

Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Daun Kopi Arabika (*Coffea arabica*) dan Daun Pandan (*Pandanus amaryllifolius*) dengan Metode DPPH

Yuni Retnaningtyas, Muhammad Hafidi Hamzah, Nia Kristiningrum

ABSTRACT : Antioxidants are nutrient that can prevent the oxidative damage in the body. Arabica coffee and pandan is most common species of plant found in Indonesia. Arabica coffee and pandan known as plants with antioxidant activity. This study aimed to determine and compare antioxidant activity of water and ether fraction from methanolic extract of Arabica coffee leaves, pandan leaves and both combination by DPPH method. Vitamin C was used as positive control. The result show that Arabica coffee leaves have antioxidant activity better than pandan leaves and also gives big donation of antioxidant activity in their combinations. Statistical analysis showed that antioxidant activity from all sample were significantly different ($p < 0,05$).

Yuni Retnaningtyas,
Muhammad Hafidi Hamzah,
Nia Kristiningrum
Fakultas Farmasi, Universitas
Jember

Email:
muhammadhafidihamzah@gmail.com

Keywords : antioxidan activity, Arabica coffee, pandan, DPPH

ABSTRAK : Antioksidan merupakan nutrisi yang dapat mencegah kerusakan oksidatif dalam tubuh. Kopi Arabika dan pandan merupakan spesies tanaman yang banyak ditemukan di Indonesia. Kopi Arabika dan pandan diketahui sebagai tanaman yang memiliki aktivitas antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antioksidan fraksi air dan fraksi eter dari ekstrak metanol daun kopi Arabika, daun pandan dan kombinasi keduanya dengan menggunakan metode DPPH. Vitamin C digunakan sebagai kontrol positif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa daun kopi Arabika memiliki aktivitas antioksidan lebih baik daripada daun pandan dan juga memberikan sumbangan aktivitas antioksidan yang besar untuk kombinasi keduanya. Analisis statistik menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan dari semua sampel berbeda secara signifikan ($p < 0,05$).

Kata kunci: aktivitas antioksidan, kopi Arabika, pandan, DPPH

Correspondence:

Muhammad Hafidi Hamzah
Fakultas Farmasi, Universitas Jember

Pendahuluan

Antioksidan merupakan substansi nutrisi maupun non-nutrisi yang mampu mencegah atau memperlambat terjadinya kerusakan oksidatif akibat radikal bebas dalam tubuh. Beberapa penyakit seperti *cardiovascular heart disease*, diabetes melitus, kanker dan degenerasi makular di picu oleh kerusakan oksidatif. Antioksidan merupakan agen *free radical scavengers* artinya mampu bekerja mencegah dan memperbaiki kerusakan tubuh akibat radikal bebas [1].

Antioksidan dapat digolongkan menjadi dua, yaitu antioksidan alami dan antioksidan buatan atau sintetis. Antioksidan alami biasanya ditemukan pada biji, buah, batang, daun dan bunga tumbuhan tertentu. Antioksidan alami diantaranya yakni senyawa turunan fenol, tokoferol, kumarin, asam askorbat, hidroksi sinamat dan dihidroflavon yang bermanfaat bagi kesehatan [2]. Menurut penelitian sebelumnya, tumbuhan-tumbuhan dengan kadar fenol tinggi memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi pula, hal ini dikarenakan sebagian besar senyawa-senyawa antioksidan merupakan senyawa turunan fenol [3]. Antioksidan buatan atau sintetis merupakan antioksidan alami yang telah diproduksi secara sintetis untuk tujuan komersial. Contoh antioksidan buatan atau sintetis yaitu Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluen (BHT), Propil galat, Tert-Butil Hidroksi Quinon (TBHQ) [4]. Namun penggunaan antioksidan sintetis memiliki beberapa efek samping yang tidak diinginkan dan dapat bersifat toksik, oleh karena itu penggunaan antioksidan alami untuk keperluan industri maupun menambah asupan antioksidan dalam tubuh lebih dianjurkan [5].

Pandan (*Pandanus amaryllifolius*) merupakan tanaman yang tumbuh di daerah tropis dan banyak ditanam di halaman rumah, kebun-kebun, ataupun di sawah-sawah. Pandan sudah banyak dikenal dan digunakan oleh banyak orang sebagai obat tradisional [6]. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak daun pandan wangi mengandung tanin, alkaloid, flavonoid, dan polifenol [7]. Alkaloid, flavonoid, tanin dan polifenol merupakan senyawa aktif bahan alam yang telah diteliti dan memiliki aktivitas

hipoglikemik, antioksidan dan penghambat pertumbuhan tumor.

Tanaman kopi merupakan salah satu komoditi perkebunan di Indonesia. Kementerian Perindustrian RI menyatakan bahwa Indonesia merupakan negara penghasil kopi terbesar ketiga di dunia setelah Brasil dan Vietnam [8]. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa daun kopi Arabika (*Coffea arabica*) mengandung banyak sekali senyawa polifenol yang berkhasiat sebagai antioksidan. Penelitian yang dilakukan menunjukkan hasil aktivitas antioksidan yang sangat tinggi [9].

Pada Penelitian ini akan dilakukan penentuan aktivitas antioksidan fraksi air dan fraksi eter campuran ekstrak metanol daun kopi Arabika (*Coffea arabica*) dan ekstrak metanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius*). Kombinasi kedua tanaman ini diharapkan dapat meningkatkan aktivitas antioksidan dari masing-masing tanaman. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode peredaman DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) karena metode ini merupakan metode yang paling sederhana, cepat, mudah, akurat, murah, dan mampu mengukur berbagai komponen yang bertindak sebagai radikal bebas atau donor Hidrogen [2]. Senyawa pembanding yang digunakan dalam mengukur aktivitas antioksidan ini adalah Vitamin C. Digunakan sebagai senyawa pembanding karena Vitamin C merupakan sediaan yang banyak digunakan di pasaran dan telah terbukti memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan harganya relatif murah. Menurut penelitian [10] Vitamin C digunakan oleh banyak peneliti sebagai pembanding uji aktivitas antioksidan karena memiliki kemampuan daya meredam radikal bebas yang baik [11].

Metode Penelitian

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun pandan yang berasal dari daerah Sumberjambe dan daun kopi Arabika yang berasal dari Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, metanol teknis, standar vitamin C *pharmaceutical grade* (99,8%), difenilpikrilhidrazil / DPPH (sigma-aldrich), aquadest (merck) dan dietileter (sigma-aldrich).

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain spektrofotometer Hitachi U-1800, *rotary evaporator*, blender, oven, cawan penguap, maserator, botol timbang, corong pisah, timbangan analitik sartorius, spatula, *ultrasonic cleaner*, alat-alat gelas.

Cara kerja

Ekstraksi

Simplisia daun pandan dan daun kopi masing-masing ditimbang sebanyak 200 gram, serbuk dalam keadaan kering dimaserasi dalam maserator dengan 2 liter metanol selama 24 jam. Selama 6 jam pertama, campuran diaduk dengan batang pengaduk. Ekstrak cair disaring dengan kertas saring. Maserasi dan penyaringan diulang 3 kali dengan cara yang sama. Hasil maserasi diuapkan dengan *rotary evaporator* suhu 50°C dan hasilnya dipekatkan diatas *waterbath* untuk memperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang untuk perhitungan rendemen. Ekstrak ini disimpan dalam lemari pendingin untuk analisis selanjutnya.

Standarisasi

Sesuai literatur persyaratan standarisasi merupakan parameter standart umum, parameter standart umum terdiri dari dua aspek, yakni aspek parameter spesifik dan parameter non spesifik. Dalam penelitian ini aspek parameter nonspesifik meliputi kadar air, kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam. Sedangkan parameter spesifik meliputi organooptik, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol dan identifikasi golongan senyawa kimia [12].

Fraksinasi

Ekstrak daun pandan dan daun kopi masing-masing ditimbang 5 g dan dilarutkan dalam 50 ml air di dalam *beakerglass* lalu dimasukkan kedalam corong pisah lalu ditambahkan dietileter sebanyak 50 ml dan untuk kombinasi masing-masing dengan perbandingan 2:1 (6g : 3g), 1:1 (4,5g : 4,5g), dan 1:2 (3g : 6g) kemudian dicampurkan dan diaduk hingga homogen. Setelah homogen dilarutkan dalam 75 ml air di dalam *beakerglass* lalu dimasukkan kedalam corong pisah lalu ditambahkan dietileter sebanyak 75 ml. Campuran dikocok dan didiamkan hingga terbentuk dua fase, fase air dan fase eter. Setelah terbentuk dua fase lalu kedua fase itu dipisahkan, hingga diperoleh fraksi cair yang

terdiri dari fraksi air dan fraksi eter. Masing-masing fase kemudian diuapkan diatas *waterbath* untuk memperoleh fraksi kental. Fraksi kental yang diperoleh ditimbang untuk perhitungan rendemen. Fraksi ini kemudian disimpan dalam lemari pendingin untuk analisis selanjutnya.

Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

1. Pembuatan larutan DPPH

Serbuk DPPH ditimbang sejumlah 2 mg, dilarutkan dengan 50 ml metanol sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 0,1 mM. Larutan ini kemudian disimpan dalam botol gelap dan untuk setiap pengujian dibuat larutan DPPH baru.

2. Penentuan panjang gelombang maksimum

Dipipet 1,2 ml larutan DPPH 0,1 mM. Kemudian menambahkan 0,3 ml metanol. Campuran dikocok sampai homogen dan diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit pada tempat gelap. Serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis yang telah diatur panjang gelombangnya dari 400 – 600 nm.

3. Optimasi waktu inkubasi

Optimasi waktu inkubasi dilakukan dengan memipet 1,2 ml larutan DPPH 0,1 mM ditambahkan 0,3 ml larutan uji kemudian dilakukan pengukuran absorbansi tiap 5 menit mulai menit ke 0 sampai menit ke 100.

4. Optimasi rentang konsentrasi larutan uji

Sebanyak 1,2 ml larutan DPPH dipipet dengan menggunakan mikropipet kemudian ditambahkan 0,3 ml metanol. Selanjutnya sebanyak 1,2 ml larutan DPPH dipipet dengan menggunakan mikropipet kemudian ditambahkan 0,3 ml larutan uji dengan satu konsentrasi acak lalu keduanya diinkubasi selama waktu inkubasi yang telah ditentukan. Serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum. Apabila nilai serapan larutan DPPH+larutan uji mencapai $\pm 0,5$ dari nilai serapan larutan DPPH+metanol, maka konsentrasi larutan uji tersebut merupakan titik tengah rentang konsentrasi uji.

5. Pengujian aktivitas antioksidan

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara memipet 0,3 ml dari masing-masing konsentrasi larutan uji setiap fraksi dan larutan vitamin C

dimasukkan tabung reaksi, ditambahkan 1,2 ml DPPH 0,1 mM. Campuran dikocok sampai homogen kemudian larutan uji dan larutan vitamin C diinkubasi pada suhu ruang selama waktu inkubasi yang telah dioptimasi. Diukur serapannya pada panjang gelombang maksimumnya. Nilai absorbansi yang diperoleh digunakan untuk menghitung %peredaman DPPH dengan persamaan :

$$\% \text{Peredaman DPPH} = \frac{\text{Abs X} - \text{Abs Y}}{\text{Abs X}} \times 100 \%$$

Keterangan :

Abs X = Absorbansi serapan radikal DPPH kontrol pada panjang gelombang dengan absorbansi maksimum.

Abs Y = Absorbansi serapan sampel dalam radikal DPPH pada panjang gelombang dengan absorbansi maksimum [13].

Nilai IC₅₀ dihitung berdasarkan persentase inhibisi terhadap radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel mengikuti persamaan yang telah dijelaskan sebelumnya. Setelah didapatkan persentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi, dilanjutkan dengan perhitungan secara regresi linier menggunakan persamaan :

$$y = a + bx$$

Keterangan:

x = konsentrasi (µg/ml)

y = presentase inhibisi (%)

Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan *Inhibition Concentration 50%* atau IC₅₀ yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai IC₅₀ didapatkan dari nilai x setelah mengganti y dengan 50.

Analisis data

Dilakukan uji statistik menggunakan *one way anova* dan dilanjutkan dengan *post hoc* (LSD). Perbedaan dianggap bermakna apabila *p-value* ≤ 0,05 dengan tingkat kepercayaan sebesar 95%.

Hasil dan Diskusi

Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan metode remaserasi dengan menggunakan pelarut metanol untuk mengekstrak serbuk simplisia daun kopi Arabika dan daun pandan karena secara umum pelarut metanol merupakan pelarut yang banyak digunakan dalam proses ekstraksi senyawa organik bahan alami karena dapat melarutkan seluruh golongan metabolit sekunder [14]. Hasil ekstraksi dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1 Hasil Ekstraksi

Serbuk simplisia	Bobot Serbuk	Bobot Ekstrak	% Rendemen
daun kopi Arabika	200,3 gram	37,80 gram	18,85 %
daun pandan	200,1 gram	28,80 gram	14,39 %

Standarisasi

Standarisasi dilakukan untuk menjamin bahwa bahan yang digunakan terkarakterisasi dengan jelas karena simplisia sebagai produk bahan alam tidak dapat dijamin kandungan senyawa yang ada di dalamnya selalu konstan karena dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti tempat tumbuh, iklim, kondisi (umur dan cara panen) serta proses pasca panen dan preparasi [12]. Hasil standarisasi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 Hasil Standarisasi

Jenis Standarisasi	Kopi Arabika	Pandan
Parameter non-spesifik		
Kadar air	0,1700 ± 6,928x10 ⁻³ %	1,059 ± 5,773x10 ⁻⁴ %
Kadar abu total	7,870 ± 0,2267 %	0,7976 ± 2,117x10 ⁻³ %
Kadar abu tidak larut asam	0,7665 ± 0,01417 %	0,2393 ± 6,429x10 ⁻⁴ %
Parameter spesifik		
Organoleptik		
• Bentuk	Kental	Kental
• Warna	Hitam kecoklatan	Hijau kehitaman
• Bau	Khas kopi	Khas pandan
• Rasa	Pahit asam	Pahit asam
Kadar sari larut dalam pelarut air	15,85 ± 0,3012 %	3,393 ± 7,000x10 ⁻³ %

Kadar sari larut dalam pelarut etanol	$1,992 \pm 1,527 \times 10^{-3} \%$	$14,49 \pm 0,2672 \%$
Identifikasi		
• Alkaloid	Positif (+)	Positif (+)
• Flavonoid	Positif (+)	Positif (+)
• Tanin	Positif (+)	Positif (+)
• Saponin	Positif (+)	Positif (+)

Keterangan : Data disajikan dalam $\pm$ SD (n=3)

Fraksinasi

Tujuan dilakukannya fraksinasi adalah untuk mengetahui besarnya senyawa-senyawa yang ada dalam fase polar dan fase nonpolar sehingga dapat diketahui aktivitas antioksidan dari fase polar dan nonpolar dari ekstrak

tersebut. Selain itu fraksinasi juga dilakukan untuk memurnikan ekstrak dari senyawa-senyawa yang bersifat lipofil, karena diketahui bahwa senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan merupakan senyawa-senyawa yang larut dalam pelarut polar [15].

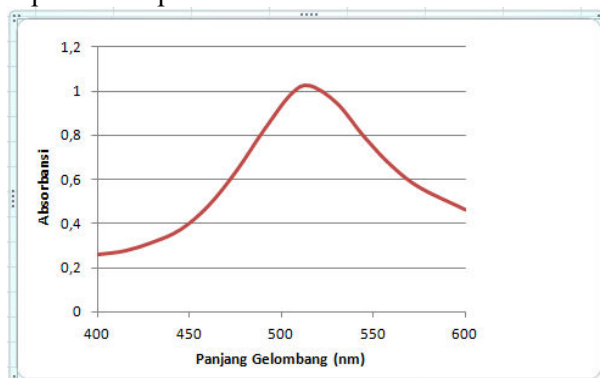
Tabel 3 Hasil Fraksinasi

Sampel	Rendemen Fraksi air	Rendemen Fraksi eter
Ekstrak Tunggal		
Kopi Arabika	66,62 %	24,42 %
Pandan	46,76 %	36,12 %
Ekstrak Kombinasi (Kopi Arabika : Pandan)		
6 g : 3 g	62,50 %	16,50 %
4,5 g : 4,5 g	48,52 %	11,89 %
3 g : 6 g	44,40 %	10,51 %

Pengujian Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH

Penetapan Panjang Gelombang Maksimum

Panjang gelombang terpilih yang memberikan absorbansi maksimum adalah pada panjang gelombang 515 nm. Hasil penetapan panjang gelombang maksimum ini dapat dilihat pada Gambar 1 dibawah ini.



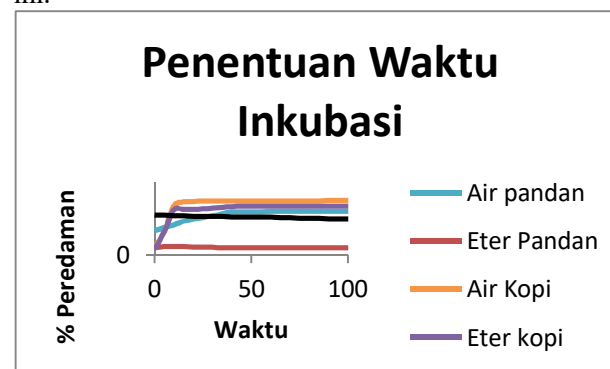
Gambar 1 Spektra Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Pada penetapan panjang gelombang maksimum larutan DPPH ini digunakan konsentrasi larutan DPPH 0,1 mM. Menggunakan konsentrasi ini karena konsentrasi ini merupakan konsentrasi yang akan digunakan pada pengujian aktivitas

antioksidan pada setiap fraksi yang telah diperoleh sebelumnya dan juga menurut penelitian sebelumnya mengatakan bahwa rentang kerja konsentrasi larutan DPPH adalah 0,05 – 0,15 mM [10].

Penentuan Waktu Inkubasi

Waktu inkubasi optimum menunjukkan masing-masing larutan uji antioksidan telah bereaksi secara sempurna dengan larutan DPPH. Dalam penelitian dilakukan penentuan waktu inkubasi pada kontrol positif yaitu vitamin C, fraksi air ekstrak daun kopi Arabika, fraksi air ekstrak daun pandan, fraksi eter ekstrak daun kopi Arabika dan fraksi eter ekstrak daun pandan. Hasil penentuan waktu inkubasi dapat dilihat pada Gambar 2 dibawah ini.



Gambar 2 Grafik Waktu Inkubasi

Menurut penelitian sebelumnya terkait dengan metode DPPH menyatakan bahwa waktu yang optimum untuk berlangsungnya reaksi secara sempurna adalah 30 menit, namun waktu inkubasi untuk berbagai sampel dapat bervariasi sesuai dengan karakteristik yang ada pada sampel terutama karakteristik aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh sampel [13].

Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH bertujuan untuk

mengetahui besarnya konsentrasi yang dapat meredam 50% radikal bebas DPPH yang dinyatakan dalam nilai IC₅₀. Dalam hubungan antara IC₅₀ dan konsentrasi, semakin besar nilai IC₅₀ maka konsentrasi yang dibutuhkan untuk menimbulkan efek peredaman 50% DPPH semakin besar dan semakin kecil nilai IC₅₀ maka konsentrasi yang dibutuhkan untuk menimbulkan efek peredaman 50% DPPH semakin kecil. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10 Hasil pengukuran aktivitas antioksidan

Sampel	Nilai IC ₅₀ ±SD (µg/ml, n=3)	
	Fraksi Air	Fraksi Eter
Tunggal		
Vitamin C	3,27±3,65x10 ⁻³	
Ekstrak metanol daun kopi Arabika	26,2±0,323	63,3±0,0395
Ekstrak metanol daun pandan	166±0,609	204±0,890
Kombinasi		
Kopi : Pandan (2 : 1)	21,1±0,0205	73,3±0,241
Kopi : Pandan (1 : 1)	33,0±0,260	82,7±0,399
Kopi : Pandan (1 : 2)	41,8±0,347	105±0,164

Keterangan : Data disajikan dalam rata-rata ± SD

Pada pengujian ekstrak tunggal aktivitas antioksidan terbesar yaitu fraksi air ekstrak metanol daun kopi Arabika dengan nilai IC₅₀ 26,2 µg/ml disusul fraksi eter ekstrak metanol daun kopi Arabika, fraksi air ekstrak metanol daun pandan dan fraksi eter ekstrak metanol daun pandan dengan nilai IC₅₀ 63,3 µg/ml, 166 µg/ml, dan 204 µg/ml

Sedangkan pada pengujian ekstrak kombinasi antioksidan terbesar yaitu fraksi air kombinasi kopi : pandan (2 : 1) dengan nilai IC₅₀ 21,1 µg/ml disusul oleh fraksi air kombinasi kopi : pandan (1 : 1), fraksi air kombinasi kopi : pandan (1 : 2), fraksi eter kombinasi kopi : pandan (2 : 1), fraksi eter kombinasi kopi : pandan (1 : 1) dan fraksi eter kombinasi kopi : pandan (1 : 2) dengan nilai IC₅₀ 33,0 µg/ml, 41,8 µg/ml, 73,3 µg/ml, 82,7 µg/ml, dan 105 µg/ml. Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa semakin besar jumlah ekstrak metanol daun kopi Arabika yang ada dalam kombinasi maka aktivitas antioksidan yang dihasilkan semakin kuat, hal ini dikarenakan bahwa ekstrak metanol daun kopi Arabika tunggal memiliki nilai aktivitas

antioksidan yang jauh lebih kuat dibandingkan dengan aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun pandan tunggal sehingga ekstrak metanol daun kopi Arabika memberikan sumbangan aktivitas antioksidan yang besar terhadap aktivitas antioksidan daun pandan baik pada fraksi air maupun pada fraksi eter.

Berdasarkan tabel tingkat kekuatan aktivitas antioksidan fraksi air ekstrak metanol kopi Arabika tunggal dan fraksi air dari ketiga kombinasi memiliki aktivitas antioksidan yang kuat karena memiliki nilai IC₅₀ yang kurang dari 50 µg/ml. Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat apabila memiliki nilai IC₅₀ < 50 µg/ml. Fraksi eter ekstrak metanol kopi Arabika tunggal, fraksi eter kombinasi ekstrak metanol (kopi : pandan = 2 : 1) dan (kopi : pandan = 1 : 1) memiliki aktivitas antioksidan yang kuat karena memiliki nilai IC₅₀ antara 50 – 100 µg/ml. Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan yang kuat apabila memiliki nilai IC₅₀ antara 50 – 100 µg/ml. Sedangkan fraksi air ekstrak metanol daun pandan tunggal, fraksi eter ekstrak metanol

daun pandan tunggal dan faksi eter kombinasi ekstrak metanol (kopi : pandan = 1 : 2) memiliki aktivitas antioksidan sedang karena memiliki nilai IC_{50} antara 100 – 250 $\mu\text{g/ml}$. Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan sedang apabila memiliki nilai IC_{50} antara 100 – 250 $\mu\text{g/ml}$ [16].

Hasil uji *One way anova* menunjukkan nilai signifikansi $\leq 0,05$ dengan taraf kepercayaan 95% maka dapat dikatakan bahwa ada perbedaan aktivitas antioksidan yang bermakna pada setiap pengujian, baik perbandingan antar ekstrak tunggal maupun perbandingan antar ekstrak kombinasi yang dilakukan. Pengujian analisis data kemudian dilanjutkan pada uji *Post hoc (LSD)*, hasil uji *Post hoc (LSD)* menunjukkan nilai $\leq 0,05$ dengan taraf kepercayaan 95% maka dapat dikatakan bahwa nilai aktivitas antioksidan pada setiap sample berbeda secara bermakna jika dibandingkan dengan sampel lain, baik perbandingan antar ekstrak tunggal maupun perbandingan antar ekstrak kombinasi.

Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa daun kopi Arabika memiliki aktivitas antioksidan lebih baik daripada daun pandan dan juga memberikan sumbangan aktivitas antioksidan yang besar untuk kombinasi keduanya. Analisis statistik menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan dari semua sampel berbeda secara signifikan ($p < 0,05$).

Daftar Pustaka

1. Winarsih, H. (2007). *Antioksidan Alami & Radikal bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
2. Prakash, A. (2001). *Antioxidant Activity Medallion Laboratories Analytical Progress*. Minnesota: Medallion Labs.
3. Kristiningrum, N., & Cahyani, Y. N. (2015). Perbandingan Kadar Fenol Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kopi Robusta dan Arabika. *Jurnal e-Pustaka Kesehatan*, 40.
4. Cahyadi, W. (2006). *Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan*. Jakarta: PT Bumi Aksara.
5. Dalimartha, S. (2005). *Tanaman Obat di Lingkungan Sekitar*. Jakarta: Puspa Swara.
6. Kakuzaki, H., & Nakatani, N. (1993). Antioxidant Effect of Some Ginger Constituent. *Journal Of Food and Science*, 58 (6), 1407-1410.
7. Prameswari, O. M., & Widjanarko, S. B. (2014). Uji Efek Ekstrak Air Daun Pandan Wangi Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Dan Histopatologi Tikus Diabetes Melitus. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 2 (2), 16-27.
8. Prastowo, B. (2010). *Budidaya dan Pasca Panen Kopi*. Bogor: Nitro Pdf Professional.
9. Chiang, H. M. (2011). *Coffea arabica* extract and its constituents prevent photoaging by suppressing MMPs Expression and MAP Kinase Pathway. *Food And Chemical Toxicology*, 49, (-): 309-318.
10. Marinova, G., & Batchvarov, V. (2011). Evaluation of The Method For Determination of The Free Radical Scavenging Activity By DPPH. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 17 (1), 11-24.
11. Haryoto, Santoso, B., & Nugroho, H. (2007). Aktivitas Antioksidan Fraksi Polar Ekstrak Metanol dari Kulit Kayu Batang Shorea acuminatissima dengan Metode DPPH. *Jurnal Ilmu Dasar*, 8(2), 154-168.
12. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000). *Parameter Standart Umum Ekstrak Tumbuhan Obat* (1st ed.). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
13. Molyneux, P. (2004). The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Journal of Science and Technology*, 2, 211-219.
14. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1986). *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
15. Harbone, J. (1987). *Metode fitokimia: penuntun cara modern menganalisis tumbuhan Edisi 2*. Bandung: ITB.
16. Putri, A. A., & Hidajati, N. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Fenolik Ekstrak Metano Kulit Batang Tubuhan Nyeri Batu (*Xylocarpus moluccensis*). *UNESA Journal of Chemistry*, 4 (1), 1-6.