

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.)

Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) merupakan salah satu spesies kopi yang paling banyak dibudidayakan dan dikonsumsi di dunia. Tanaman ini berasal dari Etiopia dan menyebar luas ke berbagai daerah beriklim tropis, termasuk Indonesia. Kopi Arabika dikenal menghasilkan biji dengan kualitas rasa dan aroma yang lebih kompleks dibandingkan jenis kopi lainnya, sehingga memiliki nilai ekonomi yang tinggi (Nasution *et al.*, 2020). Secara morfologi, tanaman kopi Arabika tumbuh sebagai semak atau pohon kecil dengan tinggi mencapai 2-5 meter. Daunnya berbentuk lonjong dengan permukaan mengkilap dan berwarna hijau tua. Bunganya berwarna putih dan harum, sedangkan buahnya berbentuk bulat lonjong berwarna merah ketika masak, yang di dalamnya terdapat dua biji kopi (Rachman *et al.*, 2019). Tanaman ini tumbuh optimal pada daerah dengan ketinggian antara 1.000-2.000 meter di atas permukaan laut, suhu udara 15-24°C, dan curah hujan 1.500-2.000 mm per tahun (Nugroho & Dewi, 2021).

Klasifikasi tanaman :

Kingdom	: <i>Plantae</i> (Tumbuhan)
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i> (Tumbuhan berpembuluh)
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i> (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i> (Tumbuhan berkeping dua/dikotil)
Sub kelas	: <i>Asteridae</i>
Ordo	: <i>Rubiales</i>
Famili	: <i>Rubiaceae</i> (suku kopi-kopian)
Genus	: <i>Coffea</i>
Spesies	: <i>Coffea arabica</i> L.



Gambar 1. Biji Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.)

Sumber : [kew.org](https://www.kew.org)

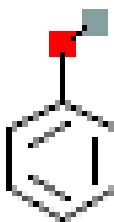
Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) secara tradisional telah dimanfaatkan dalam pengobatan berbagai kondisi seperti peradangan, kadar gula darah tinggi, serta selulit. Senyawa aktif dalam kopi dapat diperoleh melalui proses ekstraksi, salah satunya menggunakan metode maserasi, yang umum dilakukan dengan pelarut etanol 70% maupun 96% (Utami *et al.*, 2025). Beberapa senyawa bioaktif yang berhasil diisolasi dari biji kopi antara lain flavonoid, tannin, saponin, triterpenoid, asam klorogenat, dan kafein. Komponen-komponen ini diketahui memiliki aktivitas farmakologis yang beragam, termasuk sebagai antiinflamasi, antihiperglikemik, antiselulit, dan antioksidan (Fathin *et al.*, 2024; Zulfian *et al.*, 2024).

B. Fenolik

Senyawa polifenol merupakan salah satu kelompok metabolit sekunder yang paling melimpah ditemukan dalam jaringan tumbuhan. Struktur umumnya tersusun atas satu atau lebih gugus hidroksil (-OH) yang terikat langsung pada cincin aromatik, yang menjadikan senyawa ini mampu berinteraksi dengan berbagai radikal bebas (Kumar & Pandey, 2021). Keanekaragaman struktur senyawa fenol sangat luas, mulai dari bentuk sederhana seperti asam fenolat, hingga struktur kompleks seperti tanin dan lignin, yang keduanya juga menunjukkan potensi aktivitas biologis (Winarsi, 2007; Ajhar & Meilani, 2020).

Senyawa fenolik juga dikenal sebagai salah satu kelompok fitokimia utama yang berperan dalam perlindungan sel terhadap stres oksidatif. Gugus hidroksil yang dimilikinya memungkinkan senyawa ini mendonorkan elektron maupun atom hidrogen untuk menetralkan radikal bebas. Mekanisme ini memicu terjadinya stabilisasi melalui sistem resonansi, sehingga senyawa fenolik sering dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan yang kuat (Mengiwa & Maryuni, 2019; Ribaudo *et al.*, 2023).

Senyawa fenolik merupakan kelompok metabolit sekunder yang tersebar luas pada hampir seluruh jaringan tumbuhan, seperti daun, kulit batang, akar, biji, dan buah. Kandungan senyawa fenolik dalam tanaman sangat bervariasi, tergantung pada spesies tumbuhan, bagian tanaman yang digunakan, umur, serta kondisi lingkungan tempat tumbuhnya. Dalam sistem tumbuhan, senyawa fenolik memiliki fungsi penting sebagai bagian dari mekanisme pertahanan alami terhadap patogen, serangga, maupun stres lingkungan (Adzkiya & Hidayat, 2022; Winarsi, 2007).



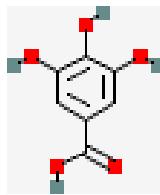
Gambar 2. Struktur Fenol

Sumber : PubChem CID=996

Secara struktur, senyawa fenolik tersusun atas satu atau lebih gugus hidroksil (-OH) yang terikat pada cincin aromatik, menjadikannya aktif secara kimia dan biologis. Struktur ini memungkinkan senyawa fenolik untuk berperan dalam berbagai aktivitas fisiologis dan ekologis, baik sebagai agen antimikroba, antiinflamasi, maupun antioksidan. Fungsi lainnya termasuk sebagai fitoaleksin, penghambat pertumbuhan patogen, penarik serangga penyebuk, serta pengatur pigmentasi dan perlindungan terhadap radiasi ultraviolet (Sari *et al.*, 2021; Mengiwa & Maryuni, 2019).

Jenis-jenis senyawa fenolik sangat beragam, mulai dari bentuk sederhana seperti asam fenolat, vanilin, gingerol, hingga senyawa kompleks seperti flavonoid, tanin, stilben, dan lignin. Senyawa-senyawa tersebut dapat bekerja secara sinergis dalam memberikan efek biologis yang bermanfaat, baik bagi tumbuhan maupun bagi kesehatan manusia. Aktivitas antioksidan dari senyawa fenolik terutama berasal dari kemampuannya dalam mendonorkan elektron dan hidrogen, yang kemudian menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan sel (Kumar & Pandey, 2021; Ribaudo *et al.*, 2023).

Asam galat merupakan salah satu senyawa turunan dari kelompok fenolik yang secara alami banyak ditemukan dalam berbagai jenis tumbuhan. Senyawa ini memiliki gugus hidroksil (-OH) yang terikat pada cincin aromatik, yang berperan penting dalam aktivitas antioksidan karena mampu menstabilkan radikal bebas melalui donasi elektron (Maesaroh *et al.*, 2018; Ribaudo *et al.*, 2023). Aktivitas antioksidan asam galat juga diperkuat oleh adanya struktur konjugasi dan letak gugus hidroksil yang memungkinkan pembentukan interaksi hidrogen, sehingga reaktif terhadap radikal peroksi dan hidroksiperoksi (Badhani *et al.*, 2015).



Gambar 3. Struktur Asam Galat

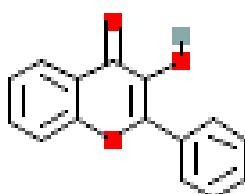
Sumber : PubChem CID=370

Selain sebagai antioksidan, asam galat juga dikenal memiliki berbagai potensi farmakologis seperti antibakteri, antivirus, antijamur, serta efek analgesik dan antiinflamasi (Junaidi & Anwar, 2018; Septiani *et al.*, 2019). Meski keberadaannya dalam tanaman biasanya hanya dalam konsentrasi rendah, efektivitasnya dalam menetralkan stres oksidatif membuatnya banyak dimanfaatkan dalam formulasi obat herbal maupun produk pangan fungsional (Li *et al.*, 2021).

C. Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik yang banyak ditemukan dalam tumbuhan, terutama pada buah-buahan, sayuran, daun, serta beberapa jenis minuman seperti teh dan anggur. Senyawa ini memiliki banyak gugus hidroksil (-OH) yang menyebabkan sifat polarnya cukup tinggi, sehingga larut dengan baik dalam pelarut polar seperti etanol (Sriwahyuni *et al.*, 2010; Maulidia & Meilani, 2020). Flavonoid berperan dalam memberikan warna-warna cerah pada bunga untuk menarik penyerbuk, serta memiliki berbagai efek fisiologis penting pada tumbuhan maupun manusia (Septiani *et al.*, 2019).

Sebagai antioksidan, flavonoid mampu menetralkan radikal bebas melalui mekanisme donasi elektron dan hidrogen. Flavonoid juga dikenal memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi, antimikroba, antivirus, dan dapat menghambat enzim oksidatif yang berperan dalam pembentukan radikal bebas (Sunarti, 2021; Ribaudo *et al.*, 2023). Dalam tubuh manusia, senyawa ini mampu meningkatkan efektivitas vitamin C, menjaga integritas sel, serta berpotensi mencegah keropos tulang dan gangguan degeneratif lainnya (Ikalinus *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2021).

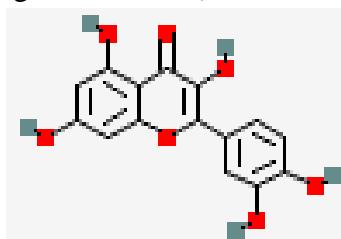


Gambar 4. Struktur Dasar Flavonoid

Sumber : PubChem CID=11349

Secara struktural, flavonoid memiliki kerangka dasar difenilpropan (C6-C3-C6) dan terbagi dalam beberapa subkelas, termasuk flavonol, flavanon, isoflavanon, flavanol, dan antosianin. Aktivitas biologisnya sangat dipengaruhi oleh jumlah dan posisi gugus hidroksil serta keberadaan ikatan rangkap dalam struktur cincin aromatik. Selain bertindak sebagai agen pereduksi dan penangkap radikal bebas, flavonoid juga berperan dalam mengaktifkan enzim antioksidan endogen dan mengikat ion logam penyebab stres oksidatif (Kumar & Pandey, 2021; Ribaudo *et al.*, 2023).

Kuersetin merupakan salah satu flavonoid utama yang tergolong dalam subkelas flavonol, dengan rumus molekul $C_{15}H_{12}O_7$. Senyawa ini memiliki struktur dasar berupa dua cincin aromatik yang terhubung oleh cincin piran, menjadikannya sebagai bioflavonoid yang bersifat aktif secara biologis (Yuslianti, 2018; Kumar & Pandey, 2021). Kuersetin banyak ditemukan dalam bahan pangan seperti bawang merah, apel, brokoli, dan teh, serta dikenal sebagai zat pemberi warna alami pada berbagai bagian tanaman (Li *et al.*, 2021).



Gambar 5. Struktur Kuersetin

Sumber : PubChem CID=5280343

Dalam tubuh manusia, kuersetin berperan sebagai antioksidan kuat yang bekerja dengan menghambat peroksidasi lipid, melindungi sel dari kerusakan oksidatif, dan menangkal radikal bebas. Beberapa studi menunjukkan bahwa kuersetin dan bentuk glikosidanya menyumbang hingga 60–75% dari total flavonoid dalam beberapa sumber makanan (Paramawati & Dumilah, 2016; Maulidia & Meilani, 2020). Selain itu, kuersetin juga memiliki aktivitas antiinflamasi, antihistamin, dan berpotensi mencegah penyakit degeneratif seperti aterosklerosis dan kanker (Ribaudo *et al.*, 2023).

D. Ekstraksi

1. Pengertian

Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa aktif dari bahan alam, khususnya tanaman, menggunakan pelarut yang sesuai dan

selektif. Proses ini menghasilkan ekstrak berupa massa pekat atau serbuk setelah pelarut diuapkan. Hasil ekstrak tersebut kemudian dapat digunakan untuk tujuan farmakologis maupun penelitian lanjutan, dengan tetap mengacu pada standar mutu yang ditetapkan dalam farmakope atau pedoman resmi lainnya (Depkes RI, 2000; Winarsi, 2007).

2. Metode ekstraksi

Ekstraksi jaringan tanaman yang kering dan dihaluskan terdapat dilakukan dengan maserasi, refluks atau sokletasi menggunakan pelarut dengan derajat kepolaran yang berbeda (Putra *et al.*, 2014). Metode umum untuk membuat ekstrak termasuk maserasi, perkolasi, dan soxhletasi. Metode ekstraksi memilih beberapa faktor seperti sifat bahan obat dan kemampuan beradaptasi untuk semua jenis prosedur ekstraksi dan pentingnya mendapatkan ekstrak yang sempurna (Ansel, 2008).

2.1 Maserasi. Adalah perendaman bahan dalam suatu pelarut. Metode ini dapat menghasilkan ekstrak dalam jumlah banyak serta terhindar dari perubahan kimia senyawa-senyawa tertentu karena pemanasan (Pratiwi, 2009). Maserasi adalah memproses yang paling sesuai, dimana bahan obat yang ditumbuk halus direndam pada pelarut cair sampai terserap dan struktur seluler melunak sehingga zat terlarut. Ulangi lalu saring proses ini dilakukan pada suhu 15-20°C selama tiga hari sampai bahan benar-benar larut (Ansel, 2008). Maserasi dapat dilakukan dalam bentuk cair, serbuk halus atau serbuk dari tanaman obat yang kontak dengan pelarut, disimpan selama beberapa waktu dalam wadah kedap udara, sering diaduk sampai zat tertentu larut. Metode ini paling baik digunakan dengan senyawa yang tidak tahan panas (Tiwari *et al.*, 2011). Kelemahan dari metode ini melakukan dengan cukup lama, yang bisa memakan waktu berjam-jam hingga berminggu-minggu (Ditjen POM, 2000).

2.2 Perkolasi. Merupakan metode penyarian yang melibatkan aliran cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Serbuk simplisia ditempatkan dalam sebuah silinder dengan sekat berpori di bagian bawahnya. Cairan penyari dialirkan dari bagian atas ke bawah melalui serbuk tersebut, dan dalam proses ini, cairan penyari akan molarutkan zat aktif yang terdapat dalam sel-sel simplisia sampai mencapai keadaan jenuh (Anonim, 1986). Proses perkolasi meliputi tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi, dan tahap perkolasi yang

berlangsung secara terus-menerus hingga diperoleh ekstrak dalam jumlah yang berkisar 1-5 kali lipat dari bahan awal (Anonim, 2000). Salah satu keuntungan perkolasai adalah adanya aliran cairan penyari yang menyebabkan penggantian larutan dengan larutan yang memiliki konsentrasi lebih rendah, sehingga meningkatkan perbedaan konsentrasi secara signifikan (Anonim, 1986).

2.3 Soxhletasi. Adalah metode ekstraksi yang menggunakan pelarut yang selalu baru, biasanya dilakukan dengan menggunakan peralatan khusus, dan proses ini berlangsung secara kontinu dengan bantuan refrigeran atau kondensor. Dalam proses ini, padatan ditempatkan dan dipanaskan dalam perangkat soxhlet, sementara hanya pelarut yang dipanaskan. Pelarut yang telah dipanaskan kemudian didinginkan di kondensor dan digunakan untuk mengekstrak zat-zat padatan (Sarker *et al.*, 2006). Keunggulan metode ini dibandingkan dengan metode lainnya adalah bahwa dapat mengekstraksi lebih banyak bahan aktif, meskipun jumlah pelarut yang digunakan lebih sedikit (Endarini, 2016).

2.4 Refluks. Merupakan metode di mana pelarut dan sampel dipanaskan hingga mendidih secara bersamaan selama periode waktu tertentu dengan jumlah pelarut yang tetap. Dalam metode refluks, ekstrak cairan diperoleh, yang kemudian diuapkan untuk menghasilkan ekstrak dengan konsistensi yang lebih pekat (Rusdi *et al.*, 2014).

2.5 Digesti. Adalah metode ekstraksi yang melibatkan penggunaan maserasi kinetik dengan pemanasan lembut pada suhu antara 400°C hingga 500°C. Teknik ini hanya cocok untuk sampel yang memiliki senyawa aktif yang stabil pada suhu tinggi (BPOM RI, 2012).

3. Pelarut

Pelarut berperan penting dalam proses ekstraksi karena menentukan keberhasilan pemisahan senyawa bioaktif dari bahan tanaman. Salah satu pelarut yang umum digunakan adalah etanol, yang memiliki karakteristik polar, mudah menguap, tidak berwarna, serta relatif aman dan tidak toksik (Septi & Buanasari, 2016). Etanol bersifat amfipatik karena mengandung gugus hidroksil (-OH) yang bersifat polar dan gugus etil (CH_3CH_2-) yang bersifat nonpolar. Sifat ini memungkinkan etanol mengekstrak senyawa dengan rentang polaritas yang luas, termasuk senyawa fenolik dan antioksidan dalam biji kopi Arabika (Maulidia & Meilani, 2020).

Pemilihan konsentrasi etanol juga mempengaruhi efektivitas ekstraksi. Semakin tinggi konsentrasi etanol, maka polaritas pelarut akan menurun, yang dapat meningkatkan kemampuannya dalam melarutkan senyawa nonpolar tertentu, serta menyesuaikan dengan karakteristik senyawa target yang ingin diisolasi.

E. Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan molekul atau atom yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan, sehingga bersifat sangat reaktif dan cenderung menyerang molekul stabil di sekitarnya untuk mencapai kestabilan. Di dalam tubuh, radikal bebas dapat merusak struktur penting seperti lipid membran, protein, dan DNA melalui proses oksidasi (Astuti & Suhartini, 2014; Halliwell & Gutteridge, 2015).

Kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas dapat terjadi pada tingkat molekuler, mengganggu fungsi seluler, dan dalam jangka panjang memicu kematian sel. Selain itu, reaksi lanjutan dengan oksigen dan lipid dapat membentuk radikal baru seperti superokksida, hidroperokksida, dan radikal hidroksil yang bersifat sangat toksik bagi sel hidup (Ningrum & Fitriyani, 2021). Kondisi ini berkontribusi terhadap terjadinya berbagai penyakit degeneratif seperti penyakit kardiovaskular, kanker, dan gangguan neurodegeneratif (Lobo *et al.*, 2010; Yuliana & Farida, 2020).

Radikal bebas dapat terbentuk secara alami di dalam tubuh melalui proses fisiologis seperti respirasi sel, fagositosis, dan aktivitas enzimatik lainnya. Pembentukan juga dapat terjadi melalui mekanisme non-enzimatik akibat paparan bahan kimia atau radiasi dari lingkungan (Hutapea *et al.*, 2021; Pham-Huy *et al.*, 2008). Oleh karena itu, tubuh membutuhkan sistem antioksidan internal maupun eksternal untuk menetralkan efek merusak dari radikal bebas tersebut.

F. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)

DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil yang secara luas digunakan sebagai indikator dalam pengujian aktivitas antioksidan. DPPH bekerja dengan cara menangkap elektron atau atom hidrogen dari senyawa uji, yang mengakibatkan perubahan warna larutan dari ungu tua menjadi kuning pucat. Perubahan ini menandakan reaksi reduksi DPPH, yang menunjukkan kemampuan senyawa dalam

menetralkan radikal bebas. Metode ini sangat umum digunakan karena sederhana, cepat, dan sensitif terhadap keberadaan senyawa antioksidan. Pengukuran dilakukan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm (Molyneux, 2004; Brand-Williams *et al.*, 1995).

G. Antioksidan

1. Pengertian

Antioksidan adalah senyawa yang mampu memperlambat atau mencegah oksidasi molekul lain dengan cara menangkap atau menetralisir radikal bebas. Senyawa ini bekerja dengan mendonorkan elektron atau atom hidrogen kepada radikal bebas, sehingga mencegah reaksi berantai yang dapat merusak komponen seluler seperti lipid membran, protein, dan DNA. Aktivitas antioksidan yang efektif berperan penting dalam menjaga keseimbangan redoks tubuh dan mendukung sistem imun, serta berpotensi menurunkan risiko penyakit kronis, termasuk kanker (Pham-Huy *et al.*, 2008; Lobo *et al.*, 2010).

2. Mekanisme kerja

Antioksidan bekerja melalui 3 mekanisme utama yaitu, antioksidan primer, sekunder, dan tersier, yang secara sinergis melindungi sel dari kerusakan akibat radikal bebas.

2.1 Antioksidan primer. Antioksidan primer merupakan senyawa enzimatik yang bekerja secara langsung dalam menetralisir radikal bebas dengan cara mengonversi senyawa reaktif menjadi bentuk yang lebih stabil. Kelompok ini terdiri dari enzim-enzim seperti superoksid dismutase (SOD), katalase, dan glutation peroksidase (GPx), yang memainkan peran penting dalam detoksifikasi radikal oksigen reaktif (ROS) di dalam sel (Birben *et al.*, 2012).

2.2 Antioksidan sekunder. Senyawa seperti vitamin C, vitamin E, β-karoten, flavonoid, bilirubin, dan albumin bekerja dengan menangkap radikal bebas sebelum mereka memicu reaksi oksidatif seluler (Lobo *et al.*, 2010; Fadlilah & Lestari, 2023)

2.3 Antioksidan tersier. Antioksidan tersier bertugas memperbaiki molekul biologis yang telah mengalami kerusakan akibat stres oksidatif. Mekanisme ini melibatkan enzim seperti DNA-repair enzymes dan metionin sulfoksidida reduktase, yang berperan dalam pemulihan struktur dan fungsi protein atau DNA yang teroksidasi (Pisoschi & Pop, 2015).

3. Uji aktivitas antioskidan

3.1 Pengujian penangkapan radikal (*radical scavenging test*). Metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) merupakan pendekatan yang umum digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan suatu senyawa melalui mekanisme penangkapan radikal bebas. DPPH adalah radikal stabil yang memiliki warna ungu tua dan menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang sekitar 515-516 nm. Saat senyawa antioksidan berinteraksi dengan DPPH, akan terjadi transfer atom hidrogen atau elektron yang menyebabkan reduksi DPPH menjadi bentuk non-radikal yang stabil, disertai perubahan warna larutan menjadi kuning pucat (Molyneux, 2004; Prakash, 2001). Perubahan intensitas warna ini dapat diukur menggunakan spektrofotometer, dan besarnya penurunan absorbansi digunakan untuk menghitung parameter efektivitas antioksidan, seperti IC_{50} (*Inhibitory Concentration 50%*). Nilai IC_{50} menunjukkan konsentrasi senyawa yang dibutuhkan untuk mereduksi 50% radikal DPPH. Semakin kecil nilai IC_{50} , maka semakin tinggi potensi antioksidan suatu senyawa. Umumnya, senyawa dikategorikan memiliki aktivitas antioksidan kuat jika nilai IC_{50} -nya $<200 \mu\text{g/mL}$, sedang jika berada antara $200\text{-}1000 \mu\text{g/mL}$, dan lemah jika $>1000 \mu\text{g/mL}$ (Molyneux, 2004).

3.2 Pengujian dengan sistem β -karoten-linoleat. Metode ini menilai kemampuan antioksidan berdasarkan kecepatan pemudaran warna β -karoten akibat oksidasi. Dalam sistem ini, senyawa antioksidan akan menghambat degradasi warna jingga dari β -karoten yang biasanya terjadi karena reaksi dengan radikal bebas dari asam linoleat yang teroksidasi. Semakin lambat warna β -karoten memudar, semakin tinggi aktivitas antioksidan dari sampel yang diuji (Widyaningrum & Pratiwi, 2021).

3.3 Pengujian dengan sistem lionelat-tiosianat. Pengujian ini menggunakan prinsip bahwa asam linoleat, sebagai asam lemak tak jenuh, mudah teroksidasi membentuk senyawa peroksida. Peroksida ini mampu mengoksidasi ion ferro menjadi ion ferri, yang kemudian berinteraksi dengan ammonium tiosianat membentuk kompleks ferri-tiosianat ($\text{Fe}(\text{CNS})_3$) berwarna merah. Intensitas warna merah tersebut sebanding dengan konsentrasi peroksida yang terbentuk, dan diukur pada panjang gelombang 490 nm (Nurhayati & Fadilah, 2021).

3.4 Pengujian dengan asam tiorbarbiturat. Metode ini mendeteksi keberadaan senyawa malondialdehid (MDA), produk akhir dari

oksidasi asam lemak tak jenuh. MDA bereaksi dengan asam tiorbarbiturat menghasilkan senyawa berwarna merah muda, yang intensitas warnanya diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 532-535 nm. Semakin pekat warna yang dihasilkan, semakin tinggi tingkat oksidasi lipid yang terjadi (Pratama *et al.*, 2020).

H. Vitamin C

Vitamin C atau asam askorbat merupakan nutrien esensial yang memiliki peran penting dalam pembentukan kolagen dan menjaga sistem imun tubuh. Senyawa ini berfungsi sebagai kofaktor dalam berbagai reaksi enzimatik dan berperan sebagai katalisator dalam proses fisiologis. Ketika tubuh mengalami defisiensi vitamin C, fungsi enzim yang bergantung padanya dapat terganggu, yang pada akhirnya memengaruhi kestabilan struktur dan fungsi jaringan (Lobo *et al.*, 2010; Pham- Huy *et al.*, 2008). Selain itu, vitamin C dikenal sebagai antioksidan kuat karena kemampuannya mendonorkan elektron atau atom hidrogen untuk menetralisir radikal bebas sebelum senyawa tersebut merusak komponen penting dalam sel, seperti membran, protein, dan DNA (Pham- Huy *et al.*, 2008). Sifatnya yang mudah teroksidasi oleh panas, cahaya, dan logam menjadikan vitamin C termasuk dalam golongan antioksidan yang reaktif.

Dalam konteks perlindungan kulit, vitamin C berperan signifikan sebagai agen fotoprotektif terhadap paparan sinar ultraviolet (UV). Radiasi UV dapat merangsang pembentukan radikal bebas yang berkontribusi pada penuaan dini dan kerusakan jaringan kulit. Dengan kemampuannya menetralisir radikal bebas tersebut, vitamin C membantu mengurangi stres oksidatif serta memperbaiki integritas jaringan dermal (Telang, 2013; Ravetti *et al.*, 2019). Penggunaan vitamin C baik secara topikal maupun oral terbukti efektif dalam mengurangi dampak kerusakan akibat sinar matahari. Senyawa ini juga mendukung sintesis kolagen serta menghambat degradasi protein dermis dan pembentukan melanin, menjadikannya agen yang ideal untuk pencerah sekaligus pelindung kulit (Al- Niaimi & Chiang, 2017). Bahkan, beberapa penelitian menunjukkan bahwa vitamin C dapat bertahan di kulit selama 30–36 jam setelah aplikasi, memberikan perlindungan yang cukup lama (Caritá *et al.*, 2020).

I. Nilai IC₅₀

Nilai IC₅₀ merupakan parameter yang umum digunakan untuk mengevaluasi efektivitas aktivitas antioksidan suatu senyawa dalam menetralkan radikal bebas. Melalui metode DPPH, nilai ini diartikan sebagai konsentrasi senyawa uji (dalam ppm atau $\mu\text{g/mL}$) yang diperlukan untuk menghambat aktivitas radikal DPPH sebesar 50%. Semakin rendah nilai IC₅₀ yang diperoleh, semakin kuat potensi antioksidan suatu senyawa (Molyneux, 2004).

Tabel 1. Tingkat kekuatan Antioksidan dengan Metode DPPH

(Sasmita, Purwanti, and Sadiyah 2014)

No	Intensitas IC ₅₀	IC ₅₀
1	Sangat kuat	<50
2	Kuat	50-100
3	Sedang	101-250
4	Lemah	250-500
5	Sangat lemah	>500

Proses penentuan IC₅₀ biasanya melibatkan pembuatan grafik hubungan antara konsentrasi senyawa uji (sumbu X) dan persentase inhibisi DPPH (sumbu Y), lalu digunakan regresi linear ($Y = aX + b$) untuk menghitung konsentrasi di titik 50% inhibisi. Nilai ini kemudian dibandingkan dengan standar antioksidan seperti vitamin C untuk mengukur kekuatan relatif aktivitasnya (Molyneux, 2004; Setiawan *et al.*, 2021)..

J. Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer merupakan perangkat analitik yang menggabungkan fungsi spektrometer dan fotometer dalam satu alat. Alat ini bekerja dengan menghasilkan sinar pada panjang gelombang tertentu, lalu mengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau diserap oleh suatu sampel. Spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk menganalisis sifat absorbansi suatu zat secara semi-kualitatif maupun kuantitatif, berdasarkan prinsip transisi elektronik molekul akibat penyerapan cahaya pada rentang ultraviolet (200-400 nm) dan cahaya tampak (400-800 nm) dalam spektrum elektromagnetik (Setyaningrum, 2014; Rahmawati & Sari, 2021).

Prinsip kerja alat ini merujuk pada hukum Lambert-Beer, yang menyatakan bahwa absorbansi suatu larutan sebanding dengan konsentrasi zat dan panjang lintasan cahaya yang melaluinya. Dengan demikian, semakin tinggi konsentrasi suatu zat, maka semakin besar pula absorbansi yang tercatat (Susanti, 2016). Salah satu keunggulan

metode ini adalah kemampuannya mendeteksi absorbansi dalam jumlah kecil dengan hasil yang akurat, serta tampilan angka digital yang memudahkan pembacaan hasil secara langsung dan cepat (Putra & Yuliani, 2019).

K. Landasan Teori

Senyawa radikal bebas adalah senyawa yang tidak stabil dan reaktif karena memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dalam orbital terluarnya. Radikal bebas dapat dihasilkan melalui proses kimia yang kompleks dalam tubuh dan pengaruh polusi lingkungan, yang jika jumlahnya berlebihan, dapat menyebabkan efek patologis yang dapat berkontribusi terhadap penyakit degeneratif.

Antioksidan merupakan senyawa yang memiliki struktur molekul khas yang memungkinkan untuk menyumbangkan elektron kepada radikal bebas, sehingga dapat menghentikan reaksi berantai dari radikal tersebut (Kumalaningsih, 2006). Salah satu sumber utama antioksidan adalah tumbuhan yang kaya akan senyawa polifenol. Kopi termasuk tanaman yang mengandung senyawa polifenol tinggi, terutama dari golongan asam fenolik seperti kafein, asam klorogenat, kumarin, ferulat, dan asam sinaptat (Hecimovic & Belscak-Cvitanovic, 2011).

Penelitian tentang biji kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) menunjukkan bahwa senyawa fenoliknya, terutama flavonoid, memberikan kontribusi signifikan terhadap aktivitas antioksidan biji kopi tersebut (Pratama *et al.*, 2020). Flavonoid bekerja melalui mekanisme transfer elektron atau hidrogen dimana gugus fenol mendonorkan atom hidrogen ke radikal bebas sehingga menjadi senyawa fenoksil stabil. Hal ini berperan dalam melindungi struktur sel dan meningkatkan efektivitas antioksidan lain seperti vitamin C, serta memiliki sifat antiinflamasi dan antibakteri (Setiawan *et al.*, 2022; Caritá *et al.*, 2020).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan fenol total pada biji kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) dari berbagai wilayah di Indonesia cukup tinggi. Penelitian oleh Adzkiya *et al* (2022) melaporkan bahwa kandungan fenol total pada biji kopi Arabika yang berasal dari empat lokasi di Pulau Jawa dan satu lokasi di Pulau Sumatera berada dalam rentang 8316,52 hingga 8576,76 mg/kg ekuivalen asam galat. Sementara itu, biji kopi Arabika dari wilayah

Gayo, Aceh, diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat, dengan nilai IC_{50} sebesar 12,427 ppm, berdasarkan penelitian oleh Ajhar dan Meilani (2020). Aktivitas antioksidan juga ditemukan dalam biji kopi yang berasal dari Wamena dan Moanemani di Papua, dengan persentase inhibisi masing-masing sebesar 61,71% dan 69,07%, serta nilai IC_{50} sebesar 107,97 ppm dan 100,81 ppm (Mengiwa & Maryuni, 2019). Nilai IC_{50} tersebut menunjukkan bahwa biji kopi dari berbagai daerah di Indonesia memiliki potensi sebagai sumber antioksidan alami.

Metode yang umum digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan biji kopi Arabika adalah metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH). Mekanisme kerja metode ini didasarkan pada kemampuan senyawa antioksidan dalam mereduksi radikal bebas DPPH dengan mendonorkan atom hidrogen, membentuk senyawa DPPH-H yang lebih stabil dan berwarna kuning. Perubahan warna tersebut diamati melalui pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 516 nm. Metode DPPH banyak digunakan karena relatif sederhana, cepat, dan menggunakan radikal yang stabil sehingga mudah diterapkan untuk mengukur kemampuan antioksidan dari berbagai jenis senyawa (Molyneux, 2004; Sunarni, 2007).

L. Hipotesis

Pertama, Seluruh fraksi hasil ekstraksi, yaitu fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol biji kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) yang berasal dari Pulau Flores diperkirakan memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, ditunjukkan melalui nilai IC_{50} yang rendah.

Kedua, Fraksi etil asetat dari ekstrak etanol biji kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) yang tumbuh di Pulau Flores diduga mengandung kadar total fenolik dan flavonoid yang tinggi, sehingga berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan yang dimilikinya.