

**PENENTUAN KADAR POLIFENOL PADA EKSTRAK BIJI
KOPI LUWAK ASAL KAMPUNG KOPI LUWAK
MARANGKAYU DAN DAYA HAMBATNYA TERHADAP
RADIKAL BEBAS DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*)**

Oleh
YURIN OKTAVIA SIR
211148201162

SKRIPSI

Untuk memenuhi salah satu syarat ujian
guna memperoleh gelar Sarjana Farmasi



**PROGRAM STUDI S-1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN DIRGAHAYU SAMARINDA
2025**

LEMBAR PENGESAHAN

PENENTUAN KADAR POLIFENOL PADA EKSTRAK BIJI KOPI LUWAK ASAL KAMPUNG KOPI LUWAK MARANGKAYU DAN DAYA HAMBATNYA TERHADAP RADIKAL BEBAS DPPH (*1,1-diphenyl-2- picrylhydrazyl*)

Dipersiapkan dan disusun Oleh:

YURIN OKTAVIA SIR

211148201162

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji pada tanggal 16 Juli 2025

Pembimbing I



Nurillahi Febria Leswana, M. Sc

NIK: 0322.A4.28



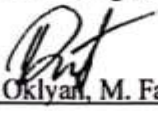
Mengetahui

Ketua Program Studi S-1 Farmasi

apt. Raymon Simanullang, M. Farm

NIK: 0924.A4.18

Pembimbing II

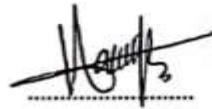


Risny Oklyan, M. Farm

NIK: -

Tim Penguji

Ketua : Maria Elvina Tresia Butar-Butar, M.Farm



Anggota:

1. apt. Raymon Simanullang, M. Farm



2. Nurillahi Febria Leswana, M. Sc



PEDOMAN PENGGUNAAN DAN PERBANYAK SKRIPSI

Skripsi sarjana yang terdaftar dan tersedia di Perpustakaan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda, dan terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada pengarang dengan mengikuti aturan HaKI yang berlaku di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda. Referensi kepustakaan diperkenankan dicatat, tetapi pengutipan atau peringkasan hanya dilakukan seizin pengarang dan harus sesuai dengan kebiasaan ilmiah untuk menyebutkan sumbernya.

Memperbanyak atau menerbitkan sebagian atau seluruh isi skripsi haruslah seizin Ketua Prodi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa:

1. Karya tulis saya, skripsi ini, adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar sarjana, baik di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda maupun perguruan tinggi lain.
2. Karya tulis ini adalah murni gagasan, rumusan, dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan dari pihak lain, kecuali Tim Pembimbing dan masukan Tim Penelaah/Tim Penguji.
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila dikemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidak benaran dalam penelitian ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademi berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh karena karya ini, serta sanksi lainnya yang sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi ini.

Samarinda, Juli 2025

Yang membuat pernyataan,

Yurin Oktavia Sir

KUTIPAN

Kutipan atau sandaran baik
Sebagian ataupun seluruh
Naskah, harus menyebutkan nama
Pengarang dan sumber
aslinya, yaitu Sekolah Tinggi
Ilmu Kesehatan Dirgahayu
Samarinda.

LEMBAR PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan kepada
Papa dan Mama tercinta atas
doa dan pengorbanan yang tak ternilai
serta kakak dan adik saya
yang selalu menjadi sumber semangat.

ABSTRAK

Kopi luwak Liberika merupakan kopi hasil fermentasi alami dalam saluran pencernaan luwak yang diketahui mengandung senyawa bioaktif, terutama polifenol, yang berperan sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar polifenol dan aktivitas antioksidan ekstrak biji kopi luwak asal Kampung Kopi Luwak Marangkayau menggunakan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*). Ekstraksi dilakukan dengan metode *soxhletasi* menggunakan etanol 96%. Uji kualitatif menunjukkan hasil positif terhadap polifenol melalui reaksi dengan FeCl_3 , sementara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menghasilkan nilai R_f sebesar 0,74. Uji kuantitatif menggunakan metode *Folin-Ciocalteu* menunjukkan kadar polifenol sebesar 63,30 mg GAE/g, lebih tinggi dibandingkan kopi biasa (31,90 mg GAE/g). Validasi metode menunjukkan RSD < 2% dan % *recovery* 80–120%, dan linearitas 0,9993. Uji aktivitas antioksidan menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 24,90 ppm untuk kopi luwak, menunjukkan aktivitas lebih kuat dibandingkan kopi biasa (48,12 ppm) keduanya termasuk kategori antioksidan sangat kuat. Hasil ini mengindikasikan bahwa kopi luwak Liberika berpotensi sebagai sumber antioksidan alami yang efektif.

Kata kunci: Kopi luwak liberika, polifenol, DPPH, IC_{50} , antioksidan

ABSTRACT

Liberica civet coffee is a type of coffee that undergoes natural fermentation in the digestive tract of the civet and is known to contain bioactive compounds such as polyphenols, which act as antioxidants. This study aimed to determine the polyphenol content and antioxidant activity of civet coffee bean extract from Kampung Kopi Luwak Marangkayau using the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method. Extraction was carried out using the Soxhlet method with 96% ethanol as the solvent. Qualitative tests showed positive results for polyphenols with $FeCl_3$, and Thin Layer Chromatography (TLC) produced an R_f value of 0.74. Quantitative analysis using the Folin–Ciocalteu method showed that the polyphenol content of civet coffee was 63.30 mg GAE/g, higher than that of regular coffee (31.90 mg GAE/g). Method validation results showed $RSD < 2\%$ and % recovery within 80–120%, and linearity of 0.9993. Antioxidant activity testing yielded an IC_{50} value of 24.90 ppm for civet coffee, indicating stronger activity compared to regular coffee (48.12 ppm); both are categorized as very strong antioxidants. These findings indicate that Liberica civet coffee has strong potential as a natural antioxidant source.

Keywords: *Liberika civet coffee, polyphenol, DPPH, IC_{50} , antioxidant*

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yesus Kristus atas limpahan kasih dan anugerah-Nya yang tak terbatas. Berkat penyertaan dan kekuatan dari-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **"PENENTUAN KADAR POLIFENOL PADA EKSTRAK BIJI KOPI LUWAK ASAL KAMPUNG KOPI LUWAK MARANG KAYU DAN DAYA HAMBATNYA TERHADAP RADIKAL BEBAS DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*)"**

Skripsi ini dibuat untuk memenuhi salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Sarjana pada jurusan Farmasi di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda.

Pada kesempatan ini, penulis dengan tulus menyampaikan terima kasih yang sebesar - besarnya kepada:

1. Ibu Ns. Andrea Theofrida Bone, S. Kep., MAN. selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda,
2. Ibu Nurillahi Febria Leswana, M.Sc. dan Ibu Risny Oklyan, M.Farm., selaku dosen pembimbing, atas segala bimbingan, arahan, dan kesabaran yang telah diberikan selama penyusunan skripsi ini.
3. Bapak Apt. Raymon Simanullang, M. Farm . selaku Ketua Program Studi S-1 Farmasi,
4. Ibu Risny Oklyan, M. Farm. Selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis,
5. Seluruh staf dosen, staf administrasi serta karyawan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda,
6. Mama tercinta Lony Ora Klomang, yang tidak pernah berhenti mendoakan, mendampingi, dan menguatkan dalam setiap proses yang penulis jalani,
7. Papa tercinta Sekondus Lem Sir, atas kerja keras, semangat, dan nasihat yang selalu menjadi penuntun dalam perjalanan studi penulis,

8. Kakak tercinta Mona Rosalina Sir, yang selalu menjadi panutan dan memberikan dukungan moral maupun semangat dalam menyelesaikan tugas akhir ini,
9. Adek tercinta Abdy Ray Pit Sir, yang akan selalu menjadi adik kecil penulis yang memberi keceriaan di tengah lelahnya perjuangan menyelesaikan skripsi ini,
10. Kucing tersayang Uyau, yang selalu menemani penulis dalam mengerjakan skripsi ini,
11. Semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu penulis dalam menyusun skripsi ini.

Dalam penyusunan proposal ini masih banyak kesalahan dan kekurangan karena pengetahuan yang masih sangat terbatas. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati diharapkan masukan berupa kritik dan saran yang bersifat membangun untuk perbaikan di masa yang akan datang. Penulis berharap semoga skripsi ini akan memberikan manfaat bagi penulis sendiri dan juga bagi pihak lain yang berkepentingan.

Samarinda, Juli 2025

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
PEDOMAN PENGGUNAAN DAN PERBANYAK SKRIPSI	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
KUTIPAN	iv
LEMBAR PERSEMBAHAN	v
ABSTRAK	vi
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Identifikasi Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Uraian Tanaman	5
2.1.1. Morfologi	7
2.2. Kopi luwak	7
2.3. Polifenol	8
2.4. Antioksidan dan Radikal bebas	9
2.5. Metode Soxhletasi	11
2.6. Pelarut.....	11
2.7. Metode penetapan kadar polifenol dengan reagen Folin-Ciocalteau ...	11
2.8. Metode DPPH untuk pengukuran aktivitas antioksidan.....	12
2.9. Asam Galat.....	13
2.10. Vitamin C.....	15
2.11. Kromatografi Lapis Tipis KLT	16
2.12. Spektrofotometer UV- Vis	17
BAB III METODE PENELITIAN	19
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	19
3.1.1. Waktu	19

3.2.	Alat dan Bahan	19
3.2.1.	Alat.....	19
3.2.2.	Bahan	19
3.3.	Metode Penelitian.....	19
3.3.1.	Jenis Penelitian	19
3.3.2.	Definisi Operasional	19
3.3.3.	Sampel.....	20
3.3.4.	Teknik Pengumpulan Data.....	20
3.3.5.	Varibel Penelitian	21
3.3.6.	Teknik Analisis Data	21
3.4.	Prosedur Penelitian.....	21
3.4.1.	Pengambilan Sampel	21
3.4.2.	Determinasi Identifikasi Tumbuhan.....	22
3.4.3.	Ekstraksi menggunakan soxhlet.....	22
3.4.4.	Analisis Kualitataif	22
3.4.5.	Uji Kuantitatif.....	23
3.5.	Uji Validasi Metode Analisis	26
3.5.1.	Linearitas	26
3.5.2.	Presisi	27
3.5.3.	Akurasi	27
3.5.4.	LoD & LoQ	27
3.6.	Rancangan Penelitian	28
3.6.1.	Rancangan percobaan	28
3.7.	Skema Penelitian	29
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	30
4.1.	Determinasi Tanaman	30
4.2.	Kopi Luwak Asal Kampung Kopi Luwak.....	30
4.3.	Ekstraksi	31
4.4.	Uji Kualitatif.....	33
4.4.1.	Uji Kandungan Senyawa Polifenol dengan FeCl ₃	33
4.4.2.	Uji KLT.....	35
4.5.	Uji Kuantitatif.....	37
4.5.1.	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat	37
4.5.2.	Analisis Kadar Polifenol.....	37
4.5.3.	Uji Aktivitas Antioksidan	40
4.5.4.	Pengaruh Kadar Polifenol terhadap Aktivitas Antioksidan	44
4.6.	Validasi Metode Penentuan Kadar Polifenol	45

4.6.1. Linearitas	45
4.6.2. Presisi	46
4.6.3. Akurasi	47
4.6.4. LOD & LOQ Batas Deteksi (Limit of Detection, LOD) dan Batas Kuantifikasi (Limit of Quantification, LOQ)	47
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	49
5.1. Kesimpulan.....	49
5.2. Saran.....	49
DAFTAR PUSTAKA	50

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Tanaman Kopi Liberika	6
Gambar 2.2. Kotoran luwak.....	8
Gambar 2.3. Struktur kimia fenol	9
Gambar 2.4. Struktur radikal DPPH kimia antioksidan	9
Gambar 2.5. Reaksi reagen Folin-Ciocalteu dengan fenol	12
Gambar 2.6. Reduksi DPPH dari senyawa antioksidan.....	13
Gambar 2.7. Struktur Asam Galat.....	14
Gambar 2.8. Reaksi antara Asam Galat dengan Reagen Folin-Ciocalteu.....	14
Gambar 2.9. Struktur kimia vitamin C.....	15
Gambar 4.1. Kopi luwak liberika	31
Gambar 4.2. Kopi liberika	31
Gambar 4.3. Plat KLT dibawah sinar UV 366 nm.....	36
Gambar 4.4. Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat.....	37
Gambar 4.5. Kurva Standar Asam Galat.....	38
Gambar 4.6. Perbandingan kadar polifenol kopi luwak liberika dan kopi liberika.....	39
Gambar 4.7. Kurva Hubungan Konsentrasi Sampel dengan % Inhibisi	40
Gambar 4.8. Diagram Nilai IC ₅₀ pada Tiap Sampel	43
Gambar 4.9. Kurva Kalibrasi.....	45

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1. Kemampuan antioksidan	6
Tabel 2.2. Kategori kekuatan aktivitas antioksidan.....	13
Table 2.3. Skema penelitian.	29
Tabel 4.1. Hasil rendemen kopi luwak yang diperoleh	32
Tabel 4.2. Hasil Fitokimia Ekstrak Kopi dan Asam Galat.....	34
Tabel 4.3. Hasil perhitungan Rf	36
Tabel 4.4. Hasil Analisis Kadar Polifenol Ekstrak Kopi Luwak dan kopi biasa....	39
Tabel 4.5. Hasil perhitungan Presisi.....	46
Tabel 4.6. Data Akurasi.....	47
Tabel 4.7. Hasil LOD&LOQ	48

DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN 1 Surat Izin Penelitian.....	55
LAMPIRAN 2 Surat Pengantar Determinasi	56
LAMPIRAN 3 Surat Hasil Determinasi.....	57
LAMPIRAN 4 Sertifikat Bahan Pro-Analisis	58
LAMPIRAN 5 Dokumentasi Penelitian.....	61
LAMPIRAN 6 Perhitungan.....	63

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Sebagai negara yang berkedudukan strategis di garis khatulistiwa, Indonesia dianugerahi kekayaan alam yang melimpah. Potensi pertanian, perkebunan, dan perikanan yang dimiliki negara kepulauan ini telah menjadi tulang punggung perekonomian. Di antara komoditas perkebunan yang begitu beragam, kopi telah menjadi salah satu primadona. Varietas kopi Arabika, Robusta, dan Liberika yang tumbuh subur di berbagai wilayah Indonesia telah menjadikan negara ini sebagai salah satu penghasil kopi terbesar di dunia (Heriana dkk., 2023)

Pemilihan jenis kopi liberika untuk ditanam di lahan pilot-project merupakan pilihan yang tepat. Jenis kopi liberika relatif lebih tahan hama dibandingkan jenis arabika dan robusta, sesuai dengan ketinggian lahan Desa Prangat (400 - 700 mdpl). Metode fermentasi biji kopi liberika menggunakan bantuan hewan luwak, mampu memecah kadar protein dalam biji kopi, sehingga menghasilkan sajian minuman kopi yang rendah asam (Busyairi dkk., 2023).

Kopi luwak merupakan salah satu jenis kopi yang berasal dari Indonesia yang terkenal dengan keunikan proses pengolahannya. Kopi Luwak terbuat dari biji kopi terbaik yang dimakan luwak. Luwak sendiri hanya akan memakan biji kopi yang terbaik dan paling matang. Setelah dikonsumsi biji kopi merah akan mengalami fermentasi alami di saluran pencernaan luwak (W. I. Nasution & Jaya, 2023). Enzim pencernaan luwak dikatakan menghasilkan kopi dengan rasa yang tidak terlalu pahit, rendah kafein, dan disukai oleh pecinta kopi karena aroma dan rasa yang lembut (Hooper, 2022).

Menurut Aidillah dkk. (2021) biji hijau kopi liberika (yang belum disangrai) mengandung senyawa fenolik, ini menjadi alasan peneliti untuk meneliti salah satu kandungan yang mungkin terkandung dalam bubuk kopi liberika yaitu polifenol dan daya hambatnya terhadap radikal bebas (Aidillah dkk., 2021)

Polifenol adalah salah satu senyawa metabolik sekunder yang disintesis melalui metabolisme glukosa. Kelompok senyawa ini memiliki gugus hidroksil pada cincin benzene yang berperan sebagai antioksidan. Senyawa polifenol

memiliki daya antioksidan yang baik karena dapat memberikan elektronnya untuk menetralkan elektron radikal bebas yang terbentuk dalam tubuh, senyawa fenolik dari tanaman mempunyai kemampuan sebagai antioksidan, antiinflamasi, antiproliferasi, antimutagenik dan antimikrobia. Senyawa fenol juga memiliki peran dalam mencegah dan mengobati penyakit degeneratif, gangguan kognitif, kanker, penuaan dini dan gangguan sistem imun tubuh (Eklopas *et al.*, 2020).

Antioksidan merupakan molekul stabil yang mampu mendonorkan elektron dan mencegah reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas. Radikal bebas adalah molekul tidak stabil dengan elektron tidak berpasangan di orbital terluarnya. Tubuh kita dapat menghasilkan radikal bebas dari proses metabolisme, dan radikal bebas juga dapat diperoleh dari sinar UV, rokok, dan bahan kimia lainnya (Insanu dkk., 2021).

Penelitian yang dilakukan sebelumnya oleh Devi dkk. (2017) tentang aktivitas antioksidan dan kadar fenol berbagai ekstrak daun kopi, didapatkan hasil bahwa aktivitas antioksidan dan kadar fenol tertinggi terdapat pada ekstrak daun kopi Liberika tua (Devi dkk., 2017). Lalu penelitian yang dilakukan Putri. (2017) tentang analisis kadar polifenol dan uji aktivitas antioksidan pada aneka sajian minuman kopi robusta, melaporkan bahwa kadar polifenol pada sampel aneka minuman kopi secara berurutan dari yang terbesar yaitu kopi dengan penambahan gula+krimer $55,687 \pm 0,231$ mg GAE/g bubuk kopi dalam minuman kopi dengan penambahan gula dan krimer, kopi dengan penambahan gula+susu $52,822 \pm 0,129$ mg GAE/g bubuk kopi dalam minuman kopi dengan penambahan gula dan susu, kopi murni $52,206 \pm 0,436$ mg GAE/g bubuk kopi dalam minuman kopi murni, dan kopi dengan penambahan gula $50,352 \pm 0,326$ mg GAE/g bubuk kopi dalam minuman kopi dengan penambahan gula, Nilai IC_{50} sampel aneka minuman kopi dari yang terkecil yaitu kopi dengan penambahan gula+krimer $38,776 \pm 0,145$ μ g / ml, kopi dengan penambahan gula+susu $49,603 \pm 0,359$ μ g/ml kopi murni $51,872 \pm 0,158$ μ g / ml, dan kopi dengan penambahan gula $54,449 \pm 0,371$ μ g/ml (Putri dkk., 2017). Penelitian lainnya oleh Solikhati dkk. (2023) yang menganalisis potensi ekstrak kopi robusta sebagai antioksidan, menunjukkan bahwa ekstrak kopi robusta teridentifikasi mengandung senyawa fenolik alami yang bermanfaat bagi tubuh (Solikhati dkk., 2023). Sementara pada penelitian Putri., dkk tahun (2019)

yang membandingkan aktivitas antioksidan kopi robusta dan kopi luwak robusta dengan metode DPPH, menunjukkan hasil perbandingan aktivitas antioksidan yaitu oleh kopi robusta IC_{50} sebesar 50 ppm dengan kategori sangat kuat, kemudian kategori kuat oleh kopi luwak robusta sebesar 57 ppm, kategori sedang oleh ampas kopi robusta sebesar 72 ppm dan ampas kopi luwak robusta 208 ppm yang termasuk kategori antioksidan lemah (Putri dkk., 2019).

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah *soxhletasi*. Hasil penelitian (Puspitasari & Syam. (2017) menyatakan bahwa kadar fenolik total menggunakan metode sokletasi lebih besar dibandingkan metode maserasi dengan hasil kadar fenolik total metode maserasi adalah 1,163 QGA/g sedangkan metode sokletasi adalah 2,53 QGA/ g. Antioksidan dapat diteliti menggunakan beberapa metode yaitu metode FRAP, metode Cupra, dan metode *radical scavenger* (DPPH). Alasan peneliti menggunakan metode DPPH karena metode tersebut, mudah, cepat, sensitif, dan memerlukan sampel yang sedikit (Puspitasari & Syam., 2017). Mudah diaplikasikan karena senyawa radikal DPPH yang digunakan relatif stabil dibandingkan metode lainnya. (Virida dkk., 2022)

Berdasarkan latar belakang diatas maka perlu dilakukan Penentuan Kadar Polifenol Pada Biji Kopi Asal Kampung Kopi Luwak Marangkayu dan Daya Hamatnya Terhadap Radikal Bebas DPPH.

1.2. Identifikasi Masalah

- 1.2.1. Apakah ekstrak biji kopi luwak liberika dan ekstrak kopi liberika dari metode ekstraksi menggunakan soxhlet mengandung polifenol?
- 1.2.2. Berapakah kadar polifenol ekstrak biji kopi luwak liberika dan kopi liberika?
- 1.2.3. Berapakah nilai IC_{50} penghambatan terhadap radikal DPPH?

1.3. Tujuan Penelitian

- 1.3.1. Mengetahui kandungan polifenol secara kualitatif
- 1.3.2. Mengetahui kadar polifenol dalam ekstrak biji kopi luwak liberika dan kopi liberika dengan metode spektrofotometri UV-Vis
- 1.3.3. Mengetahui nilai IC_{50} penghambatan terhadap radikal DPPH.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Untuk Institusi

1. Sebagai tambahan referensi berkaitan dengan analisis kandungan polifenol dan daya hambatnya terhadap radikal bebas pada biji kopi luwak liberika dan kopi liberika
2. Menambah literatur ilmiah mengenai potensi kopi luwak sebagai sumber antioksidan alami.

1.4.2. Untuk Mahasiswa

1. Untuk menambah pengetahuan peneliti tentang metode metode dalam penetapan kadar polifenol dan uji aktivitas antioksidan.
2. Untuk memastikan bahwa biji kopi luwak liberika mengandung kadar polifenol dan daya hambatnya terhadap radikal bebas.

1.4.3. Untuk Masyarakat

1. Memberikan informasi yang lebih komprehensif mengenai kandungan polifenol pada biji kopi luwak liberika dan kopi liberika.
2. Untuk menjadi pedoman dasar pengembangan produk-produk baru berbasis kopi luwak yang lebih berkualitas dan bermanfaat bagi tubuh.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Uraian Tanaman

Kopi liberika diperkenalkan pada abad ke-19 sebagai solusi atas permasalahan hama yang menyerang tanaman kopi Arabika. Jika karakteristik kopi arabika memiliki rasa manis dan karamel, kopi robusta memiliki rasa pedas, dan tajam, maka kopi Liberika menyuguhkan pengalaman cita rasa yang berbeda, dengan aroma buah nangka yang khas dan ukuran biji yang lebih besar, kopi Liberika memiliki karakter yang lebih menonjol. Biji kopi yang biasanya dikonsumsi umumnya melewati proses pemanggangan, baik itu *light roast*, *medium roast*, maupun *dark roast*, akan sangat mempengaruhi profil rasa akhir dari setiap varietas kopi. Kopi medium roast, yang paling populer di kalangan penikmat kopi, mampu menyeimbangkan rasa manis, keasaman, dan dapat mempertahankan biji kopi yang telah disangrai (Insanu dkk., 2021)

Kopi liberika jika dikonsumsi, perlu melewati tahap penyangraian (*roasting*) pada suhu yang tepat untuk mengurangi kadar asam serta meningkatkan aroma kopi yang khas. Jenis kopi liberika merupakan jenis kopi terlangka jika dibanding dengan jenis Kopi Arabika dan Robusta, hal ini dikarenakan kualitas buah yang dihasilkan masih rendah dan tidak seragam (Mpapa, 2019). Produksi kopi jenis ini hanya 2% dari kopi dunia. Indonesia dan Malaysia memiliki areal pengembangan kopi Liberika yang cukup luas. kopi ini juga ditanam di Filipina dan Vietnam dalam jumlah terbatas (Dewi dkk., 2023).

Menurut Dinas Perkebunan Provinsi Jambi (2016) kedudukan tanaman kopi Liberika (*Coffea liberica var*) dalam sistematika tumbuhan (taksonomi) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Tracheophyta
Subdivisi : Spermatophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Gentianales
Famili : Rubiaceae

Genus : Coffea

Spesies : Coffea liberica.

Tanaman kopi liberika dapat dilihat pada gambar 2.1.



Gambar 2.1. Tanaman Kopi Liberika (Dokumentasi pribadi)

Telah dilakukan penelitian tentang potensi aktivitas antioksidan menggunakan metode peredaman DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidazil*) pada biji kopi liberika, biji kopi arabika, dan biji kopi robusta, dengan hasil yang tertera pada tabel 2.1. Kemampuan antioksidan dari biji kopi mentah (*green beans*), kopi liberika (*Coffea liberica*), biji kopi arabika (*Coffea arabica*), dan biji kopi robusta (*Coffea canephora*).

Ekstrak volatil	DPPH	
	AEAC	TEAC
Kopi arabika	0,57±0,10	0,89±0,14
Kopi liberika	0,62±0,05	0,96±0,08
Kopi robusta	0,50±0,04	0,78±0,04

Tabel 2. 1. Kemampuan antioksidan (Saw *et al.*, 2017)

Dari tabel 2.1. dapat dilihat bahwa jenis kopi liberika (*Coffea liberica*) memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dibandingkan dengan kedua jenis kopi lainnya, dimana biji kopi liberika (*green beans*) memiliki nilai AEAC

(*Ascorbic Acid Equivalent Antioxidant Capacity*) dan nilai TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*) tertinggi (Sharma, 2020).

2.1.1. Morfologi

Kopi liberika memiliki ciri khas tumbuh sebagai pohon yang tinggi, pertumbuhan yang kekar sangat kuat, daun tebal, tajuk lebar, buahnya berukuran lebih besar dengan kulit lebih tebal dibandingkan dengan buah kopi arabika maupun robusta (Dewi dkk., 2023). Bentuk biji membulat oval (panjang 0,83–1,10 cm, lebar 0,61 cm), dengan rendemen rata-rata 9,03%. Persentase biji normal berkisar 50– 80% (Haniefan & Basunanda, 2022). Temperatur yang baik untuk pertumbuhannya ada pada kisaran 27-30°C dengan curah hujan 1500-2500 mm per tahun. Kopi liberika bisa tumbuh dan berkembang pada tanah yang kurang subur. Tanaman ini bisa tumbuh di berbagai jenis tanah dan juga mampu bertahan terhadap kekeringan maupun lembab. Umumnya tanaman kopi membutuhkan karakteristik tanah gembur, subur, banyak mengandung humus, mempunyai tekstur yang baik dan pH tanah yang dibutuhkan tanaman kopi yaitu 5,5-5,6 (Bai *et all.*, 2022).

2.2. Kopi luwak

Kopi luwak berasal dari binatang luwak yang memakan buah kopi yang sudah matang dan manis. Dengan sangat cermat Luwak memilih buah kopi yang terbaik dan mengonsumsinya, Luwak hanya mengonsumsi gula, serat, dan vitamin dari kulit buah kopi yang dimakannya. Setelah Luwak mengunyah bagian luar buah, mereka akan menelan biji kopinya, namun luwak tidak dapat memproses biji kopi didalam lambungnya, sehingga biji kopi tersebut akan mengalami fermentasi dan keluar kembali bersama kotorannya (Andieni & Pitta Allagan, 2024). Kotoran luwak dapat dilihat pada gambar 2.2.

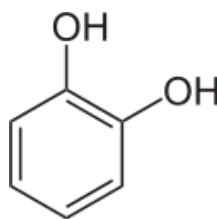


Gambar 2.2. Kotoran luwak (dokumentasi pribadi)

2.3. Polifenol

Polifenol adalah salah satu kategori senyawa fitokimia yang ditemukan dalam berbagai tumbuhan dan buah-buahan. Polifenol memiliki sifat-sifat yang memungkinkan mereka untuk mencegah, memperlambat, dan mengurangi reaksi oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas, dan karena itu polifenol berperan penting dalam mendukung kesehatan. Banyak tumbuhan yang dimanfaatkan sebagai sumber makanan kaya polifenol. Polifenol terdiri dari dua kata, yaitu "poli" dan "fenol," yang menggambarkan senyawa yang mengandung sejumlah gugus fenol. Secara murni, senyawa fenolik adalah padatan tak berwarna, namun jika teroksidasi, dapat berubah menjadi warna gelap. Tumbuhan mengandung berbagai jenis senyawa fenolik, termasuk fenol sederhana, antraquinon, asam fenolik, kumarin, flavonoid, lignin, dan tanin. Polifenol dikenal sebagai antioksidan alami karena kemampuannya sebagai agen pereduksi dan sumbangan atom hidrogen. Kadar polifenol dalam setiap bahan makanan atau buah cenderung beragam, tergantung pada pelarut dan konsentrasi sampel yang digunakan. Karena itu, perbandingan antara ekstraksi bahan alami dengan berbagai pelarut masih merupakan hal yang menantang (Febriana dkk., 2021).

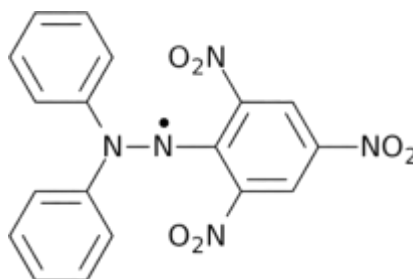
Polifenol adalah salah satu senyawa metabolik sekunder yang disintesis melalui metabolisme glukosa. Kelompok senyawa ini memiliki gugus hidroksil pada cincin benzene yang berperan sebagai antioksidan. Senyawa polifenol memiliki daya antioksidan yang baik karena golongan ini dapat memberikan elektronnya untuk menetralkan elektron radikal bebas yang terbentuk dalam tubuh (Eklopas *et al.*, 2020). Pada gambar 2.3. terdapat struktur kimia fenol.



Gambar 2.3 Struktur kimia fenol (Eklopas *et al.*, 2020)

2.4. Antioksidan dan Radikal bebas

Radikal bebas dapat diartikan sebagai suatu atom atau molekul yang mempunyai elektron tidak berpasangan. Dengan adanya elektron tidak berpasangan ini yang akan mengakibatkan suatu senyawa atau molekul menjadi lebih reaktif. Dengan cara melakukan penyerangan dan pengikatan elektron molekul yang berada disekitarnya guna untuk mencari pasangan. Ketika elektron telah berikatan dengan senyawa radikal bebas yang bersifat ionik akan menimbulkan dampak yang tidak begitu berbahaya. Namun, saat elektron berikatan dengan senyawa radikal bebas yang memiliki ikatan senyawa kovalen akan memberikan dampak yang sangat berbahaya, hal ini dikarenakan adanya ikatan yang digunakan secara bersama-sama pada orbital terluarnya (Hasanah dkk., 2017). Tahap pembentukan radikal bebas meliputi Inisiasi (Pembentukan awal radikal bebas), Propagasi (Pembentukan atau Perambatan Radikal Baru) dan Termiasi (tahap diakhirinya reaksi radikal bebas) (Yuslianti, 2018), Secara teori radikal bebas bisa terbentuk jika terdapat pemisahan ikatan kovalen, dengan sifat radikal bebas yang aktif dan bergerak secara tidak beraturan yang berada pada tubuh makhluk hidup akan menimbulkan penyakit degeneratif seperti katarak, penuaan dini, rematik, liver serta penyakit jantung coroner (Mirwa dkk., 2023). Struktur radikal DPPH kimia antioksidan dapat dilihat pada gambar 2.4.



Gambar 2. 4. Struktur radikal DPPH kimia antioksidan (Wulandari dkk., 2020)

Antioksidan adalah molekul atau senyawa yang cukup stabil untuk mendonorkan elektron atau hidrogennya kepada molekul atau senyawa radikal bebas dan menetralkannya, sehingga mengurangi kemampuannya untuk melakukan reaksi berantai radikal bebas. Antioksidan ini menunda atau menghambat kerusakan sel terutama melalui sifat penangkal radikal bebasnya. Antioksidan ini aman dapat berinteraksi dengan radikal bebas dan menghentikan reaksi berantai, serta mencegah radikal bebas merusak molekul vital. Selama metabolisme normal dalam tubuh, beberapa antioksidan diproduksi seperti *glutathione*, *ubiquinol*, dan asam urat. Antioksidan lain ditemukan dalam bahan makanan. Meskipun ada beberapa sistem enzim dalam tubuh yang menangkap radikal bebas, namun mikronutrien utama antioksidan antara lain adalah vitamin E (*α-tocopherol*), vitamin C (asam askorbat), dan β-karoten, ada juga beberapa senyawa metabolik sekunder seperti senyawa fenolik, senyawa flavonoid atau asam organik yang dapat kita peroleh dari tumbuh-tumbuhan (Ibroham dkk., 2022).

Antioksidan terdiri dari 3 jenis, yaitu:

1. Antioksidan primer

Antioksidan primer ini berfungsi mencegah pembentukan radikal bebas. Yang termasuk antioksidan primer, misalnya transferin, feritin dan albumin.

2. Antioksidan sekunder

Antioksidan ini berfungsi menangkap radikal bebas. Fungsi lain dari antioksidan sekunder adalah menghentikan pembentukan radikal bebas. Yang termasuk dalam antioksidan sekunder, misalnya *glutathion peroxidase (GPx)*, *superoxide dismutase (SOD)*, vitamin C, vitamin E dan karoten.

3. Antioksidan tersier

Antioksidan tersier ini berfungsi memperbaiki jaringan tubuh yang rusak oleh radikal bebas (Parwata. 2016)

2.5. Metode Soxhletasi

Metode Soxhlet adalah suatu metode analisis kadar lemak dengan prinsip pelarut pengestrak yang ada di dalam labu soxhlet dipanaskan sesuai dengan titik didihnya sehingga menguap dan mengekstraks lemak yang ada di dalam sampel, ekstrak yang terkumpul dipanaskan lagi sehingga pelarutnya akan menguap kembali dan lemak akan tertinggal pada labu (Sulastri dkk., 2023).

Sokletasi dilakukan dengan cara pemanasan pelarut. Uap pelarut yang dihasilkan mengalami pendinginan dalam kondensor dan secara kontinyu akan membasahi sampel kemudian secara teratur pelarut tersebut dimasukkan kembali ke dalam labu dengan membawa analit. Proses ini berlangsung kontinyu. Pelarut yang digunakan dapat diuapkan kembali dan dipisahkan dari analit (Leba, 2017).

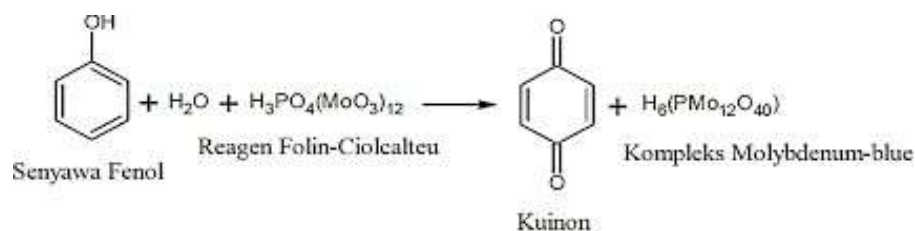
2.6. Pelarut

Ekstraksi senyawa bioaktif dari bahan tanaman biasanya dilakukan dengan menggunakan pelarut tunggal atau campuran dua pelarut. Pelarut yang paling umum digunakan adalah air, etanol, dan metanol, serta campuran biner air dengan alkohol, pada rasio yang bervariasi. Ini telah terbukti menjadi cara yang efisien untuk mengekstrak polifenol dari spesies tanaman, terutama bentuk aglikon yang sangat terhidroksilasi dari senyawa fenolik yang sangat larut dalam pelarut air, etanol, dan metanol, serta campuran biner air, menurut penelitian Dimitrios *et al.*, (2023) tentang mengevaluasi efisiensi ekstraksi berturut-turut dengan beberapa pelarut dengan hasil khusus ekstrak etanol menunjukkan kandungan polifenol tertinggi sedangkan ekstrak aseton menunjukkan kandungan flavonoid tertinggi. Baik ekstrak etanol maupun ekstrak air menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi.

2.7. Metode penetapan kadar polifenol dengan reagen Folin-Ciocalteu

Uji penentuan kadar fenolat total dengan menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu (F-C) (molibdotungstosfosfotungstat heteropolianion $3\text{H}_2\text{O}-\text{P}_2\text{O}_5-13\text{WO}_3-5\text{MoO}_3-10\text{H}_2\text{O}$) bereaksi dengan senyawa fenolat menghasilkan warna biru $[(\text{PMoW}_{11}\text{O}_4)^{4-}]$ yang dapat diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum. Persiapan sampel, yang mencakup ekstraksi sampel dari bentuk padat atau cair, pelarut yang sering digunakan dalam ekstraksi

meliputi etanol, metanol, dan aseton. Prinsip dari metode ini adalah terbentuknya senyawa kompleks molibdenum tungsten berwarna biru yang dapat diukur absorbansinya dengan spektrofotometer. Senyawa fenolik bereaksi dengan reagen Folin-Ciocalteu hanya dalam suasana basa agar terjadi disosiasi proton pada senyawa fenolik menjadi ion fenolat untuk membuat suasana basa digunakan Na₂CO₃. Jika pada sampel terdapat konsentrasi senyawa fenolik yang besar maka semakin besar pula ion fenolat mereduksi fosfomolibdat fosfotungstat menjadi kompleks molibdemim tungsten yang ditunjukkan warna biru yang semakin pekat. Warna biru pada larutan disebabkan karena logam molibdenum (Mo(VI)) pada senyawa kompleks bereaksi tereduksi menjadi Mo(V) dengan adanya donor elektron oleh antioksidan. Semakin intensitas warna biru yang dihasilkan, semakin tinggi kandungan fenol pada sampel (Febriana dkk., 2021). Sebagai larutan baku standar biasa digunakan asam galat atau asam kafeat. Kadar fenolat total dihitung menggunakan asam galat sebagai baku standar, sehingga hasilnya menggunakan satuan mg ekuivalen asam galat per g ekstrak (Vázquez *et al.*, 2015). Reaksi reagen Folin-Ciocalteu dengan fenol dapat dilihat pada gambar 2.5.

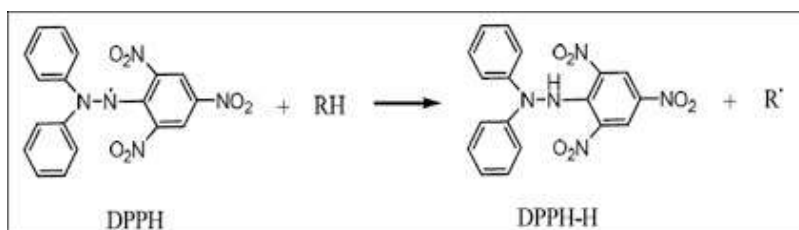


Gambar 2.5.. Reaksi reagen Folin-Ciocalteu dengan fenol (Vázquez *et al.*, 2015)

2.8. Metode DPPH untuk pengukuran aktivitas antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dapat dilakukan secara *in vitro* dengan metode DPPH. DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*) merupakan senyawa radikal bebas yang stabil dan berwarna ungu kehitaman. DPPH digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan melalui kemampuannya dalam menangkap radikal bebas. Aktivitas antioksidan diukur berdasarkan transfer elektron yang dilakukan oleh antioksidan. Semula DPPH yang berwarna ungu pekat memberikan serapan, namun setelah mengalami reduksi maka DPPH akan berubah warna yang akan berangsurangsur memudar menjadi warna kuning dan nilai serapannya akan sebanding dengan jumlah elektron yang diterima. Metode DPPH memiliki

keunggulan yaitu metode analisisnya yang bersifat sederhana, cepat, mudah dan sensitiv terhadap sampel dengan konsentrasi yang kecil namun pengujian menggunakan DPPH terbatas karena hanya dapat dilarutkan dalam pelarut organik sehingga agak sulit untuk menganalisis senyawa yang bersifat hidrofilik (Wulansari dkk.,2018). Pada gambar 2.6. terdapat struktur reduksi DPPH dari senyawa antioksidan



Gambar 2.6 Reduksi DPPH dari senyawa antioksidan (Virda, dkk. 2022)

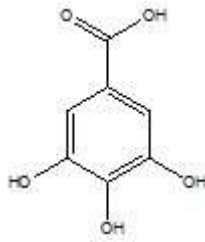
Prinsip dari metode ini adalah terjadinya donasi atom hidrogen (H+) dari zat yang diuji kepada radikal DPPH menjadi senyawa non radikal yaitu difenil pikril hidrazin yang akan ditandai dengan adanya perubahan warna. Perubahan warna yang terjadi adalah perubahan warna dari ungu menjadi kuning, dimana intensitas perubahan warna DPPH berbanding lurus dengan aktivitas antioksidan untuk mereduksi radikal bebas tersebut (Virda dkk.,2022). Kategori penentuan kekuatan aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Tabel 2.2.

No	IC ₅₀ (bpj)	Antioksidan
1	< 50	Sangat kuat
2	50 – 100	Kuat
3	101 – 150	Sedang
4	151 – 200	Lemah

Tabel 2.2 Kategori kekuatan aktivitas antioksidan (Nasution dkk., 2015)

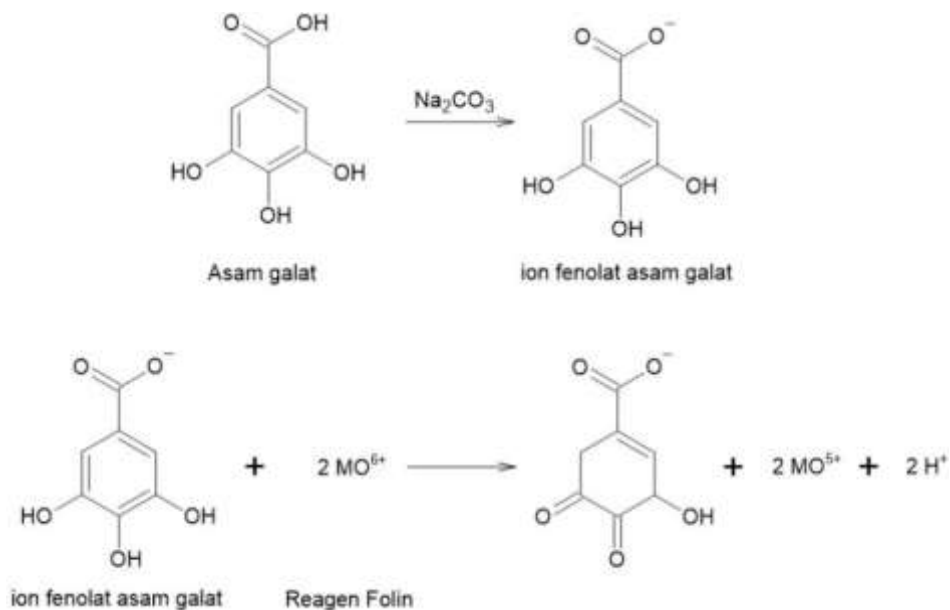
2.9. Asam Galat

Asam galat (*3,4,5-trihidroksi benzoic acid*) merupakan salah satu senyawa fenol yang memiliki aktivitas antijamur, antivirus dan antioksidan. Asam galat merupakan salah satu senyawa aktif yang banyak dimanfaatkan di bidang medis. Senyawa ini terdapat pada tanaman sebagai metabolit sekunder (Junaidi & Anwar, 2018). Struktur asam galat dapat dilihat pada gambar 2.7.



Gambar 2.7. Struktur Asam Galat (Junaidi & Anwar, 2018)

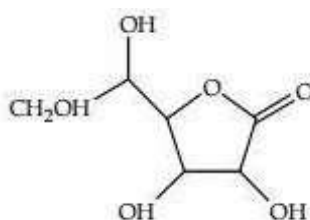
Kurva standar asam galat diperlukan untuk menentukan konsentrasi asam galat di dalam larutan sampel yang diuji. Diperlukan reagen *Folin-Ciocalteu* untuk pembentukan kompleks warna yang kemudian ditentukan intensitas warnanya. Reaksi yang terjadi antara asam galat dengan reagen *Folin-Ciocalteu*, dimana reagen *Folin-Ciocalteu* mengoksidasi fenolat (garam alkali) atau gugus fenolik-hidroksi untuk mengurangi asam heteropoli (*phosphomolybdate-phosphotungstate*), yang terdapat dalam reagen *Folin-Ciocalteu*, menjadi kompleks molybdenum-tungsten yang berwarna hijau kebiruan. Na_2CO_3 ditambahkan karena senyawa fenolik hanya dapat bereaksi dengan reagen *Folin-Ciocalteu* dalam kondisi alkali sehingga proton dalam senyawa fenolik berdisosiasi menjadi ion fenolik. Semakin besar konsentrasi senyawa fenolik, semakin banyak ion fenolik mengurangi asam heteropoli (Martono *et al.*, 2019)



Gambar 2.8. Reaksi antara Asam Galat dengan Reagen *Folin-Ciocalteu* (Martono *et al.*, 2019)

2.10. Vitamin C

Vitamin C atau L-asam askorbat merupakan antioksidan yang larut dalam air (*aqueous antioxidant*). Vitamin C merupakan bagian dari sistem pertahanan tubuh terhadap senyawa oksigen reaktif dalam plasma dan sel. Vitamin C bersifat asam dengan berat molekul 176,13 dan molekul $C_6H_8O_6$ dan berbentuk kristal putih yang dapat larut dalam air dan terasa asam serta tidak berbau (Dianatasya, 2020). Vitamin C adalah salah satu zat gizi yang berperan sebagai antioksidan dan efektif mengatasi radikal bebas yang dapat merusak sel atau jaringan, termasuk melindungi lensa dari kerusakan oksidatif yang ditimbulkan oleh radiasi, juga merupakan antioksidan alami yang sering digunakan sebagai senyawa pembanding dalam pengujian aktifitas antioksidan, hal ini dikatakan karena senyawa antioksidan alami relatif aman dan tidak menimbulkan toksisitas, vitamin C lebih sering digunakan sebagai senyawa pembanding, dibanding dengan vitamin A dan vitamin E karena vitamin C lebih murah dan mudah didapati (Lung & Destiani, 2018). Pada Gambar 2.9. terdapat struktur kimia vitamin C.



Gambar. 2.9 struktur kimia vitamin C (Lung&Destiani,2018)

Vitamin C penting bagi kesehatan manusia, yaitu memberikan perlindungan antioksidan plasma lipid dan diperlukan untuk fungsi kekebalan tubuh termasuk leukosit, fagositosis, dan kemosistaksis, penekanan replikasi virus dan produksi interferon, status vitamin C seseorang sangat tergantung dari usia, jenis kelamin, asupan vitamin C harian, kemampuan absorpsi dan ekskresi, serta adanya penyakit tertentu. Vitamin C mempunyai peran penting terhadap tubuh manusia, dimana apabila tubuh manusia kekurangan vitamin C, maka akan timbul gejala penyakit seperti sariawan, nyeri otot, berat badan berkurang, lesu, dan sebagainya. Di dalam tubuh, vitamin C menjalankan fungsinya seperti dalam sintesis kolagen, pembentukan carnitine, terlibat dalam metabolisme kolesterol, menjadi asam

empedu, dan berperan penting dalam pembentukan neurotransmitter norepinefrin (Dianatasya, 2020).

2.11. Kromatografi Lapis Tipis KLT

Kromatografi merupakan suatu proses pemisahan senyawa kimia yang mana analit- analit dalam sampel terdistribusi antara dua fase yaitu fase diam dan gerak. Pemisahan dengan metode kromatografi lapis tipis melibatkan pemisahan terhadap campuran berdasarkan perbedaan sifat fisika dan kimia senyawa tersebut. Fase diam yang digunakan pada KLT memiliki peran sebagai penjerap dengan diameter partikel antara 10-30 μm . Semakin kecil ukuran partikel fase diam, maka semakin efisien kinerja KLT serta resolusinya semakin bagus. Fase diam yang sering digunakan adalah plat silika G60F254 yang bersifat asam. Plat ini akan berfluoresensi sinar UV pada panjang gelombang 254 nm, plat KLT diaktifkan dengan cara dipanaskan di dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit hal ini dilakukan untuk menghilangkan molekul-molekul air yang terikat dan mengaktifkan absorben (Puspita dkk., 2022). Fase gerak atau larutan pengembang biasanya menggunakan pelarut organik atau campuran organik-anorganik. Eluen ini akan mengelusi sampel berdasarkan sifat kepolarannya. Jika komponen kimia pada tumbuhan bersifat polar akan terserap atau tertahan pada plat, sedangkan komponen kimia pada tumbuhan yang bersifat nonpolar akan terus bergerak membentuk bercak yang kemudian nampak sebagai nilai *Retention Factor* (Rf). Harga Rf merupakan ukuran kecepatan migrasi suatu senyawa pada kromatogram. Rf dapat ditinjau dengan membandingkan antara jarak senyawa sampel dari titik awal dengan jarak tepi muka pelarut (Lestari dan Atun, 2019). Persamaan 2.1 untuk menghitung nilai Rf adalah sebagai berikut:

$$Rf = \frac{\text{jarak yang ditempuh senyawa terlarut}}{\text{jarak yang ditempuh}} \quad (2.1)$$

Nilai Rf yang diperoleh biasanya lebih kecil dari 1. Apabila nilai Rf kurang dari 0,2, menghasilkan bercak noda yang kurang simetris, maka dianggap belum terjadi kesetimbangan antara komponen yang terelusi dengan fase gerak dan fase diam. Pada nilai Rf lebih dari 0,8, bercak noda yang dihasilkan akan diganggu oleh

absorbansi pengotor lempeng plat KLT yang teramati pada visualisasi menggunakan lampu UV (Mukharomah, 2017).

2.12. Spektrofotometer UV- Vis

Spektrofotometer UV-Vis dapat digunakan untuk analisis kuantitatif dan analisis semikualitatif. Secara kuantitatif, spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk menentukan konsentrasi suatu larutan melalui absorbansi yang diperoleh kemudian dikonversikan berdasarkan persamaan garis lurus. Dalam hal ini, absorbansi linear atau sebanding dengan konsentrasi. Secara kualitatif, spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk mengetahui ada atau tidaknya ikatan tidak jenuh (gugus kromofor). Gugus kromofor dapat menyebabkan radiasi elektromagnetik pada panjang gelombang UV-Vis. Panjang gelombang dari daerah UV-Vis berada pada 400-800 nm (cahaya visible/tampak). Prinsip kerja dari spektrofotometer UV-Vis ialah penyerapan sinar tampak akibat interaksi antar cahaya dan materi sehingga terjadi eksitasi elektron pada orbital molekul. Ketika sinar ultraviolet dilewatkan pada kuvet, materi (larutan) akan terbaca serapannya pada panjang gelombang sinar tampak dalam satuan nm. Spektrofotometer UV-Vis didasarkan pada Hukum *Lambert-Beer*, yaitu linearitas antara absorbansi dan konsentrasi (Sastrohamidjojo, 2018).

Prinsip metode berdasarkan hukum *Lambert-Beer* yang menyatakan hubungan antara banyaknya sinar yang diserap sebanding dengan konsentrasi kontaminan pada pelarut, ditunjukkan pada persamaan 2.2.

$$A = \text{Log } I_0 / I \text{ atau } A = a \cdot B \cdot c \quad (2.2)$$

Keterangan:

A = absorbansi

a = koefisien serapan molar

B = tebal media cuplikan yang dilewati sinar

c = konsentrasi kontaminan dalam larutan

I_0 = Intensitas sinar mula-mula

I = Intensitas sinar yang diteruskan

Dari rumus diatas, dapat diaplikasikan dalam pengukuran kuantitatif dengan komparatif dengan membuat kurva kalibrasi dari hubungan konsentrasi deret larutan standart dengan nilai absorbansinya. Konsentrasi larutan ditentukan dengan mensubstitusikan nilai absorbansi larutan ke persamaan regresi kurva kalibrasi.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

3.1.1. Waktu

Penelitian dilakukan selama tiga bulan, dimulai dari Maret 2025 sampai dengan Mei 2025.

3.1.2. Tempat

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda.

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain spektrofotometer UV-Vis (LABSTAC), Soxhlet, oven, *vortex*, timbangan analitik, kuvet, *chamber*, lempeng silika gel GF₂₅₄, pipa kapiler, sinar ultraviolet 366 nm, pipet volum, labu takar, corong kaca, vial, dan seperangkat alat gelas.

3.2.2. Bahan

Bahan yang digunakan adalah bubuk kopi luwak liberika dan kopi liberika yang berasal dari marangkayu, etanol, asam galat, vitamin C, DPPH, metanol, kloroform, kertas saring, FeCl₃, larutan *Folin-Ciocalteu*, natrium karbonat 7.5%, aluminium foil, *aquadest*.

3.3. Metode Penelitian

3.3.1. Jenis Penelitian

Penetapan kadar polifenol dan daya hambat terhadap radikal bebas pada kopi luwak liberika menggunakan metode DPPH merupakan penelitian experimental laboratorium secara kuantitatif dan kualitatif.

3.3.2. Definisi Operasional

1. Kopi luwak liberika dan kopi liberika yang telah disangrai merupakan kopi yang didapatkan dari kampung kopi luwak marangkayu.

2. Polifenol merupakan salah satu metabolit sekunder yang terdapat pada biji kopi.
3. Aktivitas antioksidan adalah kemampuan suatu senyawa untuk meredam DPPH yang dinyatakan dengan nilai IC_{50} .
4. Uji Kualitatif merupakan metode untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada sampel ekstrak etanol kopi luwak dengan melakukan skrining fitokimia senyawa polifenol dan KLT.
5. Uji kuantitatif merupakan metode yang digunakan untuk mengidentifikasi kadar metabolit sekunder yang terkandung pada sampel ekstrak etanol kopi luwak liberika dan kopi liberika dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

3.3.3. Sampel

Sampel dalam penelitian ini menggunakan bubuk biji kopi luwak liberika dan kopi liberika yang diperoleh dari kampung kopi luwak marangkayu, kutai kartanegara, kalimantan timur.

3.3.4. Teknik Pengumpulan Data

3.3.4.1. Data Primer

Data yang diperoleh dengan menyiapkan bubuk kopi luwak liberika dan kopi liberika yang akan di uji di laboratorium Kimia STIKES Dirgahayu Samarinda dengan metode spektrofotometer UV-Vis.

3.3.4.2. Data Sekunder

Data sekunder diperoleh dari berbagai jurnal ilmiah, buku maupun literatur lain yang mendukung serta berkaitan dengan penelitian ini, sebagai acuan dalam rancangan penelitian.

3.3.5. Varibel Penelitian

3.3.5.1. Varibel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah kopi luwak liberika dan kopi liberika.

3.3.5.2. Vartabel terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar polifenol dan daya hambatnya terhadap radikal bebas pada ekstrak etanol kopi luwak liberika dan kopi liberika

3.3.5.3. Variabel terkendali

Variabel terkendali pada penelitian ini adalah cara penetapan kadar polifenol dan daya hambatnya terhadap radikal bebas pada kopi luwak liberika dan kopi liberika..

3.3.6. Teknik Analisis Data

Hasil penelitian dengan uji kualitatif berupa tabel dan gambar dari pengamatan perubahan yang terjadi dalam mereaksikan sampel. Hasil penelitian uji kuantitatif berupa nilai absorbansi dari sampel. Kadar sampel akan diketahui melalui perhitungan kurva baku yang diperoleh dari nilai $y = bx + a$, dimana y merupakan nilai absorbansi dan x adalah kadar yang terukur.

3.4. Prosedur Penelitian

3.4.1. Pengambilan Sampel

Mengumpulkan biji kopi dari kotoran luwak, mencuci bersih lalu dijemur selama 2 sampai 3 hari hingga kadar air tersisa kurang lebih 20% yang ditandai dengan pengelupasan sebagian kulit arinya dan warna biji kopi menjadi kekuningan, kemudian dilakukan pengelupasan sisa kulit ari baik dengan mesin maupun manual, setelah itu dilakukan penyortiran dari biji kopi yang berwarna kehitaman, kemudian dijemur kembali selama 1 hingga 2 hari sampai tersisa kadar air 12%, setelah itu dilakukan penyangraian, untuk pembuatan kopi luwak daerah marangkayu yaitu menggunakan mesin sangrai, setelah

disangrai kemudian digiling menggunakan mesin *grinder coffee* (Kusmiyati dkk., 2020).

3.4.2. Determinasi Identifikasi Tumbuhan

Tanaman kopi liberika dilakukan determinasi di Laboratorium Anatomi dan Sistematika Tumbuhan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mulawarman Samarinda. Hasil dari determinasi akan menyatakan bahwa spesies *Coffea liberica var.* atau bukan

3.4.3. Ekstraksi menggunakan soxhlet

Serbuk biji kopi diekstraksi dengan metode *soxhletasi* menggunakan etanol 96 %. Ditimbang masing-masing dari sampel kopi luwak liberika dan liberika sebanyak 25 gram dan dibungkus dengan kertas saring kemudian dimasukkan ke dalam ekstraktor *soxhlet*. Setelah itu, 750 mL etanol 96 % dimasukkan ke dalam labu alas bulat, dan ditambahkan batu didih. Perangkat *soxhlet* dipasang dan suhu diatur pada 78°C. Ekstraksi dilakukan selama ± 5 jam. Ekstrak yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan oven dengan suhu 45°C kemudian hasilnya disimpan pada vial untuk pengujian selanjutnya (Lau *et al.*, 2021).

3.4.4. Analisis Kualitatif

3.4.4.1. Uji Dengan Pereaksi FeCl₃

Uji tabung dilakukan dengan mengambil 1 ml dari sampel kopi luwak, ditambah dengan pereaksi FeCl₃ sebanyak 3 tetes, Hasil positif fenol jika terbentuk larutan berwarna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat (Nilma dkk., 2024).

3.4.4.2. Uji dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Masukkan eluen (kloroform:metanol) (7:3) ke dalam wadah 10ml. Disiapkan lempeng silika gel GF254 berukuran 7×4, diberi tanda batas atas 0,5 cm dan batas bawah 1 cm. Ekstrak kopi luwak dan baku asam galat ditimbang masing-masing 0,01 g, dilarutkan dengan 10 mL etanol lalu ditotolkan

pada lempengan klt yang telah di oven pada suhu 110°C, dimasukkan lempeng klt dalam *chamber* yang berisi eluen dan tunggu hingga proses elusi selesai.

Amati bercak yang ditotolkan di atas sumber sinar UV pada 366 nm lalu hitung Rf (Mindawati dkk., 2024).

3.4.5. Uji Kuantitatif

3.4.5.1. Penetapan Kadar Polifenol dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis

1. Pembuatan Larutan Baku Asam Galat.

Standar asam galat ditimbang sebanyak 50 mg, dilarutkan dengan *aquadest* ke dalam labu takar 100 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 500 mg/L, kemudian dilakukan pengenceran menggunakan labu ukur 50 mL sehingga konsentrasi larutan standar asam galat yaitu 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm.

2. Penetapan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan standar asam galat konsentrasi 500 ppm dipipet 0,3 mL, ditambahkan 1,5 mL reagen *Folin-Ciocalteu* 10% dan didiamkan selama 3 menit. Kemudian, ditambahkan 1,2 mL larutan Na₂CO₃ 7.5% Campuran dikocok sampai homogen dan diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Panjang gelombang maksimum dipilih dari spektrum pemindaian 400 hingga 800 nm (Martins & Monteiro, 2021)

3. Penentuan Kadar Polifenol dengan Spektrofotometer UV-Vis

Ekstrak etanol kopi luwak liberika dan kopi liberika, masing-masing ditimbang 20 mg dan dilarutkan dalam 100 mL *aquades* sehingga menghasilkan larutan dengan konsentrasi 200 ppm, lalu ditarik larutan dengan konsentrasi 200 ppm sebanyak 4,5 mL dimasukkan dalam labu 20 ml lalu ditambahkan 5,5 mL *folin-ciocalteu*, didiamkan selama 8 menit kemudian ditambahkan 5,2 mL

Na₂CO₃ 7,5% kemudian tambahkan *aquadest* hingga tanda batas dan diinkubasi selama 30 menit lalu diukur pada panjang gelombang maksimum (Sedjati, 2017).

Perhitungan kandungan fenolik total TPC (*Total Phenolic Conten*) untuk mengetahui jumlah kandungan fenolik dalam sampel menggunakan rumus pada persamaan 3.1. (Puspitasari, 2017).

$$TPC = \frac{C \times V \times X \times fp}{g} \quad (3.1)$$

Keterangan :

C = Konsentrasi fenolik (nilai X)

V = Volume ekstrak yang digunakan (ml)

fp = Faktor pengenceran

G = Berat sampel yang digunakan (g)

3.4.5.2. Pengujian Aktivitas Antioksidan secara Kuantitatif dengan DPPH.

1. Pembuatan larutan DPPH 0,05 mM

5 mg DPPH dilarutkan dengan etanol dalam labu ukur 250 mL sehingga diperoleh larutan DPPH 0,05 mM , kemudian dimasukkan dalam botol gelap agar terbebas dari cahaya matahari (Rizkayanti dkk., 2017).

2. Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Larutan DPPH 0,05 mM dipipet sebanyak 4 ml, kemudian dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur panjang gelombang maksimum menggunakan UV-Vis pada 450-650 nm (Muawanah & Rasyid, 2021).

3. Pembuatan larutan uji ekstrak etanol kopi 1000 ppm

Sebanyak 100 mg ekstrak etanol kopi luwak liberika dan kopi liberika masing-masing dilarutkan dalam 100 mL etanol sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm, lalu dibuat seri konsentrasi menjadi 40 ppm, 80 ppm, 120 ppm, 160 ppm dan 200 ppm dengan memipet larutan induk sebanyak 0,4 ; 0,8 ; 1,2 ; 1,6 dan 2 mL, masing-masing

larutan kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL lalu ditambahkan etanol hingga tanda batas. Setelah itu larutan dihomogenkan.

4. Pengukuran serapan larutan uji dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

Masing-masing seri konsentrasi larutan uji di pipet sebanyak 1 mL kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 3 mL larutan DPPH. Masing-masing larutan kemudian *divortex* selama 30 detik dan didiamkan selama 30 menit, selanjutnya diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm. Semua pengerjaan dilakukan dalam ruangan yang terhindar dari cahaya matahari.

5. Pembuatan larutan pembanding vit C

Sebanyak 25 mg vitamin C dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL kemudian ditambahkan etanol sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan induk vitamin C 1000 ppm. Selanjutnya larutan induk tersebut dibuat seri konsentrasi 40 ppm, 80 ppm, 120 ppm, 160 ppm dan 200 ppm, masing-masing larutan kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL dan dicukupkan volumenya sampai tanda batas. Setelah itu larutan dihomogenkan (Yuliani dkk., 2016).

6. Pengukuran serapan larutan pembanding vitamin C Spektrofotometri UV-Vis

Masing-masing seri konsentrasi larutan dari ekstrak kopi luwak liberika, kopi liberika dan pembanding vitamin C dipipet sebanyak 1 mL kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 3 mL larutan DPPH. Masing-masing larutan kemudian *divortex* selama 30 detik untuk menghomogenkan larutan dan diinkubasi selama 30

menit dalam keadaan gelap dan pada suhu ruang. Hal ini bertujuan untuk memberikan waktu senyawa antioksidan yang terkandung didalam larutan untuk bereaksi sempurna dengan DPPH. Selanjutnya diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm. Semua pengerjaan dilakukan dalam ruangan yang terhindar dari cahaya matahari (Rizkayanti dkk., 2017). Aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam satuan persen hambatan dihitung menggunakan rumus pada persamaan 3.2

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{ABS Blanko} - \text{ABS sampel}}{\text{ABS blanko}} \times 100\% \quad (3.2)$$

Keterangan:

Abs kontrol : Absorbansi pada DPPH tanpa sampel

Abs sampel : absorbansi pada DPPH setelah ditambah sampel

Kemudian hasil akhir menentukan IC₅₀% (*Inhibition Concentration* 50%) dengan persamaan regresi linier $y = bx + a$ dimana x merupakan konsentrasi (ppm) dan y merupakan persentase inhibisi (%) (Rizkayanti dkk., 2017).

3.5. Uji Validasi Metode Analisis

3.5.1. Linearitas

Linearitas, yaitu membuat larutan stok, larutan asam galat dengan konsentrasi 10; 20; 30; 40 dan 50 ppm. Kemudian dipipet 0,3 ml selanjutnya ditambahkan 1,5 ml reagen *Folin-Ciocalteu* 25 %, 1,2 ml natrium karbonat 5 % setelah itu diinkubasi selama 30 menit, absorbansi dari larutan pembanding diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 749 nm. Kurva kalibrasi dibuat kemudian ditentukan persamaan regresi linier serta koefisien korelasi untuk mengevaluasi linearitas. Berdasarkan nilai koefisien korelasi dapat diketahui linieritasnya baik atau tidak.

3.5.2. Presisi

Larutan baku asam galat 1000 ppm dibuat konsentrasi 10 ppm, selanjutnya larutan baku asam galat dengan konsentrasi 10 ppm tersebut didiamkan selama waktu *operating time*, dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 749 nm. Uji ketelitian ini dilakukan sebanyak 5 kali pengulangan. Uji presisi ditentukan dengan parameter RSD (*Relatif Standard Deviasi*) berdasarkan rumus pada persamaan 3.3

$$RSD = \frac{SD}{x} \times 100\% \quad (3.3)$$

Keterangan:

RSD = Standar deviasi relatif/Koefisien variasi (CV)

SD = Simpangan baku/standar defiasi

x = Kadar rerata

3.5.3. Akurasi

Sampel ekstrak biji kopi luwak ditambahkan asam galat baku sebanyak 20;30 dan 40 ppm dari rerata kadar asam galat yang terdapat pada sampel, dianalisis dengan prosedur yang sama seperti pada sampel. Hasil dinyatakan dalam persen perolehan kembali (% *recovery*). Dihitung % *recovery*. Rumus untuk akurasi ketepatan ditunjukkan pada persamaan 3.4.

$$Recovery = \frac{A1-A2}{B} \times 100\% \quad (3.4)$$

Keterangan:

A1 = Kadar analit sebelum penambahan Asam galat baku

A2 = Kadar analit yang diperoleh setelah penambahan Asam galat baku

B = Kadar Asam galat baku yang ditambahkan

3.5.4. LoD & LoQ

Batas deteksi dan batas kuantifikasi dapat dihitung secara statistik melalui regresi linier dari kurva kalibrasi dengan membuat larutan baku kerja dengan konsentrasi 10;20;30;40; dan 50 ppm lalu dipipet masing- masing 0,3 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 1,5 ml reagen *Folin Ciocalteau* 25 % dan digojog. Didiamkan selama 3 menit kemudian ditambah 1,2 ml larutan Natrium Karbonat 5 %, setelah itu diinkubasi selama 30 menit, absorbansi dari larutan

pembanding diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 749 nm. Setelah diukur absorbansinya kemudian dihitung nilai *Limit Of Detection* dan *Limit Of Quantitation* (Arikalang *et al.*, 2018). Rumus LoD pada persamaan 3.5 dan LOQ pada persamaan 3.6.

$$LoD \frac{3 \times SB}{Slope (b)} \quad (3.5)$$

LoD (*Limit of Detection*) atau batas deteksi merupakan jumlah terkecil dari analit yang terdapat di dalam sampel yang dapat dideteksi dan masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blangko.

$$LoQ \frac{10 \times SB}{Slope (b)} \quad (3.6)$$

LoQ (*Limit of Quantification*) atau batas kuantifikasi merupakan parameter pada analisis renik dan diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria ketelitian dan ketetapan.

3.6. Rancangan Penelitian

3.6.1. Rancangan percobaan

Pada penelitian ini dilakukan penetapan kadar polifenol dan daya hambatnya terhadap radikal bebas dalam biji kopi luwak liberika dan kopi liberika. Tahap pertama dilakukan yaitu pengambilan sampel, lalu preparasi sampel untuk membuat bubuk kopi, setelah itu dibuat larutan sampel dengan *soxhletasi* untuk penetapan kadar polifenol serta daya hambatnya terhadap radikal bebas, melalui uji kuantitatif dan uji kualitatif.

3.7. Skema Penelitian

Skema penelitian ditunjukkan pada tabel 3.1.

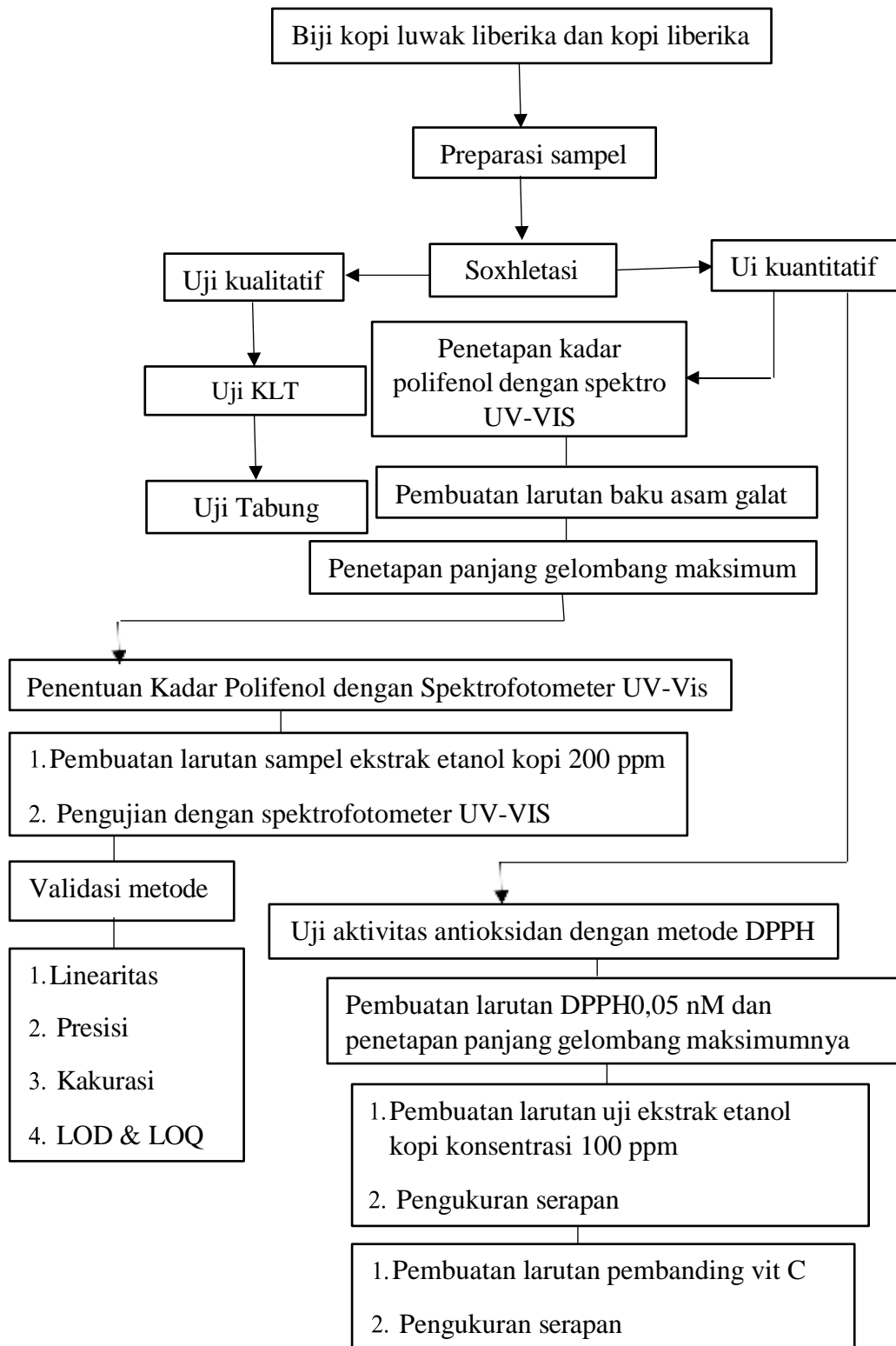


Table 2.3. Skema penelitian.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Determinasi Tanaman

Penelitian ini menggunakan sampel biji kopi luwak liberika dan kopi liberika yang berasal dari tanaman kopi yang dibudidayakan di Kampung Kopi Luwak, Marangkayu, Kabupaten Kutai Kartanegara, Kalimantan Timur. Hasil identifikasi secara morfologi menunjukkan bahwa sampel kopi yang dianalisis merupakan *Coffea liberica* baik dari aspek morfologi, karakteristik daun, buah, dan biji. Pohon yang lebih tinggi dan ukuran buah yang besar menjadi indikator penting untuk membedakan Liberika dari jenis kopi lainnya seperti Arabika dan Robusta.

4.2. Kopi Luwak Asal Kampung Kopi Luwak

Sampel yang diambil dalam penelitian ini adalah kopi luwak yang diperoleh dari Desa Prangat Baru yang merupakan satu dari sebelas desa di wilayah Kecamatan Marangkayu, Kabupaten Kutai Kartanegara. Desa Prangat Baru berada di wilayah perbukitan, dengan curah hujan 194,5 dan ketinggian 150 mdpl. Mayoritas penduduk berprofesi sebagai petani kebun dengan komoditas utama tanaman karet seluas 14 ha. Namun demikian, oleh karena harga jual karet mentah anjlok hingga mencapai angka Rp. 7.000 - Rp. 8.000/kg, mendorong para petani untuk berinovasi mencari komoditas tanaman perkebunan lain yang lebih menguntungkan. Pemberdayaan kelompok tani Kampung Kopi Luwak di Desa Prangat Baru melalui budidaya tanaman kopi liberika dengan fermentasi biji kopi secara alami oleh satwa luwak menjadi salah satu solusinya (Busyairi *et al.*, 2023).

Pada penelitian ini sampel yang digunakan berupa serbuk yang berasal dari biji kopi luwak liberika dan kopi liberika asal kampung kopi luwak yang *diroasting* dengan suhu 160°C selama 36 menit, sehingga menghasilkan biji kopi berwarna coklat kehitaman dengan tekstur pada kopi luwak liberika lebih licin dan bersih sedangkan kopi liberika biasa tekstur lebih kasar. Gambar kopi luwak liberika dan kopi liberika biasa yang telah melalui proses roasting dapat dilihat pada gambar 4.1 dan 4.2.



Gambar 4.1. Kopi luwak liberika
(Dokumentasi pribadi)



Gambar 4.2. Kopi liberika
(Dokumentasi pribadi)

4.3. Ekstraksi

Ekstraksi menggunakan *soxhletasi* berlangsung selama 6 jam yang dimana etanol akan menguap. Uap etanol akan terus naik sampai pada kondensor kemudian uapnya akan kembali mencair dan ditampung dalam ekstraktor yang berisi sampel yang dibungkus dengan kertas saring. Di dalam ekstraktor, etanol akan mengekstrak analit yang diinginkan. Regita, *et al* (2024) menyimpulkan bahwa metode *soxhletasi* lebih unggul dibandingkan maserasi dalam menghasilkan ekstrak dengan kandungan flavonoid yang lebih tinggi dari daun kluwih, dengan perolehan kadar total flavonoid pada metode maserasi adalah sebesar 23,0505 mg QE/g ekstrak, sedangkan dan metode *soxhletasi* mencapai 31,3333 mg QE/g ekstrak

Pada metode ini, lebih menghemat penggunaan pelarut karena ekstraksi terjadi berulang-ulang dengan pelarut yang sama maka proses ekstraksi semakin maksimal sehingga ekstrak yang diperoleh pun semakin banyak. Pelarut yang digunakan dalam proses *soxhletasi* adalah etanol 96% karena pelarut etanol bersifat universal, yaitu pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa organik yang ada pada sampel, baik senyawa polar maupun senyawa non polar. Semakin tinggi konsentrasi etanol yang digunakan maka semakin rendah tingkat kepolaran pelarutnya (Pharmacia *et al.*, 2023).

Menurut Muthia, *et al* (2019) ekstrak dengan pelarut etanol mempunyai kandungan fenolik yang lebih tinggi dibanding pelarut lainnya. Komponen fenolik secara umum lebih mudah untuk larut dalam pelarut organik yang memiliki polar sesuai prinsip "*like dissolve like*" yang dimana zat yang memiliki sifat polar akan melarutkan zat polar lainnya, dan zat nonpolar akan melarutkan zat nonpolar. Tingginya kelarutan senyawa fenolik dalam pelarut

etanol menyebabkan tingginya konsentrasi senyawa tersebut dalam ekstrak yang diperoleh dengan menggunakan pelarut etanol pada proses ekstraksi.

Proses pengentalan juga dilakukan menggunakan oven pada suhu 45°C. Pengentalan pada suhu rendah dan waktu yang cukup lama juga berperan penting dalam menjaga stabilitas senyawa fenolik yang rentan terhadap degradasi panas untuk mendapatkan ekstrak pekat (Lau *et al.*, 2021). Rendemen ekstrak mencerminkan perbandingan antara berat total ekstrak yang diperoleh dengan berat bahan awal sebelum proses ekstraksi dimulai. Rendemen ini menunjukkan sejauh mana komponen aktif berhasil diekstraksi dari bahan tersebut. Data hasil ekstraksi kopi luwak menggunakan pelarut etanol 96% dengan metode *soxhletasi* disajikan pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Hasil rendemen kopi luwak yang diperoleh

Sampel	Massa sampel	Warna ekstrak	Massa ekstrak	Persen rendemen
Bubuk kopi luwak liberika	25 gr	Coklat kehitaman	3,12 gr	12,48 %
Bubuk kopi liberika	25 gr	Coklat kehitaman	3,18 gr	12,72 %

Hasil rendemen dari suatu sampel sangat di perlukan untuk mengetahui jumlah ekstrak selama proses ekstraksi. Nilai rendemen yang tinggi menunjukkan banyaknya komponen senyawa aktif yang terkandung pada sampel serta semakin tinggi rendemen ekstrak maka semakin tinggi kandungan zat yang tertarik pada suatu bahan baku. Berdasarkan tabel 4.1 kedua ekstrak pekat yang diperoleh berwarna coklat kehitaman dengan tekstur yang kental dengan rendemen sebesar 12,48 % pada kopi luwak liberika dan 12,72% pada kopi liberika. Rendemen dikatakan baik jika nilainya lebih dari 10% (Maynita *et al.*, 2023). Oleh karena itu rendemen ekstrak yang didapatkan dinyatakan baik karena hasil ekstraksi diperoleh % rendemen lebih dari 10 %.





4.4. Uji Kualitatif

4.4.1. Uji Kandungan Senyawa Polifenol dengan FeCl_3

Senyawa fitokimia merupakan senyawa-senyawa yang dihasilkan dari sintesis tanaman, kebanyakan merupakan senyawa aktif yang memiliki fungsi fisiologi bagi tubuh. Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui metabolit sekunder dari tanaman. Beberapa jenis metabolit sekunder memiliki aktivitas antioksidan. Untuk memastikan biji kopi liberika mengandung senyawa kimia yang bersifat antioksidan maka dilakukan uji fitokimia.

Asam galat, yang merupakan senyawa fenolik sederhana, akan bereaksi dengan FeCl_3 , reagen ini berfungsi mendeteksi keberadaan gugus fenolik melalui pembentukan kompleks berwarna antara ion Fe^{3+} dan gugus $-\text{OH}$ aromatik pada senyawa fenol. Ketika reagen ini ditambahkan ke larutan yang mengandung senyawa fenolik, akan terjadi perubahan warna sebagai hasil reaksi kompleksasi logam dengan gugus fenol. Pada asam galat, menghasilkan kompleks berwarna hijau tua, biru tua, ungu tua dan hitam (Walid & Putri, 2023). Pada sampel kopi, hasil dikatakan positif jika terjadi perubahan warna yang sama atau mirip dengan asam galat, yang dimana menunjukkan adanya senyawa polifenol (Froehner *et al.*, 2023). Pada tabel 4.2 terdapat hasil uji fitokimia dari sampel dan baku.

Tabel 4.2. Hasil Fitokimia Ekstrak Kopi dan Asam Galat

Sampel Uji	Sebelum ditambahkan FeCl_3	Sesudah ditambahkan FeCl_3	Hasil
Kopi + FeCl_3			+
Asam galat + FeCl_3			+

Pada tabel 4.2. pengujian terhadap senyawa baku asam galat, hasil menunjukkan adanya perubahan warna dari bening menjadi ungu kehitaman. Warna ini merupakan ciri khas dari reaksi positif terhadap senyawa fenolat dengan struktur aromatik yang memiliki beberapa gugus hidroksil. Asam galat sendiri adalah salah satu asam fenolat sederhana yang memiliki tiga gugus $-\text{OH}$ pada cincin benzena, sehingga reaktif terhadap ion Fe^{3+} dan menghasilkan kompleks berwarna pekat.

Sementara itu, ekstrak kopi menunjukkan perubahan warna dari coklat menjadi hijau kehitaman setelah diberi tetesan larutan FeCl_3 . Perubahan warna ini juga menandakan reaksi positif terhadap polifenol, namun warna yang dihasilkan berbeda dengan asam galat. Hal ini disebabkan oleh perbedaan jenis dan keragaman senyawa polifenol yang terdapat di dalam ekstrak kopi. Tidak seperti asam galat yang merupakan senyawa tunggal, ekstrak kopi mengandung campuran berbagai polifenol seperti asam klorogenat, asam kafeat, dan flavonoid

lain yang memiliki struktur berbeda. Struktur-struktur ini berpengaruh terhadap jenis kompleks yang terbentuk dan, akibatnya, terhadap warna akhir yang dihasilkan dalam reaksi dengan FeCl_3 .

Perbedaan warna tersebut mencerminkan perbedaan struktur kimia senyawa fenolik dalam kedua sampel. Asam galat, dengan struktur yang lebih sederhana dan terdefinisi, memberikan warna ungu kehitaman yang lebih spesifik, sedangkan ekstrak kopi yang mengandung campuran senyawa fenolik dengan struktur lebih kompleks dan beragam, menghasilkan warna hijau kehitaman yang khas. Reaksi yang terjadi secara umum melibatkan pembentukan kompleks koordinasi antara ion Fe^{3+} dengan gugus $-\text{OH}$ fenolik, yang bersifat khelat dan menghasilkan warna tergantung pada pola substitusi dan konjugasi elektron dalam molekul fenol.

4.4.2. Uji KLT

Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan salah satu metode pemisahan yang digunakan secara luas dalam analisis kualitatif senyawa, termasuk identifikasi golongan senyawa fenolik seperti asam galat. Fase gerak (eluen) yang digunakan adalah campuran kloroform:metanol dengan perbandingan 7:3. Campuran ini termasuk dalam sistem pelarut semi-polar, yang secara efektif dapat memisahkan senyawa fenolik karena mampu melarutkan senyawa polar (asam galat) namun juga memberikan polaritas menengah yang memungkinkan pergerakan senyawa di sepanjang lempeng. Dalam kondisi ini, kloroform bertindak sebagai pelarut utama (kurang polar) dan metanol menambah sedikit polaritas untuk mendorong senyawa polar agar bergerak lebih jauh di lempeng (Pratiwi *et al.*, 2023).

Pengembangan dilakukan dalam chamber tertutup berisi 10 mL pelarut eluen, yang telah jenuh sebelumnya. Uap pelarut yang memenuhi chamber penting untuk menjaga kestabilan sistem dan mencegah pelarut menguap terlalu cepat saat bergerak di sepanjang lempeng. Sampel ekstrak dan standar (asam galat) ditotolkan pada garis

awal (baseline). Observasi dengan lampu UV pada panjang gelombang 366 nm dapat dilihat pada gambar 4.2.



Gambar 4.3. Plat KLT dibawah sinar UV 366 nm

Keterangan:

B : Asam galat

S : Sampel kopi

Tabel 4.3. Hasil perhitungan Rf

Bahan	Rf
Asam galat (B)	0,8
Ekstrak kopi luwak liberika (S)	0,76

Berdasarkan kriteria yang umum digunakan dalam analisis KLT, nilai Rf yang baik dan ideal untuk identifikasi senyawa berkisar antara 0,2 hingga 0,8 cm (Muawanah & Rasyid, 2021). Rentang ini dianggap memberikan pemisahan yang optimal antara senyawa target dan senyawa lainnya yang mungkin terdapat dalam campuran, serta meminimalkan kesalahan dalam pembacaan posisi bercak. Dari tabel 4.4 nilai Rf asam galat sebesar 0,80 berada tepat di batas atas rentang yang disarankan. Di sisi lain, nilai Rf senyawa dalam sampel ekstrak kopi sebesar 0,74 berada dalam kisaran ideal dan relatif dekat dengan nilai Rf dari senyawa baku. Kedekatan nilai Rf antara sampel dan baku ini menunjukkan adanya kemungkinan bahwa senyawa yang terdapat dalam ekstrak kopi memiliki kesamaan karakteristik polaritas dan struktur dengan asam galat. Secara keseluruhan, hasil KLT menunjukkan bahwa nilai Rf ekstrak kopi yang mendekati nilai Rf asam galat berada dalam rentang yang sesuai dengan kriteria nilai Rf

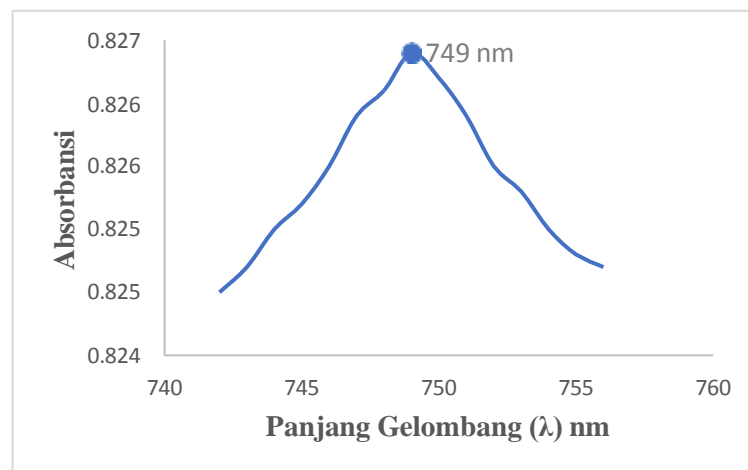
yang baik. Hal ini menunjukkan bahwa metode KLT yang digunakan cukup efektif untuk memberikan indikasi awal keberadaan asam galat dalam ekstrak kopi.

Hasil KLT menunjukkan selisih nilai R_f sebesar 0,04, yang memenuhi kriteria identifikasi senyawa berdasarkan batas maksimal selisih $R_f \leq 0,05$ (Laksono & Hayati, 2021). Hal ini menandakan bahwa sampel positif terdapat kandungan polifenol.

4.5. Uji Kuantitatif

4.5.1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat

Penentuan panjang gelombang maksimum bertujuan untuk menentukan absorbansi maksimum yang nantinya panjang gelombang ini digunakan untuk menentukan kadar polifenol (Listiana *et al.*, 2022). Hasil panjang gelombang maksimum dari baku asam galat adalah 749 nm dengan absorbansi 0,8264, yang dimana hasil tersebut masih masuk dalam rentang panjang gelombang maksimum yaitu 400-800 nm. Hasil pengukuran panjang gelombang asam galat dapat dilihat pada gambar 4.4.



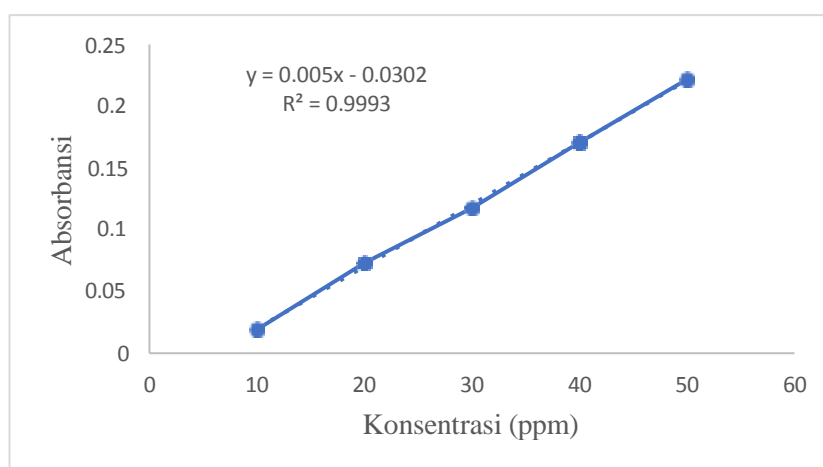
Gambar 4.4. Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat

4.5.2. Analisis Kadar Polifenol

Polifenol merupakan senyawa bioaktif yang memiliki banyak manfaat bagi kesehatan manusia dan tidak toksik (Rasouli *dkk.*, 2017). Penentuan kadar total fenolik pada penelitian ini digunakan asam galat sebagai larutan standar. Hal tersebut dikarenakan asam galat merupakan

senyawa fenolik yang stabil dan tersedia dalam keadaan murni (Syarif dkk., 2016).

Asam galat digunakan sebagai larutan standar dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40 dan 50 ppm kemudian direaksikan dengan Folin Ciocalteu dan Na_2CO_3 . Larutan standar dan ekstrak etanol kopi diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 749 nm. Kurva kalibrasi asam galat menghasilkan persamaan linear $y = 0,005x - 0,0302$ dengan $R^2 = 0,9993$ yang dapat dilihat pada gambar 4.5.



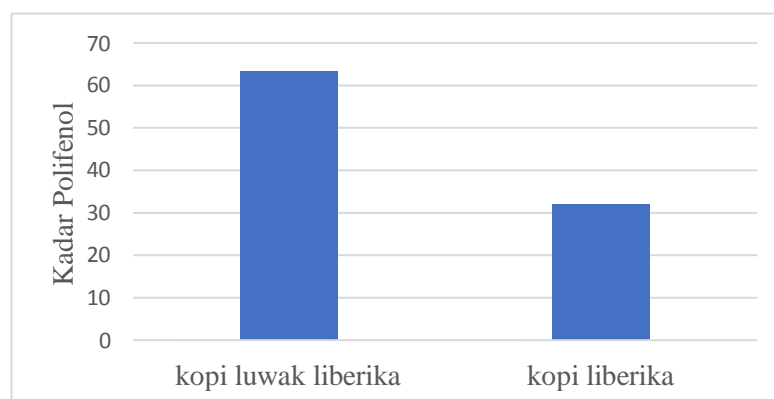
Gambar 4.5. Kurva Standar Asam Galat

Kadar polifenol adalah ukuran konsentrasi senyawa polifenol yang terdapat dalam suatu bahan, biasanya dinyatakan dalam satuan mg GAE/g (*miligram Gallic Acid Equivalent* per gram sampel). Satuan ini menunjukkan berapa banyak senyawa polifenol yang setara dengan asam galat (*gallic acid*), yang digunakan sebagai standar dalam pengukuran kadar polifenol total (Tahir dkk., 2017). Kadar total polifenol ekstrak kental biji kopi luwak dan ekstrak kental kopi biasa dari hasil sokhletasi dapat dilihat pada tabel 4.4.

Tabel 4.4. Hasil Analisis Kadar Polifenol Ekstrak Kopi Luwak dan kopi biasa

Sampel	Replik	Kons. (mg/L)	Rata-rata (mg/L)	Kadar polifenol (mg GAE/g)
Ekstrak kopi luwak liberika	1	79,14	79,13	63,30
	2	79,14		
	3	79,12		
Ekstrak kopi liberika	1	39,82	39,92	31,9
	2	39,94		
	3	40,02		

Hasil analisis kadar polifenol pada tabel 4.4 menunjukkan adanya perbedaan antar ekstrak kopi luwak liberika dengan kopi liberika yang dimana ekstrak kopi luwak liberika memiliki kadar polifenol yang lebih tinggi yaitu 63,30 mg GAE/g dibandingkan dengan kopi liberika 31,9 mg GAE/g pada kopi biasa. Diagram perbandingan kadar polifenol kopi luwak dan kopi biasa dapat dilihat pada gambar 4.6.



Gambar 4.6. Perbandingan kadar polifenol kopi luwak liberika dan kopi liberika

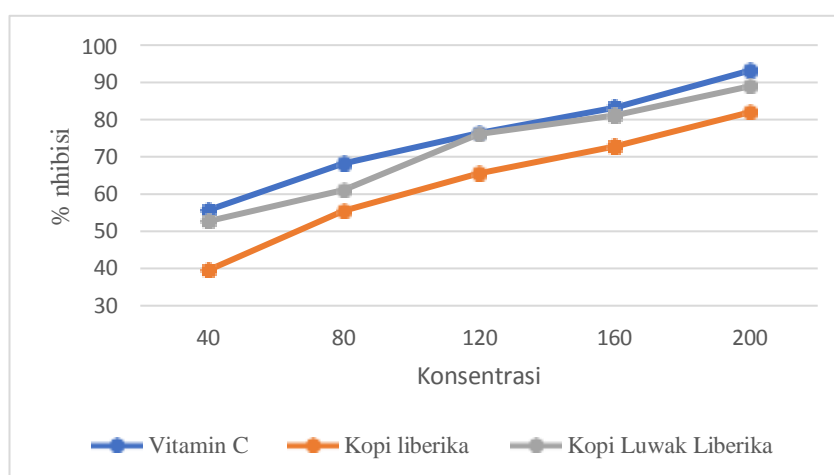
Nilai kadar polifenol pada kopi luwak liberika dua kali lebih tinggi dibandingkan kopi liberika biasa. Salah satu alasan utama yang menjelaskan mengapa kopi luwak memiliki kadar polifenol lebih tinggi terletak pada proses fermentasi biologis yang terjadi dalam saluran pencernaan luwak sebelum proses sangrai dilakukan. Saat hewan luwak memakan buah kopi, biji kopi akan melalui fermentasi alami di dalam saluran pencernaannya, yang mengandung berbagai enzim seperti protease, amilase, serta mikroorganisme endogen. Proses ini

menyebabkan terjadinya degradasi pada komponen lapisan luar biji kopi, khususnya lapisan mukilago dan pericarp yang mengandung polisakarida kompleks. Selama fermentasi, terjadi hidrolisis dinding sel yang menyebabkan pelepasan senyawa fenolik dari bentuk terikat menjadi bentuk bebas, sehingga meningkatkan ketersediaan hayati dan kemudahan ekstraksi senyawa tersebut.

4.5.3. Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan biji kopi luwak dan kopi biasa dilakukan menggunakan metode DPPH. Prinsip kerja metode ini adalah adanya atom hidrogen dari senyawa antioksidan yang berikatan dengan elektron bebas pada radikal bebas sehingga berubah menjadi senyawa nonradikal. Hal tersebut ditandai dengan perubahan warna dari ungu (violet) menjadi kuning (Setiawan dkk., 2018). Perubahan intensitas warna yang semakin pucat (ungu pudar - kuning - bening) juga diikuti dengan penurunan absorbansi DPPH (Bayani, 2016).

Perubahan warna serupa juga terjadi pada penelitian ini saat dilakukan reaksi antara ekstrak dan vitamin C dengan radikal DPPH. Hal ini mengindikasikan bahwa dalam ekstrak kopi dan vitamin C terdapat senyawa fenolik sebagai antioksidan yang mampu mereduksi radikal DPPH. Hubungan antara konsentrasi sampel dengan % inhibisi dapat dilihat pada gambar 4.7.



Gambar 4.7. Kurva Hubungan Konsentrasi Sampel dengan % Inhibisi

Hasil perhitungan % inhibisi antara ekstrak biji kopi luwak liberika, biji kopi liberika biasa, dan vitamin C pada konsentrasi 200 ppm menunjukkan perbedaan yang cukup mencolok dalam aktivitas antioksidan masing-masing sampel. Vitamin C menunjukkan nilai inhibisi tertinggi yaitu sebesar 93,19%, diikuti oleh ekstrak kopi luwak liberika sebesar 88,96%, dan yang paling rendah adalah ekstrak kopi liberika biasa dengan nilai 81,98%. Perbedaan ini memberikan indikasi yang jelas mengenai variasi kekuatan antioksidan yang dimiliki oleh masing-masing sampel, yang erat kaitannya dengan komposisi kimia dan proses pascapanen yang dialami biji kopi sebelum dilakukan ekstraksi.

Tingginya persentase inhibisi vitamin C sangat wajar karena merupakan senyawa antioksidan murni dengan struktur kimia yang sangat reaktif terhadap radikal bebas. Vitamin C atau asam askorbat bekerja melalui mekanisme donor elektron, di mana ia menetralkan radikal bebas seperti DPPH dengan cepat melalui transfer atom hidrogen. Sifat reduktifnya yang kuat menjadikan vitamin C sebagai kontrol positif yang umum digunakan dalam berbagai uji aktivitas antioksidan karena kemampuannya menghasilkan reaksi yang efisien dan stabil. Oleh karena itu, pada konsentrasi 200 ppm, vitamin C mampu menunjukkan aktivitas inhibisi yang hampir maksimal mendekati 100%.

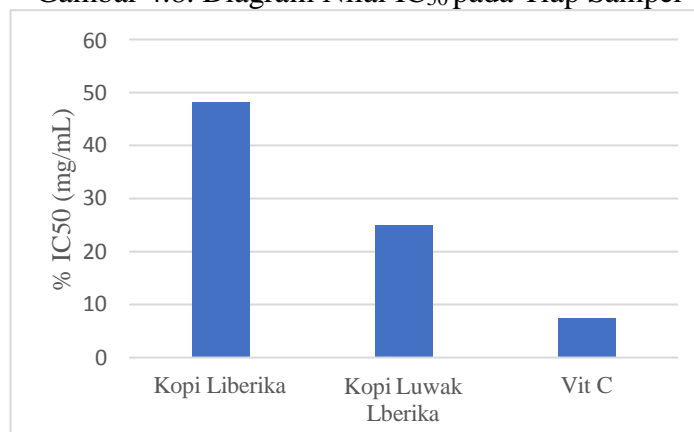
Sementara itu, nilai inhibisi yang tinggi pada ekstrak kopi luwak liberika menunjukkan bahwa biji kopi ini memiliki kandungan senyawa bioaktif yang cukup signifikan, terutama senyawa fenolik. Salah satu faktor utama yang membedakan kopi luwak liberika dari kopi liberika biasa adalah proses fermentasi alami yang terjadi di dalam saluran pencernaan luwak (*Paradoxurus hermaphroditus*). Selama proses ini, biji kopi mengalami fermentasi enzimatik dan mikrobiologis yang dapat menyebabkan terjadinya biotransformasi senyawa fenolik dari bentuk kompleks atau terikat menjadi bentuk bebas yang lebih aktif secara biologis.

Dengan demikian, kopi luwak memiliki keunggulan dibanding kopi biasa karena senyawa antioksidannya lebih aktif dan lebih mudah berinteraksi dengan radikal bebas seperti DPPH. Inilah yang menyebabkan persentase inhibisinya lebih tinggi dibandingkan kopi liberika biasa. Di sisi lain, ekstrak biji kopi liberika biasa tidak mengalami proses fermentasi biologis, sehingga sebagian besar senyawa fenolik masih berada dalam bentuk terikat atau berada dalam matriks dinding sel yang kurang efisien dalam menetralkan radikal bebas. Akibatnya, meskipun kandungan total fenol dalam kopi biasa tetap ada, efektivitasnya dalam konteks aktivitas antioksidan tidak sekuat kopi luwak.

Hasil inhibisi sebesar 81,98% pada kopi biasa dan 88,96% pada kopi luwak di konsentrasi 200 ppm masih termasuk dalam kategori aktivitas antioksidan yang baik. Namun demikian, hasil ini memperlihatkan dengan jelas bahwa fermentasi alami memberikan kontribusi penting terhadap peningkatan efektivitas senyawa bioaktif dalam biji kopi. Selain itu, besarnya aktivitas inhibisi juga memberikan korelasi dengan hasil analisis IC_{50} , di mana nilai IC_{50} yang lebih rendah menunjukkan bahwa jumlah ekstrak yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas lebih kecil, yang artinya potensi antioksidannya lebih kuat.

Secara keseluruhan, perbedaan nilai % inhibisi ini dapat dijelaskan oleh kombinasi antara komposisi kimia spesifik setiap sampel dan pengaruh proses biologis atau fermentasi yang dialami biji kopi. Diagram nilai IC_{50} pada Tiap Sampel dapat dilihat pada gambar 4.8.

Gambar 4.8. Diagram Nilai IC₅₀ pada Tiap Sampel



Nilai IC₅₀ (*Inhibitory Concentration 50*) merupakan indikator kemampuan suatu senyawa dalam menghambat aktivitas radikal bebas sebesar 50%. Semakin rendah nilai IC₅₀, maka semakin tinggi kemampuan antioksidan suatu bahan, karena dibutuhkan konsentrasi yang lebih kecil untuk memberikan efek penghambatan tersebut (Widayani *et al.*, 2018). Berdasarkan hasil yang ditunjukkan pada gambar 4.8, ekstrak kopi liberika biasa memiliki nilai IC₅₀ yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak kopi luwak liberika dan vitamin C, yaitu 48,12 ppm untuk ekstrak kopi liberika biasa, lalu 24,90 ppm untuk kopi luwak liberika dan 7,46 ppm untuk vitamin C, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kopi kopi luwak liberika memiliki antioksidan yang lebih kuat dari kopi liberika biasa yang dimana keduanya masuk dalam kategori antioksidan sangat kuat karena nilai IC₅₀ nya kurang dari 50 ppm. Vitamin C atau asam askorbat sebagai pembanding juga memiliki nilai IC₅₀ lebih rendah dari kedua ekstrak kopi karena merupakan antioksidan murni yang dikenal sangat efektif dalam menetralkan radikal bebas. Mekanismenya bekerja dengan mendonorkan elektron pada radikal bebas sehingga dapat menghentikan reaksi berantai oksidatif di dalam tubuh. Selain itu, vitamin C bersifat larut dalam air dan sangat reaktif terhadap spesies oksigen reaktif (ROS), sehingga dapat bekerja cepat dalam sistem biologis. Perbedaan ini juga bisa disebabkan oleh faktor kelarutan dan

bioaktivitas senyawa dalam ekstrak. Senyawa aktif dalam ekstrak kopi mungkin memerlukan waktu lebih lama atau kondisi tertentu untuk bekerja secara optimal. Sementara itu, vitamin C sebagai senyawa tunggal sudah diketahui memiliki profil kerja yang cepat dan langsung.

4.5.4. Pengaruh Kadar Polifenol terhadap Aktivitas Antioksidan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antara kadar polifenol total dan aktivitas antioksidan pada ekstrak kopi luwak liberika dan kopi liberika biasa. Kadar polifenol pada ekstrak kopi luwak liberika sebesar 63,30 mg GAE/g, sedangkan pada kopi liberika biasa sebesar 31,90 mg GAE/g. Perbedaan ini berdampak langsung terhadap aktivitas antioksidan masing-masing sampel, yang diukur melalui uji DPPH dalam bentuk persen inhibisi dan nilai IC_{50} .

Kopi luwak liberika menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan kopi liberika biasa, dengan nilai persen inhibisi sebesar 88,96% dan nilai IC_{50} sebesar 24,90 ppm. Sebaliknya, kopi liberika biasa menghasilkan persen inhibisi sebesar 81,98% dan nilai IC_{50} sebesar 48,12 ppm. Nilai IC_{50} yang lebih rendah menunjukkan efektivitas antioksidan yang lebih tinggi, sehingga hasil ini mengindikasikan bahwa ekstrak kopi luwak liberika memiliki kemampuan yang lebih kuat dalam menangkal radikal bebas dibandingkan kopi liberika biasa, namun keduanya masih dalam kategori antioksidan sangat kuat.

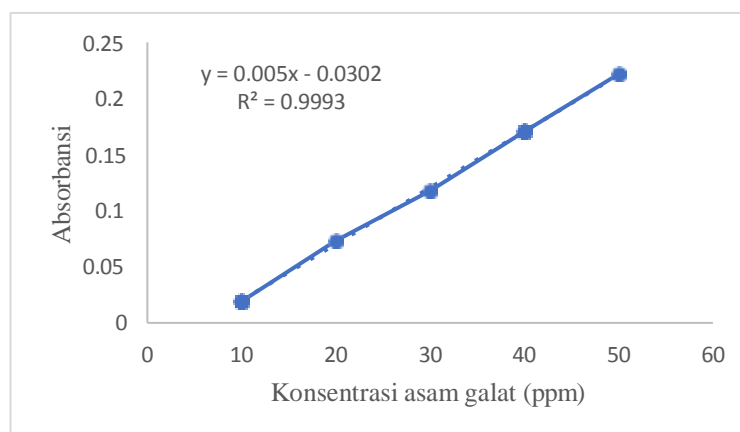
Hasil ini mendukung pemahaman bahwa senyawa fenolik berperan penting dalam menetralkan radikal bebas. Polifenol memiliki gugus hidroksil (-OH) yang mampu mendonorkan elektron untuk menstabilkan molekul radikal bebas, sehingga mencegah terjadinya stres oksidatif. Oleh karena itu, semakin tinggi konsentrasi polifenol dalam suatu ekstrak, maka semakin besar kapasitasnya untuk berperan sebagai antioksidan.

4.6. Validasi Metode Penentuan Kadar Polifenol

Validasi metode analisis adalah sebuah konfirmasi ulang untuk memastikan bahwa metode atau prosedur analisis yang digunakan telah memenuhi persyaratan dan membuktikan bahwa laboratorium yang bersangkutan mampu melakukan pengujian dengan metode tersebut dan menghasilkan hasil data yang valid. Selain itu, hasil dari verifikasi metode analisis juga dapat digunakan untuk menilai kualitas, reliabilitas dan konsistensi hasil analisis (Ramadhan & Musfiroh, 2021).

4.6.1. Linearitas

Persamaan kurva kalibrasi merupakan hubungan antara sumbu x dan sumbu y. Sumbu x dinyatakan dengan konsentrasi yang diperoleh sedangkan sumbu y merupakan absorbansi atau serapan yang diperoleh dari hasil pengukuran sehingga persamaan regresi linier dari kurva kalibrasi yang diperoleh adalah $y = 0,005x - 0,0302$ dengan koefisien korelasi $r^2 = 0,9993$. Harga koefisien korelasi menyatakan hubungan yang linier antara konsentrasi dengan serapan yang dihasilkan. Berdasarkan hasil r^2 yang diperoleh bahwa koefisien korelasi memberikan hasil yang linear karena memenuhi kriteria yang dapat diterima yaitu 0,99. Kurva kalibrasi dapat dilihat pada gambar 4.9.



Gambar 4.9. Kurva Kalibrasi

4.6.2. Presisi

Presisi suatu metode analisis, menunjukkan kedekatan hasil serangkaian pengukuran yang diperoleh dari pengujian berulang pada kondisi tertentu. Presisi dinyatakan dalam nilai simpangan baku relatif (SBR) dengan syarat penerimaannya adalah $SBR < 2\%$. Pengujian presisi metode analisis dapat dibagi menjadi tiga kategori, yaitu keterulangan (*repeatability*), ketertiruan (*reproducibility*) dan presisi antara (*intermediate precission*). Penelitian ini menggunakan kategori keterulangan, keterulangan menunjukkan nilai presisi suatu metode jika pengujian dilakukan berulang oleh satu analis pada kondisi yang sama dalam interval waktu yang pendek. Keterulangan dapat juga disebut sebagai presisi *intra-assay*. Nilai keterulangan dapat memperhitungkan pengaruh dari penimbangan, pencampuran dan bentuk penanganan sampel lain terhadap hasil analisis (Ramadhan & Musfiroh, 2021). Pengujian keterulangan dapat dilakukan dengan menggunakan satu konsentrasi sampel yang diukur sebanyak lima kali. Hasil dari penelitian dapat dilihat pada tabel 4.5.

Tabel 4.5. Hasil perhitungan Presisi

Data ke-	Absorbansi 10 ppm	Konsentrasi (ppm)	SD	RSD (%)
1	0.2239	38,74		
2	0.2236	38,68		
3	0.2244	38,84	0,0830	0,21
4	0.2246	38,88		
5	0.2244	38,84		

Dalam penelitian ini, nilai *Relative Standard Deviation* (RSD) diperoleh sebesar 0,21%, menunjukkan bahwa metode yang digunakan memiliki tingkat presisi sangat tinggi. Berdasarkan pedoman validasi metode analisis, suatu metode dikatakan memiliki presisi yang baik jika nilai RSD-nya kurang dari 2% (Arikalang et al., 2018). Dengan demikian, hasil RSD sebesar 0,21% berada jauh di bawah batas maksimum yang disyaratkan, yang mengindikasikan bahwa hasil pengukuran sangat konsisten.

4.6.3. Akurasi

Pengujian akurasi adalah pengujian yang dilakukan untuk mengetahui apakah metode analisis yang digunakan mampu menghasilkan nilai perolehan kembali (*recovery*) yang baik. Nilai perolehan kembali yang didapatkan akan menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Karena itu, akurasi merupakan parameter paling penting yang harus dipenuhi oleh suatu metode analisis (Ramadhan & Musfiroh, 2021). Dalam penentuan akurasi metode analisis, pengukuran sampel dilakukan dalam minimal tiga konsentrasi yang berbeda (tinggi, sedang, dan rendah) dimana pengukuran di masing-masing konsentrasi dilakukan minimal sebanyak 3 kali replikasi. Hasil akurasi pada penelitian ini dapat dilihat pada tabel 4.6.

Tabel 4.6. Data Akurasi

Sampel	Kons. spike	Rep.	Abs	C terhitung (ppm)	% Recovery	Rata-rata % Recovery
Kopi (18,59 ppm)	20	1	0.1659	39.2200	103.1333	103.36
		2	0.1661	39.2600	103.3333	
		3	0.1664	39.3200	103.6333	
Kopi (26,35 ppm)	30	1	0.2607	58.1800	106.0889	106.15
		2	0.2608	58.2000	106.1556	
		3	0.2611	58.2600	106.3556	
Kopi (37,10 ppm)	40	1	0.3493	75.9000	97.0000	97.37
		2	0.3498	76.0000	97.2500	
		3	0.3512	76.2800	97.9500	

Hasil persen perolehan kembali ini dapat diterima karena memenuhi syarat akurasi yaitu pada rentang rata-rata persen perolehan kembali 80-110 % (Arikalang et al., 2018). Hal ini menunjukkan bahwa parameter akurasi dalam penetapan kandungan polifenol ekstrak biji kopi luwak memenuhi syarat validasi.

4.6.4. LOD & LOQ Batas Deteksi (Limit of Detection, LOD) dan Batas Kuantifikasi (Limit of Quantification, LOQ)

Setelah mendapatkan kurva kalibrasi yang memenuhi persyaratan analisis, selanjutnya data yang diperoleh dari konsentrasi tiap analit yang memberikan absorbansi berbeda diolah untuk menentukan batas

deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ). Batas deteksi merupakan konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi. Penentuan batas deteksi dan batas kuantifikasi berdasarkan kemiringan (*slope*) kurva kalibrasi (Ramadhan & Musfiroh, 2021). Hasil LOD&LOQ dapat dilihat pada tabel 4.7.

Tabel 4.7. Hasil LOD&LOQ

Kons. (ppm)	Abs. (y1)	yc	y1-yc	y1-yc²	n-2	3
10	0.0192	0.0198	-0.0006	3.6E-07	SD	0.0026
20	0.0733	0.0698	0.0035	1.23E-05	LOD	1.7689
30	0.1176	0.1198	-0.0022	4.84E-06	LOQ	5.3603
40	0.1705	0.1698	0.0007	4.9E-07		
50	0.2217	0.2198	0.0019	3.61E-06		
Rata-rata				2.16E-05		

Hasil pengujian batas deteksi dalam penentuan kandungan total fenolik pada ekstrak kopi luwak liberika menunjukkan nilai limit deteksi sebesar 1,77 ppm sedangkan batas kuantifikasi yang diperoleh 5,36 ppm.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

1. Hasil uji kualitatif yang dilakukan pada ekstrak kopi luwak liberika menunjukkan bahwa ekstrak tersebut positif mengandung senyawa polifenol. Hal ini ditunjukkan oleh perubahan warna dari coklat menjadi hijau kehitaman setelah penambahan larutan FeCl_3 . Selain itu, hasil uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menunjukkan bahwa nilai R_f senyawa dalam ekstrak kopi sebesar 0,74, berada dalam kisaran ideal dan relatif dekat dengan nilai R_f senyawa baku asam galat sebesar 0,80 dengan selisih 0,04.
2. Hasil uji kuantitatif menunjukkan bahwa kadar polifenol dalam ekstrak kopi luwak liberika lebih tinggi dibandingkan kopi liberika, yaitu 63,30 mg GAE/g pada kopi luwak liberika dan 31,90 mg GAE/g pada kopi liberika.
3. Nilai IC_{50} sebagai indikator aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa ekstrak kopi luwak liberika memiliki kemampuan antioksidan yang lebih kuat (24,90 ppm) dibandingkan dengan kopi liberika (48,12 ppm) dan mendekati efektivitas antioksidan vitamin C (7,46 ppm).

5.2. Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan berbagai metode ekstraksi seperti UAE (*Ultrasonic-Assisted Extraction*) serta analisis terhadap senyawa bioaktif lainnya untuk mendukung pemanfaatan ekstrak kopi, khususnya kopi luwak liberika.

DAFTAR PUSTAKA

- Aidillah, M., Kevin, D. C., Edith, C., & Nurul, D. S. (2021). *Machine Translated by Google Universitas Edith Cowan Riset Online*. 7(1).
- Andieni, R. A., & Pitta Allagan, T. M. (2024). Perlindungan Indikasi Geografis Produk Biji Kopi Luwak Arabika Indonesia dari Jawa, Sumatera, dan Sulawesi di Amerika Serikat. *Bina Hukum Lingkungan*, 8(2), 107–135. <https://doi.org/10.24970/bhl.v8i2.246>
- Arikalang, G. T., Sudewi, S., & Rorong, J. A. (2018). Optimasi dan Validasi Metode Analisis dalam Penentuan Kandungan Total Fenolik pada Ekstrak Daun Gedi Hijau (*abelmoschus manihot* l.) yang Diukur Dengan Spektrofotometer uv-VIS. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 7(3), 14–21.
- Busyairi, M., Kahar, A., Rafii, A., Saputra, D., Soenarih, A., Apriliyani, V., Aprilia, D., Andriani, M., & Jannah, A. M. (2023). *Social innovation of Kampung Kopi Luwak Prangat Baru Village (Kapak Prabu) East Borneo. Community Empowerment*, 8(1), 22–29. <https://doi.org/10.31603/ce.8034>
- Devi, P. Y., Siti, S., & Nurwantoro. (2017). Aktivitas Antioksidan Dan Kadar Fenol Berbagai Ekstrak Daun Kopi (*Coffea Sp.*): Potensi Aplikasi Bahan Alami Untuk Fortifikasi Pangan. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 6(2), 89–92. <https://doi.org/10.17728/jatp.205>
- Dewi, R. N., Dani, Sakiroh, Dibyo, P., & Kurnia, S. D. (2023). Pertumbuhan dan perkembangan tanaman kopi liberika (*Coffea liberica*) belum menghasilkan pada beberapa jenis pohon penaung. *Jurnal AGRO*, 10(2), 231–241. <https://doi.org/10.15575/25202>
- Dimitrios, P., Theodoros, C., Vassilis, A., Eleni, B., Dimitris, M. P., & Stavros, L. I. (2023). *Ekstraksi Pelarut Berturut-turut Polifenol dan Flavonoid dari*. 274–286.
- Eklopas, P., James, N., & Abner, L. T. (2020). Analisis Kandungan Polifenol pada Ekstrak Tunas Bambu Betung (*Dendrocalamus asper*). *Bioma : Jurnal Biologi Dan Pembelajaran Biologi*, 5(1), 52–65. <https://doi.org/10.32528/bioma.v5i1.3688>
- Froehner, A., Dan, S., Pagaralam, K., & Metode, D. (2023). *Aktivitas Antioksidan Infusa Biji Kopi Robusta (Coffea*. 1(1), 36–41.
- Haniefan, N., & Basunanda, P. (2022). Eksplorasi dan Identifikasi Populasi Kopi Liberika (*Coffea liberica*) di Kecamatan Sukorejo , Kabupaten Kendal Exploration And Identification Of Liberika Coffee (*Coffea Liberica*) In Sukorejo , Kendal District. *Vegetalika*, 11(1), 11–18.
- Heriana, Andi, S., & Wijaya, M. (2023). Pengaruh Suhu dan Waktu Penyangraian Terhadap Kadar Kafein dan Mutu Sensori Kopi Liberika (*Coffea liberica*) Bantaeng. *PATANI (Pengembangan Teknologi Pertanian Dan Informatika)*, 6(1), 1–10. <https://doi.org/10.47767/patani.v6i1.442>

- Hooper, J. (2022). Cat-Poo-Chino and Captive Wildlife: Tourist Perceptions of Balinese Kopi Luwak Agrotourism. *Society and Animals*, 33(3), 1–21. <https://doi.org/10.1163/15685306-bja10094>
- Ibroham, M., Jamilatun, S., & Ika, D. K. (2022). A Review: Potensi Tumbuhan-Tumbuhan Di Indonesia Sebagai Antioksidan Alami. *Seminar Nasional Penelitian LPPM UMJ*, 1–13. <http://jurnal.umj.ac.id/index.php/semnaslit>
- Insanu, M., Fidriani, I., Nur, I. H. N., & Kota, K. (2021). Kopi Liberica (*Coffea liberica L.*) dari Tiga Daerah Berbeda : Aktivitas Antioksidan In Vitro. *Jurusan Biologi Farmasi, Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung, Bandung.*, 11, 13031–13041.
- Junaidi, E., & Anwar, Y. A. S. (2018). Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan Asam Galat dari Kulit Buah Lokal yang Diproduksi dengan Tanase. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 14(1), 131. <https://doi.org/10.20961/alchemistry.14.1.11300.131-142>
- Kusmiyati, Heratri, A., & Kubikazari, S. (2020). Pengaruh Waktu Fermentasi terhadap Komponen Flavor Kopi Bioluwak Robusta menggunakan Bakteri dari Usus Luwak. *CARADDE: Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*, 3(1), 35–42. <http://139.180.223.195/index.php/caradde/article/view/463>
- Laksono, M. T., & Hayati, E. K. (2021). Analisis Sidik Jari Kromatografi Lapis Tipis Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica L.*). *Alchemy*, 9(2), 54–62. <https://doi.org/10.18860/al.v9i2.11613>
- Lau, E. Y., Mangiwa, S., & Maryuni, A. E. (2021). Formulasi Dan Uji Mutu Sabun Padat Dengan Penambahan Ekstrak Etanol Biji Kopi Arabika (*Coffea arabica L.*) Asal Wamena Kabupaten Jayawijaya. *Jurnal Kimia*, 5(November), 1–23.
- Listiana, L., Wahlanto, P., Ramadhani, S. S., & Ismail, R. (2022). Penetapan Kadar Tanin Dalam Daun Mangkokan (*Nothopanax scutellarium Merr*) Perasan Dan Rebusan Dengan Spektrofotometer UV-Vis. *Pharmacy Genius*, 1(1), 62–73. <https://doi.org/10.56359/pharmgen.v1i01.152>
- Martins, G. R., & Monteiro, A. F. (2021). Metode Folin-Ciocalteu yang tervalidasi untuk kuantifikasi total fenolik dari ekstrak biji *acajá* (*Euterpe oleracea Mart.*) yang kaya tanin terkondensasi. 58(Desember), 4693–4702.
- Martono, Y., Yanuarsih, F. F., Aminu, N. R., & Muningsgar, J. (2019). Fractionation and determination of phenolic and flavonoid compound from Moringa oleifera leaves. *Journal of Physics: Conference Series*, 1307(1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1307/1/012014>
- Maynita, S., Pujiati, Bhagawan, W. S., & Primiani, C. N. (2023). Analisis Rendemen Ekstrak Etanol Daun Genitri dari Semarang. *Seminar Nasional Prodi Farmasi UNIPMA (SNAPFARMA)*, 2, 162–167. <http://prosiding.unipma.ac.id/index.php/SNAPFARMA>
- Mindawati, E., Nurhamidah, W., Solihat, S., Fikayuniar, L., Farmasi, F., & Buana Perjuangan Karawang, U. (2024). Pemantauan Ekstrak Simplisia Biji Kopi Hijau (*Coffea Canephora Var. Robusta*) Dengan Metode Kromatografi Lapis

Tipis. *Jurnal Kesehatan Tambusai*, 5(1), 588–592.

- Mirwa, A. A., Mufidatul, I., & Dzikra, M. N. (2023). Antioxidant Activity of Several Types of Onions and Its Potensial as Health Supplements. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 12(1), 103–111. <http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/ijcs>
- Muawanah, M., & Rasyid, N. Q. (2021). Analisis Kualitatif Residu Pestisida Pada Bahan Pangan Dengan Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). *Lontara*, 2(2), 113–120. <https://doi.org/10.53861/lontarariset.v2i2.222>
- Muthia, R., Saputri, R., & Verawati, S. A. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Mundar (*Garcinia forbesii* King.) Menggunakan Metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazil). *Jurnal Pharmascience*, 6(1), 74. <https://doi.org/10.20527/jps.v6i1.6079>
- Nasution, P. A., Batubara, R., & Surjanto. (2015). Tingkat Kekuatan Antioksidan dan Kesukaan Masyarakat Terhadap Teh Daun Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk) Berdasarkan Pohon Induksi dan Non-Induksi. *Peronema - Forest Science Journal.*, 4(1), 10–18.
- Nasution, W. I., & Jaya, H. I. (2023). Analisis Nilai Tambah Kopi Luwak di Kabupaten Aceh Tengah (Kasus Industri Rumah Tangga Kawa Gayo) Analysis of Luwak Coffee Added Value in Central Aceh District (Case of Home Industry Kawa Gayo). *Jurnal Agroteknosains*, 7(1), 60–67.
- Nilma, D. S., St, M., & Masdiana, T. (2024). Analisis kadar senyawa polifenol dari teh daun tanaman kakao (*theobroma cacao l.*) Secara spektrofotometri uv-vis. 2(2), 307–316.
- Pharmacia, J., Waluya, M., Pharmacia, J., Waluya, M., No, V., Rauf, A. A., & Saranani, S. (2023). Penetapan Kadar Polifenol Total Dan Tanin Total Dari Ekstrak Etanol Buah Senggani (*melastoma malabathricum L.*) Serta Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode ABTS *Determination Of Total Polyphenols And Total Tannins From The Ethanol Extract Of Senggani F.* 2(6).
- Pratiwi, S. A., Febryani, N., Basith, A., Program,), Fakultas, S. F., Kesehatan, I., Nahdlatul, U., Sunan, U., Bojonegoro, G., Yani, A., 10, N., Bojonegoro, K., Timur, J., & Bojonegoro, K. (2023). Skrining dan Uji Penggolongan Fitokimia dengan Metode KLT pada Ekstrak Etanol Kemangi (*Ocimum basilicum L*) dan Sereh Dapur (*Cymbopogon ciratus*). *Pharmacy Medical Journal*, 6(2), 2023.
- Puspita, S. S., Retno, I., & Elok, W. (2022). Kromatografi Lapis Tipis (KLT): Pendekatan Pola Kromatogram Untuk Mengkonfirmasi Rhodamin B Pada Perona Pipi. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 4(1), 494–500. <https://doi.org/10.37311/jsscr.v4i2.14865>
- Puspitasari, A. D., & Syam, L. P. (2017). Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi terhadap kadar fenolik total ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura*). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 1(2), 1–8.

- Putri, F. A., Arumsari, A., & Rusnadi, R. (2019). Perbandingan Aktivitas Antioksidan Kopi Robusta (*Coffea Canephora* Pierre Ex A. Froehner) dan Kopi Luwak Robusta (*Coffea Canephora* Pierre Ex A. Froehner) dengan Metode Dpph (1, 1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). *Prosiding Farmasi*, 270–274.
- Ramadhan, S. A., & Musfiroh, I. (2021). Review Artikel: Verifikasi Metode Analisis Obat. *Farmaka*, 19, 87–92. <https://doi.org/10.24198/farmaka.v19i3.32328>
- Regita, P. W., M., H., & Eka, S. F. (2024). Sokhletasi Terhadap Kadar Flavonoid Total. *10(2)*, 133–140.
- Solikhati, A., Sukoharjanti, B. T., & Rusidah, Y. (2023). Potensi Ekstrak Kopi (*Coffea* Sp.) Sebagai Antioksidan: Review. *Jurnal Medika Indonesia*, 4(2), 30–38.
- Sulastris, S., Purnamasari, D. K., & Sumiati, S. (2023). Pemanfaatan Kompor Listrik Rumah Tangga Sebagai Pengganti Penangas Air Pada Analisis Kadar Lemak Metode Soxhlet. *Jurnal Sains Teknologi & Lingkungan*, 9(1), 105–112. <https://doi.org/10.29303/jstl.v9i1.414>
- Virida, N., Ridwanto, & Zulmai, R. (2022). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bonggol Pisang Barangan (*Musa paradisiaca* (L.) Dengan Metode DPPH. 1478–1483.
- Walid, M., & Putri, D. N. (2023). Skrining Senyawa Metabolit Sekunder Dan Total Fenol Kopi Robusta (*Coffea canephora* Pierre Ex a. Froehner) Di Daerah Petungkriyono Pekalongan. *Pena Jurnal Ilmu Pengetahuan Dan Teknologi*, 37(1), 1. <https://doi.org/10.31941/jurnalpena.v37i1.2928>
- Wulandari, A., Afrizal, A., Emriadi, E., Efdi, M., & Imelda, I. (2020). Studi komputasi terhadap struktur, sifat antioksidan, toksisitas dan skor obat dari scopoletin dan turunannya. *Chempublish Journal*, 5(1), 77–92. <https://doi.org/10.22437/chp.v5i1.9023>
- Wulansari, Anisa Nur. (2018). “Alternatif Cantigi Ungu (*Vaccinum varingiaefolium*) sebagai Antioksidan Alami: .” *Jurnal Farmaka Suplemen* Volume 16 Nomor 2. Jatinangor: Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran.
- Yuslianti, E. R. (2018). Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan. Deepublish : Yogyakarta
- Yuliani, N. N., Smbara, Jefrin., Man, M. A., (2016). Uji aktivitas antioksidan fraksi etil asetat ekstrak etanol rimpang jahe merah (*Zingiber of icinale* var. *Rubrum*) dengan metode DPPH. *Jurnal Info Kesehatan*, 14(1).

LAMPIRAN

LAMPIRAN 1
SURAT IZIN PENELITIAN



SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN DIRGAHAYU SAMARINDA
Jl. Pasundan No.21 Telp (0541) 748335, Fax.(0541) 748335
E-mail: stikesdirgahayusamarinda@gmail.com Website: www.stikesdirgahayusamarinda.ac.id
SAMARINDA - 75122 - KALIMANTAN TIMUR

Samarinda, 09 januari 2025

Nomor : 18S/STIKDS-Far/XI/2024
Perihal : Surat Izin Melaksanakan Penelitian

Dengan Hormat,

Yang bertandatangan di bawah ini, Wakil Ketua I dan Ketua Program Studi Farmasi STIKES Dirgahayu Samarinda, menyatakan bahwa mahasiswa/I,

Nama : Yurin Oktavia Sir
NIM : 211148201162
Program Studi/Institusi : Farmasi / STIKES Dirgahayu Samarinda
Judul Penelitian : PENENTUAN KADAR POLIFENOL PADA EKSTRAK BIJI KOPI LUWAK ASAL KAMPUNG KOPI LUWAK MARANGKAYU DAN DAYA HAMBATNYA TERHADAP RADIKAL BEBAS DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*)
Tempat Penelitian : Laboratorium Fitokimia dan Teknologi Farmasi STIKES Dirgahayu Samarinda
Waktu Penelitian : Januari 2025 – Maret 2025

Telah memenuhi kaidah akademik dan diizinkan untuk melaksanakan penelitian skripsi.



Ns. Gracia Hermi Pratiwi, M.Kep, Ph.D.NS
NIK. 0778.A4.08



Apt. Liniati Geografi, M.Sc.
NIK. 0419.A4.25

LAMPIRAN 2
SURAT PENGANTAR DETERMINASI



SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN DIRGAHAYU SAMARINDA

Jl. Pasundan No.21 Telp (0541) 748335, Fax.(0541) 748335
E-mail: stikesdirgahayusamarinda@gmail.com Website: www.stikesdirgahayusamarinda.ac.id
SAMARINDA - 75122 - KALIMANTAN TIMUR

Samarinda, 1 Desember 2024

Nomor Surat : 18S/STIKDS-Far/XI/2024
Perihal : Surat Pengantar Penelitian Skripsi/TA
Kepada Yth : Dinas kehutanan Provinsi Kalimantan Timur

Dengan hormat,

Sebagai bagian dari upaya penyusunan Skripsi pada Prodi S-1 Farmasi, maka dirasa perlu untuk melakukan pengambilan data di beberapa instansi/laboratorium. Berkaitan dengan hal tersebut, maka bersama surat ini kami mohon kiranya dapat menerima mahasiswa dari Prodi S-1 Farmasi STIKES Dirgahayu Samarinda untuk keperluan **Determinasi Biji Kopi**

Luwak untuk penelitian mahasiswa yaitu :

Nama : Yurin Oktavia Sir
NIM : 211148201162
Program Studi : S-1 Farmasi
Alamat : Jln. Pasundan, Gg. Sadar, No.65A
No.Hp : 082358715071
Email : Yurinoktavia567@gmail.com
Judul Skripsi : PENENTUAN KADAR POLIFENOL PADA EKSTRAK BIJI KOPI LUWAK ASAL KAMPUNG KOPI LUWAK MARANGKAYU DAN DAYA HAMBATNYA TERHADAP RADIKAL BEBAS DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*)

Pembimbing 1 : Nurillahi Febria Leswana, M. Sc

Pembimbing 2 : Risny Oklyan, M. Farm



Waktu pelaksanaan penelitian adalah Desember 2024 sampai Maret 2025

Demikian permohonan kami, atas bantuan dan kerjasamanya diucapkan terima kasih

Ketua Program Studi,

Nurillahi Geografi, M.Sc.
NIK 0419.A4.25

LAMPIRAN 3
SURAT HASIL DETERMINASI

	KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS, DAN TEKNOLOGI UNIVERSITAS MULAWARMAN FAKULTAS KEHUTANAN LABORATORIUM Ekologi dan KONSERVASI BIODIVERSITAS HUTAN TROPIS Alamat: kampus Ummul Gumung Kelua, Jl. Panajam Gd. B11 L1.1 Samarinda 75123 Telp./Fax (0541) 7273726, Email: lab.ekobio@fahutan.unmul.ac.id
Samarinda, 09 Desember 2024	
Nomor	: 373/UN17.4.08/LL/2024
Lampiran	: -
Perihal	: <u>Hasil Identifikasi/Determinasi Tumbuhan</u>
 Kepada Yth. Bpk/Ibu/Sdr(i). Yurin Oktavia Sir (211148201162)	
Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda	
di-	
Tempat	
Dengan Hormat,	
Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang saudara kirimkan ke "Herbarium Mulawarman", Laboratorium Ekologi dan Konservasi Biodiversitas Hutan Tropis Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman Samarinda, adalah sebagai berikut:	
Kingdom	: Plantae
Phyllum	: Streptophyta
Class	: Equisetopsida
Order	: Gentianales
Family	: Rubiaceae
Species	: <i>Coffea liberica</i> W.Bull
Synonyms	: -
Common name	: Kopi Liberika
Demikian, semoga berguna bagi saudara.	
 Tembusan: Arsip	  Prof. Dr. Ir. Paulus Matius, M.Sc NIP.195504111984031001

LAMPIRAN 4
SERTIFIKAT BAHAN PRO-ANALISIS

1. Etanol



PT. SMART LAB INDONESIA
MANUFACTURER OF ANALYTICAL REAGENTS

F/QCL/009 Rev.02

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product Name : Ethanol (Absolute) AR		
Mol. Formula : C ₂ H ₅ OH		
Mol. Weight : 46.07 g/mol		
Catalog No. : A-1035		
Cas No : 64-17-5		Mfg. Date : October, 2024
Batch No. : A162410001		Exp. Date : October, 2029

Shelf life for plastic container 6 months from the date of pouring (Expiry date corresponding to label)

NO.	TESTS	UNITS	SPECIFICATIONS	RESULTS
1.	Appearance	-	Clear colorless liquid	Clear colorless liquid
2.	Assay (GC)	wt %	min 99.7	99.998
3.	Wt. Per ml at 20 °C	g/cm ³	0.789 - 0.792	0.789
4.	Color	Hazen	max 10	< 10
5.	Refractive Index	n _D ²⁰	1.358 - 1.363	1.361
6.	Water (H ₂ O)	wt %	max 0.2	0.0664
7.	Residue after evaporation	wt %	max 0.001	0.00055
8.	Acidity (CH ₃ COOH)	wt %	max 0.0006	0.00040
9.	Alkalinity (NH ₃)	wt %	max 0.0002	0.00015
10.	Acetone, (isopropyl) alcohol	-	passes test	passes test
11.	Methanol (CH ₃ OH)	wt %	max 0.1	NIL
12.	Iron (Fe)	wt %	max 0.00002	< 0.00002
13.	Lead (Pb)	wt %	max 0.00005	< 0.00005
14.	Substances Reducing KMnO ₄	wt %	max 0.0004	< 0.0004
15.	Solubility in water	-	passes test	passes test
16.	Substances darkened (by H ₂ SO ₄)	-	passes test	passes test

Result: The above product corresponds to AR Grade


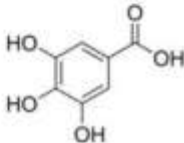
Reference or standard of product specification to Analar standard and ACS specification




Yuyraj Saguykar
Manager QC

Ruta Boulevard Taman Tekno Blok E No. 9 - 11 BSD, Serpong, Tangerang Selatan Indonesia
Telp: (62-21) 7588 0205, F a x : (62-21) 7588 0198
Email: sales@smartlab.co.id, Website: www.smartlab.co.id

2. Asam Galat


	Certificate of Analysis	Inhibitors • Screening Libraries • Proteins
Gallic acid		
Cat. No.:	HY-N0523	
CAS No.:	149-91-7	
Batch No.:	432848	
Chemical Name:	Benzoic acid, 3,4,5-trihydroxy-	
PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES		
Molecular Formula:	C ₇ H ₆ O ₅	
Molecular Weight:	170.12	
Storage:	Store at room temperature 3 years	
	In solvent -80°C 2 years	
	-20°C 1 year	
Chemical Structure:		
ANALYTICAL DATA		
Appearance:	White to off-white (Solid)	
¹ H NMR Spectrum:	Consistent with structure	
Purity (HPLC):	99.98%	
Water(KF):	0.09%	
Residue on Ignition:	0.01%	
Conclusion:	The product has been tested and complies with the given specifications.	
Caution: Product has not been fully validated for medical applications. For research use only.		
Tel: 609-225-6898	Fax: 609-225-5909	E-mail: tech@MedChemExpress.com
Address: 1 Deer Park Dr, Suite F, Monmouth Junction, NJ 08852, USA		
Page 1 of 1		www.MedChemExpress.com

3. Vitamin C







CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product Name	Vitamin C (Ascorbic Acid) Powder		
Batch No	1140850001	Manufacturing Date	August 2022
Source	Fermented on Sorbitol Ex Corn	Shelf Life	November 2026
Appearance	White to Off White Crystals/Crystalline Powder		
ANALYSIS		RESULT	
Tests			
Melting Point	190° C		
Assay	99.8%		
pH	2.3		
Specific Optical Rotation	+21.1		
Clarity and Colour of Solution	Clear and Max BY1		
Oxalic Acid	< 0.2%		
Loss on Drying	< 0.4%		
Sulphated Ash	0.04%		
Residual Solvents (ppm)	< 3000		
Heavy Metals			
Lead	< 10		
Copper	< 3		
Arsenic	< 5		
Mercury	< 3		
Iron	< 0.1		
Microbial Analysis			
Total Plate Count	< 1000		
Yeast & Moulds	< 100		
Coliforms	Negative		
GMO Status	Non-GMO		
Irradiation Status	Non-Irradiated		


100% QUALITY ASSURANCE GUARANTEE

This is a direct copy of the manufacturer Certificate of Analysis

LAMPIRAN 5
DOKUMENTASI PENELITIAN

Keterangan	Gambar
Serbuk kopi luwak liberika	
Soxhletasi	
Hasil sokhletasi	
Ekstrak kopi luwak dan kopi biasa yang telah di oven	

<p>Sampel kopi luwak, kopi biasa 200 ppm dan sampel yang telah ditambahkan folin dan Na_2CO_3</p>	
<p>Baku standar Asam galat 500 ppm</p>	
<p>Pengenceran baku asam galat (10,20,30,40 dan 50 ppm)</p>	
<p>Larutan DPPH 0,05 mM</p>	
<p>DPPH+sampel (analisis antioksidan)</p>	<p>Sebelum ditambahkan sampel</p>  <p>Setelah ditambahkan sampel</p> 

LAMPIRAN 6

PERHITUNGAN

1. Rendemen ekstrak kopi luwak dan kopi biasa

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Berst ekstrak kental (g)}}{\text{Berat ekstrak awal (gr)}} \times 100\%$$

a. Rendemen ekstrak kopi luwak = $\frac{3,12 \text{ gr}}{25 \text{ gr}} \times 100\% = 12,48 \%$

b. Rendemen ekstrak kopi biasa = $\frac{3,18 \text{ gr}}{25 \text{ gr}} \times 100\% = 12,72 \%$

2. Kualitatif

2.2. Perhitungan KLT

Rumus :

$$R_f = \frac{\text{Jarak tempuh bercak}}{\text{Jarak tempuh pelarut (garis akhir)}}$$

c. Rf ekstrak :

$$\frac{4,2 \text{ cm}}{5,5 \text{ cm}} = 0,76 \text{ cm}$$

d. Rf asam galat :

$$\frac{4,4 \text{ cm}}{5,5 \text{ cm}} = 0,8 \text{ cm}$$

$$\text{Selisih} = R_f \text{ baku} - R_f \text{ ekstrak} = 0,8 - 0,74 = 0,04 \text{ cm}$$

3. Pembuatan Larutan Pada Penetapan Kadar Polifenol

3.2. Pembuatan Na₂CO₃ 7,5%

Ditimbang 7,5 g Na₂CO₃ dilarutkan dalam aquadest ad 100 mL

3.3. Pembuatan Larutan Induk Asam galat

$$\text{Larutan induk: } \frac{50 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 500 \text{ ppm}$$

Pengenceran:

a. Konsentrasi 10 ppm

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{C_2 \times V_2}{C_1}$$

$$V_1 = \frac{10 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL}}{500 \text{ ppm}} = 1 \text{ mL}$$

a. Konsentrasi 20 ppm

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{C_2 \times V_2}{c_1}$$

$$V_1 = \frac{20 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL}}{500 \text{ ppm}} = 2 \text{ mL}$$

b. Konsentrasi 30 ppm

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{C_2 \times V_2}{c_1}$$

$$V_1 = \frac{30 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL}}{500 \text{ ppm}} = 3 \text{ mL}$$

c. Konsentrasi 40 ppm

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{C_2 \times V_2}{c_1}$$

$$V_1 = \frac{40 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL}}{500 \text{ ppm}} = 4 \text{ mL}$$

d. Konsentrasi 50 ppm

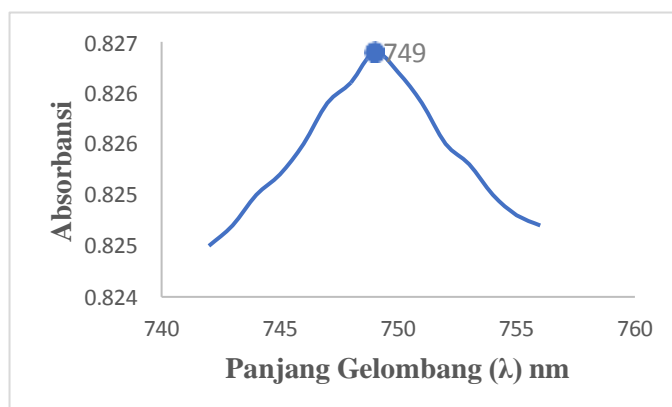
$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{C_2 \times V_2}{c_1}$$

$$V_1 = \frac{50 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL}}{500 \text{ ppm}} = 5 \text{ mL}$$

4. Panjang Gelombang Asam Galat

Panjang gelombang	Absorbansi
742	0.8245
743	0.8247
744	0.8250
745	0.8252
746	0.8255
747	0.8259
748	0.8261
749	0.8264
750	0.8262
751	0.8259
752	0.8255
753	0.8253
754	0.8250
755	0.8248
756	0.8247

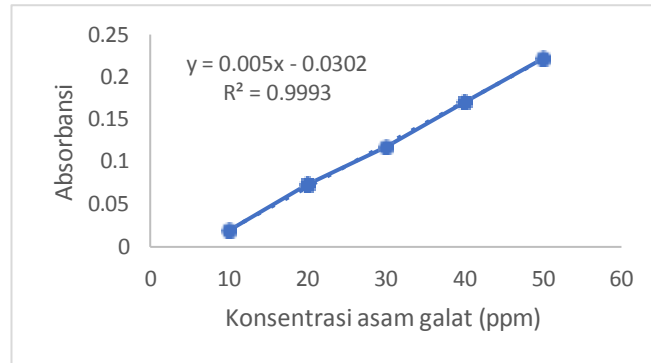


5. Pembuatan Sampel Kopi Luwak Liberia

$$\text{Larutan induk: } \frac{20 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 200 \text{ ppm}$$

6. Data kurva standar asam galat

Konsentrasi (ppm)	Rata-Rata
10	0.0192
20	0.0733
30	0.1176
40	0.1705
50	0.2217



7. Perhitungan kadar total polifenol atau TPC

Sampel	konsentrasi	Replikasi		
		1	2	3
Kopi Luwak	200	0,3655	0,3655	0,3654
Kopi non Luwak	200	0,1363	0,1365	0,1367

7.1. Sampel Kopi Luwak

a. Perhitungan Kadar

$$y = 0,005x - 0,0302$$

$$x = \frac{y - 0,0302}{0,005}$$

Keterangan :

y : Absorbansi (Abs)

x : Konsentrasi (mg/L)

REPLIKASI 1

$$x = \frac{0,3655 - 0,0302}{0,005}$$

$$= 79,14 \text{ mg/L}$$

REPLIKASI 2

$$x = \frac{0,3655 - 0,0302}{0,005}$$

$$= 79,14 \text{ mg/L}$$

REPLIKASI 3

$$x = \frac{0,3654 - 0,0302}{0,005}$$

$$= 79,12 \text{ mg/L}$$

b. Rata-Rata kadar total polifenol:

$$\frac{79,14 + 79,14 + 79,12}{3} = 79,13 \text{ mg/L}$$

c. Kadar polifenol dalam %

$$\frac{c \times v \times fp}{m} \times 100\%$$

Keterangan:

c : Konsentrasi (polifenol) dalam sampel yang dianalisis (mg/L)

v : Volume larutan sampel (L)

m : Berat sampel biji kopi (mg)

fp : Faktor pengenceran

$$\text{kadar (\%)} = \frac{79,13 \times 3,5 \times \frac{20}{3,5}}{25000 \text{ mg}} \times 100\% = 6,330 \%$$

d. Perhitungan kadar total polifenol dalam mg GAE/g

$$\begin{aligned} \text{Kadar total polifenol} &= \frac{c \times v \times fp}{m} \\ &= \frac{79,13 \times 3,5 \times \frac{20}{3,5}}{25 \text{ g}} \\ &= 63,30 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

7.2. Sampel Kopi non Luwak

a. Perhitungan Kadar

$$y = 0,005x - 0,0302$$

$$x = \frac{y - 0,0302}{0,005}$$

Keterangan :

y : Absorbansi (Abs)

x : Konsentrasi (mg/L)

REPLIKASI 1

$$\begin{aligned} x &= \frac{0,1689 - 0,0302}{0,005} \\ &= 39,82 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

REPLIKASI 2

$$x = \frac{0.1695-0,0302}{0,005}$$
$$= 39,94 \text{ mg/L}$$

REPLIKASI 3

$$x = \frac{0.1699-0,0302}{0,005}$$
$$= 40,02 \text{ mg/L}$$

b. Rata-Rata kadar total polifenol:

$$\frac{39,82 + 39,94 + 40,02}{3} = 39,92 \text{ mg/L}$$

c. Kadar polifenol dalam %

$$\frac{c \times v \times fp}{m} \times 100\%$$

Keterangan:

c : Konsentrasi (polifenol) dalam sampel yang dianalisis (mg/L)

v : Volume larutan sampel (L)

m : Berat sampel biji kopi (mg)

fp : Faktor pengenceran

$$\text{kadar (\%)} = \frac{39,92 \times 3,5 \times \frac{20}{3,5}}{25.000 \text{ mg}} \times 100\% = 3,19 \%$$

d. Perhitungan kadar total polifenol dalam mg GAE/g

$$\text{Kadar total polifenol} = \frac{c \times v \times fp}{m}$$

$$= \frac{39,92 \times 3,5 \times \frac{20}{3,5}}{25 \text{ g}}$$

$$= 31,9 \text{ mg GAE/g}$$

Sampel	Replik	Kons. (mg/L)	Rata-rata (mg/L)	Kadar polifenol (mg GAE/g)
Ekstrak kopi luwak	1	79,14	79,13	63,30
	2	79,14		
	3	79,12		
Ekstrak kopi non luwak	1	39,82	39,92	31,9
	2	39,94		
	3	40,02		

8. Pembuatan Larutan Pada Uji Aktivitas Antioksidan Terhadap Radikal Bebas DPPH

8.1. Sampel Kopi

$$\text{Larutan induk: } \frac{100 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 1000 \text{ ppm}$$

Pengenceran:

a. Konsentrasi 40 ppm

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{C_2 \times V_2}{c_1}$$

$$V_1 = \frac{40 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} = 0,4 \text{ mL}$$

b. Konsentrasi 80 ppm

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{C_2 \times V_2}{c_1}$$

$$V_1 = \frac{80 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} = 0,8 \text{ mL}$$

c. Konsentrasi 120 ppm

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{C_2 \times V_2}{c_1}$$

$$V_1 = \frac{120 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} = 1,2 \text{ mL}$$

d. Konsentrasi 160 ppm

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{C_2 \times V_2}{c_1}$$

$$V_1 = \frac{160 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} = 1,6 \text{ mL}$$

e. Konsentrasi 200 ppm

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{C_2 \times V_2}{c_1}$$

$$V_1 = \frac{200 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} = 2 \text{ mL}$$

8.2. Larutan DPPH 0,05 Mm

Konsentrasi DPPH= 20 µg/ml

MR DPPH (C₁₈H₁₂N₅O₆)= 394,33

$$0,05 \text{ Mm} = 0,00005 \text{ M}$$

$$= 0,00005 \text{ mol/L}$$

$$= \frac{0,00005 \frac{\text{g}}{\text{L}}}{Mr}$$

$$= \frac{0,00005 \text{ g} \times 394,33}{L}$$

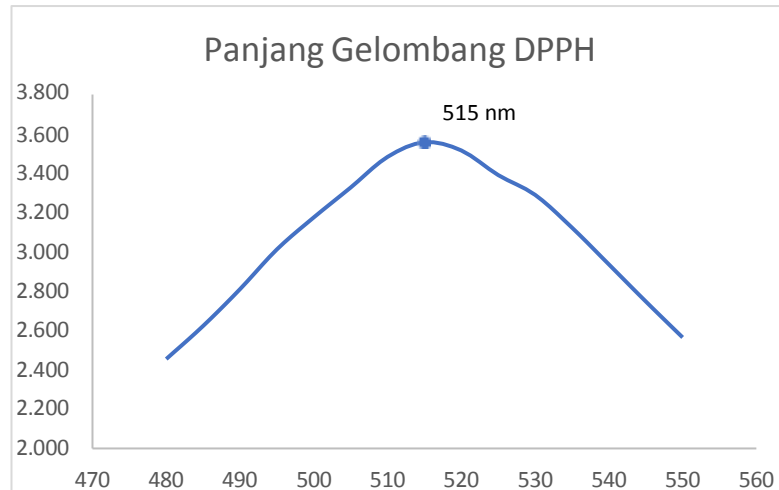
$$= 19,7165 \text{ µg/L}$$

$$= 19,7165 \text{ µg/ml (20 µg/ml)}$$

$$5 \text{ mg DPPH dilarutkan dengan etanol } 250 \text{ ml} = \frac{5 \text{ mg}}{250 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 20 \text{ µg/1ml}$$

9. Panjang Gelombang DPPH

panjang gel	absorbansi
480	2.4548
485	2.6231
490	2.8102
495	3.0123
500	3.1752
505	3.3270
510	3.4828
515	3.5575
520	3.5157
525	3.3904
530	3.2899
535	3.1232
540	2.9363
545	2.7479
550	2.5646



10. Perhitungan % inhibisi

$$\text{Inhibisi} = \frac{\text{abs blanko} - \text{abs sampel}}{\text{abs blanko}} \times 100\%$$

10.1. Rata – rata absorbansi tiap sampel

Sampel	Konsentrasi (ppm)				
	40	80	120	160	200
Kopi non Luwak	0,2297	0,1689	0,1307	0,1033	0,0684
Kopi Luwak	0,1797	0,1477	0,0907	0,0716	0,0419
Vitamin C	0,1684	0,1207	0,0897	0,0637	0,0258

10.2. Rata – rata absorbansi blanko

Blanko	Rata - rata
DPPH	0,3798

10.3. Kopi non Luwak + DPPH:

Sampel 40 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,3798 - 0,2297}{0,3798} \times 100\%$$

$$= 39.52\%$$

Sampel 80 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,3798 - 0,1689}{0,3798} \times 100\%$$

$$= 55.52\%$$

Sampel 120 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,3798-0,1307}{0,3798} \times 100\% \\ = 65.58\%$$

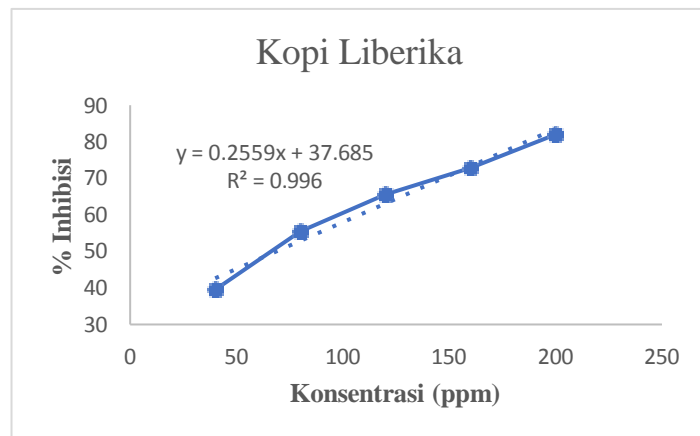
Sampel 160 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,3798-0,1033}{0,3798} \times 100\% \\ = 72.81\%$$

Sampel 200 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,3798-0,04840684}{0,3798} \times 100\% \\ = 81.98 \%$$

Konsentrasi (ppm)	% inhibisi
40	39.52
80	55.52
120	65.58
160	72.81
200	81.98



Perhitungan IC₅₀

$$y = 0,2559 + 37,685$$

$$50 = 0,2559 + 37,685$$

$$x (\text{IC}_{50}) = \frac{50 - 37,685}{0,2559}$$

$$= 48,124 \text{ mg/mL}$$

10.4. Kopi Luwak + DPPH

Sampel 40 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,3798-0,1797}{0,3798} \times 100\% = 52.70 \%$$

Sampel 80 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,3798-0,1477}{0,3798} \times 100\%$$

$$= 61.11 \%$$

Sampel 120 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,3798-0,0907}{0,3798} \times 100\%$$

$$= 76.11 \%$$

Sampel 160 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,3798-0,0716}{0,3798} \times 100\%$$

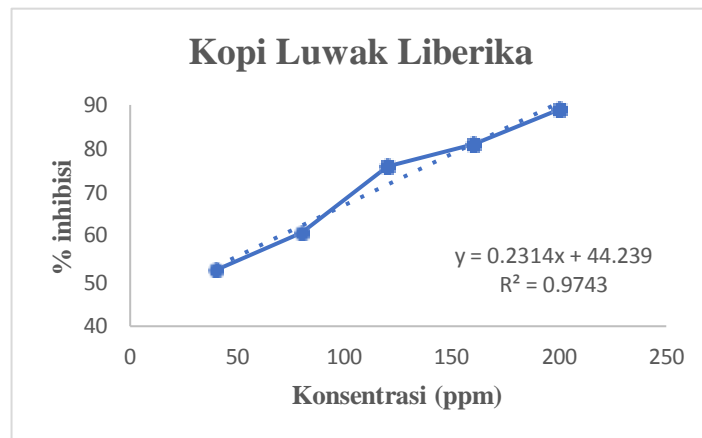
$$= 81.14 \%$$

Sampel 200 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,3798-0,0419}{0,3798} \times 100\%$$

$$= 88.96\%$$

Konsentrasi (ppm)	% inhibisi
40	52.70
80	61.11
120	76.11
160	81.14
200	88.96



Perhitungan IC₅₀

$$y = 0,2314 + 44,239$$

$$50 = 0,2314 + 44,239$$

$$x (\text{IC}_{50}) = \frac{50 - 44,239}{0,2314} = 24,89 \text{ mg/mL}$$

10.5. Vitamin C + DPPH

Sampel 40 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,3798-0,1684}{0,3798} \times 100\% \\ = 55,66 \%$$

Sampel 80 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,3798-0,1207}{0,3798} \times 100\% \\ = 68,22 \%$$

Sampel 120 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,3798-0,0897}{0,3798} \times 100\% \\ = 76,39 \%$$

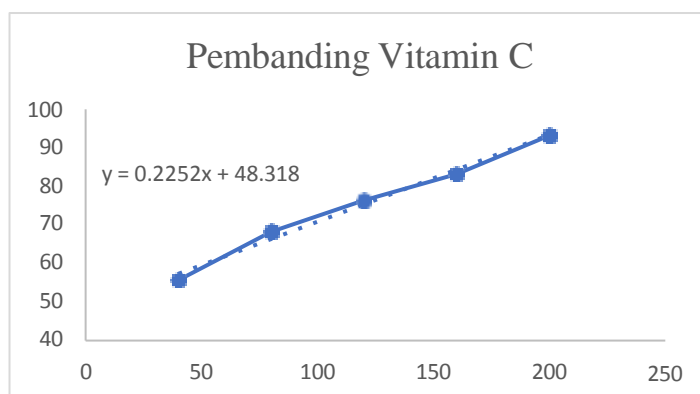
Sampel 160 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,3798-0,0637}{0,3798} \times 100\% \\ = 83,22 \%$$

Sampel 200 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,3798-0,0258}{0,3798} \times 100\% \\ = 93,19 \%$$

Konsentrasi (ppm)	% inhibisi
40	55,66
80	68,22
120	76,39
160	83,22
200	93,19



Perhitungan IC₅₀

$$y = 0,2252 + 48,318$$
$$50 = 0,2314 + 44,239$$

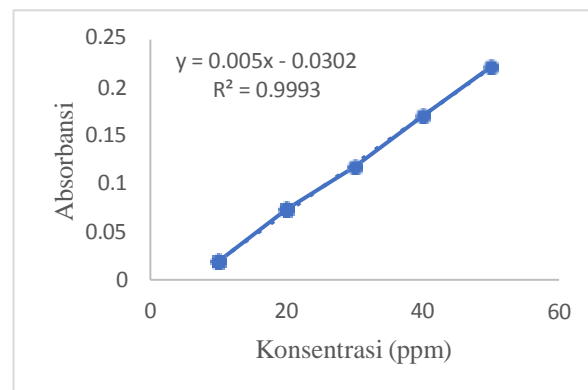
$$x (IC_{50}) = \frac{50 - 48,318}{0,2252}$$

$$= 7,46 \text{ mg/mL}$$

11. Validasi metode

11.1. Linearitas (kurva baku)

Konsentrasi (ppm)	Rata-Rata
10	0.0192
20	0.0733
30	0.1176
40	0.1705
50	0.2217



12. Presisi

Data ke-	Absorbansi 10 ppm
1	0.2239
2	0.2236
3	0.2244
4	0.2246
5	0.2244

Data ke-1

Abs sampel = 0.2239

$y = 0,005x - 0,0302$

$0.2239 = 0,005x - 0,0302$

$0.2239 - 0,0302 = 0,005$

$0,1942 = 0,005$

$$\frac{0,1937}{0,005} = 38.74 \text{ ppm}$$

Data ke-2

$$\text{Abs sampel} = 0,2236$$

$$y = 0,005x - 0,0302$$

$$0,2236 = 0,005x - 0,0302$$

$$0,2236 - 0,0302 = 0,005x$$

$$0,1934 = 0,005x$$

$$\frac{0,1934}{0,005} = 38.68 \text{ ppm}$$

Data ke-3

$$\text{Abs sampel} = 0,2244$$

$$y = 0,005x - 0,0302$$

$$0,2244 = 0,005x - 0,0302$$

$$0,2244 - 0,0302 = 0,005x$$

$$0,1942 = 0,005x$$

$$\frac{0,1942}{0,005} = 38.84 \text{ ppm}$$

Data ke-4

$$\text{Abs sampel} = 0,2246$$

$$y = 0,005x - 0,0302$$

$$0,2246 = 0,005x - 0,0302$$

$$0,2246 - 0,0302 = 0,005x$$

$$0,1944 = 0,005x$$

$$\frac{0,1944}{0,005} = 38.88 \text{ ppm}$$

Data ke-5

$$\text{Abs sampel} = 0,2244$$

$$y = 0,005x - 0,0302$$

$$0,2244 = 0,005x - 0,0302$$

$$0,2244 - 0,0302 = 0,005x$$

$$0,1942 = 0,005x$$

$$\frac{0,1942}{0,005} = 38.84 \text{ ppm}$$

$$\text{SD} = 0,0830$$

$$\% \text{ RSD} = \frac{0,0830}{38,84} \times 100 = 0,21\%$$

13. Akurasi

a. Sebelum ditambahkan baku

konsentrasi	Abs ekstrak			Rata-rata
	1	2	3	
20	0.0635	0.0630	0.0618	0,0628
30	0.1016	0.1017	0.1014	0,1016
40	0.1553	0.1551	0.1555	0,1553

b. Setelah ditambahkan baku

konsentrasi	Abs ekstrak+ baku			Rata-rata
	1	2	3	
20	0.1659	0.1661	0.1664	0.1661
30	0.2607	0.2608	0.2611	0.2609
40	0.3493	0.3498	0.3512	0.3501

Persamaan regresi=

$$c = \frac{A-a}{b}$$

Keterangan:

A= nilai absorbansi

a = -0,0302

b = 0,005

C = konsentrasi ppm

13.1. Sebelum Spike

1. Ekstrak 20 ppm

a. Replikasi 1 (0.0635)

$$C = \frac{0.0635 - (-0,0302)}{0,005} = 18,74 \text{ ppm}$$

b. Replikasi 2 (0.0630)

$$C = \frac{0.0630 - (-0,0302)}{0,005} = 18,64 \text{ ppm}$$

c. Replikasi 3 (0.0618)

$$C = \frac{0.0618 - (-0,0302)}{0,005} = 18,40 \text{ ppm}$$

$$\text{Rata - rata konsentrasi} = \frac{18,74+18,64+18,40}{3} = 18,59 \text{ ppm}$$

2. Ekstrak 30 ppm

a. Replikasi 1 (0.1016)

$$C = \frac{0.1016 - (-0,0302)}{0,005} = 26,36 \text{ ppm}$$

b. Replikasi 1 (0.1017)

$$C = \frac{0.1016 - (-0,0302)}{0,005} = 26,38 \text{ ppm}$$

c. Replikasi 1 (0.1014)

$$C = \frac{0.1016 - (-0,0302)}{0,005} = 26,32 \text{ ppm}$$

$$\text{Rata - rata konsentrasi} = \frac{26,36 + 26,38 + 26,32}{3} = 26,35 \text{ ppm}$$

3. Ekstrak 40 ppm

a. Replikasi 1 (0.1553)

$$C = \frac{0.1553 - (-0,0302)}{0,005} = 37,10 \text{ ppm}$$

b. Replikasi 1 (0,1551)

$$C = \frac{0.1551 - (-0,0302)}{0,005} = 37,06 \text{ ppm}$$

c. Replikasi 1 (0,1555)

$$C = \frac{0.1555 - (-0,0302)}{0,005} = 37,14 \text{ ppm}$$

$$\text{Rata - rata konsentrasi} = \frac{37,10 + 37,06 + 37,14}{3} = 37,10 \text{ ppm}$$

13.2. Setelah Spike

1. Ekstrak + Baku 20 ppm

a. Replikasi 1 (0.1659)

$$C = \frac{0.1659 - (-0,0302)}{0,005} = 39,22 \text{ ppm}$$

b. Replikasi 1 (0.1661)

$$C = \frac{0.1661 - (-0,0302)}{0,005} = 39,26 \text{ ppm}$$

c. Replikasi 1 (0.1664)

$$C = \frac{0.1664 - (-0,0302)}{0,005} = 39,32 \text{ ppm}$$

$$\text{Rata - rata konsentrasi} = \frac{39,22 + 39,26 + 39,32}{3} = 39,26 \text{ ppm}$$

2. Ekstrak + Baku 30 ppm

a. Replikasi 1 (0.2607)

$$C = \frac{0.2607 - (-0,0302)}{0,005} = 58,18 \text{ ppm}$$

b. Replikasi 1 (0.2608)

$$C = \frac{0.2608 - (-0,0302)}{0,005} = 58,20 \text{ ppm}$$

c. Replikasi 1 (0.2611)

$$C = \frac{0.2611 - (-0,0302)}{0,005} = 58,26 \text{ ppm}$$

$$\text{Rata - rata konsentrasi} = \frac{58,18 + 58,20 + 58,26}{3} = 58,21 \text{ ppm}$$

3. Ekstrak + Baku 40 ppm

a. Replikasi 1 (0.3493)

$$C = \frac{0.3493 - (-0,0302)}{0,005} = 75,90 \text{ ppm}$$

b. Replikasi 1 (0.3498)

$$C = \frac{0.3498 - (-0.0302)}{0,005} = 76 \text{ ppm}$$

c. Replikasi 1 (0.3512)

$$C = \frac{0.3512 - (-0.0302)}{0,005} = 76,28 \text{ ppm}$$

$$\text{Rata - rata konsentrasi} = \frac{79,90 + 76 + 76,28}{3} = 76,06 \text{ ppm}$$

14. % Recovery

$$= \frac{C_2 - C_1}{B} \times 100$$

Keterangan :

C1 = konsentrasi sebelum spike

C2 = konsentrasi setelah spike

B = ppm

1. Konsentrasi 20 ppm

a. Replikasi 1

$$\% \text{ Recovery} = \frac{39,22 - 18,74}{20} \times 100 = 102,4 \%$$

b. Replikasi 2

$$\% \text{ Recovery} = \frac{39,26 - 18,64}{20} \times 100 = 103,1 \%$$

c. Replikasi 3

$$\% \text{ Recovery} = \frac{39,32 - 18,40}{20} \times 100 = 104,6 \%$$

$$\text{Rata - rata \% Recovery} = \frac{102,4 + 103,1 + 104,6}{3} = 103,36 \%$$

2. Konsentrasi 30 ppm

a. Replikasi 1

$$\% \text{ Recovery} = \frac{58,18 - 26,36}{30} \times 100 = 106 \%$$

b. Replikasi 2

$$\% \text{ Recovery} = \frac{58,20 - 26,38}{30} \times 100 = 106 \%$$

c. Replikasi 3

$$\% \text{ Recovery} = \frac{58,26 - 26,32}{30} \times 100 = 106,46 \%$$

$$\text{Rata - rata \% Recovery} = \frac{106 + 106 + 106,46}{3} = 106,15 \%$$

3. Konsentrasi 40 ppm

a. Replikasi 1

$$\% \text{ Recovery} = \frac{75,90 - 37,10}{40} \times 100 = 97 \%$$

b. Replikasi 2

$$\% \text{ Recovery} = \frac{76 - 37,06}{40} \times 100 = 97,35 \%$$

c. Replikasi 3

$$\% \text{ Recovery} = \frac{76,28-37,14}{40} \times 100 = 97,77 \%$$

$$\text{Rata - rata } \% \text{ Recovery} = \frac{97+97,35+97,77}{3} = 97,37\%$$

15. LOD&LOQ

Konsentrasi (ppm)	absorbansi (y1)	yc	y1-yc	y1-yc ²	n-2	3
10	0.0192	0.0198	-0.0006	3.6E-07	SD	0.00268
20	0.0733	0.0698	0.0035	1.23E-05	LOD	1.768915
30	0.1176	0.1198	-0.0022	4.84E-06	LOQ	5.360348
40	0.1705	0.1698	0.0007	4.9E-07		
50	0.2217	0.2198	0.0019	3.61E-06		
				2.16E-05		

$$y = a + b.x$$

$$a = -0,0302$$

$$b = 0,005$$

x= untuk setiap konsentrasi

$$yc = a + bx$$

- Konsentrasi 10 ppm
 $yc = -0,0302 + 0,005 \times 10 = 0,0198$
- Konsentrasi 20 ppm
 $yc = -0,0302 + 0,005 \times 20 = 0,0698$
- Konsentrasi 30 ppm
 $yc = -0,0302 + 0,005 \times 30 = 0,1198$
- Konsentrasi 40 ppm
 $yc = -0,0302 + 0,005 \times 40 = 0,1698$
- Konsentrasi 50 ppm
 $yc = -0,0302 + 0,005 \times 50 = 0,2198$

$$y1-yc$$

- Konsentrasi 10 ppm
 $0.0192 - 0,0198 = -0,0006$
- Konsentrasi 20 ppm
 $0.0733 - 0,0698 = 0,0035$
- Konsentrasi 30 ppm
 $0.1176 - 0,1198 = -0,0022$
- Konsentrasi 40 ppm
 $0.1705 - 0,1698 = 0,0007$
- Konsentrasi 50 ppm
 $0.2217 - 0,2198 = 0,0019$

$y_1 - y_c^2$

- a. Konsentrasi 10 ppm
 $-0,0006 \times 0,0006 = 0,00000036$
- b. Konsentrasi 20 ppm
 $0,0035 \times 0,0035 = 0,00001225$
- c. Konsentrasi 30 ppm
 $-0,0022 \times -0,0022 = 0,00000484$
- d. Konsentrasi 40 ppm
 $0,0007 \times 0,0007 = 0,00000049$
- e. Konsentrasi 50 ppm
 $0,0019 \times 0,0019 = 0,00000361$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(y - y_c)^2}{n-2}}$$

Jumlah kuadrat selisih

$$\begin{aligned} \sum(y - y_c)^2 &= \\ 0,00000036 + 0,00001225 + 0,00000484 + 0,00000049 + 0,00000361 &= \\ 0,00002155 & \end{aligned}$$

$$SD = \sqrt{\frac{0,00002155}{5-2}} = \sqrt{0,00000718} = 0,00268$$

LOD&LOQ

$$LOD = \frac{3,3 \times SD}{slope (b)}$$

$$LOD = \frac{3,3 \times 0,00268}{0,005} = \frac{0,008844}{0,005} = 1,7688 \sim 1,77 \text{ ppm}$$

$$LOQ = \frac{10 \times SD}{slope (b)}$$

$$LOQ = \frac{10 \times 0,00268}{0,005} = \frac{0,0268}{0,005} = 5,36 \text{ ppm}$$