

Test of Total Flavonoids and Antioxidant Activity of Active Fraction of Robusta Coffee Beans (*Coffea canephora L.*) for Diabetic Ulcers

Uji Total Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan Fraksi Aktif Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora L.*) Sebagai Diabetik Ulcer

Elpina Br Perangin-Angin^a, Novitaria Br Sembiring^{b,c*}, Vera Estefania Kaban^{b,c}

^a Bachelor of clinical pharmacy, Faculty of Health Science, Universitas Prima Indonesia, Medan, Indonesia

^b Department of clinical pharmacy, Faculty of Health Science, Universitas Prima Indonesia, Medan, Indonesia

^c PUII Phyto Degenerative & Lifestyle Medicine, Universitas Prima Indonesia, Medan, Indonesia

*Corresponding Authors: novitariabrsembiring@unprimdn.ac.id

Abstract

Diabetes mellitus is a chronic metabolic disease frequently accompanied by serious complications, including diabetic foot ulcers, which require comprehensive management and supportive therapies derived from natural sources. Robusta coffee beans (*Coffea canephora L.*) contain various bioactive compounds with potential antioxidant properties that may support wound healing. This study aimed to determine the total flavonoid content and evaluate the antioxidant activity of active fractions of robusta coffee beans. An experimental laboratory design was applied, involving maceration using 96% ethanol followed by solvent fractionation with n-hexane, ethyl acetate, and water. Total flavonoid content was determined using ultraviolet-visible spectrophotometry with quercetin as the reference standard, while antioxidant activity was evaluated using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl assay with vitamin C as a comparator. The results showed an extraction yield of 14.33%, and phytochemical screening confirmed the presence of alkaloids, flavonoids, phenolic or tannin compounds, saponins, and triterpenoids. All fractions exhibited very strong antioxidant activity, with the ethyl acetate fraction demonstrating the highest activity, comparable to vitamin C, whereas the highest total flavonoid content was observed in the n-hexane fraction. In conclusion, robusta coffee beans possess strong potential as a natural antioxidant source and may be developed as a supportive alternative therapy for diabetic wound management.

Keywords: Natural antioxidants, Solvent fractionation, Total flavonoids, Diabetic wound.

Abstrak

Diabetes melitus merupakan penyakit metabolik kronis yang sering disertai komplikasi serius, salah satunya luka kaki diabetes (*diabetic foot ulcer*), yang memerlukan penanganan komprehensif termasuk terapi pendukung berbasis bahan alam. Biji kopi robusta (*Coffea canephora L.*) diketahui mengandung senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antioksidan dan dapat mendukung proses penyembuhan luka. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar flavonoid total serta mengevaluasi aktivitas antioksidan fraksi aktif biji kopi robusta. Penelitian dilakukan secara eksperimental laboratorium dengan metode maserasi menggunakan etanol 96%, diikuti proses fraksinasi menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat, dan air. Penetapan kadar flavonoid total dilakukan menggunakan metode spektrofotometri ultraviolet-tampak dengan kuersetin sebagai standar, sedangkan aktivitas antioksidan diuji menggunakan metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil dengan vitamin C sebagai pembanding. Hasil penelitian menunjukkan rendemen ekstrak sebesar 14,33% dan hasil skrining fitokimia positif mengandung alkaloid, flavonoid, fenol atau tanin, saponin, serta triterpenoid. Seluruh fraksi menunjukkan aktivitas antioksidan sangat kuat, dengan fraksi etil asetat memiliki aktivitas tertinggi dan mendekati vitamin C, sementara kadar flavonoid total tertinggi ditemukan pada fraksi n-heksan. Kesimpulan penelitian ini menunjukkan bahwa biji kopi robusta berpotensi sebagai sumber antioksidan alami dan layak dikembangkan sebagai bahan pendukung terapi alternatif pada luka diabetes.

Kata Kunci: Antioksidan alami; Fraksinasi pelarut; Flavonoid total; Luka diabetes.



Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **Adapt** (remix, transform, and build upon the material) under the following terms: **Attribution** – You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; **NonCommercial** – You may not use the material for commercial purposes; **ShareAlike** – If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. Content from this work may be used under the terms of the a [Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International \(CC BY-NC-SA 4.0\) License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Article History:

Received: 14/12/2025,
Revised: 28/02/2026
Accepted: 28/02/2026,
Available Online: 28/02/2026.

QR access this Article



<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v9i1.1342>

Pendahuluan

Diabetes Melitus (DM) merupakan salah satu penyakit kronis yang menjadi masalah kesehatan masyarakat di dunia dengan prevalensi yang begitu tinggi dan menjadi penyebab utama kematian pada orang dewasa di seluruh dunia. Penyakit ini telah dilaporkan sekitar 422 juta orang dewasa dan 1.5 juta kematian secara signifikan pada tahun 2019. Dilaporkan di negara wilayah Arab-Afrika Utara dan Pasifik Barat menempati peringkat utama dan ke-2 dengan prevalensi diabetes pada penduduk umur 20-79 tahun yaitu 12.2 % dan 11. 4%, sementara Indonesia berada pada peringkat ke-7 di Asia Tenggara dari 10 negara dengan jumlah penderita sebanyak 10.7 juta [1].

Diabetic Foot Ulcer (DFU) merupakan salah satu komplikasi utama pada penderita DM yang disebabkan oleh berbagai faktor, seperti neuropati diabetik, gangguan pembuluh darah perifer, iskemia, infeksi, dan trauma lokal [2]. Kondisi ini dapat menyebabkan kehilangan anggota tubuh hingga kematian apabila tidak ditangani secara tepat, sehingga menjadi masalah kesehatan serius pada penderita DM.[3] Peningkatan jumlah penderita DM turut mengakibatkan meningkatnya kasus DFU.

Kopi robusta (*Coffea canephora*) merupakan jenis kopi yang dapat hidup pada ketinggian kurang dari 1.000 mdpl dan dapat tumbuh optimum pada ketinggian 600-700 mdpl. Dibanding dengan kopi arabika, kopi robusta memiliki sifat yang lebih tahan terhadap penyakit karat daun yang disebabkan oleh patogen *Hemileia vastatrix*.Kopi mengandung banyak senyawa yang bermanfaat sebagai antibakteri. Beberapa senyawa yang terkandung dalam kopi antara lain flavonoid, kafein, trigonelin, dan klorogenat [4].

Flavonoid termasuk dalam kelas metabolit sekunder tumbuhan. Flavonoid memiliki struktur polifenolik dan banyak ditemukan dalam buah-buahan, sayuran dan minuman tertentu. Senyawa kelompok flavonoid ini telah terbukti memiliki aktivitas sebagai senyawa antiinflamasi, adapun jalur mekanisme kerja yang telah diketahui adalah dengan menghambat kerja pada jalur siklooksigenase(COX) baik COX-1 maupun COX-2. Selain itu, senyawa kelompok flavonoid juga memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang sangat kuat, aktivitas antikanker, dan aktivitas sebagai antimikroba [5].

Antioksidan adalah molekul yang mampu menghambat atau menunda oksidasi substrat lain dengan menetralkan radikal bebas melalui donasi atau penangkapan elektron, tanpa menjadi radikal sendiri. Molekul-molekul ini memainkan peran penting dalam mencegah dan menghambat perkembangan penyakit degeneratif dengan menjaga integritas struktural sel dan mendukung fungsi imun dan metabolisme.[6] Akibatnya, eksplorasi dan pemanfaatan senyawa antioksidan alami menjadi sangat relevan dan saat ini menjadi fokus penelitian yang bertujuan untuk pencegahan penyakit degeneratif.

Pada penelitian sebelumnya yang melakukan penelitian uji aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi daun kopi dengan metode DPPH, ekstrak kental yang diperoleh dilakukan uji fitokimia dengan menunjukkan hasil positif mengandung flavonoid, alkaloid, fenolik, terpenoid, steroid, dan saponin. Pada pengujian efek aktivitas antioksidan dari masing-masing fraksi menunjukkan adanya aktivitas antioksidan [7]. Berdasarkan hal tersebut maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian terhadap studi aktivitas antioksidan dan uji total flavonoid dari fraksi aktif biji kopi robusta (*Coffea canephora* L.) asal perkebunan kopi di desa Salaon Dolok Kecamatan Ronggurnihuta Kabupaten Samosir.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang bertujuan untuk menentukan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan fraksi aktif biji kopi robusta (*Coffea canephora* L.). Sampel

berupa buah kopi robusta matang berwarna merah diperoleh dari Desa Salaon Dolok, Kabupaten Samosir, dan dideterminasi di Universitas Sumatera Utara. Biji kopi dikeringkan, dihaluskan menjadi serbuk simplisia, kemudian diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% selama 3×24 jam. Ekstrak kental yang diperoleh difraksinasi secara bertingkat menggunakan n-heksan dan etil asetat untuk menghasilkan fraksi n-heksan, etil asetat, dan air. Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan steroid. Penetapan kadar flavonoid total dilakukan menggunakan metode spektrofotometri ultraviolet–tampak dengan kuersetin sebagai standar pada panjang gelombang maksimum 430 nm. Aktivitas antioksidan diuji menggunakan metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil dengan vitamin C sebagai pembanding, diukur pada panjang gelombang 515–520 nm. Nilai aktivitas antioksidan dinyatakan sebagai persentase inhibisi dan nilai IC_{50} ditentukan berdasarkan persamaan regresi linear antara konsentrasi dan persentase inhibisi.

Alat dan Bahan penelitian

Alat yang digunakan yaitu Spektrofotometer UV-Vis, Mikropipet, Tabung reaksi, Water bath, Kertas perkamen, Botol vial, Erlemenyer, Gelas ukur, Kertas saring, Aluminium foil, Corong, Blender, Timbangan analitik, Rak tabung reaksi, Cawan porselin, Batang pengaduk, Rotary evaporator, Pipet tetes, Labu ukur. Sedangkan bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah Biji kopi robusta (*Coffea canephora* L.), Pelarut Etanol 96%, Metanol PA, Akuadest, N-Heksana, Etil asetat, Kuarsetin, Asam askorbat, Pereaksi 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl.

Pengambilan dan pengelolaan sampel

Sampel kopi robusta (*Coffea canephora* L.) diperoleh dari Desa Salaon Dolok, Kecamatan Ronggurnihuta, Kabupaten Samosir. Sampel yang digunakan berupa buah kopi robusta matang berwarna merah sebanyak 4 kg, yang telah dikupas kulitnya dan dicuci dengan air mengalir hingga bersih. Selanjutnya, sampel dikeringkan di bawah sinar matahari hingga kering, kemudian dilakukan proses sortasi untuk memisahkan biji yang rusak selama pengeringan. Biji kopi yang telah disortir kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga diperoleh serbuk simplisia, selanjutnya dilakukan penimbangan untuk perhitungan berat simplisia.

$$\text{Rendemen Simplisia} = \frac{\text{Berat simplisia yang diperoleh}}{\text{Berat simplisia awal}} \times 100\%$$

Pembuatan ekstrak

Ekstraksi biji kopi robusta dilakukan dengan menggunakan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Simplisia seberat 600 gram direndam menggunakan etanol selama 3 kali 24 jam tanpa mengganti pelarut dengan perbandingan etanol dan simplisia 1:10 dan dilakukan pengadukan tiap 12 jam sekali. Pada hari ketiga larutan disaring menggunakan kertas saring. Larutan ekstrak yang didapat diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 70–75°C dan tekanan 400–500 mmHg untuk mendapatkan ekstrak kental.

Uji skrining fitokimia

Uji skrining fitokimia terhadap ekstrak etanol biji kopi robusta dilakukan melalui metode reaksi warna dan pengendapan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder, meliputi tanin, alkaloid, flavonoid, saponin, serta steroid/terpenoid. Pengujian tanin dilakukan dengan menambahkan beberapa tetes larutan $FeCl_3$ 10% ke dalam 0,5 g ekstrak; terbentuknya warna biru tua atau hijau kehitaman menunjukkan hasil positif adanya tanin. Uji alkaloid dilakukan dengan menambahkan pereaksi Dragendorff yang menghasilkan warna cokelat kemerahan apabila positif alkaloid, serta penambahan pereaksi Mayer (HCl 2%) yang ditandai dengan terbentuknya endapan putih. Uji flavonoid dilakukan dengan menambahkan 1 mL HCl pekat ke dalam 0,5 g ekstrak, kemudian dikocok kuat; munculnya warna merah, kuning, atau jingga menunjukkan adanya flavonoid. Pada uji saponin, 0,5 g ekstrak ditambahkan satu tetes HCl 2 N, dan terbentuknya busa stabil setinggi 1–10 cm yang bertahan selama ± 10 menit menunjukkan hasil positif saponin. Sementara itu, uji steroid/terpenoid dilakukan dengan menambahkan lima tetes pereaksi Liebermann–Burchard, kemudian dikocok dan didiamkan beberapa menit; terbentuknya warna merah mengindikasikan adanya terpenoid, sedangkan warna biru menunjukkan adanya senyawa steroid dalam sampel [8,9].

Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan melarutkan ekstrak kental ke dalam beaker glass menggunakan aquadest yang dipanaskan pada suhu 70–80°C dengan perbandingan 1:10 dan kemudian diaduk hingga homogen. Larutan tersebut selanjutnya dipindahkan ke dalam corong pisah berkapasitas 1000 mL ditambahkan 150 mL n-heksan, lalu dikocok hingga tercampur merata lalu membuka pelan pelan scrub untuk mengeluarkan gas nya dan didiamkan sampai terbentuk dua lapisan yang selanjutnya dipisahkan. Fraksi air yang diperoleh diekstraksi kembali dengan 150 mL n-heksan, diaduk, dan dipisahkan. Prosedur ini diulang sebanyak tiga kali. Fraksi sisa air kemudian difraksinasi kembali menggunakan pelarut etil asetat dengan pengulangan yang sama untuk menghasilkan fraksi etil asetat dan fraksi sisa air. Seluruh fraksi yang diperoleh, yaitu fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air, selanjutnya diuapkan dengan rotary evaporator dengan suhu 40°C hingga diperoleh masing-masing fraksi kental n-heksan, etil asetat, dan air [8,9].

Penetapan Kadar Flavonoid Total dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis

Penetapan kadar flavonoid total dilakukan secara spektrofotometri UV-Vis menggunakan kuersetin sebagai standar pembanding. Larutan induk baku disiapkan dengan menimbang 10 mg kuersetin, kemudian dilarutkan dalam metanol hingga volume 100 mL sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. Penentuan panjang gelombang maksimum diawali dengan pembuatan larutan kerja 10 ppm, yang diperoleh dengan memipet 1 mL larutan induk ke dalam labu ukur 10 mL dan mencukupkan volumenya dengan metanol. Sebanyak 0,5 mL larutan tersebut direaksikan dengan 1,5 mL etanol, 0,1 mL aluminium klorida (AlCl_3), 0,1 mL natrium asetat (CH_3COONa), dan 2,8 mL akuades, kemudian diinkubasi selama 25 menit pada suhu ruang. Serapan diukur pada rentang panjang gelombang 400–800 nm untuk memperoleh panjang gelombang maksimum, yang selanjutnya digunakan dalam pengukuran sampel. Larutan blangko yang digunakan adalah metanol. Kurva kalibrasi dibuat dari larutan standar dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm, yang masing-masing diperoleh dengan memipet 0,5; 1; 1,5; 2; dan 2,5 mL larutan baku ke dalam labu ukur 5 mL dan dicukupkan dengan metanol. Dari setiap konsentrasi dipipet 0,5 mL, kemudian direaksikan dengan 1,5 mL etanol, 0,1 mL AlCl_3 , 0,1 mL CH_3COONa , dan 2,8 mL akuades, lalu diinkubasi selama 25 menit sebelum diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 430 nm. Nilai absorbansi yang diperoleh digunakan untuk menyusun kurva kalibrasi dan menentukan persamaan regresi linear ($y = ax + b$).

Penetapan kadar flavonoid total pada sampel dilakukan dengan menimbang 10 mg ekstrak, kemudian dilarutkan dalam 10 mL metanol hingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Sebanyak 0,5 mL larutan sampel direaksikan dengan 1,5 mL etanol, 0,1 mL AlCl_3 , 0,1 mL CH_3COONa , dan 2,8 mL akuades, kemudian diinkubasi selama 25 menit pada suhu ruang. Absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 430 nm. Kadar flavonoid total dalam sampel dihitung berdasarkan persamaan regresi yang diperoleh dari kurva kalibrasi dan dinyatakan sebagai ekuivalen kuersetin.

Penentuan Aktivitas Antioksidan Fraksi Aktif Kopi Robusta (*Coffea canephora* L.) dengan Metode DPPH

Aktivitas antioksidan fraksi aktif kopi robusta (*Coffea canephora* L.) ditentukan menggunakan metode peredaman radikal 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) secara spektrofotometri UV-Vis. Larutan DPPH 0,05 mM disiapkan dengan menimbang 5 mg DPPH, kemudian dilarutkan dalam metanol hingga volume 250 mL dalam labu ukur dan dikocok hingga homogen. Untuk penentuan panjang gelombang maksimum, sebanyak 3,8 mL larutan DPPH 0,05 mM direaksikan dengan 0,2 mL metanol, didiamkan selama 30 menit, lalu diukur serapannya pada rentang panjang gelombang 515–520 nm hingga diperoleh panjang gelombang maksimum. Metanol digunakan sebagai larutan blangko [10].

Larutan uji sampel dibuat dengan menimbang masing-masing 100 mg ekstrak kental, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air, kemudian dilarutkan dalam metanol dan dicukupkan hingga 100 mL sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Dari larutan induk tersebut dipipet masing-masing 1, 2, 3, 4, dan 5 mL, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL dan ditambahkan metanol hingga tanda batas untuk memperoleh seri konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm. Larutan pembanding vitamin C (asam askorbat) disiapkan dengan menimbang 50 mg, dilarutkan dalam metanol hingga volume 50 mL sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Selanjutnya dibuat seri konsentrasi 5, 10, 15, 20, dan 25 ppm melalui pengenceran bertingkat dalam labu ukur 50 mL [10].

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan mereaksikan 0,2 mL masing-masing larutan uji atau larutan pembanding dengan 3,8 mL DPPH 0,05 mM. Campuran diinkubasi selama 30 menit dalam kondisi gelap untuk mencegah degradasi akibat cahaya, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum DPPH (± 517 nm) menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Sebagai kontrol, 0,2 mL metanol

direaksikan dengan 3,8 mL DPPH dan diperlakukan dengan prosedur yang sama. Setiap pengujian dilakukan secara duplo. Aktivitas antioksidan dinyatakan sebagai persentase inhibisi terhadap radikal DPPH yang dihitung menggunakan persamaan [10]:

$$\% \text{ inhibisi} = [(A_{\text{awal}} - A_{\text{setelah reaksi}}) / A_{\text{awal}}] \times 100$$

Di mana A_{awal} merupakan absorbansi larutan DPPH kontrol sebelum direaksikan dengan sampel, dan $A_{\text{setelah reaksi}}$ adalah absorbansi larutan DPPH setelah direaksikan dengan sampel atau pembanding. Besarnya persentase inhibisi mencerminkan kemampuan sampel dalam meredam radikal bebas DPPH [10].

Perhitungan Nilai IC_{50}

Nilai IC_{50} ditentukan berdasarkan hubungan antara konsentrasi larutan uji dan persentase inhibisi radikal DPPH. Data % inhibisi dari masing-masing konsentrasi sampel (20, 40, 60, 80, dan 100 ppm) serta pembanding vitamin C (5, 10, 15, 20, dan 25 ppm) diplot sehingga diperoleh persamaan regresi linear dengan bentuk umum $y = ax + b$, di mana y menyatakan persentase inhibisi dan x menyatakan konsentrasi (ppm). Nilai IC_{50} dihitung dengan mensubstitusikan $y = 50$ ke dalam persamaan regresi tersebut, sehingga diperoleh nilai x sebagai konsentrasi yang mampu menghambat 50% radikal bebas. Nilai x inilah yang dinyatakan sebagai IC_{50} dalam satuan ppm [10].

Hubungan antara konsentrasi dan respons serapan secara spektrofotometri mengikuti persamaan linear $y = ax + b$, dengan a sebagai kemiringan (slope) dan b sebagai intersep, yang menunjukkan adanya korelasi antara peningkatan konsentrasi dan besarnya respons penghambatan [10].

Hasil dan Pembahasan

Hasil Ekstraksi Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora* L.)

Dalam penelitian ini, serbuk biji kopi *Coffea canephora* sebanyak 600 gram dimaserasi menggunakan etanol 96% dengan rasio massa terhadap volume pelarut 1:10 (600 g:6000 mL) selama tiga hari tanpa diulang, sambil diaduk secara terus menerus setiap 12 jam. Hasil dari proses ekstraksi menghasilkan ekstrak yang kental dengan berat 86 gram, dan tingkat rendemen mencapai 14,33%. Angka rendemen ini menunjukkan bahwa etanol efektif dalam mengekstrak komponen-komponen dari bahan simplisia kopi robusta.

Ekstraksi merupakan tahap krusial dalam isolasi senyawa aktif dari bahan alam, yang bertujuan menarik senyawa bioaktif dari matriks simplisia ke dalam pelarut. Proses maserasi menggunakan pelarut etanol 96% secara umum dipilih karena kemampuannya melarutkan berbagai kelas senyawa sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tanin, dan polifenol yang larut dalam pelarut polar hingga semi-polar. Ekstraksi maserasi dilakukan pada serbuk biji kopi robusta sebanyak 600 g dengan pelarut etanol 96% sebanyak 6 L (rasio 1:10) selama 3 hari dengan pengadukan setiap 12 jam menghasilkan ekstrak kental sebanyak 86 g dengan nilai rendemen 14,33 % dari berat bahan awal [11].

Menurut penelitian sebelumnya, nilai rendemen ekstrak tanaman yang terqualifikasi dianggap baik jika lebih dari 10 % dari berat simplisia awal, karena menunjukkan efisiensi pelarut dalam menarik senyawa bioaktif dari jaringan tanaman ke dalam larutan ekstrak. Menurut penelitian sebelumnya, nilai rendemen ekstrak tanaman yang terqualifikasi dianggap baik jika lebih dari 10 % dari berat simplisia awal, karena menunjukkan efisiensi pelarut dalam menarik senyawa bioaktif dari jaringan tanaman ke dalam larutan ekstrak.[12] Dalam studi tersebut, ekstraksi biji kopi robusta dengan metode maserasi dan pelarut etanol menghasilkan rendemen 17,05 % yang memenuhi kriteria kualitas ekstrak sesuai dengan persyaratan umum ekstraksi bahan alam (>10 %), artinya proses ekstraksi telah berjalan optimal dalam menarik sebagian besar senyawa terlarut dari serbuk kopi ke dalam pelarut etanol.

Nilai rendemen 14,33 % yang diperoleh dalam penelitian ini menunjukkan daya pelarut etanol 96% cukup efektif untuk mengekstraksi komponen sekunder dalam biji kopi robusta.

Proses penguapan pelarut menggunakan rotary evaporator bertujuan menghilangkan pelarut tanpa mengubah struktur kimia senyawa bioaktif agar diperoleh ekstrak kental yang stabil, berwarna gelap, dan memiliki bau karakteristik kopi. Proses ini sesuai dengan prosedur umum yang dilaporkan dalam penelitian ekstraksi bahan alam lainnya, dimana konsentrasi yang dihasilkan mencerminkan efisiensi pelarut serta kualitas ekstrak yang layak untuk pengujian lanjutan [13].

Hasil Uji Skrining Fitokimia Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora* L.)

Tabel 1. Hasil Uji Skrining Fitokimia

Skrining Fitokimia	Hasil	Keterangan
Uji Alkaloid	+	Coklat Kemerahan
Uji Flavonoid	+	Kuning Kemerahan
Uji Tanin	+	Biru Kehitaman
Uji Fenol	+	Biru Kehitaman
Uji Saponin	+	Busa Stabil 1 – 10 Cm
Uji Triterpenoid	+	Merah Kecoklatan

Hasil skrining fitokimia pada ekstrak biji kopi robusta menunjukkan adanya alkaloid, yang ditandai dengan reaksi positif (warna coklat kemerahan) terhadap reagen Dragendorff. Alkaloid, terutama kafein, dikenal sebagai komponen metabolit sekunder utama dalam biji *Coffea canephora* yang sering terdeteksi pada uji kualitatif fitokimia dan berkorelasi dengan aktivitas biologis seperti antioksidan [11].

Flavonoid juga terdeteksi positif melalui uji serbuk Mg + HCl (warna kuning kemerahan). Senyawa ini merupakan jenis polifenol yang umum terdapat dalam biji kopi robusta dan memiliki peran penting dalam reaktivitas antioksidan. Flavonoid pada kopi robusta berkontribusi dalam stabilisasi radikal bebas, yang relevan bagi mekanisme biologis dalam aktivitas terapeutik.

Uji fenol dan tanin memberikan reaksi positif (warna Biru kehitaman), yang menunjukkan keberadaan kelompok fenolik dalam ekstrak. Senyawa fenolik termasuk tanin dilaporkan sebagai bagian dari profil metabolit kopi robusta dan berhubungan dengan aktivitas antioksidan yang kuat, karena gugus fenolik dapat mentransfer elektron untuk menetralkan radikal bebas [14].

Saponin juga teridentifikasi positif melalui pembentukan busa stabil jika berada di rentang 1 sampai 10 cm, yang merupakan karakteristik uji kualitatif untuk senyawa saponin. Saponin termasuk dalam kelompok metabolit sekunder yang sering ditemukan dalam biji kopi robusta yang secara umum berpotensi memberikan stabilitas emulsi dan aktivitas biologis tertentu [11].

Triterpenoid terdeteksi melalui reaksi Liebermann–Burchard (warna merah kecoklatan). Kelompok terpenoid, termasuk triterpenoid, telah terbukti sebagai bagian dari profil kimia biji kopi robusta dalam penelitian yang telah dilakukan sebelumnya dan berhubungan dengan potensi aktivitas macam-macam bioaktif [15]. Dengan demikian, hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak biji kopi robusta mengandung berbagai kelompok metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, fenol/tanin, saponin, dan triterpenoid.

Fraksinasi Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora* L.)

Fraksinasi adalah proses penting untuk memisahkan komponen metabolit sekunder berdasarkan tingkat polaritas pelarut, sehingga meningkatkan konsentrasi senyawa aktif yang memiliki potensi farmakologis. Dari 86 gram ekstrak etanol biji kopi robusta, diperoleh fraksi air sebanyak 46 gram (rendemen 55,81%), fraksi etil asetat sebanyak 17 gram (rendemen 19,76%), dan fraksi n-heksan sebanyak 9 gram (rendemen 10,46%). Hasil ini menunjukkan bahwa sebagian besar senyawa yang larut berada pada fraksi polar (air), diikuti oleh fraksi semipolar (etil asetat) dan fraksi nonpolar (n-heksan). Perbedaan rendemen fraksi ini sesuai dengan prinsip polaritas pelarut dalam ekstraksi cair-cair, yaitu senyawa yang polar dan semipolar cenderung lebih mudah menyerap dari matriks tumbuhan dibandingkan senyawa nonpolar. Hal ini juga ditemukan dalam studi fraksinasi biji kopi robusta, yang menunjukkan bahwa fraksi etil asetat dan n-heksan berperan sebagai fase pemisah untuk metabolit tertentu, sedangkan fraksi air dominan mengandung polisakarida dan tanin polimerik [16].

Perbedaan rendemen yang diperoleh pada masing-masing fraksi menunjukkan bahwa proses fraksinasi ekstrak etanol biji kopi robusta berlangsung sesuai dengan prinsip distribusi senyawa berdasarkan polaritas pelarut. Fraksi air sebagai pelarut paling polar menghasilkan rendemen tertinggi, diikuti oleh fraksi etil asetat yang bersifat semipolar, dan fraksi n-heksan sebagai pelarut nonpolar. Pola ini menunjukkan bahwa komponen ekstraktif utama dalam biji kopi robusta cenderung memiliki sifat polar hingga semipolar. Dominasi fraksi air mengindikasikan bahwa senyawa yang larut dalam pelarut polar lebih banyak terdistribusi selama proses ekstraksi cair-cair. Hal ini sejalan dengan karakteristik matriks biji kopi yang diketahui kaya akan senyawa hidrofilik, sehingga fraksi polar menjadi fase utama yang menampung sebagian

besar massa ekstrak. Sementara itu, fraksi etil asetat berfungsi sebagai fase transisi yang memisahkan senyawa dengan tingkat polaritas menengah, yang tidak sepenuhnya larut dalam air maupun n-heksan [17].

Rendemen fraksi n-heksan yang paling rendah menunjukkan bahwa kandungan senyawa nonpolar dalam ekstrak etanol biji kopi robusta relatif terbatas, di mana fraksi nonpolar umumnya menghasilkan rendemen lebih kecil karena jumlah senyawa lipofilik yang lebih sedikit dibandingkan senyawa polar dan semipolar. Selain itu, penggunaan pelarut nonpolar lebih berperan dalam memisahkan senyawa tertentu daripada sebagai fraksi utama hasil ekstraksi [18].

Secara metodologis, hasil fraksinasi ini menegaskan bahwa pemilihan pelarut berdasarkan polaritas merupakan pendekatan yang efektif dalam memisahkan komponen ekstrak secara bertahap. Perbedaan rendemen antarfraksi dapat digunakan sebagai indikator awal distribusi senyawa dalam ekstrak, serta menjadi dasar untuk tahapan analisis lanjutan terhadap masing-masing fraksi. Dengan demikian, proses fraksinasi berperan penting dalam menyederhanakan kompleksitas ekstrak etanol biji kopi robusta sebelum dilakukan pengujian lebih lanjut [19].

Uji Antioksidan Menggunakan Metode DPPH

Tabel 1. Hasil uji baku pembanding vitamin c

Sampel	Konsentrasi	Absorbansi	%inhibisi	Nilai IC ₅₀	Persamaan Regresi linear
Vitamin C (Blanko)	5	0,232	44,36	2,92	Y=34,324x + 13,215 R ² = 0,9796
	10	0,165	60,43		
	15	0,075	81,89		
	20	0,042	89,92		
	25	0,033	97,84		

Tabel 2. Hasil uji antioksidan fraksi n-Heksan

Sampel	Konsentrasi	Absorbansi	%inhibisi	Nilai IC ₅₀	Persamaan Regresi linear
Fraksi n-Heksan	20	0,146	64,86	4,89	Y = 11,248x + 32,128 R ² = 0,9738
	40	0,101	75,65		
	60	0,093	77,69		
	80	0,079	81,05		
	100	0,068	83,69		

Tabel 3. Hasil uji antioksidan fraksi etil asetat

Sampel	Konsentrasi	Absorbansi	%inhibisi	Nilai IC ₅₀	Persamaan Regresi linear
Fraksi etil asetat	20	0,093	77,57	3,02	Y = 13,769x + 34,753 R ² = 0,9647
	40	0,069	83,45		
	60	0,042	89,80		
	80	0,019	95,32		
	100	0,001	99,76		

Pengujian aktivitas antioksidan pada penelitian ini adalah dengan menggunakan metode DPPH dan vitamin c sebagai baku pembanding dengan berbagai konsentrasi yaitu 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm. Metode DPPH dipilih karena bersifat sederhana, cepat, dan sensitif dalam mengukur kemampuan suatu senyawa antioksidan dalam menangkap radikal bebas.

Prinsip metode DPPH didasarkan pada perubahan warna larutan DPPH dari ungu tua menjadi kuning pucat, yang terjadi akibat adanya reaksi antara radikal bebas DPPH dengan senyawa antioksidan yang mendonorkan atom hidrogen atau elektron. Penurunan intensitas warna tersebut menunjukkan semakin besarnya aktivitas antioksidan dari sampel uji. Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis, karena pada panjang gelombang tersebut DPPH memiliki serapan maksimum.

Penggunaan vitamin C sebagai baku pembanding bertujuan untuk membandingkan potensi aktivitas antioksidan sampel biji kopi robusta dengan antioksidan standar yang telah diketahui memiliki aktivitas tinggi. Semakin kecil nilai IC₅₀ yang diperoleh, maka semakin kuat aktivitas antioksidan suatu sampel, karena

menunjukkan konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH semakin rendah. Tingkat kekuatan antioksidan adalah sangat kuat (IC₅₀ <50 ppm), kuat (IC₅₀ 51-100 ppm), sedang (IC₅₀ 101-150 ppm), lemah (IC₅₀ >151 ppm), dan tidak aktif (IC₅₀ >500 ppm).

Tabel 4. Hasil uji antioksidan fraksi air

Sampel	Konsentrasi	Absorbansi	%inhibisi	Nilai IC ₅₀	Persamaan Regresi linear
Fraksi air	20	0,164	60,55	7,40	Y = 9,7934x + 30,397 R ² = 0,9766
	40	0,146	64,86		
	60	0,121	70,86		
	80	0,111	73,38		
	100	0,100	75,89		

Berdasarkan nilai IC₅₀ yang dihitung, terdapat perbedaan potensi masing - masing sampel dalam menghambat aktivitas antioksidan. Vitamin C, sebagai baku pembanding menunjukkan nilai IC₅₀ sebesar 2,92 ppm, yang menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Fraksi etil asetat memiliki nilai IC₅₀ sebesar 3,02 ppm, yang mendekati nilai vitamin C, menunjukkan aktivitas penghambatan yang sangat kuat dan mirip dengan kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mengandung senyawa bioaktif yang efektif dalam menghambat aktivitas antioksidan pada konsentrasi yang relatif rendah. Fraksi n -heksana menunjukkan nilai IC₅₀ sebesar 4,89 ppm, yang juga dianggap memiliki aktivitas penghambatan yang sangat kuat, meskipun sedikit lebih rendah daripada fraksi etil asetat dan vitamin C. Sementara itu fraksi air memiliki nilai IC₅₀ tertinggi sebesar 7,40 ppm, menunjukkan aktivitas penghambatan terlemah di antara sampel yang diuji, meskipun masih dianggap aktif.

Perbedaan nilai IC₅₀ menunjukkan bahwa polaritas pelarut memengaruhi jenis dan jumlah senyawa bioaktif yang diekstrak. Pelarut semipolar seperti etil asetat cenderung mengekstrak senyawa dengan karakteristik kimia yang sesuai untuk berinteraksi secara efektif dengan radikal bebas DPPH, baik melalui mekanisme donasi elektron maupun atom hidrogen. Sebaliknya, fraksi air yang bersifat sangat polar cenderung mengandung komponen hidrofilik dalam jumlah besar yang tidak seluruhnya berkontribusi langsung terhadap aktivitas antioksidan, sehingga meskipun rendemennya tinggi, aktivitas penghambatannya relatif lebih rendah. Fraksi n-heksana yang bersifat nonpolar menunjukkan aktivitas menengah, yang mencerminkan terbatasnya kandungan senyawa dengan kemampuan antioksidan tinggi dalam fraksi tersebut.

Hasil ini konsisten dengan data persentase penghambatan radikal bebas, di mana peningkatan konsentrasi sampel dari 20 hingga 100 ppm menyebabkan peningkatan persentase penghambatan pada seluruh fraksi. Fraksi etil asetat secara konsisten menunjukkan nilai penghambatan tertinggi pada setiap konsentrasi yang diuji, dan pada konsentrasi 100 ppm mencapai persentase penghambatan sebesar 99,76%, yang hampir setara dengan vitamin C. Kesesuaian hasil ini memperkuat bahwa fraksi etil asetat mengandung komponen dengan kemampuan antioksidan yang paling tinggi dibandingkan fraksi lainnya dalam menangkap radikal bebas DPPH. Hasil ini sejalan dengan penelitian.[20] Yang menegaskan bahwa fraksi etil asetat dari bahan tanaman kopi menunjukkan aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan fraksi polar dan nonpolar karena kemampuannya mengekstraksi senyawa fenolik dan flavonoid aktif secara lebih selektif.

Kuatnya aktivitas antioksidan pada fraksi etil asetat dalam penelitian ini berkaitan dengan kemampuan pelarut etil asetat yang bersifat semi-polar, sehingga efektif melarutkan senyawa fenolik dan flavonoid yang diketahui berperan sebagai donor atom hidrogen dalam mekanisme penangkapan radikal bebas DPPH.[21] Juga menyebutkan bahwa senyawa fenolik seperti asam klorogenat dan turunannya pada kopi robusta memiliki kelarutan optimal pada pelarut semi-polar, sehingga konsentrasinya lebih tinggi pada fraksi etil asetat dibandingkan fraksi air maupun fraksi n-Heksan (nonpolar).

Uji Total Flavonoid

Tabel 5. Hasil Uji Flavonoid

Fraksi	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Kadar Rata-Rata (mg QE/g)
N-Heksan	1,932	1,580	1,757	1,757
Etil Asetat	0,147	0,134	0,163	0,148
Air	0,928	1,269	0,758	0,985

Analisis kuantitatif senyawa flavonoid total dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dilakukan untuk mengetahui seberapa besar kadar flavonoid total yang terkandung pada fraksi aktif biji kopi robusta (*coffe canephora L*). Analisis flavonoid dilakukan dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis karena flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi sehingga menunjukkan pita serapan kuat pada daerah spektrum sinar ultraviolet dan spektrum sinar tampak [22].

Dalam penelitian ini, kuersetin dipilih sebagai larutan standar untuk penentuan kandungan flavonoid total dan sebagai standar pembanding karena memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi [23]. Digunakan kuarsetin sebagai larutan standar karena kuersetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang mempunyai gugus keto pada C-4 dan memiliki gugus hidroksil pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari flavon dan flavonol [24–28]. Pengukuran serapan panjang gelombang maksimum dilakukan pada jarak panjang gelombang 400 hingga 800 nm. Hasil pengukuran menunjukkan panjang gelombang maksimum standar baku kuarsetin berada pada panjang gelombang 435 nm. Panjang gelombang maksimum tersebut yang digunakan untuk mengukur serapan dari sampel fraksi aktif biji kopi robusta. Semua pengukuran dilakukan dalam tiga kali pengulangan untuk mendapatkan hasil yang akurat.

Data hasil pengukuran tersebut, dapat disimpulkan bahwa semakin besar konsentrasi yang digunakan, semakin besar pula absorban yang diperoleh. Hasil baku kuersetin yang didapat kemudian digambar hubungannya antara konsentrasi dengan absorbansinya, sehingga didapatkan persamaan regresi linier $y = 0,01723X + 0,0227$ dengan nilai R^2 sebesar 0,9974 dan nilai r sebesar 0,998. Persamaan kurva kalibrasi kuersetin ini digunakan sebagai pembanding untuk mengetahui konsentrasi senyawa flavonoid total pada fraksi aktif biji kopi robusta.

Berdasarkan perhitungan menggunakan persamaan regresi tersebut, diperoleh kadar rata-rata flavonoid total pada fraksi n-heksan sebesar 1,757 mg, fraksi etil asetat sebesar 0,148 mg, dan fraksi air sebesar 0,985 mg. Berdasarkan nilai tersebut dapat disimpulkan bahwa fraksi n-heksan memiliki kandungan flavonoid total paling tinggi, fraksi etil asetat paling rendah, sedangkan fraksi air berada di antara keduanya. Hal ini menunjukkan bahwa flavonoid dalam biji kopi robusta tidak sepenuhnya bersifat polar, melainkan sebagian memiliki karakteristik kurang polar atau lipofilik sehingga cenderung terdistribusi ke dalam pelarut non-polar seperti n-heksan. Sementara itu, fraksi air mampu mengekstrak flavonoid yang bersifat lebih polar, namun dalam jumlah yang lebih sedikit dibandingkan fraksi n-heksan.

Perbedaan antara fraksi dengan kandungan flavonoid tertinggi dan fraksi dengan aktivitas antioksidan terkuat menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan tidak semata-mata dipengaruhi oleh jumlah flavonoid, tetapi juga oleh komposisi senyawa fenolik lain serta struktur kimianya. Fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas antioksidan paling kuat berdasarkan metode DPPH, yang diduga disebabkan oleh kandungan senyawa fenolik dan flavonoid tertentu serta mekanisme donor elektron yang lebih efektif. Hal ini menunjukkan bahwa distribusi senyawa berdasarkan polaritas pelarut sangat menentukan potensi biologis suatu fraksi.

Hasil ini sejalan dengan penelitian Tripathi, *et al.*, [29] pada biji kopi hijau yang menyatakan bahwa polaritas pelarut memengaruhi distribusi flavonoid, serta terdapat kecenderungan korelasi negatif antara polaritas pelarut dan kandungan flavonoid total. Pada pelarut dengan polaritas lebih rendah, kandungan flavonoid yang terekstraksi dapat meningkat, meskipun aktivitas antioksidannya tidak selalu yang tertinggi. Dengan demikian, tingginya kadar flavonoid total pada fraksi n-heksan dalam penelitian ini sesuai dengan karakteristik kimia flavonoid tertentu dalam kopi robusta yang bersifat kurang polar.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, ekstraksi biji kopi robusta (*Coffea canephora L.*) menggunakan etanol 96% menghasilkan rendemen sebesar 14,33% serta mengandung metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, fenol/tanin, saponin, dan triterpenoid. Proses fraksinasi menghasilkan fraksi air, etil asetat, dan n-heksana dengan perbedaan rendemen yang mencerminkan distribusi senyawa berdasarkan tingkat polaritasnya. Uji aktivitas antioksidan metode DPPH menunjukkan bahwa seluruh fraksi memiliki aktivitas sangat kuat ($IC_{50} < 50$ ppm), dengan fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas paling tinggi (IC_{50} 3,02 ppm) dan mendekati efektivitas vitamin C. Penetapan kadar flavonoid total menunjukkan bahwa fraksi n-heksana memiliki kandungan flavonoid tertinggi. Namun demikian, tingginya kadar flavonoid tidak selalu berbanding lurus dengan aktivitas antioksidan, karena aktivitas tersebut juga dipengaruhi oleh jenis, struktur, dan interaksi senyawa bioaktif lainnya dalam masing-masing fraksi. Variasi distribusi flavonoid selama proses fraksinasi

berkaitan dengan karakteristik struktur kimianya; flavonoid dalam bentuk aglikon yang relatif kurang polar dapat terpartisi ke dalam fraksi non-polar. Secara keseluruhan, hasil penelitian ini memberikan landasan ilmiah awal mengenai potensi fraksi aktif biji kopi robusta sebagai sumber antioksidan yang prospektif untuk pengembangan terapi pendukung pada luka diabetik.

Referensi

- [1] Indiriadi I, Yusuf S, Kadar K. Foot Assesment untuk Pencegahan Diabetic Foot Ulcer: A Literatur Review. *J Keperawatan* 2022;14:1175–84.
- [2] Hasanah M, Maharani B, Munarsih E, Tinggi S, Farmasi I, Pertiwi B, et al. Daya Antioksidan Ekstrak Dan Fraksi Daun Kopi Robusta (*Coffea robusta*) Terhadap Antioxidant of Extract and Fraction *Coffea robusta* Leaves with Diphenylpicrylhidrazyl (DPPH) Method 2017;4.
- [3] Azimi-Bahnamiri F, Mokhtari H, Khalilollah S, Soltanahmadi SV, Omraninava M, Disfani RA, et al. Decellularized human amniotic membrane loaded with epigallocatechin-3-gallate accelerated diabetic wound healing. *J Tissue Viability* 2024;33:18–26.
- [4] Mihai RA, Ortiz-Pillajo DC, Iturralde-Proañó KM, Vinueza-Pullotasig MY, Sisa-Tolagasí LA, Villares-Ledesma ML, et al. Comprehensive Assessment of Coffee Varieties (*Coffea arabica* L.; *Coffea canephora* L.) from Coastal, Andean, and Amazonian Regions of Ecuador; A Holistic Evaluation of Metabolism, Antioxidant Capacity and Sensory Attributes. *Horticulturae* 2024;10:200. <https://doi.org/10.3390/horticulturae10030200>.
- [5] Butar-Butar RGS, Neswita E, Sembiring NB, Novriani E, Simanjuntak NJP, Pakpahan EH. Uji skrining fitokimia dan pengukuran kadar total flavonoid pada ekstrak paku (*Nephrolepis biserrata*) dengan fraksi n-heksana, etil asetat, dan air. *J Pharm Sci* 2023;1142–60.
- [6] Kaban VE, Nasri N, Suci N, Fauzan M, Rani Z, Munandar H, et al. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Hidroalkoholik Daun Gedi Hijau (*Abelmoschus manihot* L.) Menggunakan Metode Cuprac (Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity). *J Penelit Farm Dan Klin Indones* 2025;08:11–7.
- [7] Ong KW, Hsu A, Tan BKH. Chlorogenic acid stimulates glucose transport in skeletal muscle via AMPK activation: a contributor to the beneficial effects of coffee on diabetes. *PLoS One* 2012;7:e32718.
- [8] Muzakkir M, Sembiring FR, Indriana M, Salman S. Study on the utilization of jamblang (*Syzygium cumini* L.) bark extract as a herbal-based alternative hair dye. *J Pharm Sci* 2025:291–302.
- [9] Ananda TP, Febriani Y, Sudewi S. Formulasi sediaan body lotion dari ekstrak etanol buah bit (*Beta vulgaris* L.) sebagai pelembab kulit dan antioksidan. *J Pharm Sci* 2023;6:980–8. <https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v6i3.51>.
- [10] Hasanah MH, Apriyanti D, Patmayuni D. Perbandingan antioksidan ekstrak etanol daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* L.) dan ketiga fraksi berbagai pelarut (heksan, etil asetat, dan air). *J Penelit Sains* 2020;22:25–31.
- [11] Fitriana D, Lestari TA, Pengasih ADA, Maulidina A, Handayani DY, Sumiyati Y. The Potential of Robusta Coffee Bean (*Coffea Canephora*) Extract in Vivo Healing of Incision Wounds in Sprague Dawley Rats. *Asian J Heal Sci* 2025;4:378–92.
- [12] Hasimun P, Sulaeman A, Hidayatullah A, Mulyani Y. Effect of *Curcuma longa* L. extract on noninvasive cardiovascular biomarkers in hypertension animal models. *J Appl Pharm Sci* 2021;11:85–9.
- [13] Elfia HY, Susilo S. An update on the pharmacology, phytochemistry, and toxicity of *Myristica fragrans* Houtt. as a source of treatment: A scoping review. *J Appl Pharm Sci* 2023;13:92–106.
- [14] Zahroh H. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Dengan Metode DPPH (1, 1-Diphenyl-2-picryl-hidrazyl) 2022.
- [15] Lateef AM. Phytochemical Profile, Antioxidant and Antimicrobial Activity Screening of Different Extracts of the Beans of *Coffea robusta*. *Eur J Sci Innov Technol* 2024;4:544–50.
- [16] Febriani A. Penelitian 2023 2023.
- [17] Kong R, Ma N, Liu P, Zhou X. Dual trace gas detection using a compact two-channel multipass cell with dense and line spot patterns. *Heliyon* 2023;9.
- [18] Krisyanella K, Meinisasti R, Muslim Z, Salasa AM, Baharyati D. The Comparison of the Sunscreen Activity of Ethanol Extracts and Fractions from Robusta Coffee (*Coffea canephora*) Leaves using UV Spectrophotometer Method. *Ris Inf Kesehat* 2023;12:178–83.

- [19] Suryanti E, Retnowati D, Prastya ME, Ariani N, Yati I, Permatasari V, et al. Chemical composition, antioxidant, antibacterial, antibiofilm, and cytotoxic activities of robusta coffee extract (*Coffea canephora*) 2023.
- [20] Muzdalifa D. Antioxidant Activity of the Skin Extract Fraction Robusta Coffee Bean (*Coffea Canephora* Pierre Ex A. froehner) with Dpph Method. *Indones Nat Res Pharm J* 2019;4:41–50.
- [21] Nason V. Quality Assurance in Kenyan higher education as a tool for keeping pace with the international standards. *J Qual Educ* 2023;13:113–24.
- [22] Harborne J. Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan (ahli bahasa : Kosasih Padmawinata & Iwang Soediro). ITB, Bandung 2006.
- [23] Lindawati NY, Ma'ruf SH. Penetapan kadar total flavonoid ekstrak etanol kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L.) secara spektrofotometri visibel. *J Ilm Manuntung Sains Farm Dan Kesehat* 2020;6:83–91.
- [24] Nintowati P, Solichatun S, Suratman S. Analisis Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Berdasarkan Perbedaan Ketinggian Tempat Tumbuh. *Biosci J Ilm Biol* 2024;12:2317–33.
- [25] Panca PPBC, Laksmiawati DR, Rahmat D. Skrining fitokimia dan penetapan kadar flavonoid total ekstrak buah okra (*abelmoschus esculentus* l.). *J Kefarmasian Akfarindo* 2022:80–7.
- [26] Aminah A, Tomayahu N, Abidin Z. Penetapan kadar flavonoid total ekstrak etanol kulit buah alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan metode spektrofotometri UV-Vis. *J Fitofarmaka Indones* 2017;4:226–30.
- [27] Chandra PPB, Handayani IA. penetapan kadar flavonoid total ekstrak daun *Litsea elliptica* Blume. *J Ris Kefarmasian Indones* 2024;6:192–206.
- [28] Ruhardi A, Sahumena MH. Identifikasi senyawa flavanoid daun sembung (*Blumea balsamifera* L.). *J Syifa Sci Clin Res* 2021;3:29–36.
- [29] Tripathi S, Singh S, Mishra N, Mishra N. The impact of solvent polarity on the phenolic and antioxidant capacity of green coffee beans (*Robusta* species) extracts. *Curr Res Nutr Food Sci J* 2025;13:926–36.