

Determination of total phenolic content of ethanol extract, ethyl acetate and n-hexan fraction of robusta coffee leaves (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) using Uv-Vis spectrofotometry method

Penetapan kadar fenolik total ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan n-heksan daun kopi robusta (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) dengan metode spektrofotometri Uv-Vis

Yulia Nanda Putri¹⁾, Muhammad Amin Nasution¹⁾*, Ridwanto¹⁾, Anny Sartika Daulay¹⁾

*Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah, Medan, Sumatera Utara, Indonesia.

*e-mail author: mhdaminnst@umnaw.ac.id

ABSTRACT

Phenolic compounds have various biological effects, such as antioxidant activity, can reduce the risk of cancer, coronary heart disease, stroke and other neurodegenerative diseases. Robusta coffee leaves (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) have activity as antioxidants because they contain abundant phenolic compounds. This study aims to determine the ratio of total phenolic levels between ethanol extract, ethyl acetate fraction and n-hexane fraction from robusta coffee leaves. In this study, the first step taken was a characterization test on simplicial powder and robusta coffee leaves macerated with 70% ethanol solvent. The maserat obtained is further fractionated with n-hexane and ethyl acetate. Followed by phytochemical screening on coffee leaf samples. Furthermore, the extract, n-hexane fraction and ethyl acetate determined total phenolic levels using visible spectrophotometry at a wavelength of 749 nm. Determination of total phenolic levels using the Folin-Ciocalteu method with gallic acid standards. Total phenolic levels are expressed in mg gallic acid equivalent (GAE) per gram of simplicial. The results showed that 70% ethanol extract of robusta coffee leaves had a total phenolic content of 25.9438 ± 0.0889 mg GAE/g. From the fractionation results show that the ethyl acetate fraction of robusta coffee leaves has a greater total phenolic content compared to the n-hexane fraction of 28.048 ± 0.3692 mg GAE / g and followed by the n-hexane fraction of 15.5231 ± 0.7213 mg GAE / g. This is because the fractionation method can increase the desired compound content by removing or separating unwanted compounds, thus making the compound results in the use of fractions purer.

Keywords: Phenolic compounds; UV-Vis spectrophotometry; Robusta coffee leaves

ABSTRAK

Senyawa fenolik memiliki berbagai efek biologis, seperti aktivitas antioksidan, dapat mengurangi resiko kanker, penyakit jantung coroner, stroke dan penyakit *neurodegenerative* lainnya. Daun kopi robusta (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) memiliki aktivitas sebagai antioksidan karena mengandung senyawa fenolik yang melimpah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan kadar fenolik total antara ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan dari daun kopi robusta. Pada penelitian ini, langkah awal yang dilakukan adalah uji karakterisasi terhadap serbuk simplisia dan daun kopi robusta dimaserasi dengan pelarut

etanol 70%. Maserat yang diperoleh selanjutnya difraksinasi dengan *n*-heksan dan etil asetat. Dilanjutkan dengan skrinning fitokimia pada sampel daun kopi. Selanjutnya ekstrak, fraksi *n*-heksan dan etil asetat ditetapkan kadar fenolik total dengan menggunakan spektrofotometri visible pada panjang gelombang 749 nm. Penentuan kadar fenolik total menggunakan metode *Folin-Ciocalteu* dengan standar asam galat. Kadar fenolik total dinyatakan dalam mg equivalent asam galat (GAE) per gram simplisia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% daun kopi robusta memiliki kadar fenolik total sebesar $25,9438 \pm 0,0889$ mg GAE/g. Dari hasil fraksinasi menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun kopi robusta memiliki kadar fenolik total yang lebih besar dibandingkan dengan fraksi *n*-heksan yaitu sebesar $28,048 \pm 0,3692$ mg GAE/g dan diikuti fraksi *n*-heksan sebesar $15,5231 \pm 0,7213$ mg GAE/g. Hal ini dikarenakan metode fraksinasi dapat meningkatkan kandungan senyawa yang dikehendaki dengan menghilangkan atau memisahkan senyawa yang tidak dikehendaki, sehingga menjadikan hasil senyawa pada penggunaan fraksi lebih murni.

Kata kunci : Senyawa fenolik; Spektrofotometri UV-Vis; Daun Kopi Robusta

PENDAHULUAN

Indonesia adalah salah satu negara yang paling luar biasa keanekaragaman hayati. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa tanaman menghasilkan metabolit sekunder dengan berbagai struktur molekul dan fungsi biologis. Tanaman herbal memiliki efek samping yang lebih sedikit daripada obat sintesis dan lebih aman digunakan (Winata, Muhammad, et al., 2023). Di masa kini, berbagai tumbuhan herbal banyak dimanfaatkan untuk pengobatan beraneka ragam jenis penyakit (Septiana et al., 2023)

Saat ini, Kabupaten Bener Meriah dan Aceh Tengah di Provinsi Aceh telah dikenal sebagai wilayah yang menghasilkan kopi secara melimpah (Andry et al., 2023). Tanaman kopi Robusta, yang tumbuh dengan baik di berbagai kondisi iklim, banyak dikonsumsi sebagai minuman. Penelitian oleh Rosalia et al. (2021) mencatat bahwa daun kopi robusta mengandung berbagai metabolit sekunder, termasuk flavonoid, steroid, alkaloid, saponin, fenolik, dan steroid. Senyawa fenolik, yang memiliki efek biologis seperti aktivitas antioksidan dan potensi untuk mengurangi risiko penyakit seperti kanker, penyakit jantung koroner, stroke, dan penyakit neurodegeneratif lainnya, terdapat dalam daun kopi (Aswar et al., 2021).

Meskipun kopi telah lama dimanfaatkan secara komersial untuk biji kopi sebagai minuman dan bahan makanan, pemanfaatan daunnya belum optimal. Daun kopi, yang kaya akan senyawa fenolik, telah ditemukan memiliki potensi sebagai agen antidiabetes. Lebih lanjut, penelitian menunjukkan bahwa daun kopi robusta memiliki tingkat antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan

dengan daun kopi arabika. Selain senyawa fenol, daun kopi robusta juga mengandung flavonoid, alkaloid, dan saponin, yang semuanya berperan sebagai antioksidan (Kartika, 2017).

Proses ekstraksi dan fraksinasi menggunakan pelarut organik dengan tingkat kepolaran yang berbeda dapat mempengaruhi jenis, kadar, dan aktivitas antioksidan senyawa bioaktif. Pendekatan fraksinasi dianggap efektif dalam meningkatkan kemurnian senyawa yang diinginkan dengan menghilangkan atau memisahkan senyawa yang tidak diinginkan (Kumalasari et al., 2021).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Ika Kartika et al (2019) menunjukkan bahwa daun kopi robusta (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) memiliki kandungan metabolit sekunder seperti fenol yang berpotensi sebagai antioksidan. Pada penelitian yang dilakukan oleh Devi Yuniar Pristiana et al (2017) didapatkan hasil ekstrak etanol daun kopi robusta memiliki kandungan fenolik total sebesar $37,85 \pm 1,54$ mg GAE/g ekstrak. Pada penelitian yang dilakukan oleh Mauizatul Hasanah et al (2017) menyatakan bahwa daun kopi robusta memiliki kadar kandungan fenolik total sebesar $27,04$ µg/g.

Berdasarkan uraian diatas, terdapat kandungan senyawa fenolik yang potensial yang terkandung pada ekstrak etanol tanaman daun kopi robusta (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner). Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk menentukan perbedaan kadar fenolik total dari ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi *n*-heksan pada daun kopi robusta (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner). Penentuan

kadar fenolik total dilakukan dengan metoda *Folin-Ciocalteu* secara spektrofotometer UV-Vis.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Penelitian Fakultas Farmasi Universitas Muslim Nusantara Al – Washliyah Medan. Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari 2023 – Mei 2023.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alat destilasi, rotary evaporator, corong pisah, kapas, tisu, botol berwarna gelap, aluminium foil, timbangan analitik, pipet tetes, gelas ukur, erlenmeyer, dan seperangkat alat spektrofotometri UV-Vis. Selain itu, hot plate, oven, dan tanur juga termasuk dalam rangkaian alat yang digunakan untuk mendukung proses penelitian ini.

Bahan – bahan yang digunakan yaitu daun kopi robusta (*Coffea canephora* Pierre ex. A. Froehner), aquadest, asam asetat, etanol 70%, etanol p.a, n-heksan, etil asetat, asam klorida, amil alcohol, raksa (II) klorida, kalium iodide, natrium hidroksida, iodium, bismuth (II) nitrat, besi (III) klorida, asam klorida pekat, timbal (II) asetat, alfa naftol, asam nitrat, asam sulfat pekat, toluene, asam asetat anhidrat, klorofom, kloralhidrat, aqua bebas CO₂, serbuk magnesium, air suling, asam galat, Natrium karbonat dan reagen *Folin-Ciocalteu*.

Sampel

Sampel tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kopi robusta (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) yang diperoleh dari Kabupaten Bener Meriah, Aceh.

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kopi Robusta

Proses ekstraksi serbuk daun kopi robusta dilakukan dengan metode maserasi, menggunakan pelarut etanol 70%. Sebanyak 500 gram daun kopi robusta (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) ditimbang dan kemudian dimasukkan ke dalam bejana maserasi. Pelarut etanol 70% sebanyak 3750 ml dituangkan secara perlahan ke dalam bejana, memastikan semua sampel terendam dan tertutup rapat. Proses maserasi berlangsung selama 5 hari di tempat yang terlindungi dari cahaya, sambil terus diaduk.

Setelah itu, maserat (Maserat I) diperoleh melalui pengepresan. Ampas yang dihasilkan kemudian dibersihkan dengan 1250 ml pelarut etanol 70%, dipindahkan ke dalam bejana tertutup (Maserat I dan Maserat II), dan dimaserasi selama 2 hari dengan sering diaduk. Selanjutnya, campuran disaring ke dalam wadah baru untuk mendapatkan ekstrak cair. Hasil penyarian dari ekstrak tersebut diuapkan menggunakan Rotary Evaporator di bawah titik didih hingga mendapatkan ekstrak yang kental (Faisal et al., 2023).

Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan secara berurutan dengan menggunakan pelarut n-heksana dan etil asetat. Ekstrak etanol seberat 15 gram dilarutkan dalam 100 ml etanol 96% dan ditambahkan dengan 100 ml aquadest. Campuran tersebut dimasukkan ke dalam corong pisah, kemudian ditambahkan larutan n-heksana sebanyak 200 ml. Setelah digojok dan didiamkan hingga terpisah sempurna, fase n-heksana akan berada di bagian atas, sementara fase etanol-air berada di bagian bawah dan kemudian dipisahkan. Fase etanol-air diekstraksi kembali dengan n-heksana sebanyak 3 kali. Selanjutnya, fase etanol-air ditambahkan dengan etil asetat sebanyak 200 ml, digojok, dan didiamkan hingga terpisah sempurna. Fase etil asetat akan terletak di bagian atas, sementara fase etanol-air berada di bagian bawah dan kemudian dipisahkan. Proses ekstraksi dengan etil asetat juga diulang sebanyak 3 kali. Larutan n-heksana dan larutan etil asetat yang dihasilkan kemudian dipekatkan untuk mendapatkan fraksi n-heksana dan fraksi etil asetat yang kental. (Sarker et al., 2006).

Pemeriksaan Alkaloid

Sejumlah 0,5 gram serbuk daun, ekstrak etanol, dan fraksi daun ditimbang, kemudian dicampur dengan 1 ml asam klorida 2 N dan 9 ml air suling. Campuran ini dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, didinginkan, dan disaring. Filtrat yang dihasilkan digunakan untuk menguji keberadaan alkaloida. Tiga tabung reaksi dipersiapkan, dan ke masing-masing tabung reaksi ditambahkan 0,5 ml filtrat. Setelah itu, reaksi di setiap tabung reaksi diuji dengan penambahan pereaksi yang berbeda.

1. Tabung reaksi I : ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer

2. Tabung reaksi II : ditambahkan 2 tetes pereaksi Bouchardat
3. Tabung reaksi III : ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff

Alkaloid positif jika terjadi endapan atau kekeruhan pada paling sedikit dua dari tiga percobaan diatas (Ditjen POM, 2000).

Pemeriksaan Flavonoid

Serbuk daun seberat 1 gram, ekstrak etanol, dan fraksi daun diukur, kemudian dicampur dengan 10 ml air panas. Campuran tersebut dididihkan selama 5 menit dan disaring dalam keadaan panas. Ke dalam 5 ml filtrat ditambahkan 0,1 gram serbuk magnesium, 1 ml asam klorida pekat, dan 2 ml amil alkohol. Campuran dikocok dan dibiarkan memisah. Adanya flavonoida dapat terkonfirmasi jika terjadi perubahan warna menjadi merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol (Ditjen POM, 2000).

Pemeriksaan Saponin

Sebanyak 0,5 gram serbuk daun, ekstrak etanol, dan fraksi daun, ditempatkan dalam tabung reaksi. Selanjutnya, ditambahkan 10 ml air panas, kemudian didinginkan, dan dikocok secara intensif selama 10 detik. Keberadaan saponin dapat dikonfirmasi jika terbentuk busa yang stabil dengan tinggi 1-10 cm, yang tidak berkurang dalam waktu tidak kurang dari 10 menit, dan tidak menghilang setelah penambahan 1 tetes asam klorida 2N (Ditjen POM, 2000).

Pemeriksaan Tanin

Sejumlah 1 gram serbuk daun, ekstrak etanol, dan fraksi daun ditimbang, kemudian dididihkan selama 3 menit dalam 100 ml air suling. Setelah didinginkan, campuran disaring. Sebanyak 2 ml larutan diambil dan ditambahkan 1-2 tetes pereaksi besi (III) klorida 1%. Jika terjadi perubahan warna menjadi biru kehitaman atau hijau kehitaman, hal ini menunjukkan keberadaan tannin (Nasution et al., 2023).

Pemeriksaan Steroid/Triterpenoid

Serbuk daun seberat 1 gram, ekstrak etanol, dan fraksi daun mengalami proses maserasi selama 2 jam dengan 20 ml n-heksan, kemudian disaring. Filtrat yang dihasilkan diuapkan dalam cawan penguap. Pada residu yang tersisa, ditambahkan beberapa tetes

pereaksi Liebermann-Burchard. Jika timbulnya warna biru atau biru hijau, itu menunjukkan keberadaan steroida, sementara warna merah, merah muda, atau ungu menandakan keberadaan triterpenoida (Winata, Faisal, et al., 2023).

Pemeriksaan Glikosida

Sejumlah 3 gram serbuk daun, ekstrak etanol, dan fraksi daun kemudian diekstraksi dengan 30 ml campuran yang terdiri dari 7 ml etanol 96% dan 3 bagian aquadest, ditambahkan dengan 10 ml HCl 2 N. Proses refluks dilakukan selama 30 menit, lalu didinginkan dan disaring. Sebanyak 20 ml filtrat diambil dan dicampur dengan 25 ml aquadest dan 25 ml timbal (II) asetat 0,4 M, kemudian dikocok dan dibiarkan selama 5 menit sebelum disaring. Filtrat tersebut kemudian diekstraksi dengan 20 ml campuran 3 bagian kloroform dan 2 bagian isopropanol, dan proses ini diulang sebanyak tiga kali. Kumpulan sari air diuapkan pada temperatur tidak lebih dari 50°C. Sisa campuran dilarutkan dalam 2 ml metanol. Selanjutnya, diambil 0,1 ml dari larutan eksperimen dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, yang kemudian diuapkan menggunakan penangas air. Sisa campuran ditambahkan dengan 2 ml air dan 5 tetes pereaksi Molisch. Secara perlahan, ditambahkan 2 ml asam sulfat pekat melalui dinding tabung, dan pembentukan cincin ungu pada batas kedua cairan menunjukkan adanya glikosida (Ditjen POM, 2000).

Pemeriksaan Fenol

Sejumlah 0,5 gram serbuk daun, ekstrak etanol, dan fraksi daun diukur dan kemudian diberi 3-4 tetes FeCl₃. Jika terjadi perubahan warna dari hitam kebiruan hingga hitam pekat, hal ini menunjukkan keberadaan kandungan fenol (Ditjen POM, 2000).

Pembuatan Larutan Induk Asam galat (1000 ppm)

Sebanyak 10 mg asam gallat ditimbang, lalu ditambahkan dengan etanol p.a pada labu takar 10 mL hingga tanda batas bawah (Puspitasari et al., 2019).

Pembuatan reagen Na₂CO₃ 7%

Natrium karbonat ditimbang 7gram dilarutkan dalam 100 mL aquadest pada labu

takar hingga tanda batas bawah (Puspitasari *et al.*, 2019).

Pembuatan Larutan Induk Ekstrak Etanol 70 %, Fraksi Etil Asetat, dan Fraksi n-Heksan Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner)

Ekstrak etanol 70%, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan seberat 10 mg ditempatkan ke dalam beaker glass masing-masing sebanyak 10 mL. Kemudian, larutkan dalam etanol p.a hingga larut sempurna, saring menggunakan kertas saring ke dalam labu takar 10 mL, dan tambahkan etanol p.a hingga mencapai tanda batas (Puspitasari *et al.*, 2019).

Pembuatan Seri Konsentrasi Asam Galat

Seri konsentrasi dibuat pada berbagai seri yaitu 15, 20, 25, 30, dan 35 ppm dalam 10 mL etanol p.a (Puspitasari *et al.*, 2019).

Penentuan Panjang Gelombang (λ) Maksimum Fenolik

Pengukuran panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-VIS dengan pembanding asam galat. Sebanyak 200 μ L dari seri konsentrasi 25 ppm ditambahkan 400 μ L Folin-Ciocalteu, didiamkan selama 8 menit, ditambahkan 4 mL Na₂CO₃ 7%. Absorbansi dibaca dengan spektrofotometer UV-Vis pada rentang 500-800 nm (Puspitasari *et al.*, 2019).

Pengukuran Operating Time (OT)

Operating time diukur dengan spektrofotometer UV-VIS dengan pembanding asam galat. Sebanyak 200 μ L dari seri konsentrasi 25 ppm ditambahkan 400 μ L Folin-Ciocalteu, didiamkan selama 8 menit, ditambahkan 4 mL Na₂CO₃. Absorbansi dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum 749 nm (Puspitasari *et al.*, 2019).

Penetapan Kurva Asam Galat

Sebanyak 200 μ L dari seri konsentrasi asam galat 15, 20, 25, 30, dan 35 ppm ditambahkan 400 μ L Folin-ciocalteu, didiamkan selama 8 menit, ditambahkan 4 mL Na₂CO₃ 7%. Absorbansi dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 743 nm dan pada operating time menit ke-24 (Puspitasari *et al.*, 2019).

Penentuan Kadar Fenolik Total

Sampel ekstrak etanol 70%, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan daun kopi dipipet 200 μ L ditambahkan 400 μ L Folin-ciocalteu, didiamkan selama 8 menit, ditambahkan 4 mL Na₂CO₃ 7%. Absorbansi dibaca menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum 749 nm dan operating time menit ke-24. Dilakukan pengenceran sampel ekstrak hingga terbaca pada absorbansi antara 0,200 – 0,600 (replikasi 6 kali) (Puspitasari *et al.*, 2019).

Analisis Data

Pengolahan data yang dihasilkan terlebih dahulu dilakukan dengan metode kurva standar, regresi linier $y = bx + a$ dibuat berdasarkan data absorbansi dan konsentrasi dari larutan standar (Puspitasari *et al.*, 2019).

HASIL DAN DISKUSI

Ekstrak kental yang diperoleh dari hasil maserasi sebanyak 52,417 gram dari 500 gram serbuk simplisia (Rendemen 10,483%) dengan ekstrak yang berbentuk cairan kental, berwarna coklat kehitaman dan memiliki bau yang khas. Dari 40 gram ekstrak etanol daun kopi robusta diperoleh fraksi n-heksan sebanyak 5,145 g (Rendemen 12,86%) dan fraksi etil asetat sebanyak 8,226 g (Rendemen 20,56%).

Hasil skrining fitokimia serbuk, ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan daun kopi robusta. Dapat dilihat pada tabel 1.

Pengukuran panjang gelombang maksimum dari larutan baku asam galat konsentrasi 25 mcg/ml diperoleh panjang gelombang maksimum 749 nm dengan absorbansi 0,486 Abs. Menurut Ganjar dan Rohman (2007) warna komplementer untuk pengujian fenolik yaitu berwarna hijau kebiruan dengan rentang panjang gelombang yaitu 610-750 nm.

Dari hasil pengukuran *operating time*, larutan baku stabil pada menit ke 24-26. Operating Time bertujuan untuk mengetahui waktu paling stabil dari pengukuran suatu senyawa yang diperoleh saat absorbansi. Penetapan operating time perlu dilakukan untuk meminimalisir terjadinya kesalahan pada saat pengukuran (Suharyanto & Prima, 2020).

Penentuan kurva kalibrasi dengan berbagai seri konsentrasi dari larutan baku asam galat yaitu 15 mcg/ml, 20 mcg/ml, 25 mcg/ml, 30

mcg/ml dan 35 mcg/ml yang telah direaksikan dengan reagen *Folin-Ciocalteu*. Masing-masing seri konsentrasi diukur pada panjang gelombang

749 nm sehingga diperoleh kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi asam galat (mcg/ml) dengan absorbansi 0,2 – 0,8.

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia serbuk, ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan daun kopi robusta

No	Golongan Senyawa	Serbuk	Ekstrak Etanol	Fraksi Etil Asetat	Fraksi n-Heksan
1	Alkaloid	+	+	+	+
	+ Mayer	-	-	-	+
	+ Dragendrof	+	+	+	+
	+ Bouchardat	+	+	+	-
2	Flavonoid	+	+	+	+
3	Saponin	+	+	+	+
4	Tanin	+	+	+	-
5	Steroid/Tritepernoid	+ Steroid	+ Steroid	+ Steroid	+ Steroid
6	Polifenol	+	+	+	+
7	Glikosida	+	+	+	-

Keterangan:

- : Tidak mengandung metabolit sekunder
- + : Mengandung metabolit sekunder

Tabel 2. Nilai Absorbansi Larutan Baku Asam Galat.

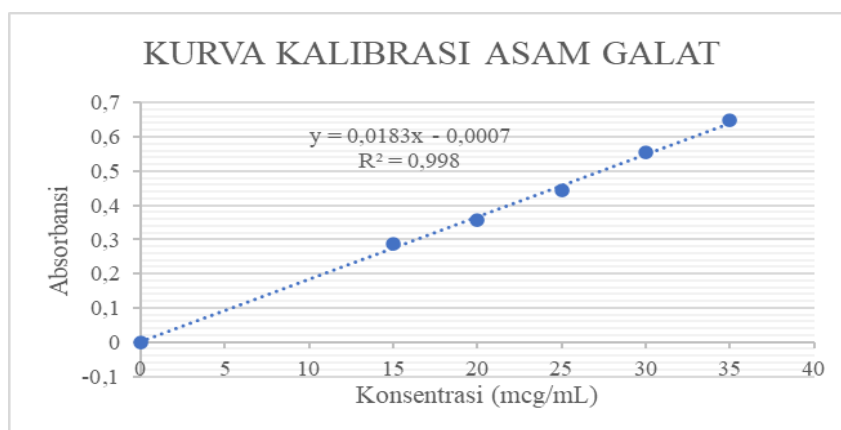
Konsentrasi	Absorbansi	Persamaan Regresi
0	0	
15	0,286	$y = 0,0183x - 0,000$
20	0,357	
25	0,442	
30	0,555	
35	0,647	

Tabel diatas menunjukkan nilai absorbansi larutan baku asam galat dari berbagai

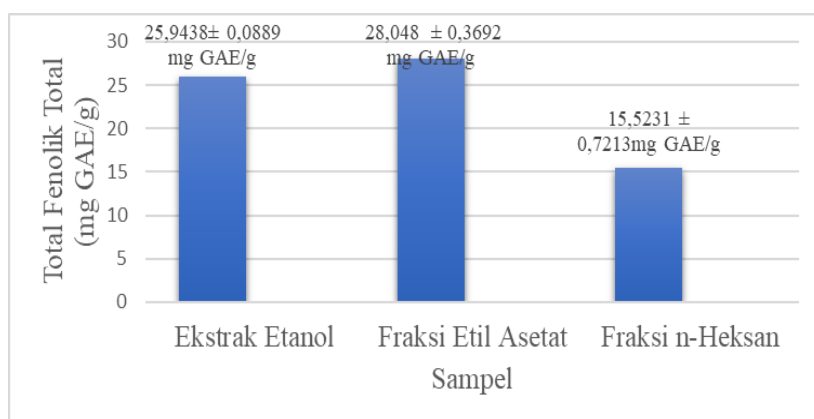
konsentrasi. Dari data diatas diperoleh kurva kalibrasi seperti ditunjukkan pada gambar berikut:

Gambar 1 menunjukkan persamaan regresi yang diperoleh dari larutan larutan baku asam galat yaitu $y = 0,0183x - 0,0007$ dengan koefisien korelasi sebesar 0,9989. Nilai linieritas menunjukkan korelasi antara konsentrasi dan hasil absorbansinya.

Dari hasil penelitian ini diperoleh kadar rata-rata fenolik total berturut-turut dari ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan daun kopi robusta adalah $25,9438 \pm 0,0889$ mg GAE/g, $28,048 \pm 0,3692$ mg GAE/g dan $15,5231 \pm 0,7213$ mg GAE/g.



Gambar 1. Kurva Kalibrasi Asam Galat



Gambar 2. Diagram Hasil Penetapan Kadar Fenolik Total

Berdasarkan diagram diatas, hasil kadar sebenarnya dari ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan daun kopi robusta. Kadar rata-rata fenolik dari fraksi etil asetat lebih tinggi dibandingkan dengan fraksi n-heksan dikarenakan fraksi etil asetat memiliki kemampuan yang baik dalam mereduksi reagen Folin-Ciocalteu daripada fraksi lainnya (Rondonuwu et al., 2017). Metode fraksinasi dapat meningkatkan kandungan senyawa yang dikehendaki dengan menghilangkan atau memisahkan senyawa yang tidak dikehendaki, sehingga diperoleh fraksi yang lebih murni. (Kumalasari et al., 2021).

KESIMPULAN

Kadar fenolik total yang diperoleh dari sampel daun kopi robusta dari yang lebih tinggi hingga yang paling rendah yaitu fraksi etil asetat robusta sebesar 28,048 ± 0,3692 mg GAE/g, ekstrak etanol 25,9438 ± 0,0889 mg GAE/g dan fraksi n-heksan adalah dan 15,5231 ± 0,7213 mg GAE/g. Kadar fenolik total dari hasil fraksi etil asetat daun kopi robusta lebih tinggi dibandingkan hasil fraksi menggunakan n-heksan. Dikarenakan fraksi etil asetat yang bersifat semi polar cenderung menarik senyawa metabolit sekunder yang lebih spesifik dan murni.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Fakultas Farmasi Universitas Al-Washliyah Medan yang telah memfasilitasi penelitian ini.

REFERENSI

- Andry, M., Shufyani, F., Nasution, M. A., Tambunan, I. J., Fathurrohman, M. F., & Rezaldi, F. (2023). *Skринing fitokimia dan analisis kadar kafein pada kopi bubuk jenis arabika di kota Takengon menggunakan spektrofotometri ultraviolet*. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 6(1), 998–1006.
- Aswar, A., Malik, A., Hamidu, L., & Najib, A. (2021). *Determination of Total Phenolic Content of The Stem Bark Extract of Nyirih (Xylocarpus granatum J. Koeing) Using UV - Vis Spectrophotometry Method*. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 8(3), 12–17. <https://doi.org/10.33096/jffi.v8i3.728>
- Ditjen POM. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan Direktorat Pengawasan Obat Tradisional.
- Faisal, H., Sastra, H., Andry, M., Sari, M., Chan, A., & Nasution, M. A. (2023). *Formulasi sediaan pasta gigi ekstrak etanol buah takokak (Solanum torvum Sw.) dan tulang ikan tuna sirip kuning (Thunnus albacares) terhadap bakteri Streptococcus viridans dan bakteri Escherichia coli*. *Jurnal Economic and Strategy (JES)*, 1(1), 1–10.
- Gandjar, I. G., dan Rohman, A. (2015). *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Kartika. (2017). *Isolasi Senyawa Flavonoid yang Berpotensi Memiliki Aktivitas Antioksidan dari Daun Kopi Robusta (Coffea*

- Canephora Pierre Ex. Ex A.Froehner*). *Prosiding Farmasi*, 5(1).
- Kumalasari, E., Mudjib Nararia, N., & Musiam, S. (2021). *Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol 70% Dan Fraksi Etil Asetat Daun Bawang Dayak (Eleutherine palmifolia (L.) Merr) dengan metode spektrofotometri uv-vis*. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 4(1), 74–84. <https://doi.org/10.36387/jifi.v4i1.665>
- Nasution, M. A., Sari, M., Andry, M., Syahputri, H., & Novranda, N. (2023). *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dan Salmonella typhi Antibacterial Activity Of Ethanol Extract Dragon Scales Leaf Bacteria Against Staphylococcus aureus and Salmonella typhi*. *Jurnal Dunia Farmasi*, 7(2), 125–136.
- Puspitasari, A. D., Anwar, F. F., & Faizah, N. G. A. (2019). *Aktivitas antioksidan, penetapan kadar fenolik total dan flavonoid total ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksan daun petai (Parkia speciosa Hassk.)*. *Jurnal Ilmiah Teknosains*, 5(1).
- Rondonuwu, S. D. J., Suryanto, E., & Sudewi, S. (2017). *Kandungan Total Fenolik dan Aktivitas Antioksidan dari Fraksi Pelarut Sagu Baruk (Arenga microcharpa)*. *Chemistry Progress*, 10(1), 2–5.
- Sarker, S. D., Latif, Z., & Gray, A. I. (2006). *Natural product isolation*. Editor. *Natural Product Isolation*. 2nd ed. Totowa (New Jersey). Humana Press Inc.
- Septiana, L., Tarigan, R. E., Andry, M., Irawan, V. A., & Nasution, M. A. (2023). *Uji efektivitas ekstrak etanol daun senggani (Melastoma malabathricum L.) sebagai antihipertensi pada mencit putih jantan (Mus musculus)*. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 6(1), 1339–1345.
- Suharyanto, & Prima, D. A. N. (2020). *Penetapan Kadar Flavonoid Total pada Daun Ubi Jalar Ungu (Ipomoea batatas L.) yang Berpotensi Sebagai Hepatoprotektor dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis*. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 4(2), 110–119.
- Winata, H. S., Faisal, H., Andry, M., Aulia, N., Nasution, A. M., & Tambunan, I. J. (2023). *Penetapan kadar flavonoid total ekstrak etanol buah asam kandis (Garcinia xanthochymus) dengan metode spektrofotometri Uv-Vis dan LCMS*. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 6(2), 935–950.
- Winata, H. S., Muhammad, A., Nasution, M. A., Rezaldi, F., & Sembiring, A. S. F. B. (2023). *Anti-Inflammatory Activity of Stem Barks Ethanol Extracts of Garcinia xanthochymus On Male White Rats*. *Journal of agromedicine and medical sciences (AMS)* ISSN : 2460-9048 (Print), ISSN : 2714-5654 (Electronic) Available Online at <Http://Jurnal.Unej.Ac.Id/Index.Php/JAMS>, 7(3), 156–161.