

Skrining Fitokimia dan Uji Antioksidan Ekstrak Biji Kopi Sangrai Jenis Arabika (*Coffea arabica*) Asal Wamena dan Moanemani, Papua

SEPTIANI MANGIWA*, AGNES E. MARYUNI

Program Studi Kimia Jurusan Kimia FMIPA Universitas Cenderawasih, Jayapura

Diterima: 25 Juli 2019 – Disetujui: 23 Oktober 2019
© 2019 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Cenderawasih

ABSTRACT

Coffee bean are rich of secondary metabolites that able to inhibit free radical compounds. This antioxidant activity may reduce many diseases correlated with it. The aims of this study were to determined the phytochemical content and antioxidant activity of roasted coffee bean from Wamena and Moenemani regency, Papua. Roasted coffee bean were extracted by maceration for 24 hr with methanol. DPPH assay was used to determine the antioxidant activity, while the Harborne standard method was used for the phytochemical analysis. Result showed that Arabica roasted coffee bean from Moanemani gave the higher antioxidant activity at 61,71%, but lower IC₅₀ at 100,91 ppm. Phytochemical investigation revealed that the bioactive compound from Moanemani and Wamena coffee bean were similar, which composed of alkaloids, flavonoids, terpenoids, saponins, and tanins.

Key words: Arabica roasted coffee beans, phytochemical, antioxidant, DPPH method.

PENDAHULUAN

Industri minuman kopi di dunia terus tumbuh dan berkembang dengan berbagai variasi pengolahan, penyajian dan rasa. Kopi tidak saja memiliki aroma dan rasa yang khas, tetapi juga berkhasiat bagi kesehatan tubuh. Khasiat tersebut berasal dari senyawa-senyawa bioaktif yang terkandung di dalamnya. Senyawa-senyawa tersebut, antara lain: kafein, asam klorogenat, trigonelin, asam nikotin, asam kuinolik, tanin, asam pirogalik dan lain sebagainya (Minamisawa *et al.*, 2004).

Kopi mengandung senyawa polifenol antioksidan yang tinggi yang berasal dari asam

fenolik seperti kafein, asam klorogenat, kumarin, ferulik dan asam sinapik (Hečimović *et al.*, 2011; Tamilmani, *et al.*, 2015). Kualitas biji kopi dan aktivitas antioksidan ditentukan oleh komposisi polifenol dalam biji kopi (Belay *et al.*, 2009; Hečimović *et al.*, 2011; Tamilmani *et al.*, 2015). Komposisi polifenol dipengaruhi oleh jenis, cara pengolahan biji kopi dan letak geografis. Salah satu senyawa polifenol yang ditemukan dalam kopi dalam jumlah cukup banyak dan diyakini sebagai penyumbang aktivitas antioksidan terbesar adalah asam klorogenat.

Dua jenis kopi yang umumnya digunakan dalam industri minuman, yaitu kopi Arabika dan kopi Robusta. Di Papua ditemukan beberapa jenis kopi Arabika dan Robusta antara lain: kopi Arabika asal Wamena kabupaten Jayawijaya (kopi Wamena), kopi Arabika asal Moanemani kabupaten Dogiyai (Kopi Moanemani), kopi Arabika asal Obayo kabupaten Dogiyai, kopi Arabika asal Nemangkawi, Timika kabupaten Mimika (Amugme Gold), kopi Arabika asal

* Alamat korespondensi:

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Cenderawasih,
Jayapura, Kampus Baru Uncen-Waena, Jl. Kamp. Wolker,
Jayapura Papua 99358, +6281344210486.
septhy.mangiwa@yahoo.com

Oksibil kabupaten Pegunungan Bintang, kopi Arabika asal Tiom kabupaten Lanny Jaya dan kopi Robusta asal Ambaidiru kabupaten Kepulauan Yapen. Keberadaan kopi-kopi tersebut diketahui melalui Festival Kopi yang di-selenggarakan di Jayapura pada tahun 2018 lalu.

Pada umumnya kopi disajikan dalam bentuk biji kopi sangrai. Proses sangrai mempengaruhi kualitas kopi, termasuk cita rasa, aroma, dan komposisi senyawa bioaktif yang juga berdampak pada aktivitas antioksidannya (Farah *et al.*, 2005; Ewa *et al.*, 2007; Bicho *et al.*, 2011). Proses sangrai umumnya dilakukan pada suhu 200–240 °C dan menghasilkan biji kopi yang berwarna cokelat disertai pelepasan aroma yang khas. Selama proses sangrai terjadi perubahan komposisi senyawa bioaktif, termasuk senyawa polifenol yang berperan sebagai antioksidan akibat terdegradasinya asam klorogenat, kafein, trigonelin dan senyawa bioaktif lainnya (Hečimović *et al.*, 2011). Semakin tinggi suhu proses sangrai, aktivitas antioksidannya semakin berkurang (Cammerer *et al.*, 2006).

Aktivitas antioksidan biji kopi hijau jenis Arabika dan Robusta dalam fraksi Isopropanol: air (60 : 40) terhadap BHA berturut-turut adalah 92 % dan 88 % (Naidu *et al.*, 2008). Aktivitas antioksidan dapat ditentukan melalui peredaman terhadap radikal bebas 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) (Molynux, 2004) dan ditentukan secara spektrofotometri UV-Vis. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan senyawa dan uji antioksidan biji kopi sangrai yang berasal dari Wamena dan Moanemani. Informasi ini sangat penting karena berkaitan dengan kualitas kopi dari suatu wilayah.

METODE PENELITIAN

Sampel dan Lokasi Penelitian

Sampel biji kopi yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji kopi Arabika asal Wamena kabupaten Jayawijaya (Kopi Wamena) dan biji kopi Arabika asal Moanemani kabupaten Dogiyai (Kopi Moanemani). Masing-masing kopi tersebut diperoleh dari pasar tradisional yang

berada di masing-masing daerah. Penelitian ini dilakukan di laboratorium Kimia Jurusan Kimia FMIPA Universitas Cenderawasih.

Alat dan Bahan

Alat yang diperlukan dalam penelitian ini adalah peralatan gelas laboratorium, blender, neraca analitik, oven, spektrofotometer UV-Vis. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : metanol, kloroform, H₂SO₄ pekat, HCl pekat, CH₃COOH anhidrat, Lautan FeCl₃ 1 %, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), pereaksi Wegner, pereaksi Meyer, pereaksi Dragendroff dan akuades.

Preparasi Sampel dan Ekstraksi

Biji kopi sangrai dihaluskan dengan menggunakan blender untuk mendapatkan ukuran yang seragam. Serbuk biji kopi yang diperoleh disimpan dalam wadah bersih dan ditutup rapat.

Sebanyak 200 gram serbuk kopi direndam dengan 600 mL metanol selama 24 jam dan diaduk sesekali menggunakan *magnetic stirrer*. Kemudian ekstrak dipisahkan dari ampas dengan cara penyaringan. Ekstrak cair yang diperoleh selanjutnya dipekatkan dengan rotary evaporator pada suhu 40 °C. Ekstrak pekat yang diperoleh disimpan dalam wadah bersih dan ditutup rapat untuk kemudian digunakan dalam analisis selanjutnya.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan terhadap alkaloid, flavonoid, terpenoid, saponin, polifenol dan tanin menggunakan metode Harborne dengan beberapa modifikasi.

Alkaloid

Sebanyak 0,5 g ekstrak ditambahkan 1 mL larutan HCl 2 M dan 19 mL akuades, kemudian dipanaskan selama 5 menit, campuran didinginkan dan kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh dianalisis dengan pereaksi Wegner, Meyer dan Dragendroff. Adanya alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan cokelat dengan pereaksi Wegner, endapan kuning

dengan pereaksi Meyer dan endapan merah jingga dengan pereaksi Dragendroff.

Flavonoid

Sebanyak 0,5 g ekstrak dilarutkan dengan 10 mL metanol panas, kemudian ditambahkan 0,1 g serbuk Mg dan 5 tetes HCl pekat. Adanya Flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna jingga, merah muda atau merah tua yang tidak hilang dalam waktu 3 menit.

Terpenoid

Sebanyak 0,5 g ekstrak dilarutkan dalam 5 mL kloroform dan 5 mL asetat anhidrat, kemudian ditambahkan 2 mL larutan H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung reaksi. Adanya terpenoid ditunjukkan dengan terjadinya warna merah, jingga atau ungu.

Saponin

Sebanyak 0,5 g ekstrak dilarutkan dalam 20 mL air panas, kemudian didinginkan dan disaring. Filtrat yang diperoleh dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Adanya saponin ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil.

Tanin

Sebanyak 0,5 g ekstrak dilarutkan dalam 20 mL air panas, kemudian didinginkan dan disaring. Filtrat yang diperoleh ditambahkan dengan 2-3 tetes larutan FeCl₃ 1%. Adanya tanin ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat.

Uji Aktivitas Antioksidan

Sebanyak 6,25 mg ekstrak dilarutkan ke dalam 250 metanol untuk mendapatkan larutan uji dengan konsentrasi 250 ppm. Masing-masing larutan uji tersebut diencerkan dengan metanol untuk mendapatkan larutan uji dengan konsentrasi 25, 50, 75, 100, 125, dan 150 ppm. Larutan uji berbagai konsentrasi direaksikan dengan larutan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) 0,1 mM dengan perbandingan 1 : 3, kemudian homogenkan dan diinkubasi selama 30 menit. Absorbansi campuran larutan tersebut diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada gelombang 517 nm. Pengukuran absorbansi blanko dilakukan terhadap metanol dan pengukuran kontrol positif dilakukan terhadap BHA.

Analisis Data

Fitokimia masing-masing ekstrak dianalisis berdasarkan hasil reaksi antara larutan uji dan reagen tertentu. Hasil reaksi dapat berupa adanya perubahan warna, terbentuknya endapan maupun terbentuknya terbetuknya busa. Sementara itu, aktivitas antioksidan secara kualitatif dianalisis dengan metode DPPH dan aktivitas secara kuantitatif ditentukan melalui analisis regresi linear terhadap hasil pengukuran absorbansi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Biji kopi Arabika asal Wamena Kabupaten Jayawijaya (Kopi Wamena) dan kopi Arabika asal Moanemani kabupaten Dogiyai (Kopi Moanemani) yang digunakan dalam penelitian ini berupa biji kopi sangrai. Kedua jenis biji kopi sangrai tersebut berwarna kecokelatan dan beraroma khas. Tahap awal dalam penelitian ini dimulai dengan menghaluskan biji kopi untuk mendapatkan ukuran serbuk yang seragam sehingga memudahkan proses ekstraksi. Semakin kecil ukuran partikel suatu bahan, maka luas permukaannya semakin besar sehingga memudahkan pelarut untuk mengekstrak komponen yang diinginkan. Diharapkan proses ekstraksi dapat terjadi secara maksimal.

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi selama 24 jam sambil sesekali diaduk. Proses maserasi dilakukan pada suhu ruang sehingga dapat mengurangi resiko terhadap kerusakan senyawa metabolit sekunder dalam biji kopi sangrai. Pemilihan metanol sebagai pelarut karena metanol merupakan pelarut yang dapat mengekstrak senyawa-senyawa metabolit sekunder dengan baik.

Berlangsungnya proses ekstraksi senyawa metabolit sekunder dalam biji kopi sangrai metanol ditunjukkan adanya perubahan warna pelarut menjadi coklat kehitaman. Perubahan warna tersebut disebabkan karena adanya distribusi senyawa kimia dalam biji kopi sangrai ke dalam metanol (pelarut). Semakin banyak senyawa kimia yang terdistribusi ke dalam metanol maka proses ekstraksi semakin maksimal

Tabel 1. Skrining fitokimia ekstrak biji kopi sangrai jenis Arabika (*Coffea arabica*) asal Wamena dan Moanemani, Papua.

No	Golongan Senyawa	Ekstrak biji kopi sangrai asal Wamena	Ekstrak biji kopi sangrai asal Moanemani
1	Alkaloid	+	+
2	Flavonoid	+	+
3	Terpenoid	+	+
4	Saponin	+	+
5	Tanin	+	+

Ket.: + : terdeteksi - : tidak terdeteksi

Tabel 2. Persen inhibisi ekstrak biji kopi sangrai jenis arabika (*Coffea arabica*) asal Wamena dan Moanemani, Papua.

No	Konsentrasi larutan uji (ppm)	Inhibisi ekstrak kopi (%)		
		Asal Wamena	Asal Moanemani	Kontrol positif (BHA)
1.	25	25,60	14,66	78,68
2.	50	29,52	26,58	85,90
3.	75	45,30	41,94	87,66
4.	100	48,74	50,28	88,08
5.	125	53,30	61,92	88,57
6.	150	61,71	69,07	89,39

Tabel 3. Nilai IC₅₀ ekstrak biji kopi sangrai jenis Arabika (*Coffea arabica*) asal Wamena dan Moanemani, Papua.

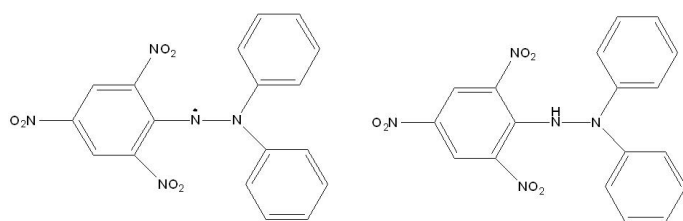
No	Larutan uji	Persamaan garis	Nilai IC ₅₀ (ppm)
1.	Ekstrak biji kopi sangrai asal Wamena	$y = 0,2918 x + 18,495$ $R^2 = 0,9577$	107,97
2.	Ekstrak biji kopi sangrai asal Moanemani	$y = 0,4417 x + 5,4278$ $R^2 = 0,9886$	100,91

sehingga ekstrak yang diperoleh pun semakin banyak. Ekstrak cair dipisahkan dari ampasnya dengan penyaringan dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak pekat. Ekstrak pekat yang diperoleh berwarna coklat kehitaman dengan tekstur yang lebih kental dengan rendemen sebesar 8,67 % untuk biji kopi sangrai asal Wamena dan 7,17 % untuk biji kopi sangrai asal Moanemani.

Skrining Fitokimia

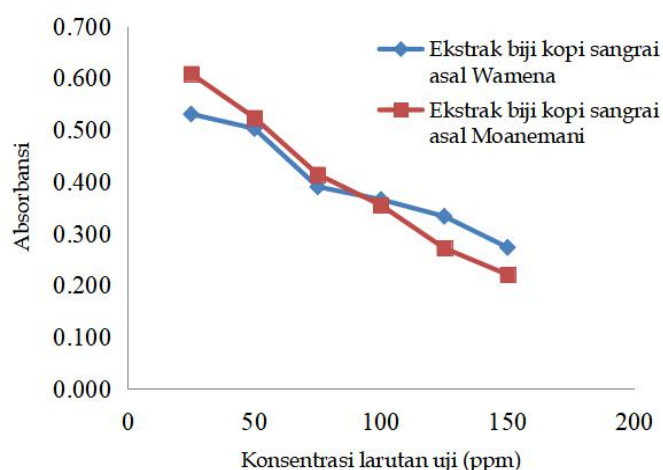
Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa kedua ekstrak biji kopi tersebut mengandung

senyawa golongan alkaloid, flavonoid, terpenoid, saponin, dan tanin. Pada uji alkaloid, larutan ekstrak ditambahkan larutan asam terlebih dahulu. Hal ini dikarena alkaloid bersifat basa sehingga harus diekstrak dalam pelarut asam (Harborne, 1996). Hasil uji positif alkaloid dalam ekstrak biji kopi sangrai tersebut ditandai dengan terbentuknya endapan coklat kemerahan dengan pereaksi Wagner, endapan putih dengan pereaksi Mayer dan endapan jingga dengan pereaksi Dragendroff. Endapan yang dihasilkan merupakan kompleks kalium-alkaloid yang terbentuk dari reaksi antara ion logam kalium dari

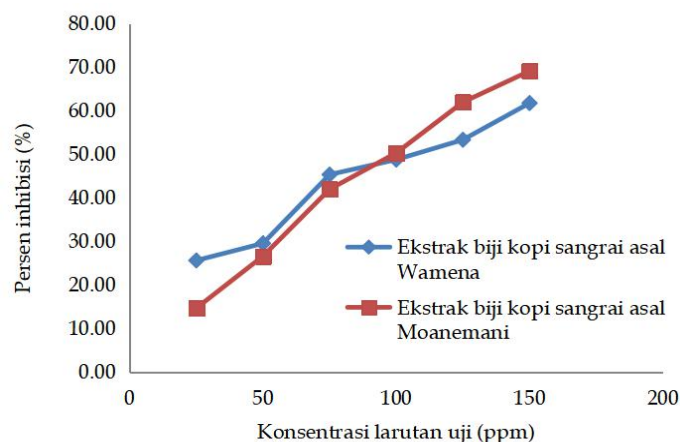


1,1-difenil-2-pikrilhidrasil (radikal bebas) 1,1-difenil-2-pikrilhidrasin (non radikal)

Gambar 1. Struktur 1,1-difenil-2-pikrilhidrasil dan struktur 1,1-difenil-2-pikrilhidrasin (Molynux, 2004).



Gambar 2. Pengaruh konsentrasi larutan uji terhadap absorbansi pada 517 nm.



Gambar 3. Pengaruh konsentrasi larutan uji terhadap persen inhibisi radikal bebas DPPH.

atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas yang dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan ion logam (Marliana *et al.*, 2005).

Warna coklat kemerahan yang terbentuk dengan pereaksi Wagner merupakan warna dari I_3^- yang dihasilkan dari reaksi I_2 dengan I^- dari KI dalam pembuatan pereaksi Wagner. Sementara itu, warna putih yang terbentuk dengan pereaksi Meyer merupakan warna dari kompleks kalium tetraiodomercurat (II) yang dihasilkan dari reaksi antara larutan $HgCl_2$ dengan larutan KI yang digunakan dalam pembuatan pereaksi Meyer. Dimana dalam pembuatan pereaksi Meyer, larutan $HgCl_2$ direaksikan dengan larutan KI dan menghasilkan larutan HgI_2 . Ketika larutan KI ditambahkan secara berlebih maka akan terbentuk kompleks kalium tetraiodomercurat (II) yang berwarna putih. Pembentukan kompleks disebabkan oleh melarutnya endapan dalam reagen yang berlebihan (Svehla, 1990). Sedangkan warna jingga yang terbentuk dengan pereaksi Dragendroff merupakan warna dari ion tetraiodobismutat yang terbentuk dari reaksi antara $Bi(NO_3)_3$ dan KI yang digunakan dalam pembuatan reagen Dragendroff.

Hasil uji positif flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna jingga ketika ekstrak direaksikan dengan logam Mg dan HCl. Pada pengujian ini, terbentuk gelembung-gelembung yang merupakan gas H_2 yang dihasilkan dari reaksi logam Mg dengan HCl. Logam Mg dan HCl mereduksi intibenzo.

Adanya terpenoid dan steroid ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi hijau pekat dengan penambahan asetat anhidrat serta terbentuknya cincin berwarna coklat pada batas larutan saat ditambahkan H_2SO_4 pekat. Perubahan warna disebabkan karena terjadinya

masing-masing reaksi dengan alkaloid yang terdapat dalam ekstrak. Alkaloid mengandung

oksidasi pada senyawa terpenoid dan steroid melalui pembantuan ikatan rangkap terkonjugasi.

Adanya tanin dalam ekstrak ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman dengan pereaksi FeCl_3 1 %. Warna hijau kehitaman yang dihasilkan merupakan senyawa kompleks Fe-tanin yang terbentuk dari reaksi antara tanin dari ekstrak dengan ion Fe^{3+} dari pereaksi FeCl_3 .

Adanya saponin dalam ekstrak ditandai dengan terbentuknya busa setelah pengocokan terhadap ekstrak yang dilarutkan dalam air panas. Busa yang dihasilkan terbentuk dari reaksi antara gugus hidrofobik dengan udara. Senyawa golongan saponin memiliki gugus hidrofilik yang dapat berikatan dengan air dan gugus hidrofobik yang dapat berikatan dengan udara. Pada penelitian ini, busa ekstrak biji kopi Wamena terlihat lebih banyak dari busa pada ekstrak biji kopi Moanemani. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan saponin dalam ekstrak biji kopi Wamena lebih banyak dibanding kopi Moanemani.

Aktivitas Antioksidan

Analisis kualitatif menunjukkan bahwa kedua ekstrak memiliki aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan memudarnya warna ungu dari 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) dan lama kelamaan berubah menjadi kuning. Perubahan warna berbanding lurus dengan konsentrasi ekstrak yang digunakan. Semakin besar konsentrasi ekstrak yang digunakan untuk meredam DPPH, perubahan warna semakin jelas terlihat. Perubahan warna tersebut disebabkan karena senyawa antioksidan yang terkandung dalam ekstrak biji kopi sangrai telah menetralkan radikal bebas dari DPPH dengan cara memberikan protonnya kepada DPPH. Ketika radikal bebas 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil yang berwarna ungu menerima proton dari antioksidan maka senyawa tersebut akan menjadi senyawa non radikal 1,1-difenil-2-pikrihidrasin yang berwarna kuning.

Analisis kuantitatif aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa absorbansi yang diperoleh berbanding terbalik dengan konsentrasi ekstrak. Semakin besar konsentrasi larutan uji maka nilai absorbansinya semakin kecil. Hal ini disebabkan karena semakin besar konsentrasi larutan uji maka semakin banyak proton yang dapat disumbangkan kepada 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) atau

dengan kata lain semakin banyak radikal bebas dari DPPH yang dapat dinetralkan. Penetralkan yang dilakukan terhadap radikal bebas menyebabkan ikatan rangkap diazo pada DPPH akan berkurang sehingga terjadi penurunan nilai absorbansi (Molyneux, 2004).

Jumlah radikal bebas yang dihambat oleh larutan ekstrak dinyatakan dalam persen inhibisi. Semakin besar konsentrasi larutan uji, semakin besar pula persen inhibisinya. Hal ini menunjukkan bahwa dengan bertambahnya konsentrasi larutan uji, maka semakin banyak radikal bebas yang dapat dihambat. Gambar 3 nampak bahwa pada konsentrasi 150 ppm, ekstrak biji kopi sangrai asal Wamena dan Moanemani mampu menghambat radikal bebas berturut-turut sebesar 61,71 dan 69,07 %. Sementara BHA yang digunakan sebagai kontrol positif mampu menghambat radikal bebas sebesar 89,34 % pada konsentrasi yang sama.

Nilai IC_{50} , dari kedua ekstrak ditentukan melalui analisis regresi linear terhadap kurva hubungan antara konsentrasi dan persen inhibisi. Dari hasil perhitungan, diperoleh nilai IC_{50} ekstrak biji kopi sangrai asal Wamena dan Moanemani berturut-turut sebesar 107,97 dan 100,91 ppm.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak biji kopi Arabika asal Wamena dan Moanemani mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid, saponin dan tanin. Ekstrak biji kopi Arabika asal Wamena dan Moanemani memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai % inhibisi berturut-turut sebesar 61,71 dan 69,07 % dengan nilai IC_{50} sebesar 107,97 dan 100,81 ppm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada LPPM Universitas Cenderawasih yang telah mendanai penelitian ini melalui dana BOPTN

Uncen tahun 2017. Terima kasih juga disampaikan kepada Ketua Jurusan dan Laboratorium Kimia FMIPA Uncen yang telah mengizinkan peneliti untuk melakukan penelitian di Laboratorium Kimia.

DAFTAR PUSTAKA

- Belay, A., and A.V. Gholap. 2009. Characterization and determination of chlorogenic acid (CGA) in coffee beans by UV-Vis spectroscopy. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*. 3(11): 234-240.
- Bicho, N.C., A.E. Leitao, J.C. Rumlho, and F.C. Lidon. 2011. Identification of chemical clusters discriminator of roast degree in arabica and robusta coffee beans. *Journal Europa Food Res Technology*.
- Cämmer, B., and L.W. Kroh. 2006. Antioxidant activity of coffee brews. *Eur Food Res Technol*. 223: 469-474.
- Ewa, N., G. Budryn, and J. Kula. 2007. The effect of roasting method on headspace composition of Robusta coffee bean aroma. *Eur Food Res Technol*. 225: 9-19.
- Farah, A., T. Paulis, L. Trugo, and P.R. Martin. 2005. Effect roasting on the formation chlorogenic acid lactone in coffea. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. 53: 1505-1513.
- Harborne, J.B. 1996. *Metode fitokimia: Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Cetakan kedua. Penerjemah: K. Padmawinata & I. Soediro. Penerbit ITB Press. Bandung.
- Hečimović, I., A.B. Cvitanović, D. Horžić, and D. Komes. 2011. Comparative study of polyphenols and caffeine in different coffee varieties affected by degree of roasting. *Food Chemistry*. 129: 991-1000.
- Marlina, D.S., V. Suryanti, dan Suyono., 2005. Skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis komponen kimia buah labu siam (*Sechium edule* Jacq. Swart) dalam esktark etanol. *Biofarmasi*. 3(1): 26-31.
- Mangiwa, S., A. Futwembun, dan P.M. Awak. 2014. Kadar asam klorogenat (CGA) dalam biji kopi arabika (*Coffea arabica*) asal Wamena, Papua. *Jurnal Ilmiah Kependidikan Kimia "Hydrogen"*. 2(2): 313-317.
- Mangiwa, S., dan A.E. Maryuni. 2015. Pengaruh suhu penyangraian terhadap kadar kafein dalam biji kopi arabika (*Arabica coffea*). Prosiding Seminar Hasil Penelitian Pengembangan Ipteks dan Sains, LPPM Uncen. Edisi 1, April 2015: 7-11.
- Mangiwa, S., dan Y.R. Yabansabra. 2016. Kadar trigonelin dalam biji kopi arabika (*Coffea arabica*) asal Wamena, Kabupaten Jayawijaya, Papua. *Jurnal SAINS dan Pengajaranya*. 16(1): 29-34.
- Minamisawa, M, S. Yoshida, and N. Takai. 2004. Determination of biologically active substances in roasted coffees using a diode-array HPLC system. *Analytical Science*. 20: 325-328.
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazil (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanarin J. Sci. Technol*. 26(2): 211-219.
- Naidu, M.M., G. Sulochanamma, S.R. Sampathu, and P. Srinivas. 2008. Studies on extraction and antioxidant potential of green coffee. *Food Chemistry*. 107: 337-384.
- Svehla, D. 1990. Vogel: Buku teks analisis anorganik kualitatif makro dan semimikro. Edisi Ke Lima. Penerjemah: Setiono dan S. Pujiadmaka, P. Hadyana. Penerbit Kalman Media Nusantara. Jakarta.
- Tamilmani, P., and M.C. Pandey. 2015. Optimization and elaviation of phenolic coumpound and their antioxidant activity from coffee beans. *International Journal of Advanced Research*. 3(4): 296-306.