

Pengaruh Suhu Awal dan Waktu Infusi terhadap Aktivitas Antibakteri dan  
Antioksidan Ekstrak Minuman Herbal Daun Kopi Robusta  
*The Effect of Initial Temperature and Time of Infusion on Antibacterial and Antioxidant Activities  
in the Herbal Drink Extract of Robusta Coffee Leaves*

**Luh Gede Mening Lestari, Nyoman Semadi Antara\*, Ni Putu Suwariani**

PS Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana, Kampus Bukit  
Jimbaran, Badung, Kode pos : 80361; Telp/Fax : (0361) 701801

Diterima 21 Desember 2020 / Disetujui 18 Januari 2021

**ABSTRACT**

*The aim of this study was to find out initial infusion temperature and infusion time effects on of antibacterial and antioxidant activities the Robusta Coffee leaves herbal drink extract. This study also determined the best initial infusion temperature and infusion time that can produce Robusta Coffee leaves herbal drink extract with the best antibacterial and antioxidant activities. The study used factorial completely randomized design. The first factor is infusion temperature, consisting of  $70\pm 2^{\circ}\text{C}$ ,  $80\pm 2^{\circ}\text{C}$ , and  $90\pm 2^{\circ}\text{C}$ . The second factor is infusion time which consists of 5, 10, and 15 minutes. The data was analyzed by analysis of variance (ANOVA) and continued with Tukey test. The results showed that the treatment of initial infusion temperature, infusion time, and interaction between the two treatments had a very significant effect on antibacterial activity Arbitrary Unit (AU) against *Salmonella typhimurium* and antioxidant activity Inhibitory Concentration 50 (IC<sub>50</sub>). The treatment of infusion time had a significant effect on antibacterial activity AU against *Escherichia coli*, but the initial infusion temperature and interaction between the two treatments had a very significant effect on it. The best treatment to infuse herbal drink of Robusta Coffee leaves as a source of antibacterial and antioxidant is using initial infusion temperature of  $90\pm 2^{\circ}\text{C}$  and infusion time of 5 minutes with antibacterial activity AU against *Escherichia coli* of  $1.248,34 \pm 132,58 \text{ mm}^2/\text{mL}$ , antibacterial activity AU against *Salmonella typhimurium* of  $1.473,37 \pm 79,57 \text{ mm}^2/\text{mL}$ , and antioxidant activity IC<sub>50</sub> of  $185,01 \pm 1,66 \text{ ppm}$ .*

**Keywords:** *Robusta coffee leaves, herbal drink, antibacterial, antioxidant.*

**ABSTRAK**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh suhu awal infusi dan waktu infusi terhadap aktivitas antibakteri dan antioksidan ekstrak minuman herbal daun Kopi Robusta. Penelitian ini juga menentukan perlakuan terbaik yang dapat menghasilkan ekstrak minuman herbal daun Kopi Robusta dengan aktivitas antibakteri dan antioksidan terbaik. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap pola faktorial. Faktor pertama adalah suhu awal infusi yang terdiri dari  $70\pm 2^{\circ}\text{C}$ ,  $80\pm 2^{\circ}\text{C}$ , dan  $90\pm 2^{\circ}\text{C}$ . Faktor kedua adalah waktu infusi yang terdiri dari 5, 10, dan 15 menit. Data dianalisis dengan analisis variansi (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji Tukey. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan suhu awal, waktu infusi, dan interaksi kedua perlakuan memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap aktivitas antibakteri Arbitrary Unit (AU) terhadap *Salmonella typhimurium* dan aktivitas antioksidan Inhibitory Concentration 50 (IC<sub>50</sub>). Perlakuan waktu infusi berpengaruh nyata terhadap aktivitas antibakteri AU terhadap *Escherichia coli*, namun suhu awal dan interaksi antara kedua perlakuan memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadapnya.

---

\*Korespondensi Penulis:

Email : semadi.antara@unud.ac.id

Perlakuan terbaik minuman herbal daun Kopi Robusta sebagai sumber antibakteri dan antioksidan menggunakan suhu awal infusi  $90 \pm 2^\circ\text{C}$  dan waktu infusi 5 menit dengan aktivitas antibakteri AU terhadap *Escherichia coli*  $1.248,34 \pm 132,58 \text{ mm}^2/\text{mL}$ , aktivitas AU terhadap *Salmonella typhimurium*  $1.473,37 \pm 79,57 \text{ mm}^2/\text{mL}$ , dan aktivitas antioksidan  $\text{IC}_{50}$   $185,01 \pm 1,66 \text{ ppm}$ .

**Kata kunci:** Daun kopi robusta, minuman herbal, antibakteri, antioksidan.

## PENDAHULUAN

Tanaman kopi merupakan tanaman yang budi daya dan produksinya terus meningkat sejak tahun 2016. Pada tahun 2016, produksi biji kopi di Indonesia sebesar 663.900 ton dan meningkat hingga 722.500 ton pada tahun 2018 (Badan Pusat Statistik, 2019). Jenis tanaman kopi yang paling banyak ditanami di Indonesia adalah Kopi Robusta (Rahardjo, 2017). Pada tahun 2018, produksi biji Kopi Robusta di Bali sendiri telah mencapai 11.439 ton sementara produksi biji Kopi Arabika hanya mencapai 4.217 ton (Badan Pusat Statistik, 2019). Hal ini menunjukkan bahwa pemanfaatan biji Kopi Robusta di Bali cukup tinggi.

Biji Kopi Robusta diperoleh dari buah ceri Kopi Robusta yang umumnya dipanen lebih lambat daripada pemanenan buah ceri Kopi Arabika (Rahardjo, 2017). Usaha peningkatan produksi buah ceri kopi dilakukan dengan pemangkasan daun pada tanaman kopi. Pemangkasan ini mampu mendorong pembungaan dan meningkatkan pembuahan pada tanaman kopi (Hulupi dan Martini, 2013). Hasil pemangkasan ini dapat dimanfaatkan menjadi suatu produk seperti yang dilakukan masyarakat di Sumatera Barat. Bagi masyarakat Sumatera Barat, daun kopi dapat diolah menjadi minuman bernama *kawa daun*. *Kawa daun* adalah minuman tradisional khas dari daun kopi yang biasa disajikan menggunakan batok kelapa (Zed, 2010).

Daun kopi mengandung zat yang berfungsi untuk menghambat inflamasi, diabetes, oksidasi, dan pertumbuhan bakteri (Khare dan Shanker, 2016). Daun kopi juga merupakan sumber antioksidan yang lebih baik daripada daun teh (Campa dan Petitvallet, 2017). Hasil penelitian Hartati dan Putri

(2019) menunjukkan bahwa ekstrak daun segar Kopi Robusta menggunakan pelarut etanol memiliki daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Candida albicans*. Penelitian lainnya mengenai kandungan daun Kopi Arabika yang terlarut dalam minuman herbal juga menunjukkan adanya alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan mangiferin (Retnaningtyas *et al.*, 2016). Senyawa mangiferin merupakan senyawa umumnya tidak ditemukan pada biji kopi (Campa dan Petitvallet, 2017).

Hal tersebut menunjukkan daun kopi memiliki potensi untuk dimanfaatkan sebagai minuman herbal untuk menangani penyakit yang disebabkan oleh bakteri dan perlu dilakukannya penelitian lebih dalam mengenai hal tersebut. Salah satu penyakit yang disebabkan oleh bakteri adalah penyakit diare (DuPont, 2009). Diare merupakan penyakit infeksi kuman di saluran pencernaan yang berpotensi menjadi Kejadian Luar Biasa (KLB) dan endemis. KLB penyakit diare sendiri telah terjadi sebanyak 21 kali di Indonesia pada tahun 2017. Pada tahun 2018, KLB penyakit diare di Bali terjadi sebanyak dua kali dengan jumlah 52 dan 27 kasus. KLB penyakit diare tertinggi terjadi di Nusa Tenggara Timur, yaitu sebanyak 214 kasus dan 4 kasus kematian (Kementerian Kesehatan, 2019). Contoh bakteri penyebab diare diantaranya *Escherichia coli* dan *Salmonella typhimurium* (DuPont, 2009). Kedua bakteri ini merupakan bakteri yang jumlahnya tersebar banyak di lingkungan dan menyebabkan diare dengan gejala mual dan demam (Zein *et al.*, 2004).

Aktivitas minuman herbal dalam mengatasi penyakit diare dipengaruhi proses pembuatan minuman herbal tersebut. Pembuatan minuman herbal dilakukan dengan

metode infusi, yaitu metode ekstraksi tradisional dengan cara merendam bagian dari tumbuhan menggunakan air panas maupun air dingin (Singh, 2008). Suhu dan waktu dalam infusi memiliki pengaruh terhadap laju reaksi kimia antara air dan material yang akan menentukan kelarutan senyawa antibakteri dan antioksidan pada larutan (Ramadan dan Phaza, 2010). Terkait hal ini, penelitian Purwakhidyana *et al.* (2018) tentang pengaruh suhu dan lama waktu infusi terhadap sifat kimia bubuk kopi hijau menunjukkan bahwa perlakuan suhu tertinggi dan waktu terlama, yaitu pada suhu 70°C selama 15 menit menghasilkan hasil infusi dengan total fenolat, kadar kafein, dan aktivitas antioksidan yang paling tinggi.

Kadar senyawa antibakteri dan antioksidan hasil infusi sampel dapat menurun apabila suhu awal air dan waktu infusi yang ditetapkan terlalu tinggi. Hal ini karena suhu dan waktu infusi yang terlalu tinggi juga dapat menyebabkan dekomposisi senyawa-senyawa yang ada pada sampel (Sjahid, 2008). Penelitian oleh Mutmainah *et al.* (2018) menyebutkan infusi serbuk batang teh dengan suhu awal 85°C selama 5 menit menghasilkan kadar katekin tertinggi yaitu sebesar 1,1427 persen. Sementara itu, infusi pada suhu awal 100°C selama 10 menit menghasilkan kadar katekin terendah yaitu 0,9314 persen.

Air merupakan pelarut polar sementara senyawa fenolik lebih mudah diekstrak oleh pelarut bersifat semi polar (Septiana *et al.*, 2002). Selain itu, Yulianto dan Widyaningsih (2013) menyatakan kenaikan jumlah air dalam melarutkan bahan membuat nilai total fenol menurun. Hal ini menunjukkan bahwa minuman herbal dapat menghasilkan total fenolik yang rendah sehingga perlu dievaporasi untuk memudahkan pengujian seperti pada penelitian Retnaningtyas *et al.* (2016) mengenai karakterisasi minuman herbal daun Kopi Arabika. Evaporasi merupakan penguapan bahan cair menjadi ekstrak kental yang dapat mempengaruhi

kemampuan senyawa aktif pada larutan (Warbung *et al.*, 2013).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh suhu awal dan waktu infusi serta perlakuan terbaik dalam menghasilkan ekstrak minuman herbal daun Kopi Robusta dengan aktivitas antibakteri dan antioksidan yang optimal. Pengamatan aktivitas antibakteri ekstrak minuman herbal daun Kopi Robusta terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonella typhimurium* menggunakan uji dengan metode sumuran. Metode sumuran digunakan dalam penelitian ini karena bahan uji menunjukkan aktivitas antibakteri tidak hanya di permukaan atas nutrien agar tetapi juga sampai ke bawah sehingga mudah mengukur luas zona hambat yang terbentuk (Listari, 2009). Potensi aktivitas antioksidan pada ekstrak minuman herbal daun Kopi Robusta diuji menggunakan metode *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH). Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH digunakan karena sederhana, cepat, dan tidak memerlukan reagen kimia yang cukup banyak (Sayuti & Yenrina, 2015).

## METODE PENELITIAN

### Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bioindustri dan Lingkungan, Laboratorium Mikrobiologi Pangan, Laboratorium Analisis Pangan, serta Laboratorium Rekayasa Proses dan Pengendalian Mutu Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana. Waktu pelaksanaan dilakukan pada Juli hingga Oktober 2020.

### Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun pertama hingga keempat tanaman Kopi Robusta yang diperoleh dari Desa Dalang, Kecamatan Selemadeg Timur, Tabanan. Daun kopi Robusta tersebut dipetik pada pukul 07.00 – 10.00 wita. Bakteri yang digunakan adalah *Escherichia coli* ATCC 8739 dan bakteri

*Salmonella typhimurium* ATCC 19430. Bahan kimia yang digunakan antara lain kristal DPPH (*Himedia*), reagen *Folin-Ciocalteu* (*Merck*), asam galat (*Sigma-aldrich*), metanol PA (*Merck*),  $H_2SO_4$  (*Merck*),  $Na_2CO_3$  (*Merck*), *cotrimoxazole* (*Indofarma*), gliserol, akuades (*One Med*), *nutrient agar* (*Merck*), dan *nutrient broth* (*Oxoid*).

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya spektrofotometer (*Shimadzu*), mikroskop, timbangan digital (*Camry*), *hot plate magnetic stirrer* (Ika C-MAG HS 7), labu ukur (*Pirex-Iwaki*), *rotary evaporator* (*Rotavapor*), sentrifugator (*UniCen MR-Herolab GmbH*), *laminar air flow* (Wina Airflow), inkubator (*Memmert*), *vortex* (*Thermo Scientific*), tabung reaksi (*Pirex-Iwaki*), cawan petri (*Pirex-Iwaki*), gelas beker (*Pirex-Iwaki*), erlenmeyer (*Pirex-Iwaki*), mortir, *blender*, kulkas, kompor, ayakan 8 mesh, spatula, batang L, pengaduk, pisau *stainless steel*, panci, kukusan, dan penggaris.

### Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola faktorial. Faktor pertama adalah suhu awal pelarut infusi (S) yang terdiri atas 3 taraf, yaitu S1 ( $70\pm 2^\circ C$ ), S2 ( $80\pm 2^\circ C$ ), dan S3 ( $90\pm 2^\circ C$ ). Faktor kedua yaitu waktu infusi (W) yang terdiri atas 3 taraf, yaitu W1 (5 menit), W2 (10 menit), dan W3 (15 menit). Berdasarkan faktor tersebut, maka diperoleh 9 kombinasi perlakuan. Seluruh perlakuan diulang sebanyak 3 kali sehingga diperoleh 27 unit percobaan. Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis variansi (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji Tukey menggunakan perangkat lunak Minitab 17.

### Pelaksanaan Penelitian

#### Pembuatan serbuk daun kopi robusta (Singh *et al.*, 2014)

Daun Kopi Robusta yang digunakan pada penelitian ini yaitu daun muda yang berada pada posisi pertama hingga keempat yang dihitung dari pucuk daun dan dipetik pada pukul 07.00 sampai 10.00 wita. Daun

Kopi Robusta yang telah dipetik dicuci dan dilayukan selama 24 jam menggunakan hembusan angin dengan kipas elektronik. Daun Kopi Robusta kemudian melalui tahap *blanching* pada suhu  $97,2\pm 2^\circ C$  selama 2 menit.

Daun Kopi Robusta melalui tahap pengeringan awal menggunakan oven pada suhu  $65\pm 2^\circ C$  selama 30 menit lalu digulung selama 10 menit. Bahan ini kemudian melalui tahap pengeringan kedua pada suhu  $65\pm 2^\circ C$  selama 45 menit lalu digulung selama 15 menit. Setelah itu, daun Kopi Robusta melalui tahap pengeringan akhir pada suhu  $65\pm 2^\circ C$  selama 7 jam. Daun Kopi Robusta kering kemudian dihaluskan menggunakan *blender* lalu diayak menggunakan ayakan 8 mesh. Serbuk daun Kopi Robusta sebanyak 2 g kemudian dimasukkan pada kantung teh dan disimpan dalam wadah tertutup pada suhu ruangan ( $26^\circ C$ ).

#### Pembuatan Ekstrak Minuman Herbal Daun Kopi Robusta (Retnaningtyas *et al.*, 2016)

Serbuk daun kopi robusta dalam kantung teh diletakkan dalam gelas kaca dan diisi air panas sesuai perlakuan, yaitu bersuhu awal  $70\pm 2^\circ C$ ,  $80\pm 2^\circ C$ , dan  $90\pm 2^\circ C$  sebanyak 200 mL. Waktu pembuatan infusi dilakukan sesuai dengan perlakuan yaitu selama 5, 10, dan 15 menit. Setelah itu, kantung teh diangkat dan hasil infusi didinginkan hingga mencapai suhu ruangan ( $26^\circ C$ ). Infusi kemudian dievaporasi dengan *rotary evaporator* pada suhu  $50^\circ C$  dengan kecepatan 80 rpm dan tekanan 500 mBar hingga diperoleh ekstrak kental.

#### Penentuan rendemen (Hambali *et al.*, 2014)

Bobot minuman herbal daun Kopi Robusta pada masing-masing perlakuan ditimbang sebelumnya. Ekstrak yang telah diperoleh dihitung massanya dengan mengurangi massa labu berisi sampel dengan labu kosong. Perhitungan rendemen ekstrak menggunakan dilakukan dengan membagi bobot ekstrak minuman herbal dengan bobot minuman herbal daun Kopi Robusta. Hasil

pembagian ini kemudian dikalikan 100 persen untuk mendapatkan nilai rendemen.

#### **Penentuan total fenolik (Sakanaka *et al.*, 2003)**

Kurva standar dibuat dengan menimbang  $\pm 0,01$  g asam galat kemudian diencerkan dengan 100 mL aquades. Kemudian, dibuat seri pengenceran sebanyak 5 mL dengan konsentrasi 0, 20, 40, 60, 80, dan 100 mg/L. Sampel sebanyak  $\pm 0,01$  g, dilarutkan dengan metanol menggunakan labu ukur 5 mL. Masing-masing 400  $\mu$ L dari larutan asam galat dan sampel ditambahkan 400  $\mu$ L *reagen Folin Ciocalteu*, lalu dihomogenisasi. Kemudian, dilarutkan dengan 2 mL larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  5 persen. Larutan yang telah dihomogenisasi kemudian diinkubasi 30 menit pada suhu ruang sebelum dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 760 nm menggunakan spektrofotometer. Konsentrasi total fenol dari kurva standar asam galat dihitung menggunakan persamaan regresi linier.

#### **Penentuan aktivitas antibakteri (Usmiati dan Rahmawati, 2007)**

Tablet antibakteri *cotrimoxazole* dihaluskan menggunakan mortir dan ditimbang sebanyak  $\pm 1$  g dilarutkan dalam 100 mL akuades dan dihomogenisasi menggunakan *vortex*. Larutan ini disentrifugasi dan diambil supernatannya untuk digunakan sebagai kontrol positif. Larutan sampel dibuat dengan melarutkan  $\pm 0,05$  g ekstrak dengan 5 mL akuades. Cawan petri berisi NA ditetesi dengan 100  $\mu$ L suspensi bakteri uji dan diratakan menggunakan batang L. Suspensi kemudian dibiarkan sampai kering. Sumuran dibuat dengan membuat lubang pada media. Sumuran kemudian ditetesi larutan sampel, kontrol negatif, dan kontrol positif sebanyak 50  $\mu$ L pada masing-masing sumuran. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam untuk mengamati diameter zona hambat di sekitar sumuran. Hasil pengukuran berupa diameter inhibisi

kemudian dihitung aktivitas antibakteri AU dan efektivitas antibakteri.

#### **Penentuan aktivitas antioksidan (Prayoga, 2013)**

Sampel sebanyak  $\pm 0,05$  g, dilarutkan dengan metanol menggunakan labu ukur 5 mL. Setiap sampel dibuat seri pengenceran konsentrasi 0, 5, 10, 25, dan 50 mg/L. Diambil 10  $\mu$ L dari larutan ini dan ditambahkan 1000  $\mu$ L larutan DPPH, kemudian dihomogenisasi. Sampel diinkubasi 30 menit pada suhu ruang sebelum dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer. Penentuan  $\text{IC}_{50}$  dihitung menggunakan persamaan regresi linier. Nilai  $\text{IC}_{50}$  menentukan kategori aktivitas antioksidan dari ekstrak. Aktivitas antioksidan berdasarkan nilai ini dibagi menjadi sangat kuat ( $<50$  ppm), kuat (50 – 100 ppm), sedang (101 – 150 ppm), lemah (151 – 200 ppm), dan sangat lemah ( $>200$  ppm).

#### **Penentuan kapasitas antioksidan (Blois, 1958)**

Pembuatan kurva standar  $\pm 0,01$  g asam galat diencerkan dengan aquades menjadi 100 mL dibuat seri pengenceran yang masing-masing sebanyak 5 mL dengan konsentrasi 0, 4, 6, 8, 10 dan 12 mg/L. Masing-masing standar dipipet 0,5 mL lalu ditempatkan pada tabung reaksi dan ditambahkan 3,5 mL larutan metanol. Larutan ini kemudian dihomogenisasi dengan 1 mL DPPH. Perlakuan pada sampel dilakukan dengan menimbang  $\pm 0,01$  g sampel, diencerkan dengan metanol sampai volume 5 mL dalam labu ukur dan dihomogenisasi. Masing-masing sampel sebanyak 0,5 mL sampel ditambahkan 3,5 mL DPPH. Selanjutnya diinkubasi selama 30 menit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Penentuan kapasitas antioksidan dihitung menggunakan persamaan regresi linier.

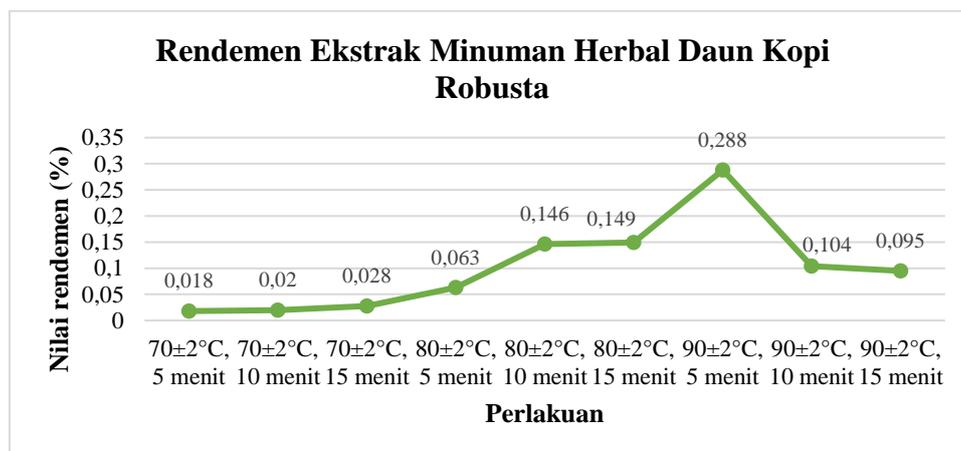
## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Rendemen

Berdasarkan data pada Gambar 1 dapat dilihat bahwa nilai rata-rata rendemen dari ekstrak minuman herbal daun Kopi Robusta paling tinggi terdapat pada perlakuan suhu awal infusi tertinggi yaitu  $90\pm 2^\circ\text{C}$ . Hasil ini menunjukkan semakin tinggi suhu infusi yang digunakan, maka semakin tinggi rendemen yang diperoleh hingga tercapainya suhu optimum. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Naibaho dan Sinambela (2000) mengenai kelarutan kurkurmin dari tepung kunyit bahwa suhu air sebagai pelarut yang semakin tinggi meningkatkan kelarutan senyawa kurkurmin.

Penelitian Pamungkas *et al.* (2013) mengenai kualitas natrium alginat ekstrak

*Sargassum sp.* menunjukkan bahwa peningkatan suhu berpengaruh terhadap rendemen yang dihasilkan. Peningkatan ini diduga terjadi karena suhu yang tinggi dapat meningkatkan energi kinetik larutan sehingga difusi pelarut dalam sel juga meningkat (Budiyanto dan Yulianingsih, 2008). Perlakuan waktu infusi juga menunjukkan adanya pengaruh ekstrak minuman herbal daun Kopi Robusta. Waktu infusi 5 menit pada suhu awal infusi  $90\pm 2^\circ\text{C}$  menunjukkan nilai tertinggi rendemen sebesar 0,288 persen dan terjadi penurunan setelah mencapai keadaan optimum. Hal ini memperlihatkan bahwa penetapan waktu perlu diperhatikan dalam infusi minuman herbal. Hal ini sesuai dengan pernyataan Yuliantari *et al.* (2017) bahwa suhu dan waktu yang tepat akan menghasilkan rendemen ekstrak yang optimal.



Gambar 1. Nilai rendemen ekstrak minuman herbal daun Kopi Robusta pada perlakuan suhu dan infusi dalam satu kali ulangan.

### Total fenolik

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa perlakuan suhu awal, waktu infusi serta interaksi berpengaruh sangat nyata ( $P \leq 0,01$ ) terhadap total fenolik ekstrak minuman herbal daun Kopi Robusta. Nilai rata-rata total fenolik ekstrak minuman herbal daun Kopi Robusta dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan data pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa nilai rata-rata total fenolik dari ekstrak minuman herbal daun Kopi Robusta

paling tinggi terdapat pada perlakuan suhu awal  $90\pm 2^\circ\text{C}$  dan waktu infusi 5 menit, yaitu sebanyak  $179,26 \pm 1,07$  mg GAE/g. Sementara itu, total fenolik terendah terdapat pada perlakuan suhu awal  $70\pm 2^\circ\text{C}$  dan waktu infusi 5 menit yaitu sebanyak  $18,12 \pm 0,20$  mg GAE/g. Total fenolik mengalami peningkatan dan mencapai titik optimum pada perlakuan suhu awal  $90\pm 2^\circ\text{C}$  dan waktu infusi 5 menit. Namun, terjadi penurunan total fenolik dimulai dari perlakuan suhu awal infusi  $90\pm 2^\circ\text{C}$  dan

waktu infusi 10 menit. Hal ini menunjukkan bahwa suhu awal infusi dan waktu infusi

mempengaruhi total fenolik minuman herbal daun Kopi Robusta.

Tabel 1. Nilai rata-rata total fenolik (mg GAE /g) ekstrak minuman herbal daun Kopi Robusta pada perlakuan suhu awal dan waktu infusi.

Suhu Awal Infusi (°C)	Waktu Infusi (Menit)		
	5	10	15
70±2	18,12 ± 0,20 <sup>h</sup>	23,65 ± 0,25 <sup>g</sup>	25,07 ± 0,18 <sup>g</sup>
80±2	28,32 ± 0,37 <sup>f</sup>	39,53 ± 0,57 <sup>e</sup>	109,44 ± 0,51 <sup>c</sup>
90±2	179,26 ± 1,07 <sup>a</sup>	152,33 ± 1,45 <sup>b</sup>	106,11 ± 0,44 <sup>d</sup>

Keterangan: Huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan adanya perbedaan yang sangat nyata ( $P \leq 0,01$ ). Data merupakan rata-rata dari tiga ulangan percobaan.

Peningkatan total fenolik diduga karena suhu ekstraksi dapat membuat fenolik yang terlarut dalam minuman herbal semakin tinggi jumlahnya. Silva *et al.* (2007) menyatakan bahwa suhu tinggi merusak karbohidrat serta protein yang menyebabkan degradasi dinding sel dan membuat senyawa fenolik keluar dari dalam jaringan tanaman. Peningkatan lama waktu infusi juga berpengaruh pada total fenolik yang dihasilkan. Winata *et al.* (2015) dalam menyatakan bahwa kesempatan antara bahan dan pelarut untuk bereaksi akan semakin besar apabila waktu yang diberikan semakin lama sehingga total fenolik yang terkandung akan meningkat hingga ke keadaan optimumnya.

Penurunan total fenolik setelah mencapai perlakuan suhu awal 90±2°C dan waktu infusi 5 menit mengindikasikan bahwa perlakuan suhu tinggi dan waktu yang terlalu lama dapat menurunkan jumlah senyawa fenol yang terlarut dalam minuman herbal. Hal ini sesuai dengan pernyataan Miranda *et al.* (2009) dimana fenol dapat rusak pada suhu tinggi dan waktu tertentu karena strukturnya dapat berubah menjadi kuinon. Bailon dan Buelga (2003) juga menyatakan ada senyawa fenolik seperti flavonoid merupakan zat termosensitif sehingga suhu ekstraksi harus dijaga pada batas tertentu. Pengaturan suhu ini bertujuan agar tidak terjadinya hidrolisis senyawa fenolik (Wenjuan *et al.*, 2010).

#### Aktivitas antibakteri

Hasil analisis keragaman menunjukkan

bahwa perlakuan suhu awal dan interaksi berpengaruh sangat nyata ( $P \leq 0,01$ ) terhadap diameter inhibisi serta aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*, namun perlakuan waktu infusi menunjukkan pengaruh nyata ( $P \leq 0,05$ ). Sementara itu, perlakuan suhu awal, waktu infusi serta interaksi juga berpengaruh sangat nyata ( $P \leq 0,01$ ) terhadap diameter inhibisi dan aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhimurium*. Perlakuan suhu awal, waktu infusi serta interaksi berpengaruh sangat nyata ( $P \leq 0,01$ ) terhadap efektifitas antibakteri pada *Escherichia coli* dan *Salmonella typhimurium*. Nilai rata-rata diameter inhibisi, aktivitas antibakteri, dan efektifitas minuman ekstrak herbal daun Kopi Robusta dapat dilihat pada Tabel 2 dan 3.

Berdasarkan data pada Tabel 2 dapat diketahui bahwa nilai rata-rata diameter inhibisi ekstrak minuman herbal daun Kopi Robusta tinggi terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhimurium* tertinggi terdapat pada perlakuan suhu awal infusi 90±2°C dan waktu infusi 5 menit, yaitu sebesar 3,67 ± 0,33 mm dan 4,22 ± 0,19 mm. Sementara itu, nilai rata-rata diameter inhibisi terendah terhadap kedua bakteri terpadat pada perlakuan suhu awal infusi 70±2°C dan waktu infusi 5 menit, yaitu sebesar 0,78 ± 0,19 mm dan 1,78 ± 0,19 mm. Nilai rata-rata aktivitas antibakteri paling tinggi terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhimurium* terdapat pada perlakuan suhu awal infusi 90±2°C dan waktu infusi 5 menit dengan nilai

sebesar  $1.248,34 \pm 132,58 \text{ mm}^2/\text{mL}$  dan  $1.473,37 \pm 79,57 \text{ mm}^2/\text{mL}$ . Nilai rata-rata aktivitas antibakteri terhadap kedua bakteri terendah terdapat pada perlakuan awal infusi

$70 \pm 2^\circ\text{C}$  dan waktu infusi 5 menit, yaitu sebesar  $229,59 \pm 59,42 \text{ mm}^2/\text{mL}$  dan  $552,31 \pm 65,47 \text{ mm}^2/\text{mL}$ .

Tabel 2. Nilai rata-rata diameter inhibisi (mm) dan aktivitas antibakteri AU ( $\text{mm}^2/\text{mL}$ ) ekstrak minuman herbal daun Kopi Robusta terhadap bakteri penyebab diare pada perlakuan suhu awal dan waktu infusi

Perlakuan	Diameter Inhibisi (mm)		Aktivitas Antibakteri AU ( $\text{mm}^2/\text{mL}$ )	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<b><math>70 \pm 2^\circ\text{C}</math>, 5 menit</b>	<b><math>0,78 \pm 0,19^e</math></b>	<b><math>1,78 \pm 0,19^d</math></b>	<b><math>229,59 \pm 59,42^d</math></b>	<b><math>552,31 \pm 65,47^e</math></b>
$70 \pm 2^\circ\text{C}$ , 10 menit	$1,44 \pm 0,19^d$	$2,00 \pm 0,00^d$	$441,24 \pm 63,45^d$	$627,90 \pm 0,00^e$
$70 \pm 2^\circ\text{C}$ , 15 menit	$2,22 \pm 0,19^c$	$2,78 \pm 0,19^c$	$705,82 \pm 67,48^c$	$906,40 \pm 71,51^{cd}$
$80 \pm 2^\circ\text{C}$ , 5 menit	$3,00 \pm 0,00^b$	$2,89 \pm 0,19^c$	$989,00 \pm 0,00^b$	$947,71 \pm 71,51^{cd}$
$80 \pm 2^\circ\text{C}$ , 10 menit	$3,11 \pm 0,19^{ab}$	$3,67 \pm 0,00^b$	$1.073,90 \pm 73,52^{ab}$	$1.247,18 \pm 0,00^b$
$80 \pm 2^\circ\text{C}$ , 15 menit	$3,44 \pm 0,19^{ab}$	$4,11 \pm 0,19^{ab}$	$1.159,96 \pm 75,54^{ab}$	$1.427,44 \pm 79,57^a$
<b><math>90 \pm 2^\circ\text{C}</math>, 5 menit</b>	<b><math>3,67 \pm 0,33^a</math></b>	<b><math>4,22 \pm 0,19^a</math></b>	<b><math>1.248,34 \pm 132,58^a</math></b>	<b><math>1.473,37 \pm 79,57^a</math></b>
$90 \pm 2^\circ\text{C}$ , 10 menit	$3,44 \pm 0,38^{ab}$	$3,11 \pm 0,19^c$	$1.161,12 \pm 149,06^{ab}$	$1.031,45 \pm 73,52^c$
$90 \pm 2^\circ\text{C}$ , 15 menit	$2,89 \pm 0,19^b$	$2,78 \pm 0,19^c$	$947,71 \pm 71,51^{bc}$	$865,14 \pm 0,00^d$

Keterangan: Huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan adanya perbedaan yang sangat nyata ( $P \leq 0,01$ ). Data merupakan rata-rata dari tiga ulangan percobaan

Potensi antibakteri sampel ekstrak minuman kopi robusta yang dibandingkan dengan kontrol positif *cotrimoxazole* ditunjukkan dengan nilai efektifitas antibakteri seperti pada Tabel 3. Nilai rata-rata efektifitas antibakteri tertinggi terdapat pada perlakuan suhu awal infusi  $90 \pm 2^\circ\text{C}$  dan waktu infusi 5 menit, yaitu sebesar  $23,40 \pm 1,84$  persen dan  $26,02 \pm 0,88$  persen. Sementara itu, nilai rata-rata terendah terdapat pada perlakuan suhu awal infusi  $70 \pm 2^\circ\text{C}$  dan waktu infusi 5 menit, yaitu sebesar  $5,00 \pm 1,44$  persen dan  $10,96 \pm 1,12$  persen.

Peningkatan aktivitas dan efektifitas antibakteri ekstrak minuman herbal daun Kopi Robusta terjadi seiring meningkatnya total fenolik. Aktivitas dan efektifitas antibakteri akan menurun selaras dengan penurunan senyawa fenolik setelah mencapai kondisi optimum. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri berkaitan dengan total fenolik. Menurut Carolia dan Noventi (2016), senyawa fenol membunuh mikroorganisme seperti bakteri dengan

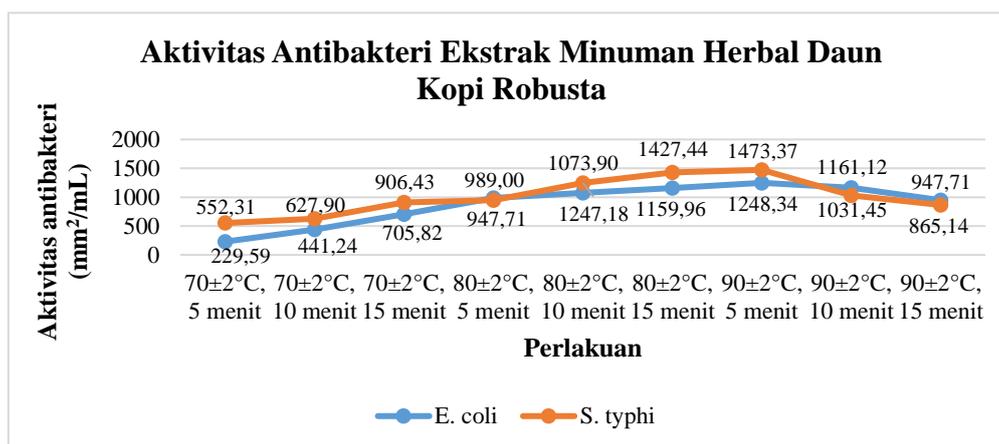
mendenaturasi protein pada sel. Mekanisme antibakteri senyawa ini diawali dengan membentuk ikatan hidrogen dan protein. Hal ini membuat permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma yang tersusun atas protein terganggu sehingga sel menjadi lisis.

Selain adanya keterkaitan dengan total fenolik, ekstrak minuman herbal daun Kopi Robusta juga menunjukkan perbedaan aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonella typhimurium*. Gambar 2 menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhimurium* lebih tinggi daripada aktivitasnya terhadap *Escherichia coli*. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Widiana (2012) yang meneliti antibakteri pada ekstrak daun teh bahwa daya hambat terhadap bakteri *Salmonella* lebih tinggi daripada *Escherichia coli*. Perbedaan ini diduga karena dinding sel *Escherichia coli* lebih tebal dari *Salmonella typhimurium*. Bakteri ini juga memiliki kapsul berupa lapisan lendir yang berfungsi melindungi sel dari zat toksik di sekitarnya (Pelczar dan Chan, 1988).

Tabel 3. Nilai rata-rata efektifitas antibakteri (%) ekstrak minuman herbal daun Kopi Robusta terhadap bakteri penyebab diare pada perlakuan suhu awal dan waktu infusi

Perlakuan	Efektifitas Antibakteri (%)	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<b>70±2°C, 5 menit</b>	<b>5,00 ± 1,44<sup>f</sup></b>	<b>10,96 ± 1,12<sup>e</sup></b>
70±2°C, 10 menit	9,20 ± 0,89 <sup>e</sup>	12,33 ± 0,15 <sup>e</sup>
70±2°C, 15 menit	14,17 ± 0,79 <sup>d</sup>	17,12 ± 1,09 <sup>cd</sup>
80±2°C, 5 menit	19,17 ± 0,82 <sup>bc</sup>	18,49 ± 0,22 <sup>cd</sup>
80±2°C, 10 menit	19,85 ± 0,64 <sup>bc</sup>	22,60 ± 0,27 <sup>b</sup>
80±2°C, 15 menit	21,98 ± 0,62 <sup>ab</sup>	25,34 ± 1,06 <sup>a</sup>
<b>90±2°C, 5 menit</b>	<b>23,40 ± 1,84<sup>a</sup></b>	<b>26,02 ± 0,88<sup>a</sup></b>
90±2°C, 10 menit	21,95 ± 1,76 <sup>ab</sup>	19,18 ± 1,08 <sup>c</sup>
90±2°C, 15 menit	18,43 ± 0,69 <sup>c</sup>	16,44 ± 0,20 <sup>d</sup>

Keterangan: Huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan adanya perbedaan yang sangat nyata ( $P \leq 0,01$ ). Data merupakan rata-rata dari tiga ulangan percobaan



Gambar 2. Perbandingan aktivitas antibakteri AU (mm<sup>2</sup>/mL) ekstrak minuman herbal daun Kopi Robusta terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*.

### Aktivitas antioksidan

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa perlakuan suhu awal, waktu infusi, dan interaksi berpengaruh sangat nyata ( $P \leq 0,01$ ) terhadap aktivitas antioksidan ekstrak minuman herbal daun Kopi Robusta. Nilai rata-rata aktivitas antioksidan ekstrak minuman herbal daun Kopi Robusta dapat dilihat pada Tabel 4.

Berdasarkan data pada Tabel 4 dapat dilihat bahwa nilai rata-rata IC<sub>50</sub> ekstrak minuman herbal daun Kopi Robusta paling rendah terdapat pada perlakuan suhu awal

infusi 90±2°C dan waktu infusi 5 menit yaitu 185,01 ± 1,66 ppm sehingga ekstrak ini tergolong ke dalam antioksidan lemah. Sementara itu, nilai IC<sub>50</sub> tertinggi terdapat pada perlakuan infusi 70±2°C dan waktu infusi 5 menit yaitu sebanyak 449,80 ± 6,34 ppm yang digolongkan ke dalam antioksidan sangat lemah. Nilai IC<sub>50</sub> mengalami penurunan dan mencapai titik terendah pada perlakuan suhu awal infusi 90±2°C dan waktu infusi 5 menit. Namun, terjadi kenaikan nilai IC<sub>50</sub> dimulai dari perlakuan suhu infusi 90±2°C dan waktu infusi 10 menit.

Tabel 4. Nilai rata-rata aktivitas antioksidan IC<sub>50</sub> (ppm) ekstrak minuman herbal daun Kopi Robusta pada perlakuan suhu awal dan waktu infusi.

Suhu Awal Infusi (°C)	Waktu Infusi (Menit)		
	5	10	15
70±2	449,80 ± 6,34 <sup>a</sup>	439,71 ± 1,49 <sup>b</sup>	438,27 ± 2,00 <sup>b</sup>
80±2	417,54 ± 7,60 <sup>c</sup>	396,74 ± 9,17 <sup>d</sup>	271,11 ± 4,66 <sup>f</sup>
90±2	185,01 ± 1,66 <sup>g</sup>	319,29 ± 8,40 <sup>e</sup>	323,29 ± 1,64 <sup>e</sup>

Keterangan: Huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan adanya perbedaan yang sangat nyata ( $P \leq 0,01$ ). Data merupakan rata-rata dari tiga ulangan percobaan.

Peningkatan aktivitas antioksidan ekstrak minuman herbal daun Kopi Robusta terjadi hingga mencapai suhu 90±2°C dan waktu infusi 5 menit. Setelah mencapai kondisi optimum, maka aktivitas antioksidan akan menurun selaras dengan penurunan senyawa yang bersifat antioksidan seperti total fenolik. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat korelasi antara aktivitas antioksidan dengan total fenolik. Hal ini sesuai dengan pernyataan Ghasemzadeh dan Ghasemzadeh (2011) bahwa senyawa fenolik memiliki kontribusi terhadap aktivitas antioksidan. Senyawa fenolik memiliki kemampuan sebagai antioksidan karena dapat memberi donor elektron pada radikal bebas menjadi radikal fenoksil atau radikal stabil (Mokgope, 2006).

### Kapasitas antioksidan

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa perlakuan suhu awal, waktu infusi serta interaksi berpengaruh sangat nyata ( $P \leq 0,01$ )

terhadap kapasitas antioksidan ekstrak minuman herbal daun Kopi Robusta. Nilai rata-rata kapasitas antioksidan ekstrak minuman herbal daun Kopi Robusta dapat dilihat pada Tabel 7.

Berdasarkan data pada Tabel 7 dapat diketahui bahwa nilai rata-rata kapasitas antioksidan ekstrak minuman herbal daun Kopi Robusta paling tinggi terdapat pada perlakuan suhu awal infusi 90±2°C dan waktu infusi 5 menit, yaitu sebesar 23,25 ± 0,14 mg GAEAC/g. Sementara itu, nilai rata-rata kapasitas antioksidan terendah terdapat pada perlakuan suhu awal infusi 70±2°C dan waktu infusi 5 menit, yaitu sebesar 14,61 ± 0,19 mg GAEAC/g. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi suhu infusi dan semakin lama waktu infusi, nilai rata-rata kapasitas antioksidan yang diperoleh mengalami peningkatan. Namun, kapasitas antioksidan mulai mengalami penurunan setelah titik optimum pada perlakuan suhu awal infusi 90±2°C dan waktu infusi 5 menit.

Tabel 5. Nilai rata-rata kapasitas antioksidan (mg GAEAC/g) ekstrak minuman herbal daun Kopi Robusta pada perlakuan suhu dan waktu infusi.

Suhu Awal Infusi (°C)	Waktu Infusi (Menit)		
	5	10	15
70±2	14,61 ± 0,19 <sup>f</sup>	19,37 ± 0,22 <sup>e</sup>	19,94 ± 0,10 <sup>d</sup>
80±2	20,33 ± 0,15 <sup>d</sup>	21,24 ± 0,10 <sup>c</sup>	21,94 ± 0,06 <sup>b</sup>
90±2	23,25 ± 0,14 <sup>a</sup>	22,95 ± 0,07 <sup>a</sup>	22,15 ± 0,09 <sup>b</sup>

Keterangan: Huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan adanya perbedaan yang sangat nyata ( $P \leq 0,01$ ). Data merupakan rata-rata dari tiga ulangan percobaan.

Hasil di atas diduga terjadi karena ada keterkaitan dengan nilai rata-rata total polifenol yang ada pada minuman herbal daun Kopi Robusta. Fithriani *et al.* (2015) menyatakan bahwa kandungan total fenolik memiliki korelasi dengan kapasitas antioksidan. Selain itu, penurunan kapasitas antioksidan juga berhubungan dengan pelarut infusi yang telah mencapai titik jenuhnya sehingga proses ekstraksi senyawa antioksidan tidak mengalami peningkatan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Utami (2009) bahwa waktu ekstraksi yang melewati titik optimum dan terlalu lama berakibat pada rusaknya senyawa bioaktif yang diekstrak.

Nilai kapasitas antioksidan yang tidak setara dengan nilai total fenolik menunjukkan bahwa tidak semua senyawa fenol yang terkandung dalam ekstrak minuman herbal daun Kopi Robusta bekerja sebagai antioksidan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Permana *et al.* (2012) yang menyatakan bahwa jumlah senyawa yang berpotensi menjadi antioksidan belum dapat menunjukkan kapasitas antioksidan yang tinggi juga.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut:

1. Interaksi perlakuan suhu awal dan waktu infusi menunjukkan pengaruh yang sangat nyata terhadap aktivitas antibakteri. Perlakuan suhu awal  $90 \pm 2^\circ\text{C}$  dan waktu infusi 5 menit merupakan perlakuan terbaik untuk menghasilkan ekstrak minuman herbal daun Kopi Robusta dengan aktivitas antibakteri yang optimal. Nilai rata-rata aktivitas antibakteri AU terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonella typhimurium* masing-masing sebesar  $1.248,34 \pm 132,58 \text{ mm}^2/\text{mL}$  dan  $1.473,37 \pm 79,57 \text{ mm}^2/\text{mL}$ .

Aktivitas antibakteri terhadap kedua bakteri mengalami peningkatan seiring kenaikan total fenolik hingga mencapai titik optimum, kemudian mengalami penurunan selaras dengan penurunan total fenolik.

2. Interaksi perlakuan suhu awal dan waktu infusi menunjukkan pengaruh yang sangat nyata terhadap aktivitas antioksidan. Perlakuan suhu awal  $90 \pm 2^\circ\text{C}$  dan waktu infusi 5 menit merupakan perlakuan terbaik untuk menghasilkan ekstrak minuman herbal daun Kopi Robusta dengan aktivitas antioksidan yang optimal dengan nilai rata-rata aktivitas antioksidan  $\text{IC}_{50} 185,01 \pm 1,66 \text{ ppm}$  yang tergolong dalam antioksidan lemah. Nilai  $\text{IC}_{50}$  yang diperlukan untuk meredam radikal bebas menurun seiring peningkatan total fenolik hingga mencapai titik optimum, kemudian mengalami kenaikan selaras penurunan total fenolik.

### Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disarankan beberapa hal sebagai berikut :

1. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, disarankan menggunakan suhu infusi  $90^\circ\text{C}$  dan waktu infusi 5 menit untuk menghasilkan minuman herbal daun Kopi Robusta dengan aktivitas antibakteri dan antioksidan terbaik.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai olahan herbal daun Kopi Robusta sebagai produk hasil enkapsulasi untuk memaksimalkan potensi antioksidan dan antibakteri yang terkandung pada daun Kopi Robusta.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengolahan daun Kopi Robusta menggunakan penetapan waktu infusi yang lebih singkat serta metode lain yang melibatkan fermentasi oksidasi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pusat Statistik. 2019. Produksi Kopi Robusta Menurut Kabupaten/Kota di Provinsi Bali 2000 – 2018. Badan Pusat Statistik Bali, Denpasar.
- Badan Pusat Statistik. 2019. Luas Tanaman Perkebunan Menurut Propinsi dan Jenis Tanaman. Badan Pusat Statistik Indonesia, Jakarta.
- Badan Pusat Statistik. 2019. Produksi Tanaman Perkebunan Menurut Propinsi dan Jenis Tanaman. Badan Pusat Statistik Indonesia, Jakarta.
- Badan Pusat Statistik. 2019. Produksi Perkebunan Rakyat Menurut Jenis Tanaman. Badan Pusat Statistik Indonesia, Jakarta.
- Bailon, M. T. E. and C. S. Buelga. 2003. Polyphenol extraction from foods. *In* Methods in Polyphenol Analysis. M. Saltmarsh, C. S. Buelga and G. Williamson (Eds.). Royal Society of Chemistry, London. p. 1 – 16.
- Budiyanto, A. and Yulianingsih. 2008 The influence of temperature and extraction time to character of pectin from siam orange (*Citrus nobilis L.*) waste. *Journal of Pascapanen*. 5 (2).
- Blois, M. S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature Journal*. 181:1199–1200.
- Campa, C. and A. Petitvallet. 2017. Beneficial compounds from coffee leaves. *In* Achieving sustainable cultivation of coffee. P. Lashermes (Ed.). Dodds Science Publishing, Cambridge. p. 237 – 258.
- Carolia, N. dan W. Noventi. 2016. Potensi ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) sebagai alternatif terapi *Acne vulgaris*. *Jurnal Majority*. 5(1): 140 – 145.
- DuPont, H. L. 2009. The epidemiology and clinical features of traveller's diarrhoea. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics Journal*. 30(3):187 – 196.
- Fithriani, D., S. Amini, S. Melanie dan R. Susilowati. 2015. Uji fitokimia, kandungan total fenol dan aktivitas antioksidan mikroalga *Spirulina sp.*, *Chlorella sp.*, dan *Nannochloropsis sp.* *JPB Kelautan dan Perikanan*. 10(2): 101 – 109.
- Ghasemzadeh, A. and N. Ghasemzadeh. 2011. Flavonoids and phenolic acids role and biochemical in plants and human. *Academic Journals*. 5(31): 6697 – 6703.
- Hambali, M., F. Mayasari, F. Noermansyah. 2014. Ekstraksi antosianin dari ubi jalar dengan variasi konsentrasi solven dan lama waktu ekstraksi. *Jurnal Teknik Kimia*. 20(2): 25–35.
- Hartati dan S. E. Putri. 2019. Perbedaan aktivitas antimikroba dari ekstrak etanol dan etil asetat daun kopi (*Coffea canephora*). *Diseminasi Hasil Penelitian melalui Optimalisasi Sinta dan Hak Kekayaan Intelektual*. p. 480 – 482.
- Hulupi, R. dan E. Martini. 2013. Pedoman Budi Daya dan Pemeliharaan Tanaman Kopi di Kebun Campur. *World Agroforestry Centre (ICRAF) Southeast Asia Regional Program*, Bogor.
- Kementerian Kesehatan. 2019. Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2018. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Khare, P. and K. Shanker. 2016. Sources and interventions for biological activities. *BioFactors Journal*. 42(5): 504 – 514.

- Listari, Y. 2009. Efektifitas penggunaan metode pengujian antibiotik isolat *Streptomyces* dari *Rizosferfamilia poaceae* terhadap *Escherichia coli*. Jurnal Online.1: 1–6.
- Miranda, M., H. Maureira, K. Rodriguez, and G. A. Vega. 2009. Influence of temperature on the drying kinetics, physicochemical properties, and antioxidant capacity of aloe vera (*Aloe barbadensis miller*) gel. Journal of Food Engineering. 91 (2): 297 – 304.
- Mokgope, L. B. 2006. Phenolic composition and use as antioxidants in sunflower oil. Department of Food Science. University of Pretoria Press, Pretoria.
- Mutmainah, N., S. Chadijah dan M. Qaddafi. 2018. Penentuan suhu dan waktu optimum infusi batang teh hijau (*Camelia sinensis L.*) terhadap kandungan antioksidan kafein, tanin, dan katekin. Lantanida Journal. 6(1): 1 – 102.
- Naibaho, B. dan B. D. A. Sinambela. Pengaruh suhu pengeringan terhadap kelarutan kukurmin dari tepung kunyit (*Cucurma domestica Val*) pada berbagai suhu air. Skripsi. Tidak dipublikasi. Fakultas Pertanian Universitas HKBP, Medan.
- Pamungkas, T. A., A. Ridlo, Sunaryo. 2013. Pengaruh suhu ekstraksi terhadap kualitas natrium alginat rumput laut *Sargassum sp.* Journal of Marine Research. 2(3): 78 – 84.
- Pelczar, M. J. dan E. J. S. Chan. 1988. Dasar-dasar Mikrobiologi. UI Press, Jakarta.
- Permana, A. W., S. M. Widayanti, S. Prabawati, D. A. Setyabudi. 2012. Sifat antioksidan bubuk kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L.*) instan dan aplikasinya untuk minuman fungsional berkarbonasi. Jurnal Pascapanen. 9(2): 88 – 95.
- Prayoga, G. 2013. Fraksinasi, uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dan identifikasi golongan senyawa kimia dari ekstrak teraktif daun sambaing darah (*Excoecaria cochinchinensis Lour*). Pharmacon. 5: 41– 48.
- Purwakhidyana, R., B. Kunarto, Y. E. Sani dan E. Pratiwi. 2018. Pengaruh suhu dan lama waktu ekstraksi terhadap sifat kimia kopi hijau (*Coffea canephora P.*). Jurnal Mahasiswa Food Technology and Agricultural. p. 1 – 8.
- Putri, S., H. B. Ardhiyanto, dan A. D. P. Shita. 2019. Potensi kopi robusta sebagai antibakteri dan antijamur pada penyakit rongga mulut. Prosiding the 5<sup>th</sup> Dentistry Scientific Meeting of Jember. p. 22 – 31.
- Rahardjo, P. 2012. Kopi. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Rahardjo, P. 2017. Berkebun Kopi. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Retnaningtyas, Y., N. Kristiningrum, H. D. Renggani dan N. P. Narindra. 2016. Karakterisasi simplisia dan teh herbal daun kopi arabika. Nasional Current Challenges in Drug Use and Development. p. 46 – 54.
- Sakanaka, S., Y. Tachibana, and Y. Okada. 2003. Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (kakiniha-cha). Food Chemistry. 89(4): 549 – 579.
- Sayuti, K. dan R. Yenrina. 2015. Antioksidan Alami dan Sintetik. Andalas University Press, Padang.
- Septiana, A. T., D. Muchtadi, dan F. R. Zakaria. 2002. Aktivitas antioksidan ekstrak diklorometana dan air jahe pada asam linoleate. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan. 13(2): 105 –110.

- Silva, C. C., R. F. H. Dekker, R. S. S. F. Silva, M. D. L. C. D. Silva and A. M. Barbosa. 2007. Effect of soybean oil and Tween 80 on the production of botryosphaeran by *Botryosphaeria rhodiana* MAMB-05. *Journal Process Biochemistry*. 42: 1254 – 1258.
- Singh, J. 2008. Maceration, Percolation and Infusion Techniques for the Extraction of Medicinal and Aromatic Plants. *In* Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. S. S. Handa, S. P. S. Khanuja, G. Longo and D. P. Rakesh (Eds.). ICS Unido, Trieste. p. 68 – 82.
- Singh, V., D. K. Verma, G. Singh. 2014. Processing technology and health benefits of green tea. *Popular Kheti*. 2(1): 23 – 30.
- Usmiati, S. dan T. Marwati. 2007. Seleksi dan optimasi proses produksi bakteriosin dari *Lactobacillus sp.* *Jurnal Pascapanen*. 4(1): 27–37.
- Utami. 2009. Potensi daun alpukat (*Persea americana* Mill) sebagai sumber antioksidan alami. *Jurnal Teknik Kimia UPN Jawa Timur*. 2(1): 58 – 64.
- Warbung, Y. Y., V. N. S. Wowor, dan J. Posangi. 2013. Daya hambat ekstrak spons laut *Callyspongia sp* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Gigi*. 1 (2): 1 – 12.
- Wenjuan, Q., P. Zhongli and M. Haile. 2010. Extraction modeling and activities of antioxidants from pomegranate Marc. *Journal of Food Engineering*. 99: 16 – 23.
- Widiana, R. 2012. Konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun teh (*Camelia sinensis L.*) pada *Escherichia coli* dan *Salmonella sp.* *Jurnal Pelangi*. 4(2): 109 – 117.
- Winata, E. W. dan Yunianta. 2015. Ekstraksi antosianin buah murbei (*Morus alba L.*) metode *ultrasonic batch*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3 (2): 773 – 783.
- Yuliantari, N. W. A., I. W. R. Widarta, I. D. G. M. Permana. 2017. Pengaruh suhu dan waktu ekstraksi terhadap kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidan daun sirsak (*Annona muricata L.*) menggunakan ultrasonik. *Scientific Journal of Food Technology*. 4(1): 35 – 42.
- Yulianto, R. R. dan T. D. Widyaningsih. 2013. Formulasi produk minuman herbal berbasis cincau hitam (*Mesona palustris*), jahe (*Zingiber officinale*), dan kayu manis (*Cinnamomum burmanni*). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 1(1): 65 – 77.
- Zed, M. 2010. Dari melayu kopi daun hingga kapitalisme global. *Dilemma Ekonomi Melayu*. 6(2): 67 – 78.
- Zein, U., K. H. Sagala dan J. Ginting. 2004. Diare Akut Disebabkan Bakteri. Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara Press, Medan.