

LAPORAN PENELITIAN
PENELITIAN DASAR KEILMUAN

**UJI IN VITRO NILAI SUN PROTECTION FACTOR (SPF)
DAN PENGHAMBATAN TIROSINASE DARI EKSTRAK
ETANOL DAN KRIM DAUN KOPI ARABICA (*Coffea arabica*
L.)**



Tim Pengusul :

SOFIA FATMAWATI, M.Si., Apt (0624038901/Ketua)

FITRIA NUGRAHAENI, M. Farm., Apt (0329049003/Anggota)

Nomor Surat Kontrak Penelitian : 699/F.03.07/2019

Nilai Kontrak : Rp. 12.000.000,-

PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI DAN SAINS
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
TAHUN 2020

**HALAMAN PENGESAHAN
PENELITIAN DASAR KEILMUAN**

Judul Penelitian : Uji In Vitro Nilai Sun Protection Factor (SPF) Dan Penghambatan Tirosinase Dari Ekstrak Etanol dan Krim Daun Kopi Arabica (*Coffea arabica* L.)

Ketua Peneliti
a. Nama Lengkap : Sofia Fatmawati., M.Si., Apt.
b. NIDN : 0624038901
c. Jabatan Fungsional : Asisten Ahli
d. Fakultas/Prodi : Farmasi dan Sains/Farmasi
e. No HP/Email : 085727941306/
sofia.fatmawati@uhamka.ac.id

Anggota Peneliti 1
a. Nama Lengkap : Fitria Nugrahaeni, M.Farm., Apt.
b. NIDN : 0329049003
a. Fakultas/Prodi : Farmasi dan Sains/Farmasi

Lokasi Penelitian : Laboratorium Terpadu Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof Dr Hamka

Lama Penelitian : 6 bulan
Luaran Wajib Penelitian : Jurnal Nasional Terakreditasi Sinta 2
Luaran Tambahan Penelitian : Jurnal Nasional Terakreditasi Sinta 5
Dana yang Disetujui : Rp 12.000.000,-

Jakarta, 19 April 2020

Mengetahui
Ketua Program Studi

Kori Yati, M.Farm., Apt.
NIDN. 0324067802

Dekan FFS UHAMKA

Dr. Hadi Sunaryo, M.Si., Apt.
NIDN. 0325067201

Ketua Peneliti



Sofia Fatmawati, M.Si., Apt.
NIDN. 0624038901

Ketua LEMLIT UHAMKA

Prof. Dr. Suswandari, M.Pd.
NIDN. 0020116601

[+ Tambah Data](#)

#	Nama Dosen	Judul Penelitian	Jenis Penelitian	Batch Penelitian	Status	Action
1.	Ketua: SOFIA FATMAWATI M.Si., Apt. Anggota 1: Fitria Nugrahaeni, M.Farm, Apt	UJI IN VITRO NILAI SUN PROTECTION FACTOR (SPF) DAN PENGHAMBATAN TIROSINASE DARI EKSTRAK ETANOL DAN KRIM DAUN KOPI ARABICA (<i>Coffea arabica</i> L)	PENELITIAN DASAR KEILMUAN (PDK)	2019 - Batch 1	Valid	

[📄 Hasil Penelitian](#)[📄 Luaran Penelitian](#)[📄 Luaran Penelitian Tambahan](#)

#	Nama Dosen	Judul Penelitian	Jenis Penelitian	Batch Penelitian	Status	Action
---	------------	------------------	------------------	------------------	--------	--------

SURAT KONTRAK PENELITIAN



UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN

Jln. Tanah Merdeka, Pasar Rebo, Jakarta Timur
Telp. 021-8416624, 87781809; Fax. 87781809

SURAT PERJANJIAN KONTRAK KERJA PENELITIAN
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF DR HAMKA

Nomor : *68* / F.03.07 / 2019
Tanggal : 20 November 2019

Bismillahirrahmanirrahim

Pada hari ini, Rabu, tanggal Dua Puluh, bulan November, tahun Dua Ribu Sembilan Belas, yang bertanda tangan di bawah ini **Prof. Dr. Hj Suswandari, M.Pd.**, Ketua Lembaga Penelitian dan Pengembangan Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA, selanjutnya disebut sebagai PIHAK PERTAMA; **SOFIA FATMAWATI M.Si., Apt.**, selanjutnya disebut sebagai PIHAK KEDUA.

PIHAK PERTAMA dan PIHAK KEDUA sepakat untuk mengadakan Perjanjian Kontrak Kerja Penelitian yang didanai oleh RAPB Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA

Pasal 1

PIHAK KEDUA akan melaksanakan kegiatan penelitian dengan judul : **UJI IN VITRO NILAI SUN PROTECTION FACTOR (SPF) DAN PENGHAMBATAN TIROSINASE DARI EKSTRAK ETANOL DAN KRIM DAUN KOPI ARABICA (*Coffea arabica* L.)** dengan luaran wajib dan luaran tambahan sesuai data usulan penelitian Bacth 1 Tahun 2019 melalui simakip.uhamka.ac.id.

Pasal 2

Bukti luaran penelitian wajib dan tambahan harus sesuai sebagaimana yang dijanjikan dalam Pasal 1. Luaran penelitian yang dimaksud dilampirkan pada saat Monitoring Evaluasi dan laporan penelitian yang diunggah melalui simakip.uhamka.ac.id.

Pasal 3

Kegiatan tersebut dalam Pasal 1 akan dilaksanakan oleh PIHAK KEDUA mulai tanggal 20 November 2019 dan selesai pada tanggal 20 April 2020.

Pasal 4

PIHAK PERTAMA menyediakan dana sebesar Rp.12.000.000,- (Terbilang : *Dua Belas Juta*) kepada PIHAK KEDUA untuk melaksanakan kegiatan tersebut dalam Pasal 1. Sumber biaya yang dimaksud berasal dari Penelitian dan Pengembangan Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA melalui Lembaga Penelitian dan Pengembangan.

8.40.000 Pasal 5

Pembayaran dana tersebut dalam Pasal 4 akan dilakukan dalam 2 (dua) termin sebagai berikut:
(1) Termin I 70 % : Sebesar ~~8.100.000~~ (Terbilang: *Delapan Juta Seratus Ribu Rupiah*) setelah PIHAK KEDUA menyerahkan proposal yang telah direview dan diperbaiki sesuai saran reviewer pada kegiatan tersebut Pasal 1. 3.600.000

(2) Termin II 30 % : Sebesar ~~3.000.000~~ (Terbilang: *Tiga Juta Sembilan Ratus Ribu Rupiah*) setelah PIHAK KEDUA menyerahkan proposal yang telah direview dan diperbaiki sesuai saran reviewer pada kegiatan tersebut Pasal 1.

Pasal 6

- (1) PIHAK KEDUA wajib melaksanakan kegiatan tersebut dalam Pasal 1 dalam waktu yang ditentukan dalam Pasal 3.
- (2) PIHAK PERTAMA akan melakukan monitoring dan evaluasi pelaksanaan kegiatan tersebut sebagaimana yang disebutkan dalam Pasal 1.
- (3) PIHAK PERTAMA akan mendenda PIHAK KEDUA setiap hari keterlambatan penyerahan laporan hasil kegiatan sebesar 0,5 % (setengah persen) maksimal 20% (dua puluh persen) dari jumlah dana tersebut dalam Pasal 4.
- (4) Dana Penelitian dikenakan Pajak Pertambahan Nilai (PPN) pada poin honor peneliti sebesar 5 % (lima persen)

Jakarta, 20 November 2019

PIHAK PERTAMA
Lembaga Penelitian dan Pengembangan
Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA
Kecua.



Prof. Dr. Hj Suswandari, M.Pd
Apt.

PIHAK KEDUA
Peneliti,



Mengetahui
Wakil Rektor II UHAMKA



Dr. ZAMAH SARI M.Ag.



UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN

Jln. Tanah Merdeka, Pasar Rebo, Jakarta Timur
Telp. 021-8416624, 87781809; Fax. 87781809

22 Juni 2020

Nomor : / F.02.09 / 2020
Lampiran : 1 Berkas Hasil Penelitian dan 1 Berkas Publikasi Ilmiah
Perihal : **Pencairan Tahap 2**

Kepada Yang Terhormat,
Wakil Rektor II
u.p. Kepala Biro Adm. Keuangan
Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA

Bismillahirrahmanirrahim
Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Bersama ini kami sampaikan laporan penelitian Reguler yang dilaksanakan oleh :

Nama : SOFIA FATMAWATI M.Si., Apt.
Nomor Kontrak : 699 / F.03.07 / 2019
Masa Kontrak : 20 November 2019 s.d. 20, April 2020
Judul : UJI IN VITRO NILAI SUN PROTECTION FACTOR
(SPF) DAN PENGHAMBATAN TIROSINASE DARI EKSTRAK
ETANOL DAN KRIM DAUN KOPI ARABICA (COFFEA ARABICA L
)

Berdasarkan hasil verifikasi, penelitian ini tidak ada perubahan judul, telah dimonev telah mengunggah hasil penelitian serta luaran ke *simakip.uhamka.ac.id* dan laporan penelitian telah sesuai dengan SOP yang telah ditetapkan, sehubungan dengan itu mohon dapat dicairkan dana penelitian tahap Kedua sebesar Rp 3.600.000 (terbilang : *Tiga Juta Enam Ratus Ribu Rupiah*).

Demikian kami sampaikan, atas perhatian dan kerjasamanya kami ucapkan terima kasih.

Billahittaufiq wal hidayah.
Wassalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh

Ketua,

Prof. Dr. Suswandari, M.Pd

Tembusan :

- Yth. 1. Biro Keuangan (Pencairan)
2. Arsip Peneliti
3. Arsip Lemlitbang

ABSTRAK

Penggunaan tabir surya merupakan salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk melindungi kulit dari efek merugikan yang disebabkan oleh radiasi UV. Kemampuan suatu tabir surya dapat melindungi kulit dengan menunda eritema dinyatakan dengan Sun Protection Factor. Selain itu, melanin yang diproduksi melalui konversi L-tirosin menjadi kuinon oleh enzim tirosinase pada kondisi fisiologis yang normal dapat berfungsi sebagai fotoprotektif karena dapat menyerap 50-75% radiasi ultraviolet dan radikal ROS. Produksi berlebihan dari melanin sebagai respon paparan sinar ultraviolet pada kulit dapat menyebabkan berbagai gejala gangguan kulit seperti flek hitam dan kerutan. Daun kopi adalah salah satu bagian tanaman yang hingga saat ini belum optimal pemanfaatannya namun sangat berpotensi sebagai bahan kosmetik. Daun kopi arabika mengandung alkaloida kafein, saponin, flavonoid, dan polifenol yang telah dilaporkan memiliki berbagai aktifitas. Tujuan penelitian ini untuk melakukan evaluasi ekstrak etanol dan sediaan krim tabir surya dengan variasi konsentrasi ekstrak daun kopi (*Coffea arabica* L.) serta mengetahui nilai Sun Protection Factor dan penghambatan tirosinase. Ekstraksi daun kopi menggunakan metode ultrasonifikasi dengan pelarut etanol 70% yang sebelumnya telah dioptimasi proses ekstraksinya. Ekstrak dipekatkan menggunakan rotary evaporator. Dibuat tiga variasi konsentrasi ekstrak etanol daun kopi yaitu 50 ppm, 100 ppm dan 150 ppm. Setelah didapatkan konsentrasi yang maksimal untuk aktivitas Sun Protection Factor dan penghambatan tirosinase kemudian dilakukan formulasi krim ekstrak daun kopi. Formula 1 (basis krim) tanpa ekstrak etanol daun kopi; formula 2 dengan ekstrak etanol daun kopi 1 % dan formula 3 dengan ekstrak etanol daun kopi 2 %. Ketiga formula diuji karakteristik sifat fisika, kimia, nilai Sun Protection Factor dan penghambatan tirosinase. Pengujian nilai Sun Protection Factor menggunakan metode spektrofotometri sedangkan penghambatan tirosinase menggunakan enzim tirosinase dari jamur dengan baku L-DOPA metode spektrofotometri. Nilai SPF dan persen inhibisi ekstrak etanol daun kopi arabika dan krim berturut-turut paling tinggi pada 150 ppm dan 2%. Ekstrak dan krim daun kopi arabika dapat menjadi alternatif komponen formulasi produk tabir surya yang baik dan tersedia dalam jumlah banyak.

Kata kunci: **Daun kopi, ekstrak, krim, SPF, Tirosinase**

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
SURAT KONTRAK PENELITIAN	iii
ABSTRAK	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	3
Roadmap Penelitian	6
METODE PENELITIAN	7
Peralatan dan bahan	7
Pembuatan Serbuk Daun Kopi Arabika	7
Optimasi Ekstraksi Ultrasonik Daun Kopi Arabika Variasi Konsentrasi Etanol	7
Evaluasi Mutu Ekstrak dan Skrining Fitokimia	8
Penetapan Kadar Kafein	9
Pembuatan dan evaluasi krim ekstrak etanol daun kopi arabika	9
Uji Sun Protection Factor (SPF) ekstrak dan krim daun kopi arabika	11
Uji inhibisi tirosinase ekstrak dan krim daun kopi arabika	12
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	13
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	21
BAB 6 LUARAN YANG DICAPAI	22
BAB VII RENCANA TINDAK LANJUT DAN PROYEKSI HILIRISASI	24
DAFTAR PUSTAKA	25
LAMPIRAN LUARAN WAJIB	29
LAMPIRAN LUARAN TAMBAHAN	42

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Formula Krim Ekstrak Etanol Daun Kopi Arabika	11
Tabel 2. Hasil Evaluasi Mutu dan Kadar Kafein Ekstrak Etanol Daun Kopi Arabika	14
Tabel 3. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kopi Arabika	15
Tabel 4. Hasil SPF Ekstrak dan Krim Daun Kopi Arabika	19

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Kurva Kalibrasi Baku Kafein	16
Gambar 2. Krim Ekstrak Etanol Daun Kopi Arabika	18
Gambar 3. Diagram Persen Inhibisi Enzim Tirosinase Secara in vitro	20

BAB 1. PENDAHULUAN

Paparan sinar matahari memberikan efek positif maupun negatif pada kulit. Pemaparan sinar ultraviolet dari matahari secara kronik akan mengakibatkan perubahan struktur kulit dan stress oksidatif pada kulit (Nugrahaeni et al, 2018). Radiasi sinar ultraviolet (UV) yang paling banyak berpengaruh terhadap kesehatan kulit adalah radiasi sinar UV-B, karena efeknya yang paling kuat dalam menyebabkan terjadinya photodamage pada kulit diantaranya eritema dan depigmentasi (Maske et al, 2013). Melanin yang diproduksi melalui konversi L-tirosin menjadi kuinon oleh enzim tirosinase pada kondisi fisiologis yang normal dapat berfungsi sebagai fotoprotektif karena dapat menyerap 50-75% radiasi ultraviolet dan radikal ROS. Produksi melanin yang berlebihan dapat menyebabkan kulit berwarna gelap atau depigmentasi (Shetty et al., 2015).

Berbagai upaya telah dilakukan untuk mengurangi dan mencegah timbulnya kerusakan seluler akibat radiasi UV. Beberapa golongan senyawa aktif yang berasal dari bahan alam seperti flavonoid, tanin, antrakuinon, sinamat, dan glikosida dilaporkan memiliki kemampuan melindungi dari sinar UV (Donglikar dan Deore , 2017). Resiko terpapar sinar UV yang berlebih dapat ditanggulangi dengan menggunakan tabir surya, yang berasal dari sintetis maupun alami (Mansur et al, 2016). Tabir surya alami memiliki kelebihan yaitu efek samping yang lebih rendah dibandingkan dengan tabir surya sintetis, bahan utama tabir surya alami salah satunya berasal dari tanaman. Salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai bahan obat dan kosmetik adalah tanaman kopi.

Pemanfaatan tanaman kopi umumnya terfokus pada biji kopi yang dianggap memiliki nilai ekonomis tinggi. Sementara itu, daun kopi merupakan bagian tanaman yang selama ini pemanfaatannya belum optimal. Daun kopi robusta diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang cukup kuat (Pristiana et al., 2017). Aktivitas antioksidan berperan dalam menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul reaktif yang dapat merusak sel (Nugrahaeni et al., 2018). Daun kopi arabika mengandung alkaloida kafein, saponin, flavonoid, dan polifenol yang dapat mencegah berbagai penyakit karsinogenik (Gomez et al.,

2018). Senyawa fenolik dapat berperan sebagai tabir surya untuk mencegah efek yang merugikan akibat radiasi UV pada kulit karena antioksidan dan fotoprotektif (Mansur et al., 2015). Alkaloida kafein konsentrasi 1000 ppm terbukti sebesar 13,72% menghambat tirosinase yang efektif secara in vitro (Lee et al., 2019).

Costa et al. (2015) meneliti ekstrak *Marcetia taxifolia* dalam sediaan krim dan lotion didapatkan hasil nilai SPF yang terdapat di dalamnya lebih dari 6. Fraksi daun kopi robusta (*Coffea canephora ex Froehner*) tanpa diformulasi mengandung nilai SPF lebih dari 18 (Yuliawati et al., 2019). Berdasarkan hal tersebut maka pada penelitian ini akan dilakukan penelitian tentang uji spf dan uji penghambatan tirosinase secara in vitro ekstrak etanol dan krim daun kopi arabika (*Coffea arabica* L.)

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

Pemanfaatan tanaman kopi pada umumnya terfokus pada biji kopi yang dianggap memiliki nilai ekonomis tinggi. Secara umum ada dua jenis kopi yang dibudidayakan di Indonesia yaitu kopi Robusta dan Arabika. Kopi Arabika memiliki mutu cita rasa lebih baik dibandingkan kopi Robusta (Muttalib et al., 2012). Sementara itu, daun kopi merupakan bagian tanaman yang selama ini pemanfaatannya belum optimal. Daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) (Pristiana et al., 2017). Aktivitas antioksidan berperan dalam menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul reaktif yang dapat merusak sel (Nugrahaeni et al., 2018). Daun kopi arabika mengandung alkaloida, kafein, saponin, flavonoid, dan polifenol yang dapat mencegah berbagai penyakit karsinogenik (Gomez et al., 2018).

Salah satu kandungan daun kopi arabika yang bermanfaat yaitu flavonoid yang merupakan golongan senyawa fenolik (Brancho et al., 2011). Senyawa fenolik dapat berperan sebagai tabir surya untuk mencegah efek yang merugikan akibat radiasi UV pada kulit karena antioksidan sebagai fotoprotektif (Mansur et al., 2015). Hal ini didukung oleh Tendulkar et al. (2015) yang mengungkapkan senyawa antioksidan merupakan suatu inhibitor yang digunakan untuk menghambat autooksidasi. Alkaloida kafein konsentrasi 1000 ppm terbukti sebesar 13,72% menghambat tirosinase yang efektif secara *in vitro* (Lee et al., 2019). Studi terbaru menunjukkan bahwa peran spesifik dari enzim tirosinase dalam membatasi kecepatan sintesis melanin sehingga penghambatan enzim tirosinase adalah terapi yang efektif untuk menurunkan produksi melanin yang berlebihan saat terpapar cahaya UV dalam waktu yang lama (Pillaiyar et al., 2017).

Pada penelitian sebelumnya ekstrak bunga *Rosa kordesii* di dalam sediaan gel didapatkan formula yang stabil selama 4 bulan penyimpanan dan memiliki nilai SPF yang tinggi (Maske et al., 2013). Costa (2015) meneliti ekstrak *Marcetia taxifolia* dalam sediaan krim dan lotion didapatkan hasil nilai SPF yang terdapat di dalamnya lebih dari 6. Fraksi daun kopi robusta tanpa diformulasi mengandung nilai SPF lebih dari 18 (Yuliawati et al., 2019).

Sunscreen atau tabir surya mengandung senyawa yang dapat melindungi kulit dari pengaruh sinar ultraviolet (UV) yang dipancarkan sinar matahari dengan cara menyerap sinar UV yang dipancarkan matahari (Handayani dan Arty, 2008). Senyawa yang terkandung di dalam tabir surya dapat digunakan untuk mencegah timbulnya berbagai penyakit pada kulit dan untuk melindungi kesehatan kulit manusia dari pengaruh negatif sinar UV (Gazali, 2007). Tabir surya dibagi menjadi 2 kelompok yaitu tabir surya fisik dan tabir surya kimia. Tabir surya kimia yaitu tabir surya yang menyerap sinar ultraviolet, misalnya PABA, ester PABA, benzofenon, avobenzon, salisilat, sinamat dan derivat kamfer (Kartawiguna, 2011).

Menurut Liu et al., (2011), tabir surya yang beredar dipasaran memungkinkan adanya efek samping yang merugikan seperti dapat menyebabkan iritasi kulit karena kandungan kimianya. Dengan demikian penggunaan tumbuhan sebagai tabir surya menjadi perhatian. Zat alami yang diekstrak dari tumbuhan dapat bertindak sebagai sumber daya potensial photoprotective karena kemampuannya untuk menyerap UV. Beberapa senyawa bahan alam yang dimanfaatkan dan dikembangkan sebagai agen pelindung sinar UV seperti vitamin C, vitamin E dan β -karoten yang digunakan dalam produk perawatan kulit karena sifatnya yang mampu memutus rantai radikal bebas. Selain itu, senyawa-senyawa fenolik dapat pula berperan sebagai bahan aktif senyawa tabir surya (Svobodova, et al., 2003). Bahan alami dianggap sebagai sumber daya potensial tabir surya karena kemampuannya dalam menyerap di wilayah UV serta aktivitas antioksidannya yang berasal dari senyawa yang dikandung bahan alam tersebut (Gazali, 2007).

Efektifitas dari suatu sediaan tabir surya dapat ditunjukkan salah satunya adalah dengan nilai Sun Protection Factor (SPF), yang didefinisikan sebagai jumlah energi UV yang dibutuhkan untuk mencapai Minimal Erythema Dose (MED) pada kulit yang dilindungi oleh suatu tabir surya, dibagi dengan jumlah energi UV yang dibutuhkan untuk mencapai MED pada kulit yang tidak diberikan perlindungan. Minimal Erythema Dose (MED) didefinisikan sebagai jangka waktu terendah atau dosis radiasi sinar UV yang dibutuhkan untuk menyebabkan terjadinya erythema (Wood dan Murphy, 2000).

Mansur et al. (2015) mengembangkan suatu metode operasi yang cepat dan sederhana untuk menentukan nilai SPF secara in vitro dengan menggunakan spektrofotometri. Spektrum absorbansi ditentukan dalam kisaran panjang gelombang UV B yaitu 290 nm – 320 nm dengan interval 5 nm dan menggunakan etanol sebagai blanko. Data absorbansi yang diperoleh dimasukkan dalam persamaan SPF dan menggunakan konstanta yang telah ditetapkan. Rumus penentuan nilai SPF sebagai berikut:

$$\text{SPF} = \text{CF} \times \sum_{290}^{320} \text{EE}(\lambda) \times \text{I}(\lambda) \times \text{Abs}(\lambda)$$

Keterangan:

CF : Correction factor (faktor koreksi) = 10

EE : Erythemal effect spectrum

I : intensitas spektrum matahari pada panjang gelombang

Abs : Absorbansi produk tabir surya

Prinsip kerja dari metode in vitro penghambatan tirosinase berdasarkan pada adanya produk dopakrom yang merupakan hasil oksidasi L-DOPA oleh enzim tirosinase. Senyawa pemutih kulit akan berkompetisi dengan L-DOPA tersebut untuk berikatan dengan enzim tirosinase. Kompetisi tersebut akan mengurangi jumlah produk dopakrom yang akan dihasilkan sehingga aktivitas penghambatan senyawa pemutih dapat dihitung. Dopakrom yang terbentuk akan berwarna jingga tua hingga merah sehingga dapat diukur serapannya dengan cara kolorimetri dengan menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 475 nm. Aktivitas penghambatan dari sampel uji ditentukan dengan IC50, yaitu konsentrasi dimana sampel uji menghambat aktivitas enzim tirosinase sebesar 50%. Persen inhibisinya dihitung dengan rumus berikut (Lintner dan Sederma, 2010):

$$\% \text{inhibisi} = \frac{DK - DK'}{DK} \times 100\% = \frac{(A - B) - (C - D)}{(A - B)} \times 100\%$$

DK = dopakrom yang terbentuk tanpa adanya inhibitor
 DK' = dopakrom yang terbentuk dengan adanya inhibitor
 A = serapan larutan blanko negatif dengan enzim
 B = serapan larutan blanko negatif tanpa enzim
 C = serapan larutan sampel dengan enzim
 D = serapan larutan sampel tanpa enzim;

Roadmap Penelitian :



BAB 3. METODE PENELITIAN

Peralatan dan Bahan.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer uv-vis, timbangan analitik, rotary evaporator, pengaduk magnetic, labu bulat, thermometer, waterbath, hotplate, ultrasentrifugasi dan alat-alat gelas. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kopi arabika yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITTRO), etanol 70%, aquades, *Tyrosinase from mushroom lyophilized powder*, L-DOPA, Asam kojat, cetil alkohol, PEG 200, EDTA, trietanolamin, metilparaben.

Pembuatan Serbuk Daun Kopi Arabika

Daun kopi arabika segar disortasi basah dari bahan-bahan pengotor. Selanjutnya dilakukan pencucian dengan air mengalir hingga bersih setelah itu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan hingga kering dan dilakukan sortasi kering. Simplisia dihaluskan dengan menggunakan blender hingga menjadi serbuk, lalu diayak dengan ayakan mesh no. 40 ditimbang dan dicatat hasilnya.

Optimasi Ekstraksi Ultrasonik Daun Kopi Arabika Variasi Konsentrasi Etanol

Variasi Konsentrasi Etanol

Serbuk daun kopi arabika ditimbang 50 gram sebanyak 5 kali, dilarutkan dalam etanol 50%, 70% dan 96% sebanyak 500 ml masing masing di dalam gelas kimia 500 ml kemudian ditempatkan dalam ultrasonik bath selama 30 menit pada suhu ruang. Selanjutnya disaring dengan kertas saring whatman no 1. Filtrat yang diperoleh dipisahkan dalam rotari evaporator dan dikemas dalam botol gelap.

Variasi Waktu

Serbuk daun kopi arabika ditimbang sebanyak 50 gram untuk setiap variasi waktu yang digunakan yaitu 10, 20, dan 30 menit, lalu dimasukkan ke dalam Beaker glass. Dilarutkan dengan pelarut etanol 70% sebanyak 500 ml, kemudian diekstraksi dengan suhu ruang menggunakan ultrasonik bath sampai pelarut menjadi jernih.. Larutan disaring menggunakan kertas whatman no 1. Filtrat yang didapat dievaporasi menggunakan rotary vakum evaporator. Ekstrak yang didapat dikemas dengan botol gelap.,

Evaluasi Mutu Ekstrak dan Skrining Fitokimia

Ekstrak kental daun kopi arabika dihitung rendemen ekstrak yaitu perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal. Rendemen menggunakan satuan persen (%), semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menandakan nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak (Armando 2009). Pemeriksaan organoleptis meliputi pemeriksaan bentuk, warna, bau dan rasa dari ekstrak daun kopi arabika. Kadar abu dengan cara Timbang saksama 2 gram ekstrak etanol 50%, 70% dan 96% tunggal masukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijar dan ditara, pijarkan perlahan-lahan sampai arang habis, dinginkan dan timbang. Jika dengan cara ini arang tidak dapat dihilangkan, tambahkan air panas, aduk, saring melalui kertas saring bebas abu. Pijarkan kertas saring beserta sisa penyaringan dalam krus yang sama. Masukkan filtrat ke dalam krus, uapkan dan pijarkan hingga bobot tetap. Kadar abu total dihitung terhadap berat bahan uji, dinyatakan dalam % b/b (Depkes 2008). Susut pengeringan menggunakan moisture balance dengan cara hidupkan alat kemudian panaskan alat selama 10menit, lalukan setting alat untuk susut pengeringan timbang ekstrak sebanyak 2g kemudian tutup alat, biarkan alat berjalan otomatis, tulis data yang didapatkan (lampu mati) biarkan suhu menurun, tekan off.

Ekstrak diidentifikasi kandungan alkaloid menggunakan pereaksi mayer dan bouchardat dengan hasil positif endapan putih serta dragendorf yang menghasilkan

endapan coklat muda sampai kuning sedangkan untuk alkaloid spesifik kafein menggunakan reagen parry dan ammonia encer (Depkes 2000). Identifikasi senyawa fenolik menggunakan reagen FeCl_3 yang membentuk warna biru kehitaman sampai ungu. Tanin dapat terdeteksi menggunakan FeCl_3 serta reagen NaCl dan larutan gelatin. Flavonoid khas dianalisis menggunakan HCl dan serbuk Mg . Pereaksi Liebermann-Burchard dapat mendeteksi steroid. Kemudian untuk saponin sangat khas diuji pembentukan busa yang tidak hilang dengan penambahan HCl (Tukiran et al, 2014).

Penetapan Kadar Kafein

Ekstrak sebanyak 1 gram dimasukkan ke dalam gelas ukur kemudian ditambahkan 150 ml aquades panas kedalamnya sambil diaduk. Larutan daun kopi arabika panas disaring melalui corong dengan kertas saring kedalam Erlenmeyer, kemudian 1,5 g kalsium karbonat (CaCO_3) dan larutan daun kopi arabika tadi dimasukkan ke dalam corong pisah lalu diekstraksi sebanyak 4 kali, masing-masing dengan penambahan 25 ml kloroform. Lapisan bawahnya diambil, kemudian ekstrak (fase kloroform) ini diuapkan dengan rotary evaporator hingga kloroform menguap seluruhnya. Ekstrak kafein bebas pelarut dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, diencerkan dengan aquades hingga garis tanda dan dihomogenkan, kemudian dibuat pengenceran dari kafein ekstrak daun kopi arabika yang dibuat 100 ml dengan memipet 1ml/10ml lalu ditentukan kadarnya dengan spektrofotometri UV pada panjang gelombang 273,40 nm. Perlakuan yang sama dilakukan untuk tiap-tiap sampel daun kopi arabika dengan berat 1 gram (Fitri, 2008).

Pembuatan dan evaluasi krim ekstrak etanol daun kopi arabika

Rancangan formula sediaan krim ekstrak daun kopi dibuat dengan 3 konsentrasi antara lain konsentrasi 0%, 1%, 2%. Berat total sediaan sebesar 100 gram. Setiap formulasi akan direplikasi sebanyak tiga kali replikasi. Pada penelitian ini ekstrak

yang digunakan adalah ekstrak daun kopi. Rancangan formula krim ekstrak daun kopi dapat dilihat pada Tabel 1.

Langkah pertama pembuatan krim yaitu penyiapan fase air dengan cara melarutkan metil paraben dan trietanolamin dalam akuades. Langkah kedua, penyiapan fase minyak meliputi metil paraben, asam stearat, gliserin dan ekstrak daun kopi dipanaskan dengan akuades suhu 80 °C. Langkah ketiga, fase minyak ditambahkan ke fase air pada suhu 80°C dengan pengadukan terus menerus selama 20-25 menit dan kemudian dihomogenisasi sampai emulsi terbentuk, kemudian dituangkan ke wadah yang sesuai dan disimpan pada suhu ruang.

Evaluasi formulasi krim meliputi uji organoleptik, penentuan tipe krim, penentuan pH, uji daya lekat, uji daya sebar dan uji homogenitas.

Uji organoleptik

Uji organoleptik dilakukan dengan mengamati bau, warna, dan tekstur sediaan.

Penentuan tipe krim

Penentuan tipe krim menggunakan pewarna metilen blue yaitu sejumlah sediaan diletakkan diatas objek glass, ditambahkan 1 tetes metil biru, diaduk dengan batang pengaduk. Bila metil biru tersebar merata berarti sediaan tipe m/a (minyak dalam air) tetapi bila hanya bintik-bintik biru berarti sediaan tipe a/m (air dalam minyak).

Penentuan pH

Ditimbang sebanyak 1gr susnscreen krim ekstrak daun kopi arabika dan diencerkan dengan 10ml aquades. Diukur menggunakan pH meter dan dicatat setelah mencapai kestabilan. Krim memiliki variasi pH sebagian besar mulai dari 5 hingga 9.

Uji Daya Lekat

Ditimbang sebanyak 1gram krim ekstrak daun kopi arabika diletakkan diatas gelas objek, kemudian gelas objek lain diletakkan diatas krim tersebut. Ditekan

dengan beban 1 kg selama 5 menit. Dipasang gelas objek lain pada alat tes. Dilepas beban seberat 80g, dicatat waktunya hingga kedua gelas objek terlepas [12]

Uji Daya Sebar

Ditimbang sebanyak 0,5 g sunscreen krim ekstrak daun kopi arabika dan diletakkan ditengah lapisan kaca. Diletakkan lapisan kaca lainnya diatas krim. Dibiarkan selama 1 menit kemudian diukur dengan diameter krim yang menyebar. Ditambahkan beban tambahan 50 gram. Didiamkan 1 menit setiap penambahan beban dan diukur diameter hingga beban mencapai 500 gram [12]

Uji Homogenitas

Diambil 1 gr krim ekstrak daun kopi arabika pada bagian atas, tengah, dan bawah kemudian dioleskan pada sekeping kaca transparan. Diamati jika terjadi pemisahan [13]

Tabel 1. Formula Krim Ekstrak Etanol Daun Kopi Arabika

No	Bahan	Formula (%)		
		F1	F2	F3
1	Ekstrak daun kopi	0	1	2
2	Cetil alcohol	5	5	5
3	Asam stearat	13	13	13
4	Gliserin	10	10	10
5	Trietanolamin	4	4	4
6	Metil paraben	0,2	0,2	0,2
7	Akuades	sampai 100 ml	sampai 100 ml	sampai 100 ml

Uji Sun Protection Factor (SPF) ekstrak dan krim daun kopi arabika

Ekstrak etanol daun kopi arabika diencerkan dengan etanol sampai konsentrasi 50, 100 dan 150 ppm. Krim ekstrak daun kopi pada masing-masing formula ditimbang sebanyak 500 mg kemudian dilarutkan dalam etanol sampai 100 ml

dengan bantuan ultrasonik. Penentuan nilai SPF dilakukan dengan cara mengukur serapan larutan dari ekstrak dan krim dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 290-320 nm. Sampel dilarutkan dalam 5 mL etanol p.a. Penentuan nilai SPF dilakukan sebanyak tiga kali replikasi pada masing-masing sampel. Kemudian data yang diperoleh diolah dengan persamaan Mansur [11].

$$SPF = CF \times EE \times I(\lambda) \times \text{abs}(\lambda)$$

Nilai SPF dapat dihitung dengan mengalikan nilai faktor koreksi (CF), spektrum efek eritemal (EE), spektrum intensitas dari matahari (I) dan juga absorbansi (Abs) dari sampel krim ekstrak etanol daun kopi. Penilaian SPF mengacu pada ketentuan FDA (Food and Drug Administration) yaitu proteksi minimal jika SPF 2-4, proteksi sedang 4-6, proteksi ekstra 6-8, proteksi maksimal 8-15 dan proteksi ultra >15.

Uji inhibisi tirosinase ekstrak dan krim daun kopi arabika

Setiap sampel ekstrak dan krim disiapkan dengan pelarut DMSO. Asam kojat digunakan sebagai kontrol positif. Larutan ekstrak, krim dan asam kojat dimasukkan dalam pelat tetes 96 sumur. Sampel masing-masing ditambahkan sebanyak 70 μL kemudian ditambahkan 30 μL enzim tirosinase konsentrasi 333 unit/ml dalam bufer fosfat lalu diinkubasi selama 5 menit. Kemudian, 110 μL L-DOPA 12 mM ditambahkan dan pelat diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37 °C. Pelat kemudian diukur absorbansinya menggunakan *micro-plate reader* pada panjang gelombang 492 nm. Persen inhibisi dihitung dengan jalan membandingkan absorban blanko dengan absorban sampel.

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Daun kopi arabika segar dicuci bersih kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada udara terbuka tanpa kena sinar matahari langsung sesekali dibolak-balikan agar kering dengan merata. Pengerinan bertujuan untuk mengurangi kadar air dalam simplisia agar reaksi enzimatik dalam sel tidak lagi berlangsung sehingga kandungan senyawanya tidak rusak serta mencegah timbulnya bakteri dan jamur yang dapat menurunkan kualitas simplisia. Pengurangan berat simplisia daun kopi arabika terjadi pada proses pengerinan dan sortasi. Sortasi yaitu pemisahan simplisia dengan pengotor-pengotornya yang lain, sehingga diharapkan simplisia bersih dari pengotor yang dapat mempengaruhi proses ekstraksi. Daun kopi arabika kering selanjutnya diserbuk menggunakan blender dan diayak dengan ayakan no 40. Pembuatan serbuk simplisia dilakukan untuk memperkecil ukuran partikel simplisia. Ukuran partikel yang kecil akan memperbesar luas permukaan simplisia menyebabkan pelarut yang digunakan mudah menyerap ke dalam simplisia sehingga senyawa aktif yang tertarik lebih maksimal dan mempermudah proses ekstraksi.

Proses ekstraksi bertujuan untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam simplisia. Ekstraksi didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen set larut ke dalam pelarut yang sesuai berdasarkan sifat like dissolves like, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka (pelarut dan zat terlarut) kemudian zat terlarut tersebut berdifusi masuk ke dalam pelarut. Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode ultrasonik. Metode ultrasonik digunakan untuk konsumsi energi yang lebih kecil dan waktu operasi yang lebih singkat. Keuntungan metode yang digunakan adalah mempercepat proses ekstraksi, dibandingkan dengan ekstraksi termal atau ekstraksi konvensional, metode ultrasonik lebih aman, lebih singkat, dan meningkatkan jumlah rendemen kasar (Dey dan Rathod 2013). Pelarut etanol dipilih karena etanol merupakan pelarut yang sifatnya semi polar dalam penggunaannya, artinya pelarut bisa menyari atau mengekstrak senyawa-senyawa baik yang bersifat polar ataupun semipolar, tidak

beracun, dapat bercampur dengan air, serta panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit (Gandjar dan Rohman, 2014). Etanol merupakan pelarut yang mampu mengekstrak senyawa flavonoid, saponin, tanin, antrakuinon, terpenoid, dan alkaloid (Harborne 1987).

Tabel 2. Hasil Evaluasi Mutu dan Kadar Kafein Ekstrak Etanol Daun Kopi Arabika

Sampel	Rendemen	Kadar Abu total	Susut pengeringan	Kadar Kafein (mg/g ekstrak)
Konsentrasi etanol				
Ekstrak etanol 50%	50,06%	9,25%	5,17%	70,24
Ekstrak etanol 70%	47,47%	8,86%	2,43%	189,00
Ekstrak etanol 96%	38,26%	6,26%	0,80%	125,22
Waktu				
10 menit	13,12%	9,35%	4,26%	120,52
20 menit	13,18%	9,17%	1,26%	156,00
30 menit	14,66%	8,00%	5,81%	194,22

Hasil yang didapatkan dari ultrasonik kemudian dilakukan pemekatan dengan menggunakan vacum rotary evaporator pada suhu 40° sampai 55° C. Pemekatan bertujuan untuk menaikkan kandungan ekstrak daun kopi arabika dengan mengurangi kadar air dan mengurangi sisa pelarut pada saat proses ultrasonik. Ekstrak hasil evaporasi yang didapat selanjutnya dioven atau di waterbath hingga mendapatkan ekstrak dengan berat yang konstan. Rendemen tertinggi untuk variasi konsentrasi etanol ditunjukkan pada etanol 70% sedangkan untuk variasi waktu diunjukkan pada waktu 30 menit. Rendemen pada konsentrasi etanol menunjukkan angka yang tinggi karena simplisia diekstraksi berulang sampai didapatkan pelarut yang jernih, yang artinya hampir semua senyawa metabolit sekunder terekstraksi.

Karakteristik mutu ekstrak terbagi menjadi parameter spesifik dan non spesifik. Pemeriksaan organoleptik dan rendemen ekstrak termasuk dalam parameter

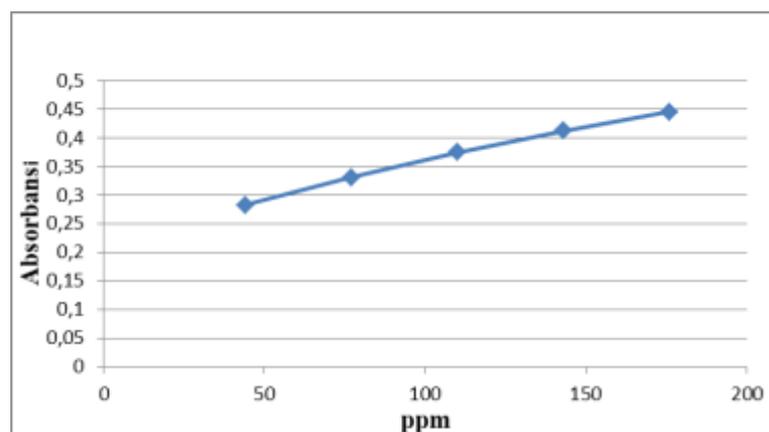
spesifik, sedangkan susut pengeringan dan kadar abu termasuk kedalam parameter non spesifik (Depkes RI 2000). Penetapan kadar abu total dilakukan dengan tujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak kadar abu total berkaitan dengan mineral baik senyawa organik maupun anorganik yang diperoleh secara internal maupun eksternal (Depkes RI 2000). Hasil yang diperoleh dalam pengujian kadar abu pada semua variasi telah memenuhi persyaratan yaitu tidak lebih dari 18% (Depkes RI 2011). Nilai untuk susut pengeringan ekstrak daun kopi arabika semuanya memenuhi syarat yaitu kurang dari 10% (Depkes RI 2011).

Tabel 3. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kopi Arabika

Senyawa terdeteksi	Hasil					
	Etanol 50%	Etanol 70%	Etanol 96%	10 menit	20 menit	30 menit
Alkaloid	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Flavonoid	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Fenol	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Tanin	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Saponin	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Terpenoid/Steroid	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Kafein	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)

Skrining fitokimia dilakukan untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak. Skrining dilakukan terhadap semua hasil ekstrak kental setiap variasi waktu dan variasi konsentrasi etanol yang telah dilakukan. Hal ini dilakukan bertujuan untuk memastikan proses pada setiap ekstraksi dengan waktu Ultrasonik yang berbeda tidak merubah kandungan senyawa kimia di dalam ekstrak daun kopi arabika ini. Identifikasi alkaloid, fenolik, steroid dan saponin memberikan hasil yang positif. Pemeriksaan tanin dilakukan dengan 2 cara yaitu dengan penambahan gelatin 1% dan $FeCl_3$. Pada

penambahan gelatin hasil positif yang didapatkan adalah endapan putih sedangkan pada penelitian ini tidak didapatkan. Pada penambahan FeCl_3 menghasilkan warna hijau kehitaman karna tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan FeCl_3 . Dapat disimpulkan tanin yang terdapat dalam daun kopi adalah tanin terkondensasi atau flavolan. Pemeriksaan flavonoid dilakukan dengan penambahan Mg dan dilanjutkan dengan penambahan HCl pekat. Penambahan HCl pekat dalam uji flavonoid digunakan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonya, yaitu dengan menghidrolisis O- glikosil. Glikosil akan tergantikan oleh H^+ dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Reduksi dengan Mg dan HCl pekat ini menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah, kuning, sampai jingga. Dari hasil pengujian tersebut terjadi perubahan warna (Marliana, 2005). Pada pengujian flavonoid ekstrak etanol daun kopi arabika terbentuk reaksi positif dengan ditandai warna kuning. Kafein diidentifikasi dengan reagen parry yang menghasilkan warna hijau. Hal tersebut yang menunjukkan adanya kafein dalam sampel tersebut. Reagen parry dibuat dengan mereaksikan Cobalt Nitrat [$\text{Co}(\text{NO}_3)_2$] dengan metanol (CH_3OH). Ion kobalt (Co) dalam reagen tersebut akan membentuk kompleks yang berwarna hijau. Ion kobalt bermuatan dua positif sehingga memungkinkan untuk mengikat gugus nitrogen yang terdapat pada senyawa kafein (Maramis, 2013).



Gambar 1. Kurva Kalibrasi Baku Kafein

Pada penelitian ini untuk menentukan kadar kafein pada sampel digunakan kafein baku sebagai larutan standar dengan deret konsentrasi 44, 77, 110, 143, dan

176 ppm. Digunakan deret konsentrasi karena metode yang dipakai dalam menentukan kadar adalah metode yang menggunakan persamaan kurva baku, untuk membuat kurva baku terlebih dahulu dibuat beberapa deret konsentrasi untuk mendapatkan persamaan. Digunakan kafein baku sebagai larutan standar. Pengukuran standar baku kafein dilakukan dengan panjang gelombang 273,40 nm. Dari hasil pengukuran absorbansi larutan standar pada berbagai konsentrasi didapatkan data yang telah sesuai dengan hukum Lambert-Beer yaitu nilai absorbansi pada kisaran 0,2-0,8. Kurva larutan standar senyawa kafein diperoleh hubungan yang lurus antara absorbansi dengan konsentrasi dengan persamaan regresi linier $y = 0,0012x + 0,2336$ dengan nilai koefisien relasi ($r = 0,9972$).

Pada pengukuran konsentrasi senyawa kafein pada ekstrak etanol daun kopi arabika, dilakukan preparasi sampel terlebih dahulu yaitu Sebanyak 1 gram ekstrak daun kopi arabika dari masing – masing variasi waktu (10, 20, dan 30 menit) dimasukkan ke dalam beaker glass kemudian ditambahkan 150 ml akuades. panas kedalamnya sambil diaduk. Larutan ekstrak daun kopi arabika panas disaring melalui corong dengan kertas saring ke dalam Erlenmeyer, kemudian 1,5 g kalsium karbonat (CaCO_3). Kalsium karbonat berfungsi untuk memutuskan ikatan kafein dengan senyawa lain, sehingga kafein akan ada dalam basa bebas (Mahendradatta, 2007). Larutan ekstrak daun kopi arabika tadi dimasukkan ke dalam corong pisah lalu diekstraksi sebanyak 4 kali, masing-masing dengan penambahan 25 mL kloroform. Kafein dalam basa bebas tadi setelah penambahan kalsium karbonat (CaCO_3) akan diikat oleh kloroform, karena kloroform merupakan pelarut pengestraksi yang tidak bercampur dengan pelarut semula (Suriani, 1997).

Pembuatan dan evaluasi krim ekstrak etanol daun kopi arabika

Hasil pengamatan uji organoleptis krim tabir surya daun kopi menunjukkan bahwa sediaan krim tipe M/A memiliki bentuk setengah padat, bau khas kopi, warna coklat (Gambar 1). Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa krim telah homogen, tidak ada butiran-butiran saat digosokkan ke kulit. Berdasarkan hasil uji

daya sebar menunjukkan bahwa seluruh formula memenuhi persyaratan daya sebar, yaitu 5-7 cm. Daya sebar krim yang baik akan membuat kontak obat dengan kulit menjadi luas sehingga obat cepat diabsorpsi. Pada pengukuran pH didapatkan krim memiliki pH 5,5, sehingga aman digunakan sesuai dengan persyaratan sediaan topical yaitu antara 4,5-6,5 (Trenggono dan Latifah, 2007).



Gambar 2. Krim Ekstrak Etanol Daun Kopi Arabika

Uji SPF ekstrak dan krim daun kopi arabika

SPF krim memberikan hasil lebih tinggi dibandingkan ekstrak. Kemampuan krim dalam menyerap sinar UV dikarenakan penambahan zat aktif ekstrak etanol daun kopi arabika yang terbukti pada F1 (basis krim) tidak memberikan nilai SPF. Baik ekstrak maupun krim tergolong dalam kemampuan SPF minimal (rentang 2-4). Senyawa fitokimia dalam ekstrak etanol daun kopi arabika yang mungkin berperan dalam potensi penyerapan sinar ultraviolet antara lain senyawa flavonoid dan fenolik (Mansur *et al*, 2016). Beberapa golongan senyawa aktif yang berasal dari bahan alam seperti flavonoid, tanin, antrakuinon, sinamat, dan glikosida dilaporkan memiliki kemampuan melindungi dari sinar UV (Donglikar dan Deore, 2017). Fraksi daun kopi robusta (*Coffea canephora ex Froehner*) tanpa diformulasi mengandung nilai SPF lebih dari 18 (Yuliawati *et al.*, 2019).

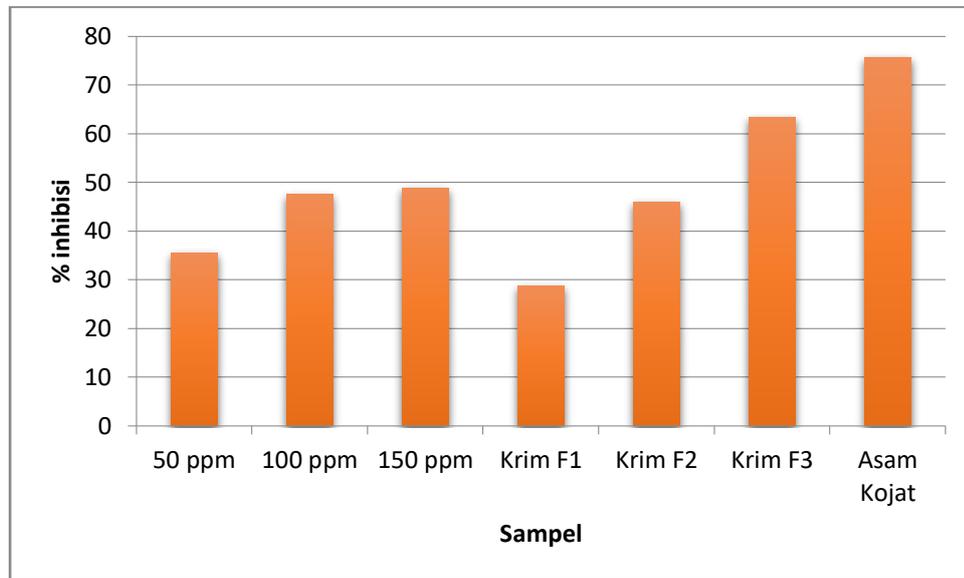
Uji inhibisi tirosinase ekstrak dan krim daun kopi arabika

Uji *in vitro* tirosinase menggunakan enzim tirosinase jamur dengan substrat L-DOPA. Senyawa L-DOPA akan diubah menjadi dopakuinon yang berikutnya akan menjadi melanin yang merupakan pigmen warna kulit. Inhibisi pada proses enzim tirosinase tersebut dapat menjadi alternatif untuk kosmetik (Lithiwitayawuid *et al.*, 2008).

Tabel 4. Hasil SPF Ekstrak dan Krim Daun Kopi Arabika

nm	Rerata Absorbansi					
	Ekstrak 50 ppm	Ekstrak 100 ppm	Ekstrak 150 ppm	Krim F1	Krim F2	Krim F3
290	0,2073	0,3441	0,4857	0,0198	0,5016	0,7977
295	0,1809	0,2995	0,4255	0,0030	0,4300	0,6870
300	0,1682	0,2819	0,3952	0,0006	0,3918	0,6240
305	0,1611	0,2701	0,3781	0,0003	0,3668	0,5838
310	0,1570	0,2641	0,3694	0,0007	0,3502	0,5579
315	0,1577	0,2647	0,3698	0,0006	0,3385	0,5416
320	0,1602	0,2873	0,3734	0,0007	0,3299	0,5304
SPF	1,644	2,758	3,862	0,010	3,751	5,977

Hasil uji inhibisi tirosinase pada ekstrak etanol daun kopi arabika konsentrasi 50 ppm, 100 ppm dan 150 ppm berturut turut adalah 35,51%, 47,50% dan 48,79%. Hasil antara 100 ppm dan 150 ppm tidak berbeda signifikan. Hasil untuk sediaan krim pada basis krim yaitu F1 menunjukkan adanya penghambatan tirosinase yaitu 28,76%. Penghambatan pada krim F2 dan F3 yaitu 46,01% dan 63,01%. Asam kojat 50 ppm digunakan sebagai kontrol positif dengan penghambatan sebesar 75,60%.



Gambar 3. Diagram Persen Inhibisi Enzim Tirosinase Secara in vitro

Daun kopi mengandung berbagai senyawa fitokimia yang berpotensi sebagai inhibitor tirosinase seperti alkaloid (kafein, trigonelin, teobromin dan 7-metilxantin), flavonoid (antosianin, kuersetin, rutin dan kaempferol), asam fenolat (asam kafeinat, asam klorogenat dan asam ferulat) serta katekin (Campa et al., 2012; Junior et al., 2012; Patay et al., 2016; Ross, 2005).

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

Ekstrak etanol daun kopi arabika memiliki berbagai kandungan senyawa fitokimia yang berpotensi sebagai tabir surya dan inhibitor tirosinase. Ekstrak etanol 150 ppm dan krim F3 memiliki hasil paling tinggi untuk nilai SPF sebagai tabir surya dan persen inhibisi untuk inhibitor tirosinase. Studi lebih lanjut mengenai konsentrasi optimal dan stabilitas sediaan sangat diperlukan untuk pengembangan formulasi sediaan kosmetik.

BAB 6 LUARAN YANG DICAPAI

Luaran wajib

Jurnal

IDENTITAS JURNAL		
1	Nama Jurnal	JKSA – Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi
2	Website Jurnal	https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/index
3	Status Makalah	Submitted
4	Jenis Jurnal	Jurnal Nasional terakreditasi Sinta 2
4	Tanggal Submit	18 April 2020
5	Bukti Screenshot submit	

Luaran tambahan

Jurnal

IDENTITAS JURNAL		
1	Nama Jurnal	Media Farmasi
2	Website Jurnal	http://journal.poltekkes-mks.ac.id/ojs2/index.php/mediafarmasi
3	Status Makalah	Submitted
4	Jenis Jurnal	Jurnal Nasional terakreditasi Sinta 5
4	Tanggal Submit	18 April 2020

5 Bukti Screenshot submit



BAB VII RENCANA TINDAK LANJUT DAN PROYEKSI HILIRISASI

Minimal mencakup 2 hal ini.

Hasil Penelitian	Penelitian yang peneliti lakukan termasuk dalam inovasi produk alternatif kosmetik untuk tabir surya dan pencerah kulit. Produk krim dengan zat aktif ekstrak daun kopi arabika merupakan salah satu alternatif yang dapat dipertimbangkan untuk kosmetik. Riset lanjutan diperlukan untuk mengetahui secara spesifik senyawa-senyawa yang berkhasiat sebagai tabir surya. Formulasi juga perlu dikembangkan supaya tampilan produk menjadi lebih estetik dan disukai oleh konsumen. Uji iritasi dan toksisitas juga perlu dilakukan untuk mengetahui keamanan produk.
Rencana Tindak Lanjut	Tindak lanjut penelitian yang dapat disarankan adalah : <ol style="list-style-type: none">1. Proses fraksinasi kemudian isolasi senyawa yang diduga aktif sebagai tabir surya dan tirosinase inhibitor.2. Uji secara in vivo senyawa aktif ekstrak daun kopi arabika sebagai tabir surya dan pencerah kulit.3. Formulasi sediaan topikal dengan zat aktif fraksi atau isolat daun kopi arabika yang lebih diterima oleh konsumen sebagai tabir surya misalnya pada sisi warna, bau atau aroma, tampilan, daya sebar, daya proteksi dan stabilitas.4. Uji toksisitas sediaan topikal yang telah diformulasi5. Pembuatan produk yang siap dipasarkan dan didaftarkan notifikasi sebagai kosmetik di Badan POM

DAFTAR PUSTAKA

- Batubara I., Darusman LK., Mitsunaga T., Rahminiwati M., Djauhari E., Potency of Indonesian Medicinal Plants as Tyrosinase Inhibitor and Antioxidant Agent. *Journal of Biological Sciences*, 10, 2, (2010), 138-144, <http://dx.doi.org/10.3923/jbs.2010.138.144>
- Campa, C., Mondolot, L., Rakotondravao, A., Bidel, L. P., Gargadennec, A., Couturon, E.,... Davis, A. P., A survey of mangiferin and hydroxycinnamic acid ester accumulation in coffee (*Coffea*) leaves: Biological implications and uses, *Annals of Botany*, 110, 3, (2012), 595–613, <https://doi.org/10.1093/aob/mcs119>
- Costa, S. C. C., Detoni, C. B., Branco, C. R. C., Botura, M. B., & Branco, A. (2015). In vitro photoprotective effects of *Marcetia taxifolia* ethanolic extract and its potential for sunscreen formulations. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 25(4), 413–418. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.07.013>
- Dey, S., Rathod, V.K. 2013. Ultrasound assisted extraction of β -carotene from *Spirulina platensis*, dalam: *Ultrasonics Sonochemistry*, 20, 271 – 276.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI. 2011. Farmakope Indonesia. Edisi IV. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Jakarta.
- Donglikar, M. M., & Deore, S. L. (2017). Development and evaluation of herbal sunscreen. *Pharmacognosy Journal*, 9(1), 83–97. <https://doi.org/10.5530/pj.2017.1.15>
- Fitri, N.S. 2008 Pengaruh berat dan waktu Penyeduhan terhadap kadar kafein daun teh. Fakultas matematika dan ilmu pengetahuan alam, Universitas Sumatra Utara : Medan.
- Gandjar IG, Rohman A. 2014. *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar. Yogyakarta. Hlm. 323-417.
- Ghoge P, Kale S, Ansari A, Waje A, Sonawane A., Formulation and in-vitro determination of sun protection factor of *Nigella sativa* Linn. seed oil sunscreen cream, *International Journal of Pharm Tech Research*, 2, 4, (2010), 2194-2197.
- Gómez, R., Vanheuverzwjin, J., Souard, F., Delporte, C., Stevigny, C., Stoffelen, P., ... Kauffmann, J. M. (2018). Determination of three main chlorogenic acids in water extracts of coffee leaves by liquid chromatography coupled to an electrochemical detector. *Antioxidants*, 7(10). <https://doi.org/10.3390/antiox7100143>

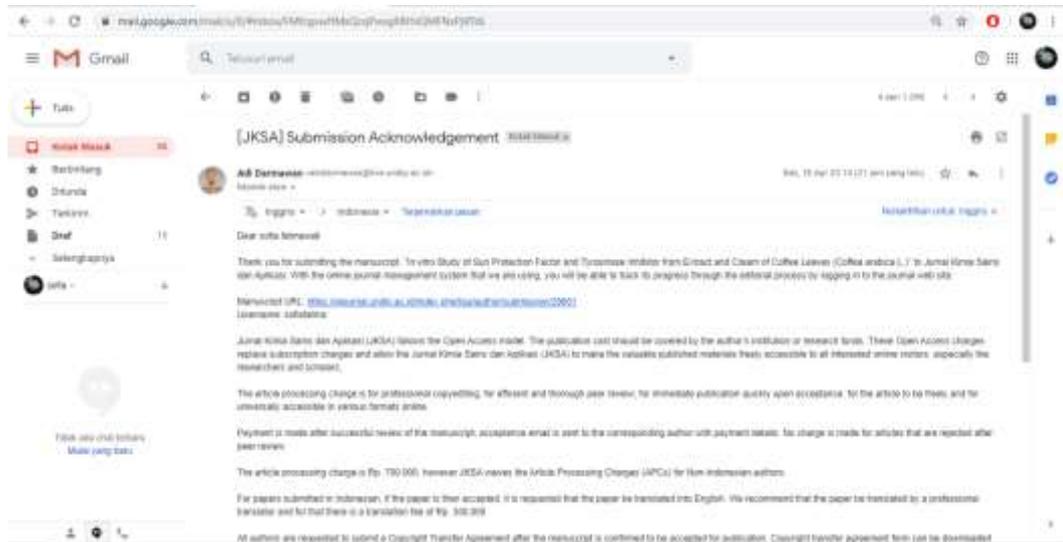
- Handayani, S. & Arty, I.S. (2008). Synthesis of Hydroxyl Radical Scavengers from Benzalacetone and its Derivatives. *Journal of Physical Science*, Vol. 19(2), 61–68, 2008
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, ITB, Bandung. Hlm : 6-9
- Hemwimol, S., P. Pavasant and A. Shotipruk. 2006. *Ultrasonic Sonochemistry*. 13, 543
- Júnior, A. P. D., Shimizu, M. M., Moura, Jullyana Cristina, Silva, Magalhães, Catharino, R. R., Ramos, R. A., ... Mazzafera, P., Looking for the physiological role of anthocyanins in the leaves of *coffea arabica*. *Photochemistry and Photobiology*, 88, 4, (2012) 928–937, <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2012.01125.x>
- Juwita A.P., Yamlean, P.V.Y., Edy, H.J., *Formulasi Krim Ekstrak Etanol Daun Lamun (Syngodium isoetifolium)*, *Pharmacon*, 2, 2, (2013) 8-12
- Kartawiguna, E. (2011). Faktor-faktor yang berperan pada karsinogenesis. *Jurnal Kedokteran Trisakti*. Vol 20(1): 16-20
- Keil, F. J. 2007. *Modeling of Process Intensification*, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
- Kuldiloke, J. 2002. *Effect Of Ultrasound Temperature And Pressure Treatments On Enzyme Activity and Quality Of Fruit and Vegetable Juices*. Dissertation der Technischen Universität Berlin. Berlin.
- Lee, K.Y., Bharadwaj, S., Yadava, U., & Kang, S.G. (2019). Evaluation of caffeine as inhibitor against collagenase, elastase and tyrosinase using *in-silico* and *in-vitro* approach, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 34:1, 927-936, <https://doi.org/10.1080/14756366.2019.1596904>
- Liu MC, Lin CT, Shau MD, Chen ZS and Chen MT. (1996). Studies on natural ultraviolet absorbers. *J. Food Drug Anal.* 4: 243-248.
- Lithiwitayawuid K, *Stilbenes with Tyrosinase Inhibitory Activity*. *Current Science*, 94, (2008), 44–52.
- Mansur J. S., Breder, M.N.R., Mansur, M.C.A., Azulay, R.D., *Determination of Sun protection Factor by Spectrophotometry*, *An Bras Dermatol*, 61, (1986), 121-124
- Mansur, R. M. C. P. P., Leitão, S. G., Cerqueira-Coutinho, C., Vermelho, A. B., Silva, R. S., Presgrave, O. A. F., ... Santos, E. P. (2016). In vitro and in vivo evaluation of efficacy and safety of photoprotective formulations containing antioxidant extracts. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 26(2), 251–258. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.11.006>
- Maramis, Rialita., Gayatri Citraningtyas., Frenly Wehantouw. 2013. *Analisis Kafein Dalam Kopi Bubuk Di Kota Manado Menggunakan*

- Spektrofotometri UV-Vis. Dalam: Jurnal Ilmiah Farmasi–UNSRAT Vol.2No.04, 2302-2493.
- Marliana, SD., Suryanti, V., dan Suyono. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi* 3 (1): 26-31.
- Maske, P. P., Lokapure, S. G., Nimbalkar, D., Malavi, S., & D'souza, J. I. (2013). In vitro determination of sun protection factor and chemical stability of *Rosa kordesii* extract gel. *Journal of Pharmacy Research*, 7(6), 520–524. <https://doi.org/10.1016/j.jopr.2013.05.021>
- Muttalib, S.A., Nugroho W, J., dan Bintoro, N. (2012). Identifikasi Aroma Campuran (Blending) Kopi Arabika Dan Robusta Dengan Electronic Nose Menggunakan Sistem Pengenalan Pola. *Prosiding Seminar Nasional Perteta*.
- Nugrahaeni, F., & Hariyadi, D. M., Rosita, N. (2018). Partition Coefficient and Glutathione Penetration of Topical Antiaging:Preformulation Study. *International Journal of Drug Delivery Technology*, 8(2), 39–43. <https://doi.org/10.25258/ijddt.v8i2.13866>
- Patay, E. B., Nemeth, T., Nemeth, T. S., Filep, R., Vlase, L., & Papp, N., Histological and phytochemical studies of *Coffea benghalensis* Roxb. Ex. Schult. compared with *Coffea arabica* L. *Farmacia*, 64, 1, (2016), 125–130.
- Pillaiyar, T., Manickam, M.& Namasivayam, V.(2017). Skin whitening agents: medicinal chemistry perspective of tyrosinase inhibitors. *Journal Of Enzyme Inhibition And Medicinal Chemistry*, 2017 vol. 32, no. 1, 403–425 . <http://dx.doi.org/10.1080/14756366.2016.1256882>
- Pristiana DY, Susanti S, Nurwantoro N. Aktivitas Antioksidan Dan Kadar Fenol Berbagai Ekstrak Daun Kopi (*Coffea* sp.): Potensi Aplikasi Bahan Alami Untuk Fortifikasi Pangan. *J Apl Teknol Pangan*. 2017;6(2). <https://doi.org/10.17728/jatp.205>
- Ramos , A., Jose, L. P., Jefferson, R, Danielle, O., Silvia, L. B., dan Ana, C. F. A. 2017. An Experimental Design Approach To Obtain Canthinone Alkaloid Enriched Extracts From *Simaba aff Paraensis*. *Arabian Journal Of Chemistry*, 5 (2): 1- 6
- Ross, I. A., 2005. *Medicinal plants of the world*. New Jersey: Humana Press.
- Sani RN, Fithri CN, Ria DA, Jaya MM., Analisa Rendemen dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Mikroalga Laut *Tetraselmis chuii*, *Jurnal Pangan Argoindustri*, (2014), 121-126
- Shetty, P. K., Venuvanka, V., Jagani, H. V., Chethan, G. H., Ligade, V. S., Musmade, P. B., ... Mutalik, S. (2015). Development and evaluation of sunscreen creams containing morin-encapsulated nanoparticles for enhanced UV radiation protection and antioxidant activity. *International Journal of Nanomedicine*, 10, 6477–6491. <https://doi.org/10.2147/IJN.S90964>

- Suriani. 1997. Analisis Kandungan Kofeina Dalam Kopi Instan Berbagai Merek yang Beredar di Ujung Pandang. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Susanti, N.M.P., Budiman, I.N.A., Warditiani, N.K., Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 90% Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.), Jurnal Farmasi Udayana, 3, 1, (2014), 63-86
- Svobodová A, Psotová J. &, Walterová D. (2003). Natural phenolics in the prevention of UV-induced skin damage. A review. [Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.](#) 147(2):137-45.
- Tendulkar, R. D., Vadivel, E., and V. V. Harmalkar. (2015). “Comparative Anti-Oxidant And Anthelmintic Activity Of *Dalbergia Sissoo* Roxb Ex Dc And *Dalbergia Latifolia* Roxb Ex Dc”. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, Vol. 7, no. 4, 1, pp. 70-72,
- Trenggono, R.I., Latifah, F., Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik, Jakarta, PT Gramedia Pustaka Utama, 2014
- Tukiran, Suyatno, Hidayati N. 2014. Skrining Fitokimia Psada Beberapa Ekstrak Dari Tumbuhan Bugenvil (*Bougainvillea glabra*), Bunga Sepatu (*Hibricus rosa-sinensis* L.), dan Ungu (*Graptophylum pictum* Griff). *Phytochemistry*. Universitas Negeri Surabaya, Surabaya. Hlm 2595-2601
- Wijngaard, H., Hossain, M. B., Rai, D. K., Brunton, N. 2012. Techniques to extract bioactive compounds from food byproducts of plant origin, Dalam: *Food Research International*. 46, 505 – 513.
- Young, A. R., Claveau, J., & Rossi, A. B. (2017). Ultraviolet radiation and the skin: Photobiology and sunscreen photoprotection. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 76(3), S100–S109. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2016.09.038>
- Yuliawati. M.k., Sadiyah, R.E., Solehati, R. Ellgiawan, A. (2019). Sunscreen Activity Testing of Robusta Coffee (*Coffea cenephora* ex froehner) Leave Extract and Fractions. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 1(1). <https://doi.org/10.24198/ijpst.v1i1.19151>
- Zhanga, f., Chena, B., Xiaoa, S., dan Yaoa, S. 2005. Optimization And Comparison Of Different Extraction Technique For Sanguinarine And Chelerythrine In Fruits Of *Macleaya Cordata*. *Separation And Purification Technology*, 42 (1): 283-290.
- Zou TB, En-Qin Xia, Tai-Ping He, Ming-Yuan Huang, Qing Jia, and Hua-Wen Li. 2014. Ultrasound-Assisted Extraction of Manganese from Mango Leaves Using Response Surface Methodology. *Molecules* 19, 1411-1421

LAMPIRAN

Luaran Wajib



In vitro Study of Sun Protection Factor and Tyrosinase Inhibitor from Extract and Cream of Coffee Leaves (Coffea arabica L.)

Studi in vitro Tabir Surya dan Inhibisi Tirosinase dari Ekstrak dan Krim Daun Kopi (Coffea arabica L.)

Sofia Fatmawati¹⁾, Fitria Nugrahaeni¹

Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Muhammadiyah Prof Dr Hamka, DKI Jakarta, Indonesia

fatmawatisofia@email.com (*), fitrianugrahaeni2ua@email.com

Abstract. Coffee leaves are one part of the plant which has not been optimally utilized but has great potential as a cosmetic ingredient. Arabica coffee leaves contain many phytochemical compounds have been reported to various activities. The purpose of this study was to evaluate ethanol extracts and sunscreen cream preparations with variations in the concentration of, determine the value of Sun Protection Factor and inhibition of tyrosinase. The SPF values and inhibition percentage of the coffee leaf extracts and cream results that 150 ppm extract and cream containing 2% extract have the highest UV protection. These extract and cream could become a good, cheap and easily available formulation ingredients in sunscreen products.

Keywords: Coffee; Cream; Leaves ; SPF; Tyrosinase

Abstrak. Daun kopi merupakan bagian tanaman yang belum dimanfaatkan secara optimal tetapi mempunyai potensi yang bagus sebagai komponen kosmetik. Daun kopi arabika mempunyai berbagai senyawa fitokimia yang telah dilaporkan memiliki beberapa aktivitas. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk evaluasi ekstrak etanol daun kopi arabika dan pembuatan krim dengan beberapa konsentrasi ekstrak daun kopi arabika, mengetahui nilai SPF ekstrak dan krim serta studi inhibisi enzim tirosinase. Nilai SPF dan persen inhibisi ekstrak etanol daun kopi arabika dan krim berturut-turut paling tinggi pada 150 ppm dan 2%. Ekstrak dan krim daun kopi arabika dapat menjadi alternatif komponen formulasi produk tabir surya yang baik dan tersedia dalam jumlah banyak.

Kata kunci: Daun; Kopi; Krim; SPF; Tirosinase

1. Pendahuluan. Subbab pertama

Pemanfaatan tanaman kopi pada umumnya terfokus pada biji kopi yang dianggap memiliki nilai ekonomis tinggi. Secara umum ada dua jenis kopi yang budidayakan di Indonesia yaitu kopi Robusta dan Arabika. Kopi Arabika memiliki mutu cita rasa lebih baik dibandingkan kopi Robusta [1]. Sementara itu, daun kopi merupakan bagian tanaman yang selama ini pemanfaatannya belum optimal [2]. Aktivitas antioksidan berperan dalam menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul reaktif yang dapat

merusak sel [3]. Daun kopi arabika mengandung alkaloida, kafein, saponin, flavonoid, dan polifenol yang dapat mencegah berbagai penyakit karsinogenik [4]. Daun kopi arabika mengandung alkaloida, kafein, saponin, flavonoid, dan polifenol yang dapat mencegah berbagai penyakit karsinogenik [4]. Senyawa fenolik dapat berperan sebagai tabir surya untuk mencegah efek yang merugikan akibat radiasi UV pada kulit karena antioksidan sebagai fotoprotektif [5]. Senyawa antioksidan merupakan suatu inhibitor yang digunakan untuk menghambat autooksidasi [6].

Alkaloida kafein konsentrasi 1000 ppm terbukti sebesar 13,72% menghambat tirosinase yang efektif secara *in vitro* [7]. Studi terbaru menunjukkan bahwa peran spesifik dari enzim tirosinase dalam membatasi kecepatan sintesis melanin sehingga penghambatan enzim tirosinase adalah terapi yang efektif untuk menurunkan produksi melanin yang berlebihan saat terpapar cahaya UV dalam waktu yang lama [8].

Sunscreen atau tabir surya mengandung senyawa yang dapat melindungi kulit dari pengaruh sinar ultraviolet (UV) yang dipancarkan sinar matahari dengan cara menyerap sinar UV yang dipancarkan matahari [9]. Senyawa yang terkandung di dalam tabir surya dapat digunakan untuk mencegah timbulnya berbagai penyakit pada kulit dan untuk melindungi kesehatan kulit manusia dari pengaruh negatif sinar UV. Tabir surya dibagi menjadi 2 kelompok yaitu tabir surya fisik dan tabir surya kimia. Tabir surya kimia yaitu tabir surya yang menyerap sinar ultraviolet, misalnya PABA, ester PABA, benzofenon, avobenzon, salisilat, sinamat dan derivat kamfer [10].

Penelitian ini bertujuan untuk melihat aktivitas tabir surya dan inhibisi tirosinase secara *in vitro* pada ekstrak etanol daun kopi dan formulasi krim ekstrak daun kopi.

2. Metodologi.

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahap yaitu ekstraksi daun kopi, skrining fitokimia, pembuatan krim, uji Sun Protection Factor (SPF) dan uji inhibisi tirosinase.

2.1. Peralatan dan Bahan.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer uv-vis, timbangan analitik, rotary evaporator, pengaduk magnetic, labu bulat, thermometer, waterbath, hotplate, ultrasentrifugasi dan alat-alat gelas. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kopi arabika yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITTRO), etanol 70%, aquades, *Tyrosinase from mushroom lyophilized powder*, L-DOPA, Asam kojat, cetil alkohol, PEG 200, EDTA, trietanolamin, metilparaben.

2.2. Ekstraksi daun kopi arabika

Daun kopi arabika segar disortasi basah dari bahan-bahan pengotor. Selanjutnya dilakukan pencucian dengan air mengalir hingga bersih setelah itu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan hingga kering dan dilakukan sortasi kering. Simplisia dihaluskan dengan menggunakan blender hingga menjadi serbuk, lalu diayak dengan ayakan mesh no. 40 dan ditimbang. Serbuk daun kopi arabika ditimbang 50 gram sebanyak 5 kali, dilarutkan dalam etanol 70% sebanyak 500 ml kemudian ditempatkan dalam ultrasonik bath pada suhu ruang. Selanjutnya disaring dengan kertas saring whatman no 1. Proses ekstraksi dilakukan secara berulang sampai filtrat menjadi jernih. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dalam rotari evaporator dan dikemas dalam botol gelap.

2.3. Karakteristik mutu ekstrak dan skrining fitokimia ekstrak etanol daun kopi arabika

Ekstrak kental daun kopi arabika dihitung rendemen ekstrak yaitu perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal. Rendemen menggunakan satuan persen (%), semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menandakan nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak. Pemeriksaan organoleptis meliputi pemeriksaan bentuk, warna, bau dan rasa dari ekstrak daun kopi arabika. Kadar abu dengan cara Timbang saksama 2 gram ekstrak etanol 50%, 70% dan 96% tunggal masukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijar dan ditara, pijarkan perlahan-lahan sampai arang habis, dinginkan dan timbang. Jika dengan cara ini arang tidak dapat dihilangkan, tambahkan air panas, aduk, saring melalui kertas saring bebas abu. Pijarkan kertas saring beserta sisa penyaringan dalam krus yang sama. Masukkan filtrat ke dalam krus, uapkan dan pijarkan hingga bobot tetap. Kadar abu total dihitung terhadap berat bahan uji, dinyatakan dalam % b/b [11]. Susut pengeringan menggunakan moisture balance dengan cara hidupkan alat kemudian panaskan alat selama 10menit, lakukan setting alat untuk susut pengeringan timbang ekstrak sebanyak 2g kemudian tutup alat, biarkan alat berjalan otomatis, tulis data yang didapatkan (lampu mati) biarkan suhu menurun, tekan off.

Ekstrak diidentifikasi kandungan alkaloid menggunakan pereaksi mayer dan bouchardat dengan hasil positif endapan putih serta dragendorf yang menghasilkan endapan coklat muda sampai kuning sedangkan untuk alkaloid spesifik kafein menggunakan reagen parry dan ammonia encer [11]. Identifikasi senyawa fenolik menggunakan reagen $FeCl_3$ yang membentuk warna biru kehitaman sampai ungu. Tanin dapat terdeteksi menggunakan $FeCl_3$ serta reagen $NaCl$ dan larutan gelatin. Flavonoid khas dianalisis menggunakan HCl dan

serbuk Mg. Reaksi Liebermann-Burchard dapat mendeteksi steroid. Kemudian untuk saponin sangat khas diuji pembentukan busa yang tidak hilang dengan penambahan HCl.

2.4. Pembuatan dan evaluasi krim ekstrak etanol daun kopi arabika

Rancangan formula sediaan krim ekstrak daun kopi dibuat dengan 3 konsentrasi antara lain konsentrasi 0%, 1%, 2%. Berat total sediaan sebesar 100 gram. Setiap formulasi akan direplikasi sebanyak tiga kali replikasi. Pada penelitian ini ekstrak yang digunakan adalah ekstrak daun kopi. Rancangan formula krim ekstrak daun kopi dapat dilihat pada Tabel 1.

Langkah pertama pembuatan krim yaitu penyiapan fase air dengan cara melarutkan metil paraben dan trietanolamin dalam akuades. Langkah kedua, penyiapan fase minyak meliputi metil paraben, asam stearat, gliserin dan ekstrak daun kopi dipanaskan dengan akuades suhu 80 °C. Langkah ketiga, fase minyak ditambahkan ke fase air pada suhu 80°C dengan pengadukan terus menerus selama 20-25 menit dan kemudian dihomogenisasi sampai emulsi terbentuk, kemudian dituangkan ke wadah yang sesuai dan disimpan pada suhu ruang.

Evaluasi formulasi krim meliputi uji organoleptik, penentuan tipe krim, penentuan pH, uji daya lekat, uji daya sebar dan uji homogenitas.

2.4.1 Uji organoleptik

Uji organoleptik dilakukan dengan mengamati bau, warna, dan tekstur sediaan.

2.4.2 Penentuan tipe krim

Penentuan tipe krim menggunakan pewarna metilen blue yaitu sejumlah sediaan diletakkan diatas objek glass, ditambahkan 1 tetes metil biru, diaduk dengan batang pengaduk. Bila metil biru tersebar merata berarti sediaan tipe m/a (minyak dalam air) tetapi bila hanya bintik-bintik biru berarti sediaan tipe a/m (air dalam minyak).

2.4.3 Penentuan pH

Ditimbang sebanyak 1gr susnscreen krim ekstrak daun kopi arabika dan diencerkan dengan 10ml aquades. Diukur menggunakan pH meter dan dicatat setelah mencapai kestabilan. Krim memiliki variasi pH sebagian besar mulai dari 5 hingga 9.

2.4.4 Uji Daya Lekat

Ditimbang sebanyak 1gram krim ekstrak daun kopi arabika diletakkan diatas gelas objek, kemudian gelas objek lain diletakkan diatas krim tersebut. Ditekan dengan beban 1 kg selama 5 menit. Dipasang gelas objek lain pada alat tes. Dilepas beban seberat 80g, dicatat waktunya hingga kedua gelas objek terlepas [12]

2.4.5 Uji Daya Sebar

Ditimbang sebanyak 0,5 g susnscreen krim ekstrak daun kopi arabika dan diletakkan ditengah lapis kaca. Diletakkan lapisan kaca lainnya diatas krim. Dibiarkan selama 1 menit kemudian diukur dengan diameter krim yang menyebar. Ditambahkan beban tambahan 50 gram. Didiamkan 1 menit setiap penambahan beban dan diukur diameter hingga beban mencapai 500 gram [12]

2.4.6 Uji Homogenitas

Diambil 1 gr krim ekstrak daun kopi arabika pada bagian atas, tengah, dan bawah kemudian dioleskan pada sekeping kaca transparan. Diamati jika terjadi pemisahan [13]

Tabel 1. Formula Krim Ekstrak Etanol Daun Kopi Arabika

No	Bahan	Formula (%)		
		F1	F2	F3
1	Ekstrak daun kopi	0	1	2
2	Cetil alcohol	5	5	5
3	Asam stearat	13	13	13
4	Gliserin	10	10	10
5	Trietanolamin	4	4	4
6	Metil paraben	0,2	0,2	0,2
7	Akuades	sampai 100 ml	sampai 100 ml	sampai 100 ml

2.5. Uji Sun Protection Factor (SPF) ekstrak dan krim daun kopi arabika

Ekstrak etanol daun kopi arabika diencerkan dengan etanol sampai konsentrasi 50, 100 dan 150 ppm. Krim ekstrak daun kopi pada masing-masing formula ditimbang sebanyak 500 mg kemudian dilarutkan dalam etanol sampai 100 ml dengan bantuan ultrasonik. Penentuan nilai SPF dilakukan dengan cara mengukur serapan larutan dari ekstrak dan krim menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 290-320 nm. Sampel dilarutkan dalam 5 mL etanol p.a. Penentuan nilai SPF dilakukan sebanyak tiga kali replikasi pada masing-masing sampel. Data absorbansi yang diperoleh diolah dengan persamaan Mansur [14].

$$SPF = CF \times EE \times I(\lambda) \times \text{abs}(\lambda)$$

Nilai SPF dapat dihitung dengan mengalikan nilai faktor koreksi (CF), spektrum efek eritemal (EE), spektrum intensitas dari matahari (I) dan juga absorbansi (Abs) dari sampel krim ekstrak etanol daun kopi. Penilaian SPF mengacu pada ketentuan FDA (Food and Drug Administration) yaitu proteksi minimal jika SPF 2-4, proteksi sedang 4-6, proteksi ekstra 6-8, proteksi maksimal 8-15 dan proteksi ultra >15.

2.6. Uji inhibisi tirosinase ekstrak dan krim daun kopi arabika

Setiap sampel ekstrak dan krim disiapkan dengan pelarut DMSO. Asam kojat digunakan sebagai kontrol positif. Larutan ekstrak, krim dan asam kojat dimasukkan dalam pelat tetes 96 sumbu. Sampel masing-masing ditambahkan sebanyak 70 μ L kemudian ditambahkan 30 μ L enzim tirosinase konsentrasi 333 unit/ml dalam bufer fosfat lalu diinkubasi selama 5 menit. Kemudian, 110 μ L L-DOPA 12 mM ditambahkan dan pelat diinkubasi selama 30 menit pada

suhu 37 °C. Pelat kemudian diukur absorbansinya menggunakan *micro-plate reader* pada panjang gelombang 492 nm. Persen inhibisi dihitung dengan jalan membandingkan absorbansi blanko dengan absorbansi sampel [15].

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Karakteristik mutu ekstrak dan skrining fitokimia

Rendemen ekstrak yang didapatkan sebanyak 14,66% dari serbuk daun kopi arabika. Ekstrak yang didapatkan memiliki bentuk cairan kental, berbau khas, rasa pahit dan warna coklat. Kadar abu total ekstrak sebesar 8,00 %, kadar abu total memberikan gambaran mineral baik senyawa organik maupun anorganik yang diperoleh secara internal maupun eksternal. Hasil kadar abu telah memenuhi persyaratan yaitu tidak lebih dari 18% [16]. Susut pengeringan adalah pengukuran sisa zat setelah pengeringan pada suhu 105 °C selama 30 menit atau sampai berat konstan, yang dinyatakan sebagai nilai persen (%). Nilai susut pengeringan ekstrak etanol daun kopi arabika adalah 5,81 % yang berarti memenuhi syarat kurang dari 10 [16].

Senyawa fitokimia merupakan metabolit sekunder yang memiliki fungsi dan efek tertentu ketika dikonsumsi manusia [17]. Uji skrining fitokimia merupakan salah satu upaya untuk mengetahui potensi dari suatu tanaman. Skrining fitokimia menunjukkan ekstrak etanol daun kopi arabika mengandung beberapa jenis metabolit sekunder. Hampir seluruh metabolit sekunder tertarik pada ekstrak karena proses ekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% yang bersifat semipolar sehingga mampu menarik senyawa polar, semipolar dan sedikit senyawa non polar [17].

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kopi

No	Senyawa yang dideteksi	Hasil	Kesimpulan
1	Alkaloid	Endapan putih dengan reagen Mayer dan bouchardat, endapan coklat muda dengan reagen dragendorff	positif
2	Fenolik	Larutan warna biru kehitaman dengan reagen FeCl ₃	positif
3	Tanin	Endapan putih dengan reagen gelatin 1% dan larutan biru kehitaman dengan FeCl ₃	positif
4	Flavonoid	Larutan berwarna kuning dengan reagen HCl pelat dan serbuk Mg	positif
5	Steroid	Larutan hijau dengan penambahan	positif

		reagen Lieberman-Burchard	
6	Saponin	Membentuk busa yang tidak hilang dengan HCl	positif

3.2. Pembuatan dan evaluasi krim ekstrak etanol daun kopi arabika

Hasil pengamatan uji organoleptis krim tabir surya daun kopi menunjukkan bahwa sediaan krim tipe M/A memiliki bentuk setengah padat, bau khas dan berwarna coklat (Gambar 1). Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa krim telah homogen, tidak ada butiran-butiran saat digosokkan ke kulit. Berdasarkan hasil uji daya sebar menunjukkan bahwa seluruh formula memenuhi persyaratan daya sebar, yaitu 5-7 cm. Daya sebar krim yang baik akan membuat kontak obat dengan kulit menjadi luas sehingga obat cepat diabsorpsi. Pada pengukuran pH didapatkan krim memiliki pH 5,5, sehingga aman digunakan sesuai dengan persyaratan sediaan topical yaitu antara 4,5-6,5 [18].



Gambar 1. Krim Ekstrak Etanol Daun Kopi Arabika

3.2.1 Uji SPF ekstrak dan krim daun kopi arabika

SPF krim memberikan hasil lebih tinggi dibandingkan ekstrak. Kemampuan krim dalam menyerap sinar UV dikarenakan penambahan zat aktif ekstrak etanol daun kopi arabika yang terbukti pada F1 (basis krim) tidak memberikan nilai SPF. Baik ekstrak maupun krim tergolong dalam kemampuan SPF minimal (rentang 2-4). Senyawa fitokimia dalam ekstrak etanol daun kopi arabika yang mungkin berperan dalam potensi penyerapan sinar ultraviolet antara lain senyawa flavonoid dan fenolik [5]. Beberapa golongan senyawa aktif yang berasal dari bahan alam seperti flavonoid, tanin, antrakuinon, sinamat, dan glikosida dilaporkan memiliki kemampuan melindungi dari sinar UV [19]. Fraksi daun kopi robusta (*Coffea canephora* ex Froehner) tanpa diformulasi mengandung nilai SPF lebih dari 18 [20].

Tabel 3. Hasil SPF Ekstrak dan Krim Daun Kopi Arabika

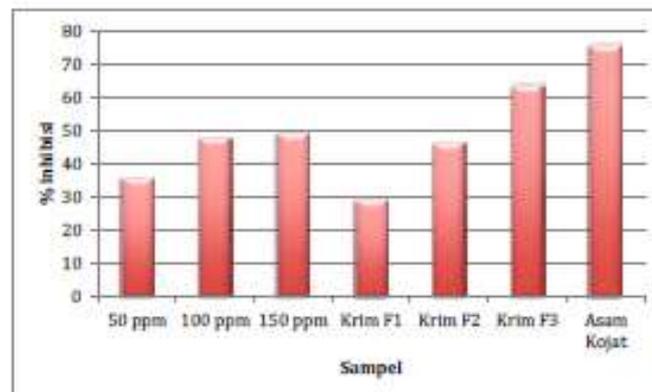
nm	Rerata Absorbansi					
	Ekstrak	Ekstrak	Ekstrak	Krim	Krim	Krim

	50 ppm	100 ppm	150 ppm	F1	F2	F3
290	0,2073	0,3441	0,4857	0,0198	0,5016	0,7977
295	0,1809	0,2995	0,4255	0,0030	0,4300	0,6870
300	0,1682	0,2819	0,3952	0,0006	0,3918	0,6240
305	0,1611	0,2701	0,3781	0,0003	0,3668	0,5838
310	0,1570	0,2641	0,3694	0,0007	0,3502	0,5579
315	0,1577	0,2647	0,3698	0,0006	0,3385	0,5416
320	0,1602	0,2873	0,3734	0,0007	0,3299	0,5304
SPF	1,644	2,758	3,862	0,010	3,751	5,977

3.2.2 Uji inhibisi tirosinase ekstrak dan krim daun kopi arabika

Uji in vitro tirosinase menggunakan enzim tirosinase jamur dengan substrat L-DOPA. Senyawa L-DOPA akan diubah menjadi dopakuinon yang berikutnya akan menjadi melanin yang merupakan pigmen warna kulit. Inhibisi pada proses enzim tirosinase tersebut dapat menjadi alternatif untuk kosmetik [21].

Hasil uji inhibisi tirosinase pada ekstrak etanol daun kopi arabika konsentrasi 50 ppm, 100 ppm dan 150 ppm berturut turut adalah 35,51%, 47,50% dan 48,79%. Hasil antara 100 ppm dan 150 ppm tidak berbeda signifikan. Hasil untuk sediaan krim pada basis krim yaitu F1 menunjukkan adanya penghambatan tirosinase yaitu 28,76%. Penghambatan pada krim F2 dan F3 yaitu 46,01% dan 63,01%. Asam kojat 50 ppm digunakan sebagai kontrol positif dengan penghambatan sebesar 75,60%.



Gambar 2. Diagram Persen Inhibisi Enzim Tirosinase Secara in vitro

Daun kopi mengandung berbagai senyawa fitokimia yang berpotensi sebagai inhibitor tirosinase seperti alkaloid (kafein, trigonelin, teobromin dan 7-metiltantin), flavonoid (antosianin, kuersetin, rutin dan kaempferol), asam fenolat (asam kafeinat, asam klorogenat dan asam ferulat) serta katekin [22-25].

4. Kesimpulan

Ekstrak etanol daun kopi arabika memiliki berbagai kandungan senyawa fitokimia yang berpotensi sebagai tabir surya dan inhibitor tirosinase. Ekstrak etanol 150 ppm dan krim F3 memiliki hasil paling tinggi untuk nilai SPF sebagai tabir surya dan persen inhibisi untuk inhibitor tirosinase. Studi lebih lanjut mengenai konsentrasi optimal dan stabilitas sediaan sangat diperlukan untuk pengembangan formulasi sediaan kosmetik.

Persantunan

Terima kasih kepada Lembaga Penelitian (LemLit) Universitas Muhammadiyah Prof Dr Hamka atas dana hibah penelitian.

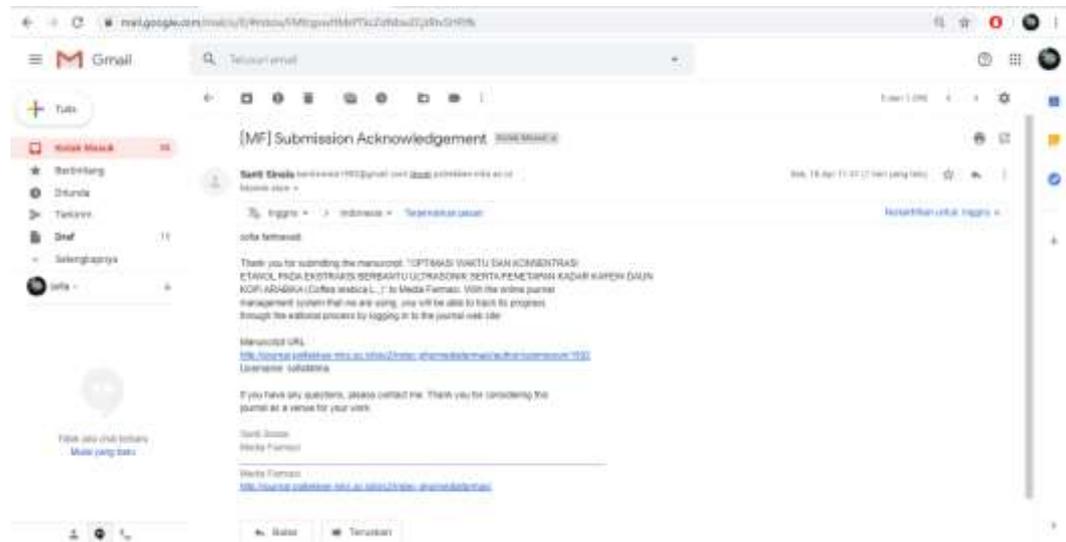
Daftar Pustaka

- [1] Mutalib, S.A., Nugroho W. J., dan Bintoro, N. Identifikasi Aroma Campuran (Blending) Kopi Arabika Dan Robusta Dengan Electronic Nose Menggunakan Sistem Pengenalan Pola, Prosiding Seminar Nasional Perteta, (2012).
- [2] Pristiana DY, Susanti S, Nurwantoro N, Aktivitas Antioksidan Dan Kadar Fenol Berbagai Ekstrak Daun Kopi (Coffea sp.): Potensi Aplikasi Bahan Alami Untuk Fortifikasi Pangan, *J Appl Teknol Pangan*.;6, 2, (2017), <https://doi.org/10.17728/jatp.205>

- [3] Nugrahaeni, F., & Hariyadi, D. M., Rosita, N. Partition Coefficient and Glutathione Penetration of Topical Antiaging-Preformulation Study, *International Journal of Drug Delivery Technology*, 8, 2, 39–43, (2018). <https://doi.org/10.25258/ijddt.v8i2.13866>
- [4] Gómez, R., Vanheuverzwijn, J., Souard, F., Delporte, C., Stevigny, C., Stoffelen, P., ... Kauffmann, J. M., Determination of three main chlorogenic acids in water extracts of coffee leaves by liquid chromatography coupled to an electrochemical detector, *Antioxidants*, 7,10, (2018). <https://doi.org/10.3390/antiox7100143>
- [5] Mansur, R. M. C. P. P., Leitão, S. G., Cerqueira-Coutinho, C., Vermelho, A. B., Silva, R. S., Presgrave, O. A. F., ... Santos, E. P., In vitro and in vivo evaluation of efficacy and safety of photoprotective formulations containing antioxidant extracts, *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 26, 2, (2016), 251–258. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.11.006>
- [6] Tendulkar, R. D., Vadivel, E., and V. V. Harmalkar, Comparative Anti-Oxidant And Anthelmintic Activity Of Dalbergia Sissoo Roxb Ex Dc And Dalbergia Latifolia Roxb Ex Dc, *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 7, 4, 1, (2015), 70–72.
- [7] Lee, K.Y., Bharadwaj, S., Yadava, U., & Kang, S.G., Evaluation of caffeine as inhibitor against collagenase, elastase and tyrosinase using *in-silico* and *in-vitro* approach, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 34, 1, (2019), 927–936. <https://doi.org/10.1080/14756366.2019.1596904>
- [8] Pillaiyar, T., Manickam, M. & Namasivayam, V., Skin whitening agents: medicinal chemistry perspective of tyrosinase inhibitors, *Journal Of Enzyme Inhibition And Medicinal Chemistry*, 32, 1, (2017), 403–425. <http://dx.doi.org/10.1080/14756366.2016.1256882>
- [9] Handayani, S. & Arty, I.S., Synthesis of Hydroxyl Radical Scavengers from Benzalacetone and its Derivatives, *Journal of Physical Science*, 19, 2, (2008), 61–68.
- [10] Kartawiguna, E., Faktor-faktor yang berperan pada karsinogenesis, *Jurnal Kedokteran Trisakti*, 20, 1, (2011), 16–20.
- [11] Departemen Kesehatan RI, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta, 2000.
- [12] Ghoge P, Kale S, Ansari A, Waje A, Sonawane A., Formulation and in-vitro determination of sun protection factor of Nigella sativa Linn. seed oil sunscreen cream, *International Journal of Pharm Tech Research*, 2, 4, (2010), 2194–2197.
- [13] Juwita A.P., Yamlean, P.V.Y., Edy, H.J., *Formulasi Krim Ekstrak Etanol Daun Lamun (Syringodium isoetifolium)*, *Pharmacon*, 2, 2, (2013) 8–12
- [14] Mansur J. S., Breder, M.N.R., Mansur, M.C.A., Azulay, R.D., Determination of Sun protection Factor by Spectrophotometry, *An Bras Dermatol*, 61, (1986), 121–124
- [15] Batubara I., Darusman LK., Mitsunaga T., Rahminiwati M., Djauhari E., Potency of Indonesian Medicinal Plants as Tyrosinase Inhibitor and Antioxidant Agent, *Journal of Biological Sciences*, 10, 2, (2010), 138–144. <http://dx.doi.org/10.3923/jbs.2010.138.144>
- [16] Sami RN, Fithri CN, Ria DA, Jaya MM., Analisa Rendemen dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Mikroalga Laut *Tetraselmis chuii*, *Jurnal Pangan Agroindustri*, (2014), 121–126
- [17] Susanti, N.M.P., Budiman, I.N.A., Warditiani, N.K., Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 90% Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.), *Jurnal Farmasi Udayana*, 3, 1, (2014), 63–86
- [18] Trenggono, R.I., Latifah, F., *Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik*, Jakarta, PT Gramedia Pustaka Utama, 2014
- [19] Donglikar, M. M., & Deore, S. L., Development and evaluation of herbal sunscreen, *Pharmacognosy Journal*, 9, 1, (2017), 83–97. <https://doi.org/10.5530/pj.2017.1.15>
- [20] Yuliawati M.k., Sadiyah, R.E., Solehati, R. Elgiawan, A., Sunscreen Activity Testing of Robusta Coffee (*Coffea canephora ex froehner*) Leave Extract and Fractions. *Indonesian*

- Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 1, 1, (2019), 24-29.
<https://doi.org/10.24198/jipst.v1i1.19151>
- [21] Lithiwayawuid K. Stilbenes with Tyrosinase Inhibitory Activity. *Current Science*, 94, (2008), 44–52.
- [22] Campa, C., Mondolot, L., Rakotondravao, A., Bidel, L. P., Gargadennec, A., Coutron, E., ... Davis, A. P., A survey of mangiferin and hydroxycinnamic acid ester accumulation in coffee (*Coffea*) leaves: Biological implications and uses. *Annals of Botany*, 110, 3, (2012), 595–613. <https://doi.org/10.1093/aob/mcs119>
- [23] Junior, A. P. D., Shimizu, M. M., Moura, Julyana Cristina, Silva, Magalhães, Catharino, R. R., Ramos, R. A., ... Mazzafera, P. Looking for the physiological role of anthocyanins in the leaves of coffee arabica. *Photochemistry and Photobiology*, 88, 4, (2012) 928–937. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2012.01125.x>
- [24] Patay, E. B., Nemeth, T., Nemeth, T. S., Filep, R., Vlase, L., & Papp, N., Histological and phytochemical studies of *Coffea benghalensis* Roxb. Ex. Schult. compared with *Coffea arabica* L. *Farmacia*, 64, 1, (2016), 125–130.
- [25] Ross, I. A., *Medicinal plants of the world*. New Jersey: Humana Press. 2005

Luaran tambahan



OPTIMASI WAKTU DAN KONSENTRASI ETANOL PADA EKSTRAKSI BERBANTU
ULTRASONIK SERTA PENETAPAN KADAR KAFEIN DAUN KOPI ARABIKA (*Coffea
arabica L.*)

OPTIMIZATION OF TIME AND ETHANOL CONCENTRATION IN ULTRASONIC
ASSISTED EXTRACTIONS AND CAFFEINE ASSAY OF ARABICA COFFEE LEAF (*Coffea
arabica L.*) LEAF

Sofia Fatmawati^{1*}, Fitria Nugrahani¹, Tshyurul Bariroh¹
¹Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Muhammadiyah Prof Dr Hamka

*fatmawatisofia@gmail.com, nomor HP : 085727941306

Berikan alamat lengkap dari penulis korespondensi, meliputi alamat email dan No HP (No HP ini tdk akan nampak di Jurnal yg terpublik)

ABSTRACT

Ultrasonic is an effective and efficient non-thermal extraction method. The mechanical effect of the ultrasonic waves increase penetration of the liquid into the cell membrane wall, supporting the release of cell components and increasing mass transfer. Factors affecting ultrasonic extraction include time and solvent concentration. This study aims to determine the ethanol solvent concentration and the maximum time for ultrasonic extraction of arabica coffee leaves. Determination of caffeine levels was also carried out for the effectiveness of ultrasonic extraction. Ethanol concentration and extraction time which give high yield and caffeine content are 70% ethanol and 30 minutes.

Keywords : Caffeine, Coffee, Extraction, Leaves, Ultrasonic

ABSTRAK

Ultrasonik merupakan metode ekstraksi non termal yang efektif dan efisien. Efek mekanik dari gelombang ultrasonik yang ditimbulkan akan meningkatkan penetrasi dari cairan menuju dinding membran sel, mendukung pelepasan komponen sel dan meningkatkan transfer massa. Faktor yang mempengaruhi ekstraksi menggunakan ultrasonik antara lain waktu dan konsentrasi pelarut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi pelarut etanol dan waktu yang maksimal untuk ekstraksi ultrasonik daun kopi arabika. Penetapan kadar kafein juga dilakukan untuk mengetahui efektivitas ekstraksi ultrasonik. Konsentrasi etanol dan waktu ekstraksi yang memberikan rendemen dan kadar kafein tinggi adalah etanol 70% dan waktu 30 menit.

Kata kunci : Daun, Ekstraksi, Kopi, Kafein, Ultrasonik.

PENDAHULUAN

Proses ekstraksi secara umum dapat dilakukan dengan cara maserasi, perkolasi, refluks, ekstraksi dengan alat sodelet, digesti, dan infusa. Ekstraksi konvensional memiliki kelemahan yaitu membutuhkan waktu yang lama dan suhu ekstraksi yang tinggi dengan hasil ekstrak rendah namun konsumsi energi tinggi (Hartwinol *et al.* 2006) sehingga dipertihkan metode alternatif. Salah satu metode ekstraksi yang dapat digunakan adalah metode gelombang ultrasonik. Ultrasonik merupakan metode ekstraksi non termal yang efektif dan efisien. Efek mekanik dari gelombang ultrasonik yang ditimbulkan akan meningkatkan penetrasi dari cairan menuju dinding membran sel, mendukung pelepasan komponen sel dan meningkatkan transfer massa (Kail, 2007).

Penggunaan ultrasonik dapat menimbulkan efek kavitasi yang dapat memecah dinding sel bahan sehingga komponen bioaktif keluar dengan mudah dan didapatkan hasil ekstrak yang maksimal dengan proses ekstraksi yang jauh lebih singkat (Kuldikola, 2002). Metode konvensional seperti maserasi, sodeletasi, perkolasi, dan refluks memiliki kelemahan karena membutuhkan waktu ekstraksi yang lama, membutuhkan banyak pelarut serta hasil ekstrak yang didapatkan kurang maksimal. Optimasi ekstraksi

daun kopi arabika dapat dilakukan dengan metode ekstraksi ultrasonik. Ultrasonik dapat memrumkan suhu operasi pada ekstrak yang tidak tahan panas, sehingga cocok untuk diterapkan pada ekstraksi senyawa bioaktif tidak tahan panas (Zou *et al.*, 2014).

Penelitian mengenai efektivitas penggunaan ultrasonik telah dalam ekstraksi sudah banyak dilakukan seperti penelitian Ramos (2017) dengan tanaman simba (*Simba cabro*) dan Zhang (2005) pada ekstraksi buah *Macleaya cordata*. Faktor yang mempengaruhi ekstraksi menggunakan ultrasonik yaitu ukuran partikel, jenis pelarut, rasio pelarut dengan bahan, suhu, lama waktu ekstraksi, intensitas akustik, ketinggian sampel (dalam bentuk cair), dan siklus dari paparan gelombang ultrasonik (Wijangard *et al.*, 2012). Keuntungan metode ultrasonik adalah dapat meningkatkan hasil ekstraksi, waktu ekstraksi yang singkat, menggunakan suhu rendah, dan volume pelarut yang sedikit (Dey dan Rathod, 2013). Kekurangan metode ultrasonik adalah membutuhkan energi dan biaya yang besar. Rendemen yang dihasilkan dengan menggunakan metode ini lebih tinggi dibandingkan dengan menggunakan metode konvensional (Rostagno dan Prado 2013).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh variasi waktu dan konsentrasi etanol pada proses ekstraksi daun kopi arabika dengan metode ultrasonik dalam menghasilkan ekstrak etanol daun kopi arabika dengan kadar kafein yang lebih tinggi.

METODE

Alat dan Bahan

Alat yang dibutuhkan adalah timbangan analitik, ultrasonic bath, spektrofotometer *uv-vis* (Shimadzu, Jepang), *vacuum rotary evaporator*, *moisture analyzer*, ayakan mesh 40, alat-alat gelas. Bahan yang dibutuhkan adalah daun kopi arabika yang diperoleh dari Institut Pertanian Bogor (IPB), etanol 50%, etanol 70%, etanol 96%, baku kafein, HCl 2N, FeCl₃, NaCl, Pereaksi Dragendorff, Pereaksi Bouchardat, serbuk Mg, aquades, kloroform, etar, H₂SO₄ pekat, asam asetat anhidrat, asam asetat 1%, NH₄OH, mayer, gelatin, aqua pro analisis, Ammonium Hydroxide, CaCO₃.

Pembuatan Serbuk Daun Kopi Arabika

Daun kopi arabika segar disortasi bersih dari bahan-bahan pengotor. Selanjutnya dilakukan pencucian dengan air mengalir hingga bersih setelah itu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan hingga kering dan dilakukan sortasi kering. Sampulnya dihaluskan dengan menggunakan blender hingga menjadi serbuk, lalu diayak dengan ayakan mesh no. 40 ditimbang dan dicatat hasilnya.

Ekstraksi Daun Kopi Arabika Variasi Konsentrasi Etanol

Serbuk daun kopi arabika ditimbang 50 gram sebanyak 5 kali dilarutkan dalam etanol 50%, 70% dan 96% sebanyak 500 ml masing masing di dalam gelas kimia 500 ml kemudian dituangkan dalam ultrasonik bath selama 30 menit pada suhu ruang. Selanjutnya disaring dengan kertas saring Whatman no 1. Filtrat yang diperoleh dipisahkan dalam rotari evaporator dan dikemas dalam botol gelap.

Ekstraksi Daun Kopi Arabika Variasi Waktu

Serbuk daun kopi arabika ditimbang sebanyak 50 gram untuk setiap variasi waktu yang digunakan yaitu 10, 20, dan 30 menit, lalu dimasukkan ke dalam Beaker glass. Dilakukan dengan pelarut etanol 70% sebanyak 500 ml, kemudian diekstraksi dengan suhu ruang menggunakan ultrasonik bath sampai pelarut menjadi jernih. Larutan disaring menggunakan kertas Whatman no 1. Filtrat yang didapat dievaporasi menggunakan rotari vakum evaporator. Ekstrak yang didapat dikemas dengan botol gelap.

Evaluasi Mutu Ekstrak dan Skrining Fitokimia

Ekstrak kental daun kopi arabika dihitung rendemen ekstrak yaitu perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal. Rendemen menggunakan satuan persen (%), semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menandakan nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak (Armando 2009). Pemeriksaan organoleptis meliputi pemeriksaan bentuk, warna, bau dan rasa dari ekstrak daun kopi arabika. Kadar abu dengan cara Timbang vakua 2 gram ekstrak etanol 50%, 70% dan 96% tunggal masukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijar dan ditara, pijarkan perlahan-lahan sampai arang habis, dinginkan dan timbang. Jika dengan cara ini arang tidak dapat dihilangkan, tambahkan air panas, aduk, saring melalui kertas saring bebas abu. Pijarkan kertas saring beserta sisa penyaringan dalam krus yang sama. Masukkan filtrat ke dalam krus, usapkan dan pijarkan hingga bobot tetap. Kadar abu total dihitung terhadap berat bahan uji, dinyatakan dalam % b/b (Depkes 2008). Susut pengeringan menggunakan *moisture balance* dengan cara hidupkan alat kemudian panaskan alat selama 10menit, lakukan setting alat

untuk sunt pengeringan timbang ekstrak sebanyak 2g kemudian tutup alat, biarkan alat berjalan otomatis, tulis data yang didapatkan (lampu mati) biarkan suhu menurun, tekan off.

Ekstrak diidentifikasi kandungan alkaloid menggunakan pereaksi Mayer dan bouchardet dengan hasil positif endapan putih serta dragendorff yang menghasilkan endapan coklat muda sampai kuning sedangkan untuk alkaloid spesifik kafein menggunakan reagen Perry dan ammonia encer (Depkes 2000). Identifikasi senyawa fenolik menggunakan reagen FeCl₃ yang membentuk warna biru kehijauan sampai ungu. Tannin dapat terdeteksi menggunakan FeCl₃ serta reagen NaCl dan larutan gelatin. Flavonoid khas dianalisis menggunakan HCl dan serbuk Mg. Pereaksi Liebermann-Burchard dapat mendeteksi steroid. Kemudian untuk saponin sangat khas diuji pembentukan buaa yang tidak hilang dengan penambahan HCl (Tukiman *et al.* 2014).

Penetapan Kadar Kafein

Ekstrak sebanyak 1 gram dimasukkan ke dalam gelas ukur kemudian ditambahkan 150 ml aquades panas kedalamnya sambil diaduk. Larutan daun kopi arabika panas disaring melalui corong dengan kertas saring kedelapan Erlensmeyer, kemudian 1,5 g kalsium karbonat (CaCO₃) dan larutan dam kopi arabika tadi dimasukkan ke dalam corong puaah lalu diekstraksi sebanyak 4 kali, masing-masing dengan penambahan 25 ml kloroform. Lapisan bawahnya diambil, kemudian ekstrak (fase kloroform) ini dipipet dengan rotary evaporator hingga kloroform menguap seluruhnya. Ekstrak kafein bebas pelarut dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml, diencerkan dengan aquades hingga garis tanda dan dibomogeakan, kemudian dibuat pengenceran dari kafein ekstrak daun kopi arabika yang dibuat 100 ml dengan memipet 1ml/10ml lalu ditentukan kadarnya dengan spektrofotometri UV pada panjang gelombang 273,40 nm. Perikuan yang sama dilakukan untuk tiap-tiap sampel daun kopi arabika dengan berat 1 gram (Fitri, 2008).

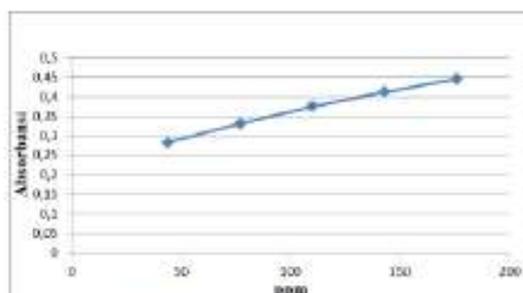
HASIL

Tabel 1. Hasil Evaluasi Mutu dan Kadar Kafein Ekstrak Etanol Daun Kopi Arabika

Sampel	Rendemen	Kadar Abu total	Surut pengeringan	Kadar Kafein (mg/g ekstrak)
Koncentran etanol				
Ekstrak etanol 50%	50,06%	9,25%	5,17%	70,24
Ekstrak etanol 70%	47,47%	8,86%	2,43%	189,00
Ekstrak etanol 96%	38,26%	6,26%	0,80%	125,22
Waktu				
10 menit	13,12%	9,35%	4,26%	120,52
20 menit	13,18%	9,17%	1,26%	156,00
30 menit	14,66%	8,00%	5,81%	194,22

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kopi Arabika

Senyawa terdeteksi	Hasil					
	Etanol 50%	Etanol 70%	Etanol 96%	10 menit	20 menit	30 menit
Alkaloid	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Flavonoid	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Fenol	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Tannin	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Saponin	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Terpenoid/Steroid	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Kafein	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)



Gambar 1. Kurva Kalibrasi Balm Kafein

PEMBAHASAN

Dam kopi arabika segar dicuci bersih kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada udara terbuka tanpa kena sinar matahari langsung sesekali dibolak-balikan agar kering dengan merata. Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air dalam simplisia agar reaksi enzimatik dalam sel tidak lagi berlangsung sehingga kandungan senyawanya tidak rusak serta mencegah timbulnya bakteri dan jamur yang dapat menurunkan kualitas simplisia. Pengurangan berat simplisia dam kopi arabika terjadi pada proses pengeringan dan sortasi. Sortasi yaitu pemisahan simplisia dengan pengotor-pengotornya yang lain, sehingga diharapkan simplisia bersih dari pengotor yang dapat mempengaruhi proses ekstraksi. Dam kopi arabika kering selanjutnya diarturkan menggunakan blender dan diayak dengan ayakan no 40. Pembuatan serbuk simplisia dilakukan untuk memperkecil ukuran partikel simplisia. Ukuran partikel yang kecil akan memperbesar luas permukaan simplisia menyebabkan pelarut yang digunakan mudah menyerap ke dalam simplisia sehingga senyawa aktif yang tertarik lebih maksimal dan mempermudah proses ekstraksi.

Proses ekstraksi bertujuan untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam simplisia. Ekstraksi didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen terlarut ke dalam pelarut yang semi berdasarkan sifat like dissolves like, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka (pelarut dan zat terlarut) kemudian zat terlarut tersebut berdifusi masuk ke dalam pelarut. Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode ultrasonik. Metode ultrasonik digunakan untuk konsumsi energi yang lebih kecil dan waktu operasi yang lebih singkat. Keuntungan metode yang digunakan adalah mempercepat proses ekstraksi, dibandingkan dengan ekstraksi termal atau ekstraksi konvensional, metode ultrasonik lebih aman, lebih singkat, dan meningkatkan jumlah rendemen kasar (Dey dan Rathod 2013). Pelarut etanol dipilih karena etanol merupakan pelarut yang sifatnya semi polar dalam penggunaannya, artinya pelarut bisa menyari atau mengekstrak senyawa-senyawa baik yang bersifat polar ataupun semipolar, tidak beracun, dapat bercampur dengan air, serta panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit (Gandjar dan Rohman, 2014). Etanol merupakan pelarut yang mampu mengekstrak senyawa flavonoid, saponin, tanin, antrakuinon, terpenoid, dan alkaloid (Harborne 1987).

Hasil yang didapatkan dari ultrasonik kemudian dilakukan pemekatan dengan menggunakan vacuum rotary evaporator pada suhu 40° sampai 55° C. Pemekatan bertujuan untuk menaikan kandungan ekstrak dam kopi arabika dengan mengurangi kadar air dan mengurangi sisa pelarut pada saat proses ultrasonik. Ekstrak hasil evaporasi yang didapat selanjutnya dioven atau di waterbath hingga mendapatkan ekstrak dengan berat yang konstan. Rendemen tertinggi untuk variasi konsentrasi etanol ditunjukkan pada etanol 70% sedangkan untuk variasi waktu ditunjukkan pada waktu 30 menit. Rendemen pada konsentrasi etanol menunjukkan angka yang tinggi karena simplisia diekstraksi berulang sampai didapatkan pelarut yang jernih, yang artinya hampir semua senyawa metabolit sekunder terakstraksi.

Karakteristik mutu ekstrak terbagi menjadi parameter spesifik dan non spesifik. Pemeriksaan organoleptik dan rendemen ekstrak termasuk dalam parameter spesifik, sedangkan muat pengeringan dan kadar abu termasuk kedalam parameter non spesifik (Depkes RI 2000). Penetapan kadar abu total dilakukan dengan tujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak kadar abu total berkaitan dengan mineral baik senyawa organik maupun anorganik yang diperoleh secara internal maupun eksternal (Depkes RI 2000). Hasil yang diperoleh dalam pengujian kadar abu pada semua variasi telah memenuhi persyaratan yaitu tidak lebih dari 18% (Depkes RI 2011). Nilai untuk muat pengeringan ekstrak dam kopi arabika

semuanya memenuhi syarat yaitu kurang dari 10% (Depkes RI 2011).

Screening fitokimia dilakukan untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak. Screening dilakukan terhadap semua hasil ekstrak kontrol setiap variasi waktu dan variasi konsentrasi etanol yang telah dilakukan. Hal ini dilakukan bertujuan untuk memastikan proses pada setiap ekstraksi dengan waktu Ultrasonik yang berbeda tidak merubah kandungan senyawa kimia di dalam ekstrak daun kopi arabika ini. Identifikasi alkaloid, fenolik, steroid dan saponin memberikan hasil yang positif. Pemeriksaan tannin dilakukan dengan 2 cara yaitu dengan penambahan gelatin 1% dan $FeCl_3$. Pada penambahan gelatin hasil positif yang didapatkan adalah endapan putih sedangkan pada penelitian ini tidak didapatkan. Pada penambahan $FeCl_3$, menghasilkan warna hijau kehijauan karena tannin akan membentuk senyawa kompleks dengan $FeCl_3$. Dapat disimpulkan tannin yang terdapat dalam daun kopi adalah tannin terokondensasi atau flavolan. Pemeriksaan flavonoid dilakukan dengan penambahan Mg dan dilanjutkan dengan penambahan HCl pekat. Penambahan HCl pekat dalam uji flavonoid digunakan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonya, yaitu dengan menghidrolisis O- glikosil. Glikosil akan terganggu oleh H^+ dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Reduksi dengan Mg dan HCl pekat ini menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah, kuning, sampai jingga. Dari hasil pengujian tersebut terjadi perubahan warna (Marham, 2005). Pada pengujian flavonoid ekstrak etanol daun kopi arabika terbentuk reaksi positif dengan ditandai warna kuning. Kafein dimodifikasi dengan reagen parry yang menghasilkan warna hijau. Hal tersebut yang menunjukkan adanya kafein dalam sampel tersebut. Reagen parry dibuat dengan mereaksikan Kobalt Nitrat [$Co(NO_3)_2$] dengan metanol (CH_3OH). Ion kobalt (Co) dalam reagen tersebut akan membentuk kompleks yang berwarna hijau. Ion kobalt bermuatan dua positif sehingga memungkinkan untuk mengikat gugus nitrogen yang terdapat pada senyawa kafein (Marham, 2013).

Pada penelitian ini untuk menentukan kadar kafein pada sampel digunakan kafein baku sebagai larutan standar dengan deret konsentrasi 44, 77, 110, 143, dan 176 ppm. Digunakan deret konsentrasi karena metode yang dipakai dalam menentukan kadar adalah metode yang menggunakan persamaan kurva baku, untuk membuat kurva baku terlebih dahulu dibuat beberapa deret konsentrasi untuk mendapatkan persamaan. Digunakan kafein baku sebagai larutan standar. Pengukuran standar baku kafein dilakukan dengan panjang gelombang 273,40 nm. Dari hasil pengukuran absorbansi larutan standar pada berbagai konsentrasi didapatkan data yang telah sesuai dengan hukum Lambert-Beer yaitu nilai absorbansi pada kisaran 0,2-0,8. Kurva larutan standar senyawa kafein diperoleh hubungan yang lurus antara absorbansi dengan konsentrasi dengan persamaan regresi linier $y = 0,0012x + 0,2336$ dengan nilai koefisien relasi (r) = 0,9972.

Pada pengukuran konsentrasi senyawa kafein pada ekstrak etanol daun kopi arabika, dilakukan preparasi sampel terlebih dahulu yaitu sebanyak 1 gram ekstrak daun kopi arabika dari masing-masing variasi waktu (10, 20, dan 30 menit) dimasukkan ke dalam beaker glass kemudian ditambahkan 150 ml akuades panas kedaluwarsa sambil diaduk. Larutan ekstrak daun kopi arabika panas disaring melalui corong dengan kertas saring ke dalam Erlenmeyer, kemudian 1,5 g kalsium karbonat ($CaCO_3$). Kalsium karbonat berfungsi untuk memuntahkan ikatan kafein dengan senyawa lain, sehingga kafein akan ada dalam basa bebas (Mahendradatta, 2007). Larutan ekstrak daun kopi arabika tadi dimasukkan ke dalam corong pinah lalu diekstraksi sebanyak 4 kali, masing-masing dengan penambahan 25 ml kloroform. Kafein dalam basa bebas tadi setelah penambahan kalsium karbonat ($CaCO_3$) akan diikat oleh kloroform, karena kloroform merupakan pelarut pengakstraksi yang tidak bercampur dengan pelarut semula (Suriani, 1997).

KESIMPULAN (Huruf Times New Roman 10 point, Bold, spasi 1)

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa konsentrasi etanol yang paling baik adalah etanol 70% dan waktu paling maksimal adalah 30 menit. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa variasi waktu ekstraksi dan konsentrasi etanol dapat mempengaruhi rendemen dan perolehan kadar kafein daun kopi arabika yang diekstraksi dengan metode ultrasonik.

SARAN

Penelitian lebih lanjut mengenai variasi jenis pelarut, kadar fenolik, flavonoid dan tannin dari beberapa variasi faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi ultrasonik.

UCAPAN TERIMA KASIH

DAFTAR PUSTAKA

- Dey, S., Rathod, V.K. 2013. Ultrasound assisted extraction of β -carotene from *Spirulina platensis*, dalam *Ultrasonic Sonochemistry*, 20, 271 – 276.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI. 2011. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Jakarta.
- Fitri, N.S. 2008 *Pengaruh berat dan waktu Penyeduhan terhadap kadar kafein daun teh*. Fakultas matematika dan ilmu pengetahuan alam, Universitas Sunetra Utram : Medan.
- Gendjar IG, Rohman A. 2014. *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta. Hlm 323-417.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, ITB, Bandung. Hlm : 6-9
- Hanumamol, S., P. Prasant and A. Shotipruk. 2006. *Ultrasonic Sonochemistry*. 13, 543
- Kail, F. J. 2007. *Modelling of Process Intensification*, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
- Kaidiloke, J. 2002. *Effect Of Ultrasound Temperature And Pressure Treatments On Enzyme Activity and Quality Of Fruit and Vegetable Juices*. *Dissertation der Technischen Universität Berlin*, Berlin.
- Mazanis, Rialita, Gayatri Citraningtyas, Freshy Wehantouw. 2013. Analisis Kafein Dalam Kopi Bubuk Di Kota Manado Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. Dalam *Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT* Vol.2No.04, 2302-2493.
- Marliana, SD, Suryanti, V., dan Suyono. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Schinus edule Jacq. Swartz.*) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi* 3 (1): 26-31.
- Ramos, A., Jose, L. P., Jefferson, R, Danielle, O., Silvia, L. B., dan Ana, C. F. A. 2017. An Experimental Design Approach To Obtain Cautinone Alkaloid Enriched Extracts From *Simaba aff. Paracetis*. *Arabian Journal Of Chemistry*, 5 (2): 1- 6
- Rostagno, M. A., Prado, J. M. 2013. *Natural products extraction: Principles and applications*, RSC Publishing, Cambridge.
- Suriani. 1997. *Analisis Kandungan Kafeina Dalam Kopi Instan Berbagai Merek yang Beredar di Ujung Pandang*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Tukiran, Suyatno, Hidayati N. 2014. Skrining Fitokimia Pada Beberapa Ekstrak Dari Tumbuhan Baganvil (*Bougainvillea glabra*), Bunga Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis L.*), dan Ungu (*Gnaphalium pictum Griff.*). *Phytochemistry*. Universitas Negeri Surabaya, Surabaya. Hlm 2593-2601
- Wijngaard, H., Hossain, M. B., Rai, D. K., Brunton, N. 2012. Techniques to extract bioactive compounds from food byproducts of plant origin. Dalam: *Food Research International*. 46, 505 – 513.
- Zhang, f, Chen, B., Xiaoa, S., dan Yao, S. 2005. Optimization And Comparison Of Different Extraction Technique For Sanguinarine And Chelerythrine In Fruits Of *Macleaya Cordata*. *Separation And Purification Technology*, 42 (1): 283-290.
- Zou TB, En-Qin Xia, Tai-Ping He, Ming-Yuan Huang, Qing Xia, and Hua-Wen Li. 2014. Ultrasound-Assisted Extraction of Mangiferin from Mango Leaves Using Response Surface Methodology. *Molecules* 19, 1411-1421