http://ugm.ac.id/id/berita>. (Online) Diakses 15 Desember 2020.
- Tim Karya Tani Mandiri. (2010). *Pedoman Bertanam Vanili*. Penerbit CV. Nuansa Aulia. Bandung
- Wachidah, L. N. (2013). Uji Aktivitas Antioksidan serta Penentuan Kandungan Fenolat Dan Flavonoid Total Dari Buah Parijoto. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.
- Wang, Kan., (2006). *Agrobacterium protocols*. Edisi 2. Totowa New Jersey. Humana press inc.
- Widyasanti, A (2016). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Teh Putih (*Camellia Sinesis*) Dengan Metode DPPH (2,2 Difenil-1-Pikrilhidrazil)
- Wilapangga, A. & Sari, L. P. (2018). Analisis Fitokimia dan Antioksidan Metode DPPH Ekstrak Metanol Daun Salam (*Eugenia polyantha*). *IJOB* 2, 19–24 .
- Winarsi H, (2007). *Antioksidan alami dan radikal bebas potensi dan aplikasinya dalam kesehatan*. Yogyakarta. Kanisius.
- Yuhernita, Juniarti. (2014). Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Metanol Daun Surian Yang Berpotensi Sebagai Antioksidan. *Makara Sains*, 15 (1) : 1
- Yun Zhong et al. (2002). Free radicals, antioxidants, and nutrition. Elsevier Science Inc ;18:872–8
- Zheng W. and Wang S.Y., (2009). Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. *J.Agric.Food Chem.*, 49 (11) : 5165-70, ACS Publications, Washington D.C.