

Uji Aktivitas Antioksidan *Green* dan *Roasted* Biji Kopi Robusta Temanggung Menggunakan Metode DPPH

Antioxidant Activity of Green and Roasted Beans Temanggung Robusta Coffee Using The DPPH Method

Mega Karina Putri¹, Sari Ayu Setyaningsih¹, Eni Kartka Sari¹, Beta Ria Erika Marita Dellima¹
¹STIKes Akbidyo, Jalan Parangtritis Km. 6, Bantul, Yogyakarta

Corresponding author: Mega Karina Putri ; Email: megakarina Putri28@gmail.com

Submitted: 11-01-2023

Revised: 15-05-2023

Accepted: 18-05-2023

ABSTRAK

Oksidatif stress dapat menimbulkan kerusakan sel bila antioksidan endogen tidak dapat melawan radikal bebas. Bila kerusakan sel tersebut berlangsung lama, dapat menyebabkan penuaan dini dan gangguan penyakit seperti kanker, kardiovaskular, dan diabetes. Untuk membantu antioksidan endogen dalam melawan radikal bebas, dapat dibantu dengan antioksidan eksogen. Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai antioksidan eksogen adalah kopi. Namun, kandungan senyawa yang terkandung di dalam kopi dapat dipengaruhi proses sangrai/*roasted*. Derajat proses sangrai/*roasting* dapat mempengaruhi sifat fisik, rasa, aroma, dan kandungan kimia biji kopi. Perubahan kandungan kimia biji kopi dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh derajat *roasting* terhadap aktivitas antioksidan biji kopi robusta Temanggung.

Sampel biji kopi Robusta diidentifikasi untuk memastikan kebenaran sampel, selanjutnya biji kopi diserbuk dan dimaserasi dengan akuades (1:10). Filtrat di uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH yang nantinya akan diperoleh nilai IC₅₀.

Hasil identifikasi menyatakan bahwa sampel benar merupakan biji kopi robusta. Hasil uji aktivitas antioksidan diketahui bahwa IC₅₀ *green bean*, *light*, *medium*, dan *dark* berturut-turut adalah 82,27, 362,91, 61,46, dan 617,04. Berdasarkan hasil tersebut, diketahui bahwa aktivitas antioksidan terbaik adalah biji kopi yang *diroasting medium*. Perubahan kapasitas antioksidan biji kopi *roasted* berhubungan dengan degradasi asam klorogenat, pembentukan melanoidin dan pembentukan produk reaksi Maillard.

Kata kunci: antioksidan, biji kopi, DPPH, oksidatif stress, *roasted*

ABSTRACT

Oxidative stress can cause cell damage if endogenous antioxidants cannot fight free radicals. If the damage lasts for a long time, it can lead to premature aging and disease such as cancer, cardiovascular, and diabetes. To help endogenous antioxidants in fight free radicals, exogenous antioxidants can be used. One plant that can be used as an exogenous antioxidants is coffee. However, the content of compounds contained in coffee can be affected by the roasting process. The degree of roasting can affect the physical properties, flavor, aroma, and chemical content of coffee beans. Changes in the chemical content of coffee beans can affect antioxidant activity. This study aims to determine the effect of roasting degree on antioxidant activity of Temanggung Robusta coffee beans.

Robusta coffee bean samples were identified to ensure the correctness of the sample, than the coffee beans were powdered and macerated with distilled water (1:10).. The filtrate is tested for antioxidants activity with the DPPH method, which later obtained the LC₅₀ value.

The identification results stated that the sample was robusta coffee beans. The results of the antioxidant activity showed that IC₅₀ of green, light, medium, and dark beans were 82,27, 362,91, 61,46, and 617,04. Based on these results, it is known that the best antioxidant activity is medium roasted coffee beans. Changes in antioxidant capacity of roasted coffee beans are related to chlorogenic acid degradation, melanoidin formation, and Maillard's reaction products formation.

Keywords: antioxidant, coffee beans, DPPH, oxidative stress, *roasted*,

PENDAHULUAN

Oksidatif stress merupakan gangguan keseimbangan antara produksi radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh. Gangguan keseimbangan tersebut dapat menyebabkan terjadinya kerusakan sel apabila antioksidan dalam tubuh tidak dapat melawan radikal bebas, seperti anion superoksida, radikal hidroksil, radikal hidroperoksil (Gunalan, et al., 2012). Kerusakan sel yang terjadi lama kelamaan dapat menyebabkan perubahan patologis pada tubuh manusia, sehingga mengakibatkan penuaan dini dan berbagai macam penyakit, seperti kanker, kardiovaskular, dan diabetes. Stres oksidatif dapat dikurangi dengan penggunaan antioksidan eksogen, antara lain sayuran, buah, madu, teh, kopi, kakao, dan lain-lain (Fitriana, 2021). Salah satu bahan yang sering dikonsumsi sehari-hari adalah kopi.

Berbagai macam penelitian tentang aktivitas antioksidan kopi telah dilaporkan Natella, et al., 2002; F., Nebesny, et al., 2003; Kwon, et al., 2005; Ramalakshmi, et al., 2008. Namun, komposisi senyawa yang terkandung di dalam kopi dapat dipengaruhi oleh jenis kopi, iklim, tempat tumbuh, proses panen dan pasca panen, proses sangrai/*roasted*, proses penggilingan/*grinding* serta proses penyeduhan kopi (Franca, et al., 2005; Widodo, et al., 2017; Jeewan, et al., 2020). Perbedaan komposisi senyawa yang terkandung dalam biji kopi akan berpengaruh pada aktivitas farmakologi kopi, termasuk aktivitas antioksidannya (Borrelli, et al., 2002).

Proses sangrai/*roasting* dilakukan dengan memanaskan *green bean* pada suhu 200 °C, sehingga dapat mempengaruhi kualitas kopi, rasa, aroma, peningkatan ukuran, dan menurunkan kadar air biji kopi (Baggenstoss, et al., 2008; Karyadi, et al., 2009). Tingkatan proses *roasting* kopi berdasarkan waktu *roasting* dan temperatur serta penilaian kualifikasi dari warna biji kopi dapat diklasifikasikan menjadi *light*, *medium* dan *dark* (Somporn, et al., 2011). Selain mempengaruhi sifat fisik, rasa dan aroma biji kopi, proses *roasting* dapat menyebabkan perubahan pada komposisi kimia kopi seperti protein, asam amino, gula pereduksi, trigonelin, dan asam klorogenat. Selain itu, juga dapat menyebabkan terjadinya penurunan kadar air dan pembentukan melanoidin. Melanoidin dapat terbentuk karena terjadinya reaksi

Maillard selama proses *roasting*. Reaksi Maillard berlangsung proses kondensasi antara gula dengan asam amino bebas, peptida atau protein, sehingga dapat terbentuk berbagai macam senyawa yang dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan dan prooksidan (Nicoli, et al., 1999). Derajat *roasting* dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan kopi MENDELEY CITATION PLACEHOLDER 1. Penelitian yang dilakukan oleh MENDELEY CITATION PLACEHOLDER 2 menyatakan bahwa perbedaan derajat *roasting* biji kopi mempengaruhi aktivitas antioksidan. Derajat *roasting light* mempunyai aktivitas antioksidan tertinggi. *Roasting* dengan suhu 200°C akan menurunkan kadar asam klorogenat dan terjadinya penurunan aktivitas antioksidannya (Mangiwa, et al., 2015). Berdasarkan uraian tersebut, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai pengaruh *roasting* terhadap aktivitas antioksidan biji kopi robusta Temanggung.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Analisis STIKes Akbidyo Yogyakarta. Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji kopi robusta yang berasal dari Temanggung yang di panen pada bulan Juni-Agustus 2021. Bahan yang digunakan selama penelitian berlangsung terdiri dari biji kopi robusta bentuk *green bean* dan variasi derajat *roasting* : *light*, *medium*, dan *dark*, DPPH, etanol pro analisis dan akuades. Tahapan pelaksanaan penelitian ini meliputi :

A. Identifikasi Biji Kopi Robusta

Identifikasi sampel biji kopi robusta dilakukan memastikan kebenaran sampel yang digunakan pada penelitian. Identifikasi biji kopi robusta dilakukan di Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada.

B. Preparasi Sampel

Preparasi sampel dilakukan dengan modifikasi pada langkah yang dilakukan oleh Suena dan Antari (2020). Sampel biji kopi digiling dan diayak menggunakan ayakan No. 60. Sebanyak 8,75 g serbuk kopi diekstraksi dengan 87,5 mL akuades panas. Larutan disaring dengan kertas saring. Filtrat siap digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan.

C. Pembuatan Larutan Induk dan Larutan Kerja DPPH

Larutan larutan kerja DPPH dibuat dari larutan induk yang kemudian disesuaikan konsentrasinya menjadi 40 ppm (Sueno dan Antari, 2020).

D. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{maks})

Larutan kerja DPPH diukur scan panjang gelombangnya pada rentang 400-800 nm dengan Spektrofotometer UV-Vis agar dapat diperoleh panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) (Sueno dan Antari, 2020).

E. Pengukuran Absorbansi DPPH

Larutan kerja DPPH diambil 2mL, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Etanol pro analisis sebanyak 2 mL ditambahkan kedalamnya. Kemudian digojog sebanyak 20x dan didiamkan selama 30 menit. Larutan kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) (Sueno dan Antari, 2020).

F. Penentuan Aktivitas Peredaman Radikal Bebas

Larutan kerja DPPH dipipet sebanyak 2 mL, masukkan ke dalam tabung reaksi, tambahkan 2 mL larutan uji dengan variasi konsentrasi 20; 40; 60; 80 dan 100 ppm. Larutan DPPH dan sampel uji dihomogenkan dengan cara mengojog

sebanyak 20 kali kemudian diamkan selama 30 menit. Absorbansi masing-masing konsentrasi diukur pada panjang gelombang (λ_{maks}). Hasil absorbansi yang diperoleh digunakan sebagai data untuk melakukan perhitungan persentase peredaman dengan rumus :

$$\% \text{ peredaman} = \frac{a-b}{a} \times 100\%$$

Keterangan : a : absorbansi DPPH, b ; absorbansi sampel uji.

Hasil persentase peredaman pada setiap konsentrasi dibuat kurva regresi, sehingga diperoleh persamaan $y=bx+a$. Persamaan tersebut digunakan untuk menghitung IC_{50} . Dimana konsentrasi sampel (ppm) sebagai absisi (sumbu x) dan nilai persentase peredaman sebagai ordinat (sumbu y). Nilai IC_{50} diperoleh dari perhitungan persen peredaman sebesar 50% (Sueno dan Antari, 2020).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Biji kopi robusta yang digunakan pada sampel ini berasal dari Desa Ngadisepi, Kecamatan Gemawang, Kabupaten Temanggung, Provinsi Jawa Tengah. Biji kopi dipanen antara bulan Juli-Agustus 2021. Biji kopi mendapatkan perlakuan yang berbeda pada proses *roasting*nya. Tabel 1 merupakan proses *roasting* beserta suhu dan waktu yang digunakan :

Tabel 1. Proses *Roasting* Beserta Suhu Dan Waktunya

No.	<i>Roasting</i>	Suhu (°C)	Waktu (menit)
1.	<i>Green bean</i>	-	-
2.	<i>Light</i>	205	9
3.	<i>Medium</i>	226	13
4.	<i>Dark</i>	238	16

Faktor faktor yang dapat dipengaruhi dengan adanya pengaruh *roasting* antara lain warna, bau, rasa keasaman, pH, penurunan bobot, ukuran, densitas, kadar air, suara retak dan komposisi senyawa kimia (Santoso, *et al.*, 2021; Putri dan Dellima, 2022).

1. Identifikasi Biji Kopi

Identifikasi biji kopi dilakukan guna memastikan kebenaran sampel yang dilakukan pada penelitian ini. Identifikasi dilakukan di Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Hasil identifikasi

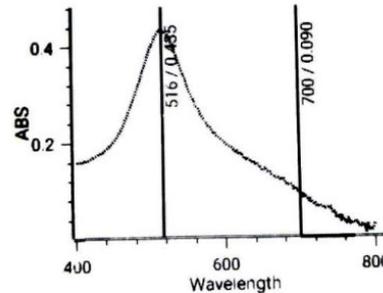
dipastikan bahwa sampel biji kopi yang digunakan adalah Kopi Robusta (*Coffea canephora*). Hal tersebut dibuktikan dengan Surat Identifikasi yang dikeluarkan oleh Departemen Biologi Farmasi UGM sesuai dengan No. : 28.12.1/UN1/FFA.2/S1/PT/2022.

2. Penentuan panjang gelombang maksimum (λ_{maks})

Hasil penentuan panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) larutan kerja DPPH konsentrasi 40 ppm yang di *scanning* pada panjang gelombang

400-800 nm adalah 516 nm. Hasil tersebut sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Febrianti, *et al.* (2021). Penentuan panjang gelombang perlu dilakukan untuk mengetahui daerah

serapan maksimum, sehingga dapat memberikan sensitivitas yang tinggi (Kusumawardhani, *et al.*, 2015). Hasil penentuan panjang gelombang (λ_{maks}) ditunjukkan dari Gambar 1.



Gambar 1. Hasil *scanning* panjang gelombang maksimum (λ_{maks})

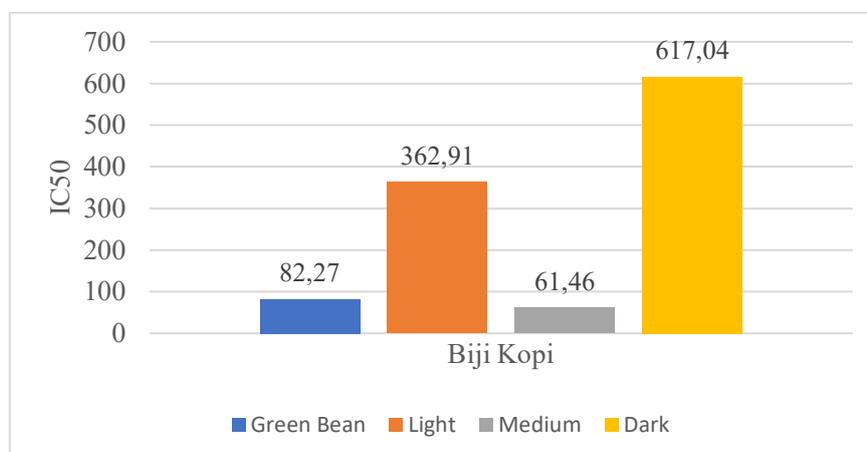
3. Penentuan aktivitas peredaman radikal bebas

Uji aktivitas peredaman radikal bebas dengan DPPH digunakan dalam menentukan aktivitas antioksidan pada bahan alam berdasarkan transfer elektron. Prinsip metode DPPH yakni DPPH akan tereduksi dengan adanya proses penyumbangan elektron atau hidrogen, sehingga terjadi perubahan warna ungu menjadi kuning. Perubahan intensitas warna sebanding dengan jumlah donasi eletron yang diikuti dengan penurunan absorbansi DPPH (Dris dan Jain, 2004; Kedare dan Singh, 2011).

DPPH berperan sebagai radikal bebas, dimana eletronnya tidak

mempunyai pasangan. Senyawa ini akan berpasangan dengan elektron yang berasal dari senyawa antioksidan untuk mencapai kestabilan. Senyawa antioksidan inilah yang terkandung dalam biji kopi, contohnya asam klorogenat, kafein, flavonoid, dan melanoidin (Wulan, *et al.*, 2019). Nilai absorbansi DPPH berbanding terbalik dengan aktivitas antioksidan sampel. Semakin kecil atau rendah absorbansi DPPH, semakin besar atau tinggi aktivitas antioksidan yang dimiliki sampel (Nasution, *et al.*, 2015).

Pengukuran dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Visible pada suhu kamar. Keuntungan dari uji DPPH adalah mudah dilakukan, ekonomis, dan cepat (Blois, 1958).



Gambar 2. Hasil uji aktivitas antioksidan

Menurut Gambar 2 dapat disimpulkan bahwa aktivitas antioksidan antara ke empat sampel yang paling baik adalah biji kopi dengan *medium roasting*. Aktivitas antioksidan kopi tidak hanya dipengaruhi oleh *roasting* tetapi juga dipengaruhi tempat tumbuh tanaman. Hal tersebut dibuktikan dengan penelitian yang dilakukan oleh Suh, *et al.* (2014). Penelitian tersebut menyatakan bahwa biji kopi yang dibudidayakan di Brasil memiliki aktivitas antioksidan tertinggi pada derajat *roasting medium*, sedangkan biji kopi yang dibudidayakan di Ethiopia memiliki aktivitas antioksidan tertinggi pada derajat *roasting light*, dan menurun saat derajat *roasting* meningkat.

Perbedaan aktivitas antioksidan berhubungan erat dengan senyawa aktif biji kopi, dimana senyawa aktif dapat dipengaruhi oleh perbedaan tempat tumbuh dan proses pengolahan (Babova *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2013).

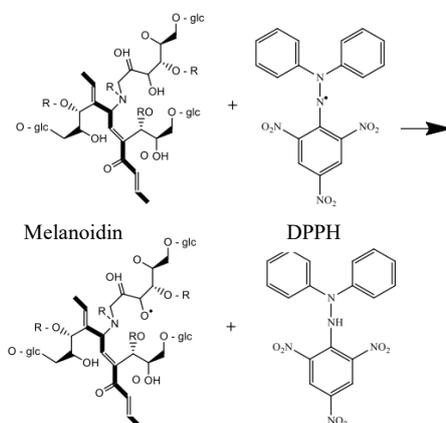
Aktivitas antioksidan kopi berhubungan dengan berbagai macam senyawa kimia, seperti asam klorogenat, asam ferulat, asam kafeat, asam n-kumarat, kafein, trigonelin, polifenol (3-, 4-, dan 5-*caffeoylquinic acid*), senyawa volatil (furan, pirol), tanin, antosianin, dan lignan (Nicoli, *et al.*, 1997; Yashin, *et al.*, 2013; Farah, *et al.*, 2006; Mullen, *et al.*, 2011; Priftis, *et al.*, 2018). Selain itu, pada kopi *roasted* terdapat senyawa lain yang

bertanggung jawab terhadap aktivitas antioksidan, yaitu melanoidin dan fenilalanin (Steinhart, *et al.*, 2011; Farah, *et al.*, 2006).

Perubahan kapasitas antioksidan biji kopi *roasted* berhubungan dengan degradasi asam klorogenat, pembentukan melanoidin dan pembentukan produk reaksi Maillard. Reaksi Maillard terjadi selama proses *roasting* yang berhubungan dengan interaksi nonkovalen antara senyawa fenolik, sehingga menghasilkan senyawa kompleks yang mempunyai aktivitas antioksidan (Wolfe dan Liu, 2007; Mulanto, 2020).

Melanoidin merupakan senyawa biopolimer yang terbentuk saat proses *roasting* dengan peningkatan jumlah sampai 25%. Pembentukan melanoidin terjadi pada kisaran waktu 8-10 menit dengan suhu *roasting* 215-230° C (Mulanto, 2020).

Struktur melanoidin berupa suatu polimer yaitu suatu unit pengulangan karbon berikatan rangkap dan nitrogen tersier. Struktur tersebut terdiri dari redukton, enol atau enaminal, yang mempunyai aktivitas antioksidan. Selain itu, gugus hidroksil yang terdapat pada melanoidin mampu mengurai proses oksidasi dengan cara mereduksi logam, mengkelat logam, dan menangkap radikal bebas (Dedin *et al.*, 2006). Reaksi antara melanoidin dengan DPPH tersaji pada Gambar 3.

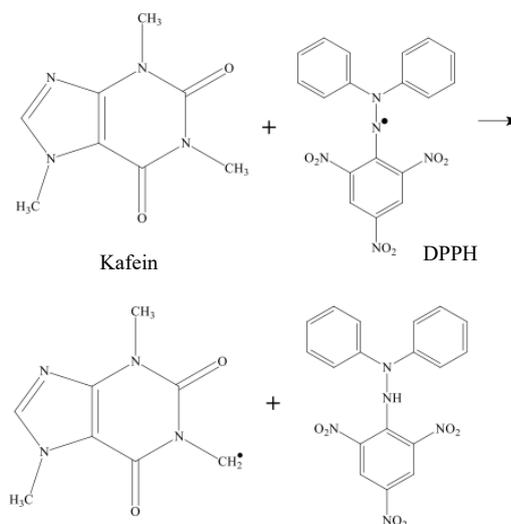


Gambar 3. Reaksi antara Melanoidin dengan DPPH

Selain melanoidin, kafein juga bertanggung jawab terhadap aktivitas antioksidan yang dimiliki biji kopi. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Putri dan Dellima (2022) menyatakan bahwa *roasting* memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kadar kafein kopi *green bean* dan *roasted bean*. Semakin tinggi derajat *roasting* maka semakin tinggi pula kadar kafein yang terkandung didalamnya. Penelitian tersebut melaporkan bahwa kadar kafein pada

biji kopi *roasted* medium sebesar 1,48%.

Kafein merupakan suatu senyawa yang stabil terhadap suhu proses *roasting*, karena memiliki titik lebur lebih tinggi 238°C (Fathy dan Ayman, 2020). Sedangkan pada penelitian ini, biji kopi *diroasting* pada suhu 205 °C, 226 °C dan 238°C, sehingga kafein belum mengalami degradasi dan masih mempunyai aktivitas sebagai antioksidan. Gambar 4 merupakan reaksi yang terjadi antara kafein dengan DPPH.



Gambar 4. Reaksi antara Kafein dengan DPPH

Biji kopi yang *diroasting* pada derajat *roasting dark* merupakan biji kopi dengan aktivitas antioksidan terlemah ($IC_{50} = 627,04$) jika dibandingkan dengan sampel biji kopi yang lain. Penurunan aktivitas antioksidan tersebut dapat terjadi karena selama proses *roasting* melibatkan panas dapat menyebabkan senyawa fenol, flavonoid (kuersetin dan kaemferol), asam klorogenat, dan asam kafeat terdegradasi sehingga kadarnya dalam biji kopi mengalami penurunan (Acidri, *et al.*, 2020; Fathy dan Ayman, 2020). Derajat *roasting light* menggunakan suhu 205 °C selama 9 menit, dimana melanoidin belum terbentuk dan derajat *roasting dark* dengan suhu 238°C, dimana melanoidin telah terdegradasi.

Menurut Suh, *et al.* (2014) melaporkan bahwa aktivitas antioksidan mengalami penurunan karena adanya peningkatan derajat *roasting*. Perbedaan hasil penelitian Suh, *et al* (2014) dengan penelitian ini karena adanya perbedaan suhu dan waktu *roasting* (Sacchetti, *et al.*, 2009; Afriliana, 2018).

Derajat *roasting* pada setiap jenis biji kopi mempunyai waktu dan suhunya masing-masing ketika mencapai *first crack* dan *second crack*. *First crack* dalam proses *roasting* digunakan sebagai tanda berhentinya proses *roasting* pada derajat *light*. Sejumlah besar air yang terkandung didalam biji kopi telah menguap dan aroma serta rasa kopi sudah mulai terbentuk pada derajat *roasting light*. *Second crack* merupakan tanda

berhentinya proses *roasting* pada derajat *medium* (Afriliana, 2018).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa aktivitas antioksidan diketahui bahwa IC_{50} *green bean*, *light*, *medium*, dan *dark* berturut-turut adalah 82,27, 362,91, 61,46, dan 617,04 dengan derajat *roasting medium* merupakan biji kopi dengan IC_{50} terbaik, sehingga dapat disimpulkan bahwa perbedaan derajat *roasting* mempengaruhi IC_{50} biji kopi robusta.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada STIKes Akbidyo yang telah *mensupport* dan memfasilitasi peneliti dalam melakukan penelitian ini

DAFTAR PUSTAKA

- Acidri, R., Yumiko, S., Yuko, S., Takuo, H., Daisuke, S., Tsugiyaki, M., Sadahiro, Y. & Eiji, N. (2020). Phytochemical Profile and Antioxidant Capacity of Coffee Plant Organs Compared to Green and Roasted Coffee Beans, *Antioxidants*, 9 (2): 93
- Afriliana, A. 2018, *Teknologi Pengolahan Kopi Terkini*, CV. Budi Utama Yogyakarta, Yogyakarta
- Babova, O., Occhipinti, A., & Maffei, M. E. (2016). Chemical Partitioning an Antioxidant Capacity of Green Coffee (*Coffea arabica* and *Coffea canephora*) of Different Geopraohical Origin. *Phytochemistry*. 123: 33-39
- Baggenstoss, J., Poisson, L., Kaegi, R., Perren, R., & Escher, F. (2008). Coffee Roasting And Aroma Formation: Application of Different Time Temperature Conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56 :5836–5846
- Blois, M.S. (1958). Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nature*. 181: 1199–1200.
- Borrelli, R. C. Visconti, A. Mennella, C. Anese, M., & Fogliano, V. (2002). Chemical Characterization and Antioxidant Properties Of Coffee Melanoidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 6527-6533
- Farah, A. & Donangelo, C.M. (2006). Phenolic Compounds in Coffee. *Braz. J. Plant Physiol.* 18: 23–36
- Fathy, M. M. & Ayman, A., M. (2020). Thermostability of Bioactive Compounds During Roasting Proses og Coffee Beans, *Heliyon*, 6 (2020): e05508
- Franca, A.S., Mendonça, J.C.F. & Oliveira, S.D. (2005) Composition of Green and Roasted Coffees of Different Cup Qualities, *LWT - Food Science and Technology*, 38 (7): 709–715
- Gunalan, G., Myla, N. & Balabhaskar, R. (2012). *In Vitro* Antioxidant Analysis of Selected Coffee Bean Varieties. *J. Chem. Pharm. Res.* 4: 2126–2132
- Jeewan, M.K., Liyanage, T., Roshana, M.R., & Mahendran, T. (2020). Determination and Comparison of Caffeine and Other Chemical Constituents in Coffea Arabica Varieties Grown In Sri Lanka. *Ceylon J. Sci.* 49 :151–158

MENDELEY BIBLIOGRAPHY PLACEHOLDER 0