

Uji Antioksidan Isolat Fungi Endofit Biji Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.)

Rizki Rahmawati¹, Rusman²

¹Program Studi Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Islam Makassar, Makassar, Indonesia

Corresponding Author
rizkirahmawati946@gmail.com

ABSTRAK

Kopi arabika mengandung senyawa polifenol aktif antioksidan. Tujuan Penelitian dilakukan untuk memastikan aktivitas antioksidan isolat fungi endofit biji kopi arabika dengan metode ABTS. Tahap yang dilakukan meliputi isolasi yang ditanam pada media Potato dextrosa agar, fermentasi isolat pada media Potato dextrosa bouth, uji antioksidan dengan metode ABTS. Hasil pengujian antioksidan menunjukkan bahwa isolat KA-03 memiliki nilai IC₅₀ sebesar 24,878 µg/mL sedangkan isolat KA-04 memiliki nilai IC₅₀ sebesar 22,539. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat KA-03 dan KA-04 memiliki aktifitas antioksidan yang sangat kuat.

Kata Kunci: ABTS; Antioksidan, Biji Kopi Arabika, Fungi Endofit

ABSTRACT

Arabica coffee contains polyphenol compounds which They possess a potent antioxidant activity. Purpose the research the aim was to determine the antioxidant activity Arabica coffee bean endophytic fungal isolates using the ABTS method. The stages carried out included isolation grown on Potato dextrose agar media, fermentation of isolates on Potato dextrose agar media, antioxidant testing using the ABTS method. The results of antioxidant testing showed that the KA-03 isolate had an IC₅₀ value of 24.878 µg/mL while the KA-04 isolate had an IC₅₀ value of 22.539. Based on the research results, it shows that isolates KA-03 and KA-04 have very strong antioxidant activity.

Keywords: ABTS; Antioxidants, Arabica Coffee Beans, Fungal Endophytes

PENDAHULUAN

Penyakit diabetes melitus di Indonesia memiliki data pada tahun 2021, diperkirakan memiliki tingkat populasi diabetes dewasa yang berusia antara 20-79 tahun adalah sebanyak 19.465.100 orang. Sementara itu, total populasi dewasa berusia 20-79 tahun adalah 179.720.500, sehingga bila dihitung dari kedua angka ini maka diketahui prevalensi diabetes pada usia antara 20-79 tahun adalah 10,6%. Dalam hal ini penyakit diabetes melitus di Indonesia diperkirakan akan terus meningkat dari tahun ketahun 2021 (Rusman, 2022; World Health Organization, 2020)

Perawatan ulkus diabetik susah dilakukan dan membutuhkan biaya yang besar berkisar 1,3 juta sampai dengan 1,6 juta rupiah tiap bulannya (Anwari, 2021). Bakteri yang banyak menginfeksi ulkus diabetikum yaitu dari gram positif adalah *Staphylococcus aureus* dan dari gram negatif yakni *Pseudomonas aeruginosa* (Hasanuddin, Jasmiadi, & Abdillah, 2021; Tiana, Nur, Rusman, & Zam, 2023) Kondisi ulkus diabetik ini memerlukan penanganan medis segera, ulkus sendiri dapat menimbulkan komplikasi pada penderita penyakit tersebut seperti pembusukan jaringan yang mengharuskan melakukan tindakan amputasi (Armstrong, Boulton, & Bus, 2017). Dan perlu dibuatkan alternatif terkait pengobatan serta perawatan penyakit tersebut.

Banyak penelitian yang telah melaporkan bahwa tumbuhan kopi memiliki khasiat sebagai antibakteri, diantaranya kopi robusta (*Coffea canephora* L.) yang masih muda atau berwarna hijau. Biji kopi robusta dengan kandungan asam klorogenat yang tinggi dapat digunakan dalam pengobatan luka diabetik karena mampu menghambat pertumbuhan koloni *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi daya hambat 100% (Yaqin & Nurmilawati, 2015). Bioaktivitas antibakteri dari ekstrak biji kopi robusta kemudian diformulasikan dalam bentuk sabun sebagai alat untuk perawatan ulkus luka diabetik, namun masalah sekarang terkait sabun yang volume besar, boros dan mudah terkontaminasi dengan bakteri yang lain apabila tersentuh dengan barang lain, sehingga perlu dibuat lebih praktis sekali pakai, namun efisien ketika dibawah (Hatari & Rusman, 2023). Berdasarkan analisis yang telah disajikan, penulis mengambil inisiatif untuk melakukan penelitian terkait formulasi sabun transparan berbasis ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora* L.) sebagai metode terapi ulkus diabetik yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* (Alim, Hasanuddin, Haqq, & Linda, 2023; Hasanuddin, Alim, & Rahma, 2023; Rusman, Syamsu & Gaffar, n.d.).

METODE PELAKSANAAN

Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus - September di Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia dan pada bulan Oktober di Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Makassar.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan yaitu autoklaf, cawan petri, gelas Erlenmeyer, labu tentukur, gelas kimia, gelas ukur, inkubator, corong pisah Jarum ose, kaca objek, pipa L-glass, deg glas, jangka sorong, Low air flo, Lampu spiritus, lemari pendingin, Mikroskop digital, vial, timbangan analitik, oven, pipet tetes, pinset, rotary shaker, Sentrifuge, dan spektrofotometri UV-Vis. Bahan yang digunakan Aquadest (H_2O), Aluminium foil, aquadest, asam askorbat, Etanol 70%, (C_2H_5OH), Biji kopi arabika (*Coffea arabica* L), kloramfenikol, kalium persulfat ($K_2S_2O_8$), Nutrien agar (Himedia) potato dektrosa broth (Himedia), potato dektrosa agar (Himedia), Natrium hipoklorit ($NaOCl$) dan 2,2-azinobis (3-etil benzenzotiazolin)-6-asam sulfonat (ABTS).

Cara Kerja

1. Sterilisasi Alat

Alat-alat yang digunakan dicuci dengan bersih dengan air suling, Kemudian alat-alat

gelas, gelas ukur dikeringkan dan di bungkus kertas disterilisasi dengan oven untuk alat-alat gelas, gelas ukur dikeringkan dan dibungkus kertas disterilisasi dengan oven untuk alat-alat yang tahan dengan pada suhu 121°C selama 15 menit. Oose disterilkan dengan panas spiritus. Kemudian alat-alat dikeluarkan menggunakan pinset.

2. Pengambilan Sampel

Sampel penelitian berupa biji kopi arabika (*Coffea arabica* L.) yang diambil daerah kabupaten Tanah Toraja, Sulawesi Selatan. Sampel yang adalah buah kopi yang telah merah dan bagian yang digunakan adalah biji kopi.

3. Pengolahan Sampel

Bagian tanaman kopi yang digunakan adalah biji, dalam kondisi segar Sampel di cuci dengan Setelah sampel direndam dalam air mengalir selama 10 menit, sampel direndam dalam alkohol 70% selama satu menit dicuci kembali dengan aquadest steril selama Setelah 5 menit, tunggu selama 30 detik hingga alkohol ditambahkan, lalu bilas dengan air steril dan ulangi

4. Pembuatan Media

a. Media Potato Dextrosa Agar

Medium yang digunakan *Potato Dextrosa Agar*. Medium *Potato Dextrosa Agar* dibuat dengan cara ditimbang sebanyak 3,9 g *Potato Dextrosa Agar* kemudian dilarutkan dalam 100 mL aquadest dan dipanaska menggunakan Bunsen sampai mendidih dan kelihatan bening, diaduk secara perlahan Kemudian digunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit telah mendidih ditunggu hingga keadaan hangat. Medium *Potato Dextrosa Agar* ditambahkan kloramfenikol 0,2 g/L sebagai antibakteri untuk mencegah kontaminasi bakteri dan tumbuhnya bakteri endofit selanjutnya medium dituang dalam cawan petri sebanyak 20 m

b. Medium Potato Dextrosa Bouth

Pembuatan medium *Potato Dextrosa Bouth* dibuat dengan cara menimbang *Potato Dextrosa Bouth* sebanyak 4,8 g dan dilarutkan dalam 200 mL aquadest steril dalam Erlenmeyer lalu panaskan hingga mendidih dan larut. Kemudian autoklaf selama 15 menit pada suhu ruang 121°C.

5. Isolasi Fungi Endofit

Sampel biji kopi arabika (*Coffea arabica* L.) selama 30 detik setelah itu direndam dengan natrium hipoklorit selama 3-5 menit selanjutnya dicuci dengan aquades steril sebanyak 3 kali selama 1 menit Kemudian secara aseptik dipotong kecil-kecil sekitar $\pm 1-2$ cm. Nanti ditanam menggunakan metode tanam langsung dicawan petri berisi media PDAC (*Potato Dextrosa Agar Choloramphenikol*) menggunakan pinset steril lalu di inkubasi

pada suhu 27°C selama 5-7 hari. Selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap koloni fungi yang ditandai dengan adanya fungi yang tumbuh disekitar sampel yang telah ditanam, setelah itu dilakukan pemindahan kedalam cawan petri baru yang berisi medium PDA. Pemindahan fungi menggunakan jarum ose secara aseptis. Hal ini dilakukan secara tiga kali berulang hingga didapat biakan murni. Biakan fungi yang di dapat dari isolat kemudian digoreskan ke dalam media PDA miring sebagai stok. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 27°C selanjutnya fungi siap diujikan (Hasanuddin, Alim, and Rahma 2023).

6. Identifikasi secara Makroskopik Mikroskopik

koloni, bentuk tepi, warna, dan bentuk permukaan. Sedangkan permukaan mikroskopik dilakukan dengan metode mikroskopik langsung pada objek glass yang telah dibersihkan dan disterilkan dengan etanol 70% kemudian diambil sampel sebanyak 1 ose yang telah dimurnikan kemudian ditetesi *methylan blue* 1-2 tetes kemudian dicuci dengan air mengalir selanjutnya ditetesi dengan *mergency oil* lalu diamati menggunakan mikroskop.

7. Fermentasi isolat Fungi Endofit

Koloni biakan murni diambil menggunakan ose secara aseptis, dimasukkan kedalam medium *Potato Dextrosa Broth* dalam Erlenmeyer 100 mL lalu diinkubasi pada suhu 28°C selama 14 hari, kemudian dikocok menggunakan inkubator shaker selama 1x24 jam pada kecepatan 200 rpm. Setelah itu, setiap bahan disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3800 rpm pada suhu 4°C sehingga menjadi 2 fase filtrat dan biomassa (supernatan) (Hasanuddin, Alim, and Fauzan n.d.).

8. Ekstraksi Hasil Fermentasi Isolat Fungi Endofit

Hasil fermentasi dipisahkan menjadi filtrat dan biomassa, yang dipisahkan dengan menambahkan etil asetat ke dalam cairan Filtrat ditambahkan 100 mL (v/v) etil asetat kemudian dikocok dalam corong pisah, diamkan hingga terbentuk dua fase. Fase atas (lapisan organik) yang merupakan ekstrak etil asetat dan fase bawah merupakan fraksi air, lalu fraksi ini dipisahkan. Pada fraksi air Setelah menambahkan etil asetat, ia menggunakan corong berkilasi dan didiamkan selama tiga kali sebelum mengambil dalam dua fase. Fraksi etil asetat yang diperoleh digabungkan dan dikeringkan dengan rotary evaporator pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kering. Biomassa yang telah disaring dicampur dengan 100 mL (v/v) etanol kemudian diblender ke dalam mortar hingga homogen sebelum diaduk dan dikocok selama 24 jam. Kemudian disaring hingga diperoleh filtratnya dan ditambahkan metanol baru ke dalam biomassa (sedimen)

(perendaman dilakukan 3 kali). Hasil ekstraksi yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak pekat untuk pengujian antioksidan.

9. Uji Aktivitas Antioksidan

a. Pembuatan larutan air ABTS

- 1) Larutan a : 96 mg ABTS ditimbang kemudian dilarutkan dalam 5 ml air suling. Diinkubasi selama 12 jam.
- 2) Larutan b : Ditimbang 13,5 mg K₂S₂O₈ lalu dilarutkan dalam 5 mL air suling. Diinkubasi selama 12 jam.
- 3) Larutan a dan larutan b dicampur dalam ruangan gelap, dengan volume diatur dari p sampai 25 ml. a etanol

b. Pembuatan larutan stok asam askorbat 1000 ppm

Asam askorbat 10 mg ditimbang dan dilarutkan per, kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 10 ml dan diisi dengan etanol sampai tanda batas.

10. Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan metode ABTS

a. Pengukuran serapan larutan ABTS blanko

Pipet 1 ml larutan ABTS dan isi labu ukur hingga 10 ml dengan etanol absolut. Larutan ini kemudian diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada 750 nm.

b. Pengukuran Aktivitas Penangkal Radikal Bebas ABTS dengan Larutan Stok Sampel

Sampel ekstrak hasil fermentasi 1000 ppm dipipet dengan 0,05 mL, 0,1 mL, 0,15 mL, 0,2 mL, dan 0,25 mL ke dalam 1 mL ABTS sehingga diperoleh 10 ppm, 230 ppm, , larutan 40 ppm dan 50 ppm dengan metanol absolut. Kemudian dihomogenisasi dan kemudian diukur serapannya dengan spektrofotometri UV-vis pada 750 nm

c. Pengukuran aktivitas penangkapan radikal bebas ABTS dengan vitamin C murni.

Percobaan dilakukan dengan memipet 0,15 ml, 0,20 ml, 0,25 ml, 0,30 ml dan 0,35 ml larutan asam askorbat 1000 ppm kemudian ditambahkan 1 ml larutan ABTS. volumenya kemudian dibuat hingga 5 mL dengan etanol absolut sehingga diperoleh larutan 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm, 6 ppm, dan 7 ppm. Kemudian dihomogenisasi dan kemudian diukur serapannya dengan spektrofotometri UV-Vis pada 750 nm.

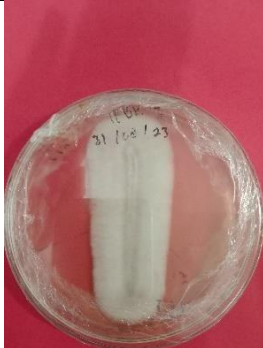

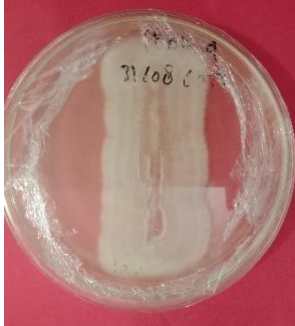

(Absorbansi blanko – Absorbansi sampel)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 2. Penilaian isolat jamur mikroskopis Endofi

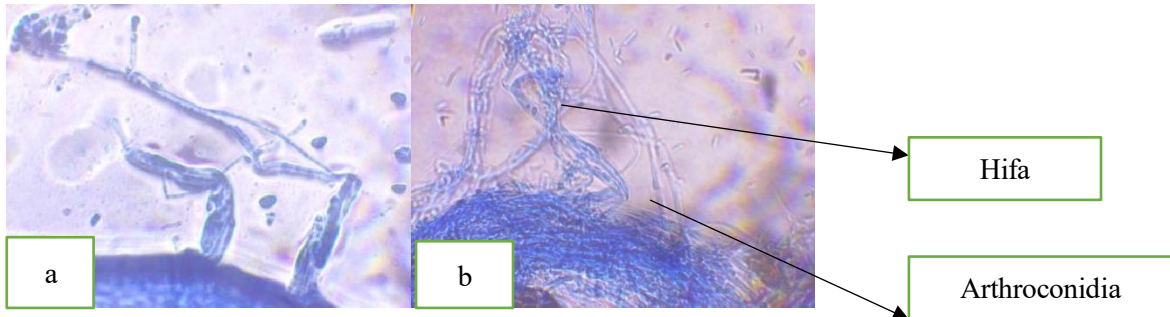
Isolat	Karakteristik Makroskopik			
	Wana Permukaan koloni	Pigmentasi koloni	Tekstur Koloni	Bentuk Coloni
KA 03	Putih pucat	Putih kekuningan	Halus seperti kapas	Bulat
KA 04	Putih	Kekuningan	Halus seperti kapas	Bulat tidak beraturan

Tabel 3. Hasil Pengamatan Isolat Fungi Endofit

Kode Isolat	Tampak Depan	Tampak Belakang
KA 3		
KA 4		

Isolat KA-03 kemudian dipilih untuk dilakukan pengujian mikroskopik karena isolat KA-03 lebih aktif dan pertumbuhannya lebih cepat. Tujuan pengujian mikroskopik yaitu untuk mengetahui struktur anatomi dan jenis fungi yang ada pada isolat. Pengamatan mikroskopik dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran lensa

100x dan 400x.



Gambar 3. Hasil pengamatan mikroskopik

- Keterangan :
- a. Perbesaran 100x
 - b. Perbesaran 400x
 - c. Identifikasi jamur *Geotrichum*

Berdasarkan hasil pengujian mikroskopik pada isolat KA-03 memiliki kemiripan seperti *Geotrichum*. Ciri-ciri dari genus *Geotrichum*. secara mikroskopik Tidak terdapat konidiofor, tetapi hipotalamus yang memanjang secara bertahap menebal dan bercabang, sedangkan koloni berwarna putih dengan hifa dikotomis yang bercabang dan tumbuh secara vertikal (Samson dan van Reenen-Hoekstra 1988).

Tabel 7. Hasil Rata-Rata Nilai IC₅₀ Ekstrak Isolat KA-03 Biji Kopi Arabica (*Coffea arabica* L.)

Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata-rata ± SD(µg/mL)
22,465	22,462	22,690	24,878 ± 0,046

Tabel 11. Hasil Rata-Rata Nilai IC₅₀ Ekstrak Isolat KA-04 Biji Kopi Arabica (*Coffea arabica* L.)

Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata-rata ± SD (µg/mL)
22,465	22,462	22,690	22,539 ± 0,130

Tabel 15. Hasil rata-rata Nilai IC₅₀ Asam Askorbat

Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata-rata ± SD (µg/mL)
1,936	1,938	1,942	1,938 ± 0,003

Sampel kopi arabika (*Coffea arabica* L.) digunakan dalam penelitian ini Biji kopi

arabika diambil dari perkebunan kopi di daerah Kabupaten Tanah Toraja, Sulawesi Selatan. Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan dengan metode ABTS dari fungi endofit biji kopi arabika (*Coffea arabica* L.)

Fungi endofit berhasil diisolasi dari biji kopi arabika (*Coffea arabica* L.). Fungi yang tumbuh diyakini Jamur endofit merupakan jamur yang pertama kali disterilkan dari dalam tanah. Sterilisasi permukaan cenderung menghilangkan mikroorganisme pada permukaan sampel dengan etanol 70%, natrium hipoklorit. 5,25 % dan air steril. Dalam proses sterilisasi digunakan etanol 70% karena air diperlukan untuk denaturasi protein mikroba dan persentase ini dianggap yang terbaik. Kemampuan etanol dalam mensterilkan permukaan organ tanaman berspektrum sempit sehingga harus dikombinasikan dengan bahan lain dan sering dikombinasikan dengan larutan natrium hipoklorit. Natrium hipoklorit 5,25 % mampu merusak membran dan protein mikroba dengan melepaskan radikal klor, sedangkan Air steril menghilangkan sisa larutan dari sampel (Strobel dan Bryn, 2003).

Hasil isolasi fungi endofit yang tumbuh pada hari ke 7 diperoleh 2 isolat fungi endofit yaitu isolat yang diberi kode KA 3 dan KA 4. yang secara makroskopis Isolat KA 3 memiliki warna koloni putih pucat dengan pigmen berwarna kuning, bentuk koloni bulat, tipe permukaan koloni halus dan tidak memiliki lingkaran konsentris. KA 4 memiliki bentuk koloni bulat tidak beraturan, tipe permukaan koloni seperti kapas tebal, warna kuning 2pada hifa dan tidak memiliki lingkaran konsentris. koloni halus seperti kapas tebal, dan tidak memiliki lingkaran konsentris. Berbeda dengan isolat yang diperoleh dari sampel yang tidak disterilisasi permukaan yang memiliki permukaan koloni berwarna hitam dan bagian pinggir berwarna putih yang diduga fungi epifit, serta kontrol ruangan, kontrol medium, Tidak ada jejak kontaminan yang ditemukan pada sampel kontrol bilas akhir(Gambar)

Hasil isolasi dari biji kopi robusta (*Coffea arabica* L.) selanjutnya dilakukan pemurnian. Pemurnian bertujuan untuk mendapatkan isolat tunggal dan murni. Tujuan penambahan kloramfenikol pada medium PDA saat proses isolasi Tujuannya agar yang tumbuh merupakan isolat jamur endofit, bukan bakteri endofit. Kloramfenikol adalah antibiotik spektrum luas yang membunuh bakteri gram positif dan gram negatif (Kemenkes, 2011).

Isolat aktif KA 3 yang telah diuji antagonis selanjutnya dilakukan proses fermentasi. Tujuan dilakukan fermentasi untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder. Fermentasi biomassa dan senyawa bioaktif lebih berhasil pada media cair dibandingkan media padat Medium yang digunakan untuk fermentasi fungi endofit yaitu

medium PDY (*Potato Dextrose Bouth + Yeast*) yang terbuat dari medium PDB (*Potato Dextrose Broth*) dan *Extract Yeast*. Medium PDB Mengandung sumber karbon dari ekstrak kentang dan dekstrosa, serta ekstrak ragi yang memasok nitrogen penting untuk fermentasi oleh jamur Penggojokan pada proses fermentasi bertujuan untuk menghomogenkan medium fermentasi dengan isolat fungi endofit sehingga mempercepat pertumbuhan produksi metabolit sekunder dari isolat. Sistem fermentasi ini menggunakan sistem tertutup yaitu selama fermentasi berlangsung tidak ada penambahan bahan atau pengambilan hasil karena semua nutrisi yang diperlukan mikroorganisme dalam proses pertumbuhan dan pembentukan metabolit sekunder ada dalam satu fermentor. Proses fermentasi isolat jamur menyebabkan media fermentasi berubah warna dari kuning menjadi jingga yang merupakan tanda terbentuknya metabolit sekunder (Gandjar, 2006).



Gambar 13. Hasil Fermentasi KA-03 dan KA-04

Proses fermentasi dilakukan sampai hari ke-14 karena pada hari ke-14 fungi endofit berada dalam fase diam. Fase diam adalah fase dimana jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati. Ketika mikroorganisme menghabiskan cadangan nutrisinya dalam media pertumbuhan, mereka menciptakan metabolit sekunder melalui pelepasan penginduksi enzim dan gen yang diperlukan untuk sintesis lebih lanjut (Purwaningsi dan Wulandari, 2021). Tujuan pemilihan metode ekstraksi cair-cair karena media fermentasi yang digunakan Senyawa kimia yang dipotong ada dalam larutan, menjadikan zat tersebut cair. Proses ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut Etil asetat karena Etil asetat memiliki sifat semipolar yang diharapkan mampu menarik senyawa Metabolit sekunder polar dan non-polar.

Ekstrak yang diperoleh diuji aktivitas antioksidan dengan metode ABTS. Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak fungi endofit biji kopi arabica (*Coffea arabica* L.)

dilakukan Pengukuran panjang gelombang 750 nm dan UV Vis melalui metode ABTS. Selanjutnya dilakukan penentuan Panjang gelombang maksimum dipilih untuk memaksimalkan sensitivitas dan meminimalkan kesalahan dengan memastikan bahwa penyerapan per satuan konsentrasi berubah paling efektif. Radikal bebas ABTS memiliki konsentrasi biru kehijauan dan memberikan penyerapan maksimum pada 750 nm. serapan yang terukur pada panjang gelombang yang memberikan serapan tertinggi yaitu 750 nm yang ditetapkan sebagai panjang gelombang maksimum. Metode ABTS dipilih karena metode sederhana, sensitivitasnya lebih tinggi serta hanya memerlukan sedikit sampel, Memiliki serapan spesifik pada panjang gelombang tampak, memiliki waktu respons yang dipercepat dan dapat bereaksi dengan pelarut organik atau air untuk mendeteksi senyawa lipofilik dan hidrofilik.

Hasil uji aktivitas Ekstrak antioksidan jamur endofit isolat KA-03 dan isolat KA-04 dari kopi arabika (*Coffea arabica* L.) dengan metode ABTS memberikan nilai IC₅₀ sebesar $24,878 \pm 0,049$ µg/ml untuk isolat KR-03 dan IC₅₀. nilai yang diperoleh pada isolat KR-04 sebesar $22,539 \pm 0,130$ µg/ml, sedangkan nilai IC₅₀ pada kontrol asam askorbat sebesar $1,938 \pm 0,003$ µg/ml. Studi aktivitas antioksidan yang dilakukan oleh Rissa dkk (2020) ekstrak langsung dari biji kopi arabika diperoleh Nilai IC₅₀ sebesar 69,95 µg/ml. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan metode ekstraksi yang berbeda dapat mempengaruhi nilai IC₅₀ suatu sampel. Jun M (2006) menyatakan aktivitas antioksidan meningkat seiring dengan penurunan IC₅₀, jika nilai IC₅₀ < 50 ppm maka sifat antioksidannya kuat.

KESIMPULAN

Penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak telah diuji isolat KR-03 biji kopi arabika memperoleh nilai IC₅₀ sebesar $24,878 \pm 0,049$ µg/mL dan pada ekstrak isolat KR-04 biji kopi robusta memiliki aktivitas antioksidan sebesar $22,539 \pm 0,130$ µg/mL.

DAFTAR PUSTAKA

- Alim, N., Hasanuddin, R., Haqq, A. I., & Linda, N. (2023). Aktivitas Antipiretik Ekstrak Etanol Daging Buah Beligo (*Benincasa hispida* (Thunb.) Cogn.) pada Tikus Putih Wistar (*Rattus norvegicus*) Antipyretic Activity of Ethanol Extract from Beligo (*Benincasa hispida* (Thunb.) Cogn.) Fruit Flesh in Wistar A. *Jurnal Ilmiah Sains*, 23(2), 89–98.
- Anwari, R. H. (2021). Asam klorogenat bekerja dengan cara menghambat translokasi glukosa-6 fosfat (Kobayashi et al., 2017). *Jurnal Penelitian Perawat Profesional*, 3(3),

- Armstrong, D. G., Boulton, A. J. M., & Bus, S. A. (2017). Diabetic Foot Ulcers and Their Recurrence. *New England Journal of Medicine*, 376(24), 2367–2375. <https://doi.org/10.1056/nejmra1615439>
- Hasanuddin, R., Alim, N., & Rahma, N. R. (2023). *Characterization of Endophytic Fungi in Robusta Coffee (Coffea canephora L .) Beans Through 18S rRNA Gene Sequencing and Evaluation of Antioxidant Activity and Chlorogenic Acid Content*. 9(11), 9964–9972. <https://doi.org/10.29303/jppipa.v9i11.5106>
- Hasanuddin, R., Jasmiadi, J., & Abdillah, N. (2021). The Analysis of the Chlorogenic Acid in the Ethanol Fraction of Robusta Coffee Beans and Its Effect on Glucose Levels in Wistar Rats. *Disease Prevention and Public Health Journal*, 15(2), 118. <https://doi.org/10.12928/dpphj.v15i2.4705>
- Hatari, A., & Rusman. (2023). An Antibacterial Activity Test of Ethanol Extract of Putri Malu (*Mimosa pudica L.*) Leaves Against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* Bacteria. *Jurnal Novem Medika Farmasi*, 2(2), 67–74. <https://doi.org/10.59638/junomefar.v2i2.797>
- Rusman, Syamsu, A. S. I., & Gaffar, S. W. (n.d.). *The Acute Toxicity Test on Ethanol Extract Of Camandrah Klika (Croton Tiglium L .) Against Artemia Salina Leach Larvae With The Brine Shrimp Lethality Test Method Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Klika Kamandrah (Croton Tiglium L .) Terhadap larva art*. 1(3), 85–90.
- Rusman, A. I. (2022). Volume 4 Nomor 2 Pengaruh Pemberian Hard Candy dari Infusa Kopi Hijau Robusta (*Coffea canefora L.*) Pada Pasien Diabetes Mellitus. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 4(October 2020). Retrieved from <http://ejurnal.ung.ac.id/index.php/jsscr,E-DOI:https://doi.org/10.37311/jsscr.v4i2.14183>
- Tiana, D. R., Nur, Rusman, A., & Zam, Z. (2023). *Activity Test Of Ethanol Extract Of Java Wood Leaf (Lannea coromandalica (Houtt .) Merr) from Bone District On Streptozotocin Induced Diabetic Rats*. 2(01), 1–9.
- World Health Organization. (2020). Diagnosis and management of type 2 diabetes. *Atencion Primaria*, 42(SUPPL. 1), 2–8. Retrieved from <https://www.who.int/publications/i/item/who-ucn-ncd-20.1>
- Yaqin, M., & Nurmilawati, M. (2015). Pengaruh Ekstrak Kopi Robusta (*Coffea robusta*) sebagai Penghambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Seminar Nasional XII Pendidikan Biologi FKIP UNS*, 867–872.