

Uji Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Total Fenol Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta* L.) Hasil Maserasi dan Sokletasi dengan Pereaksi DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)

Hilma¹, Nur Rohmah Agustini, Erjon

STIFI Bhakti Pertiwi Palembang

Jl. Ariodillah III No 22 A Ilir Timur I, Palembang

email :¹89hilma@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan, nilai efisiensi antiradikal dan total fenol dari ekstrak etanol biji kopi robusta (*Coffea robusta* L.) yang diekstraksi dengan metode maserasi dan sokletasi. Ekstrak dihitung persen rendemen, dilakukan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan DPPH (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil), kemudian dilakukan perhitungan nilai efisiensi antiradikal, dan dilanjutkan pengujian kadar total fenol dengan menggunakan metode *Follin-Ciocalteu*. Hasil ekstraksi memperoleh rendemen ekstrak kental dari metode maserasi adalah 4,88 % b/b dan sokletasi 2,16 % b/b. Nilai IC_{50} untuk ekstrak hasil maserasi adalah 140,9 ppm dengan kategori antioksidan sedang diikuti nilai AE $7,097232079 \times 10^{-3}$, sedangkan nilai IC_{50} untuk ekstrak hasil sokletasi adalah 117,5 ppm dengan kategori antioksidan sedang. Total fenol pada ekstrak hasil maserasi adalah 77,92 mgGAE/gr sampel dan pada ekstrak hasil sokletasi adalah 95,32 mgGAE/gr sampel. Dapat disimpulkan bahwa nilai IC_{50} dan total fenol yang tertinggi diperoleh dari metode ekstraksi sokletasi.

Kata Kunci: (*Coffea robusta* L.), aktivitas antioksidan, DPPH, total fenol, maserasi, sokletasi.

PENDAHULUAN

Antioksidan adalah suatu senyawa yang mampu berinteraksi dengan radikal bebas sebelum merusak molekul-molekul di dalam tubuh (Panglossi, 2006) atau menetralkan radikal bebas sehingga diharapkan dengan pemberian antioksidan dapat mencegah terjadinya kerusakan pada tubuh dari timbulnya penyakit degeneratif. Antioksidan yang paling banyak digunakan adalah antioksidan sintetik, dan ditambah dengan pemanfaatan bahan alami sebagai antioksidan atau disebut antioksidan alami (Shebis dkk, 2013).

Antioksidan alami merupakan jenis antioksidan yang berasal dari tumbuhan dan hewan (Purwaningsih, 2012) Antioksidan alami umumnya memiliki gugus hidroksi dalam struktur molekulnya. Antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan adalah senyawa fenolik berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol,

dan asam organik polifungsional (Isnindar dkk, 2011).

Sumber antioksidan alami salah satunya adalah tanaman kopi. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa kopi memiliki kandungan polifenol yang tinggi yang memainkan peran penting dalam kandungan antioksidan pada kopi. Biji kopi mengandung senyawa polifenol diantaranya adalah asam kafeat, asam klorogenat, asam feurat, asam sinapat dan asam koumarat. Di Indonesia, terdapat dua jenis kopi yang dikenal masyarakat, yaitu kopi Robusta dan Arabika. Kedua jenis kopi ini mengandung senyawa aktif tinggi seperti asam quinolinat, asam pirogalat, asam tanat, trigonelin, asam nikotinat, dan terutama kafein (Ciptaningsih, 2012). Kandungan kimia terbesar biji kopi sebagai antioksidan adalah asam klorogenat sebagai anti-diabetes dan anti-lipidemia (Ong dkk, 2013).

Biji kopi robusta (*Coffea robusta* L.) diketahui mengandung senyawa alkaloid,

tanin, saponin dan polifenol (Chairgulprasert, 2016). Senyawa polifenol yang paling banyak terkandung pada biji kopi robusta adalah asam klorogenat dan asam kafeat. Jumlah asam klorogenat mencapai 90% dari total fenol yang terdapat pada kopi ini (Yusmarini, 2011). Biji kopi robusta (*Coffea Robusta L.*) dari Garut telah dibuktikan pada penelitian sebelumnya terkait uji aktivitas antioksidan yang membuktikan bahwa ekstrak biji kopi robusta dengan metode maserasi memiliki IC_{50} sebesar 54,14 ppm (Wigati dkk, 2018).

Salah satu faktor yang berpengaruh terhadap mutu ekstrak adalah metode yang digunakan dalam proses ekstraksi. Maserasi dan sokletasi merupakan dua metode ekstraksi yang lazim digunakan. Telah dilakukan pada penelitian sebelumnya yang menunjukkan perbedaan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jambu bol (*Syzygium malaccense L.*) dengan metode maserasi dan sokletasi, didapatkan hasil bahwa aktivitas antioksidan paling tinggi yaitu metode sokletasi dengan nilai IC_{50} sebesar 37,67 ppm sedangkan nilai IC_{50} pada metode maserasi yaitu 47,80 ppm (Nurhasanahwati dkk, 2017).

Berdasarkan aktivitas antioksidan yang terdeteksi dengan menunjukkan bahwa biji kopi robusta berpotensi sebagai antioksidan dan mengingat besarnya potensi antioksidan dari senyawa fenolik yang terdapat pada biji kopi robusta, maka perlu diketahui aktivitas antioksidan dan total fenolik dari biji kopi robusta (*Coffea robusta L.*) pada hasil ekstraksi dengan metoda ekstraksi yang berbeda yaitu metoda maserasi dan sokletasi menggunakan metode perendaman radikal bebas DPPH dan mengetahui metode ekstraksi manakah yang memperlihatkan aktivitas antioksidan dan total fenolik yang tertinggi dari kedua metode tersebut.

METODE PENELITIAN

Alat

Seperangkat alat *rotatory evaporator*, seperangkat alat destilasi, botol maserasi, vial, corong, cawan porselen, pipet mikron 0,2 ml, batang pengaduk, gelas ukur, gelas kimia, labu ukur, spektrofotometri UV-VIS.

Bahan

Biji kopi robusta (*Coffea Robusta L.*), pereaksi 2,2 Difenil-1-Pikrilhidrazil DPPH (Sigma Aldich), asam galat (Merck), Na_2CO_3 20% (Merck), reagen *folin-ciocalieu* (Merck), etanol p.a (Merck), aquadest, air suling, metanol p.a, alumunium foil, kertas saring (Whatman) dan kapas.

PROSEDUR PENELITIAN

Preparasi Sampel

Buah kopi robusta (*Coffea robusta L.*) diambil, disortir, dibersihkan terlebih dahulu kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari dengan ditutup menggunakan kain hitam sampai kering. Setelah itu buah yang telah kering dipisahkan dari biji dan kulitnya menggunakan mesin pengupas biji kopi. Sampel biji kopi robusta (*Coffea robusta L.*) yang didapatkan disortir kembali, setelah itu biji kopi dihaluskan hingga menjadi serbuk kasar menggunakan blender dan ditimbang sebanyak 500 gram.

Ekstraksi Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta L.*)

Metode Maserasi

Sampel serbuk biji kopi robusta (*Coffea robusta L.*) ditimbang 250 g dimaserasi selama 3x5 hari. Maserat yang dihasilkan dikumpulkan dalam satu wadah. Lalu ekstrak cair biji kopi yang telah didapat diuapkan pelarutnya dengan serangkaian alat destilasi vakum pada suhu 60°C, ekstrak hasil destilasi dikentalkan menggunakan *rotatory evaporator* pada suhu 70°C sehingga diperoleh ekstrak kental biji kopi robusta (*Coffea Robusta L.*)

Metode Sokletasi

Sampel serbuk kasar biji kopi robusta (*Coffea robusta L.*) sebanyak 250 gram yang telah dipreparasi dibungkus dengan kantong yang terbuat dari kertas saring kemudian diikat dengan tali lalu dimasukkan kedalam

alat soklet. Setelah itu, pelarut etanol dimasukkan kedalam wadah sampel, membasahi dan merendam evapor. Proses sokletasi membutuhkan alat pemanas untuk menguapkan dari labu penampung. Ekstraksi di atur pada suhu 75-80°C selama 5 jam. Ekstrak cair biji kopi robusta kemudian dikentalkan dengan *rotatory evaporator* pada suhu 70°C sehingga diperoleh ekstrak kental biji kopi robusta (*Coffea robusta* L.).

Uji Aktivitas Antioksidan

Pembuatan Larutan Uji Sampel (1000 ppm)

Masing-masing sampel ekstrak kental maserasi dan sokletasi ditimbang sebanyak 0,1 gram kemudian dilarutkan dalam 100 ml metanol dalam labu ukur 100 ml sehingga didapat konsentrasi larutan sampel 1000 ppm. Dari larutan 1000 ppm dibuat larutan sampel uji dengan konsentrasi (ppm) 200, 160, 120, 80, dan 40.

Pembuatan Larutan DPPH 0,05 mM

DPPH ditimbang sebanyak 5 mg kemudian dilarutkan dengan metanol sampai 250 ml, didalam labu ukur 250 ml sehingga diperoleh larutan DPPH dengan konsntrasi 0,05 mM.

Pembuatan Seri Konsentrasi Larutan Uji

Larutan uji berbagai konsentrasi dibuat dengan memipet larutan induk 1000 ppm sebanyak 2 ml; 1,6 ml; 1,2 ml; 0,8 ml; 0,4 ml , kemudian dimasukkan masing-masing ke dalam labu ukur 10 ml dicukupkan dengan metanol sampai tanda batas, didapat larutan konsentrasi 200 ppm, 160 ppm, 120 ppm, 80 ppm, dan 40 ppm.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Dipipet sebanyak 3,8 ml larutan DPPH 0,05 mM dan ditambahkan dengan 0,2 ml metanol. Dibiarkan selama 30 menit ditempat gelap yang terlindung dari cahaya,

diukur serapan dengan Spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang dengan 450-550 nm hingga diperoleh panjang gelombang maksimum.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Dipipet sebanyak 3,8 ml larutan DPPH 0,05 mM dan ditambahkan dengan 0,2 ml metanol. Dibiarkan selama 30 menit ditempat gelap yang terlindung dari cahaya, diukur serapan dengan Spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang.

Pengujian Antioksidan Dengan Metode DPPH

Setiap masing-masing konsentrasi larutan uji diambil 0,2 ml dari ekstrak maserasi dan sokletasi dimasukkan kedalam vial, kemudian ditambahkan 3,8ml larutan DPPH 0,05 mM, dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit ditempat gelap dan ditutup dengan menggunakan alumunium foil. Kemudian ukur serapan dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum.

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A1 - A2}{A1} \times 100\%$$

A1 = Serapan radikal DPPH 0,05 mM pada λ maksimum sebelum direaksikan dengan larutan uji.

A2 = Serapan sampel dalam radikal DPPH 0,05 mM pada λ maksimum setelah direaksikan dengan larutan uji.

Perhitungan Nilai IC₅₀

Nilai IC₅₀ dihitung berdasarkan % inhibisi yang diperoleh dari setiap hasil uji penentuan aktivitas antioksidan. Nilai konsentrasi ekstrak dan persen inhibisi diplot masing-masing pada sumbu x dan y pada persamaan regresi linier. Persamaan regresi linier yang diperoleh dalam bentuk persamaan:

$$Y = a + b x$$

Dimana :

Y = Persen inhibisi (%)

x = Konsentrasi (K)

Uji Penetapan Total Fenol

Penentuan Panjang Gelombang Asam Galat

Diambil dari larutan induk dengan konsentrasi 100 ppm yang sudah diencerkan masukan dalam kuvet, aquadest blanko kemudian serapan larutan diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 400-800 nm.

Pembuatan Kurva Kalibrasi Asam Galat

Dari larutan induk asam galat 1000 ppm dipipet 1, 2, 3, 4, 5 ml dan diencerkan dengan aquadest dengan volume 10 ml. Sehingga didapatkan konsentrasi hasil pengenceran 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm dan 500 ppm. Dari masing-masing konsentrasi diatas dipipet 0,2 ml ditambah 10 ml aquadest dan ditambah 1 ml reagen *folin-ciocalteu* yang telah diencerkan 1:10 lalu kocok sampai warna berubah menjadi kuning, diamkan selama 2 menit kemudian tambahkan 3 ml larutan Na_2CO_3 dikocok sampai homogen dan berubah warna menjadi biru kehitaman. Diamkan selama 1 jam pada suhu kamar. Ukur serapan pada panjang gelombang serapan maksimumnya, lalu buat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi asam galat dengan absorbansi.

Penetapan Total Fenolik Dari Ekstrak Biji Kopi Robusta Hasil Maserasi Dan Sokletasi

Sebanyak 10 mg masing-masing ekstrak hasil maserasi dan sokletasi dilarutkan dengan 10 ml metanol p.a. Larutan ekstrak dipipet 0,2 ml ditambahkan 9,8 ml aquadest lalu ditambahkan 1 ml reagen *folin-ciocalteu* yang telah diencerkan 1:10 dengan aquadest, diamkan selama 5 menit kemudian tambahkan 4 ml Na_2CO_3 kedalam campuran, diamkan selama 1 jam pada suhu kamar. Setelah itu ukur absorbansi sampel pada panjang gelombang maksimum dengan menggunakan

spektrofotometer UV-VIS yang memberikan kompleks biru. Kandungan total fenol dinyatakan sebagai mg asam galat/g sampel (Sedjati, 2017).

Perhitungan kandungan fenolik total TPC (Total Phenolic Content) menggunakan rumus berikut (Puspitasari, 2017) :

$$\text{TPC} = \frac{C \times v \times fp}{g}$$

Keterangan :

C = Konsentrasi fenolik (nilai X)

V = Volume ekstrak yang digunakan (ml)

fp = Faktor pengenceran

G = Berat sampel yang digunakan (g)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada ekstraksi sampel segar biji kopi robusta (*Coffea robusta* L.) sebanyak 250 gram diperoleh ekstrak kental dengan metode maserasi sebanyak 12,2 gram dengan persen rendemen 4,88 % b/b dan metode maserasi sebanyak 5,4 gram dengan persen rendemen 2,16 % b/b. Rendemen yang dihasilkan dengan metode maserasi menunjukkan nilai yang lebih tinggi, hal ini dikarenakan nilai rendemen pada metode ekstraksi dipengaruhi oleh faktor lama ekstraksi, lamanya waktu proses ekstraksi sangat berpengaruh terhadap ekstrak yang dihasilkan (Alfiana, 2013).

Panjang gelombang maksimum DPPH 0,05 mM yang diperoleh pada penelitian ini adalah 524 nm dengan nilai absorbansi sebesar 0,4451. Hasil pengujian ekstrak total maserasi dan sokletasi biji kopi robusta (*Coffea Robusta* L.) didapatkan persen inhibisi yang dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Nilai persen inhibisi ekstrak maserasi dan sokletasi

Konsentrasi (ppm)	Persen Inhibisi (%)	
	Ekstrak maserasi	Ekstrak Sokletasi
40	6,90	28,62
80	22,91	38,28
120	43,20	47,00
160	56,29	64,32
200	75,80	75,62

Nilai persentase inhibisi dari ekstrak hasil maserasi dan sokletasi menunjukkan nilai yang semakin besar, sebanding dengan konsentrasi sampel yang digunakan, hal ini dikarenakan semakin besarnya jumlah zat pada sampel yang berpotensi sebagai senyawa antioksidan sehingga radikal bebas DPPH mereduksi radikal hidrogen dari senyawa antioksidan tersebut untuk membentuk DPPH-H. Berkurangnya radikal bebas ditandai dengan adanya perubahan warna larutan dari ungu menjadi kuning pucat hal ini berkorelasi dengan nilai persentase inhibisi dimana semakin besar nilai persentase inhibisi menunjukkan ekstrak tersebut memiliki antioksidan yang sangat kuat (Kadri, 2019).

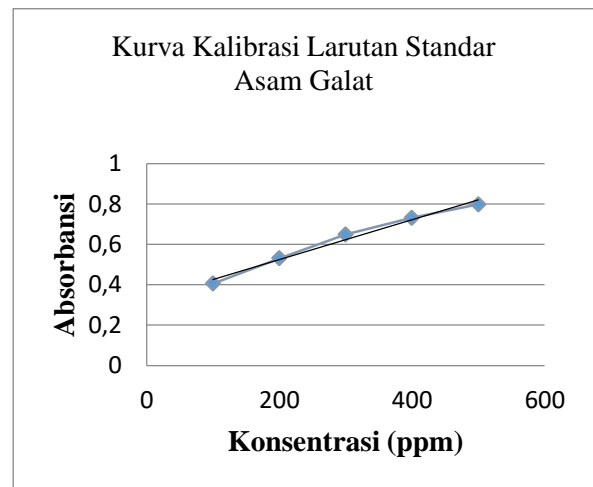
Tabel 2. Hasil IC₅₀ dari ekstrak kental maserasi dan sokletasi

Ekstrak kental	IC ₅₀ (ppm)
Maserasi	140,95
Sokletasi	117,50

Nilai IC₅₀ untuk sampel maserasi yaitu sebesar 140,95 ppm dan sokletasi 117,50 ppm sehingga kedua sampel yaitu ekstrak maserasi dan sokletasi biji kopi robusta (*Coffea robusta* L.) termasuk ke dalam aktivitas antioksidan pada kategori antioksidan sedang. Semakin besar nilai IC₅₀ maka semakin rendah aktivitas antioksidan, sebaliknya semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin tinggi aktivitas antioksidan (Armala, 2009). Dari hasil penelitian didapatkan bahwa ekstrak hasil sokletasi mempunyai aktivitas antioksidan yang paling tinggi dibandingkan dengan ekstrak hasil maserasi, hal ini dapat terjadi karena dengan adanya penambahan suhu pada sokletasi membuat komponen antioksidan yang dibutuhkan dapat terekstrak dengan sempurna sehingga semakin banyak komponen yang terlarut maka semakin besar aktivitas antioksidannya (Nurhasnawati, 2014). Meskipun kedua metode menunjukkan aktivitas antioksidan yang sama-sama dalam kategori sedang, dapat disimpulkan bahwa perbedaan metode ekstraksi berpengaruh

terhadap aktivitas antioksidan yang dihasilkan.

Hasil pengukuran panjang gelombang asam galat pada konsentrasi 100 ppm adalah 796 nm dengan absorbansi 0,3266. Dari pemeriksaan larutan standar asam galat didapat kurva kalibrasi dengan persamaan regresi linier $Y = 0,001x + 0,327$ dengan koefisien korelasi (r) yaitu 0,9909. Kurva kalibrasi asam galat dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Kurva kalibrasi asam galat

Kadar total fenol ekstrak kental biji kopi robusta (*Coffea Robusta* L.) dari hasil maserasi dan sokletasi dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil kadar total fenol ekstrak maserasi dan sokletasi

Ekstrak kental	Kadar total fenol
Maserasi	7,792 mgGAE/gr
Sokletasi	9,532 mgGAE/gr

Penetapan kadar total fenol dilakukan dengan menggunakan ekstrak kental biji kopi robusta (*Coffea robusta* L.) yang diekstraksi dengan cara maserasi dan sokletasi. Prinsip pengukuran kadar total fenol dengan menggunakan reagen *Follin-Ciocalteu* yaitu berdasarkan kekuatan mereduksi dari gugus hidroksi fenol yang ditandai dengan terbentuknya senyawa kompleks berwarna biru kehitaman (Pourmorad dkk, 2006).

Sebagai standar pengukuran menggunakan asam galat, karena merupakan turunan dari asam hidroksibenzoat yang tergolong asam fenol sederhana dan bersifat stabil (Lee dkk, 2003)

Berdasarkan hasil analisis yang dilakukan diketahui bahwa kandungan total fenol memiliki hubungan yang berbanding lurus dengan aktivitas antioksidannya menyatakan bahwa nilai total fenol yang paling tinggi, mempunyai aktivitas antioksidan yang paling tinggi pula yaitu pada ekstrak biji kopi robusta (*Coffea robusta* L.) hasil ekstraksi maserasi nilai IC₅₀ sebesar 140,95 ppm dan kandungan fenolnya 7,792 mgGAE/gr sampel yang artinya dalam setiap gram ekstrak setara dengan 7,792 mg asam galat dan pada ekstrak hasil sokletasi sebesar 117,5 ppm dengan kandungan fenolnya 9,532 mgGAE/gr sampel yang artinya dalam setiap gram ekstrak setara dengan 9,532 mg asam. Hal ini terjadi karena dari kemampuan gugus fenol (-OH) untuk mengikat radikal bebas dengan memberikan atom hidrogennya melalui proses transfer elektron, sehingga fenol berubah menjadi radikal fenoksil. Radikal fenoksil yang terbentuk sebagai hasil reaksi fenol dengan radikal bebas kemudian akan menstabilkan diri melalui efek resonansi. Karena alasan ini maka derivat dari fenol merupakan donor hidrogen yang baik yang dapat menghambat reaksi yang terjadi oleh senyawa radikal. Senyawa fenol disebut juga sebagai inhibitor radikal (Janeiro dan Brett, 2004).

Dari hasil perhitungan total fenol didapatkan bahwa ekstraksi sokletasi menunjukkan kandungan total fenol dengan nilai yang lebih tinggi dikarenakan adanya pengaruh suhu pada proses sokletasi mempengaruhi senyawa fenolik yang ditarik. Semakin tinggi suhu ekstraksi, maka kelarutan senyawa fenolik semakin meningkat. Perlakuan panas pada sokletasi dapat membebaskan dan mengaktifkan berat molekul rendah dari sub unit molekul polimer yang berberat molekul tinggi sehingga efektif untuk meningkatkan kandungan fenolik dalam suatu sampel tanaman (Jeong dkk, 2004).

SIMPULAN

Pengujian antioksidan ekstrak kental biji kopi robusta (*Coffea robusta* L.) diperoleh nilai IC₅₀ dari ekstraksi metode maserasi sebesar 140,95 ppm dan nilai IC₅₀ dari ekstraksi metode sokletasi sebesar 117,50 ppm yang keduanya termasuk dalam kategori antioksidan sedang.

Pengujian total fenol ekstrak kental biji kopi robusta (*Coffea robusta* L.) diperoleh kadar fenol dari ekstraksi metode maserasi sebesar 7,792 mgGAE/gr sampel dan ekstraksi metode sebesar 9,532 mgGAE/gr sampel.

DAFTAR PUSTAKA

- Alfiana D. H. 2013. *Ekstraksi minyak melati (Jasminum Sambac), kajian jenis pelarut dan lama ekstraksi*. (Skripsi). Malang: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya.
- Andayani, R. (2008). *Penentuan aktivitas antioksidan kadar fenolat total dan likopen pada buah tomat (Solanum lycopersicum L.)*. (Skripsi) Padang: Fakultas Farmasi Universitas Andalas
- Armala, M.M. 2009. *Daya antioksidan fraksi air ekstrak herba kenikir (Cosmos caudatus H. B. K.) dan profil KLT*. (Skripsi). Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Islam Indonesia.
- Chairgulprasert, V. Dan K. Kittiya. 2017. Preliminary phytochemical screening and antioxidant of robusta coffee blossom. *Thammasat International Journal of Science and Technology*. 22(1): 1-8.
- Ciptaningsih, E. 2012. *Uji aktivitas antioksidan dan karakteristik fitokimia pada kopi luwak arabika dan pengaruhnya terhadap tekanan darah tikus normal dan tikus hipertensi*. (Tesis). Depok: Fakultas Matematika dan pengetahuan alam. Universitas Indonesia
- Isnindar, Wahyuono, S., & Setyowati, E. P. 2011. Isolasi dan identifikasi senyawa antioksidan daun kesemek (*Diospyros kaki* Thunb.) dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Majalah Obat Tradisional*. 16(3): 157-164.

- Janeiro, P., dan Brett, A.M.O, 2004. Catechin electrochemical oxidation mechanisms. *P. Janeiro, A.M. Oliveira Brett/Analytica Chimica Acta*. 518(1-2): 109–115.
- Jeong, S.M., Kim S.Y., Kim D.R., Jo, S.C., Nam, D.U., dan Lee S.C. 2003. Effect of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. *J.Agric. Food Chem.* 52: 3389-3393.
- Lee, K.W., Kim Y.J., Lee H.J., dan Lee C.Y., 2003. Cocoa has more phenolic phytochemical and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 51(25): 7292-7295.
- Nurhasnawati, H., Sukarmi, Handayani, F., 2017. Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jambu bol (*Syzygium malaccense* L.), *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 3(1): 91-95.
- Ong, K.,W., Annie, H., Kwong H.T., 2013. Anti-diabetic and anti-lipidemic effects of chlorogenic acid are mediated by AMPK Activation. *Biochemical Pharmacology*. 85(9): 1341-1351.
- Puspitasari, A.D., dan Proyogo, L.S., 2017. Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi terhadap kadar fenolik total ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura*) *Jurnal Ilmiah Cendikia Eksakta*. 2(1). 1-8
- Pourmorad, F., Hosseini, S.J., Shahabimajd, N, 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*. 5(11):1142-1145.
- Kadri, M.F.A., Sunarni, T., Pamudji, G., dan Zamzani, I., 2019. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun pelawan (*Tristanopsis Obovate*. Benn) dengan metode penangkapan radikal bebas 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil. *Journal of current pharmaceutical sciences*. 2(2): 167-172.
- Sedjati, S., Suryono, Santosa, A., Supriyantini, e. dan Ridlo, A., 2017. Aktivitas antioksidan dan kandungan senyawa fenolik makroalga coklat (*Sargassum* sp.). *Jurnal Kelautan Tropis*. 20(2):117–123.
- Shebis, Y., Iluz, D., Kinel-Tahan, Y., Dubinsky, Z., and Yehoshhua, Y. 2013. Natural antioxidants: Function and sources. Review. *Food and Nutrition Sciences*. (4): 643-649.
- Wigati, E.I, Pratiwi, P., Nissa, T.F., dan Utami, N.F. 2018. uji karakteristik fitokimia dan aktivitas antioksidan biji kopi robusta (*Coffea canephora Pierre*) dari Bogor, Bandung, dan Garut dengan Metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*). *Fitofarmaka*. 8(1): 53-59.

