

DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|--|----|
| Lampiran 1. Surat Izin Penelitian Kimia..... | 47 |
| Lampiran 2. Surat Izin Penelitian Biologi..... | 48 |
| Lampiran 3. Surat Izin Penelitian Farmasi..... | 49 |
| Lampiran 4. Surat Selesai Penelitian Kimia..... | 50 |
| Lampiran 5. Surat Selesai Penelitian Farmasi..... | 51 |
| Lampiran 6. Dokumentasi..... | 52 |
| Lampiran 7. Data Hasil GC-MS..... | 55 |



THE
Character Building
UNIVERSITY

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kopi termasuk komoditas perkebunan yang bernilai ekonomi tinggi serta memegang peranan penting dalam menunjang perekonomian nasional. Produksi kopi di Indonesia juga tergolong tinggi menurut (BPS, 2024) yaitu mencapai 654.000 ton. Kopi Robusta (*Coffea canephora*) merupakan salah satu varietas kopi yang paling umum dibudidayakan, terutama di wilayah dataran rendah. Dalam proses pengolahannya, kopi tidak hanya menghasilkan biji sebagai produk utama, tetapi juga menyisakan limbah dalam jumlah besar, seperti kulit buah kopi yang dikenal dengan nama cascara

Cascara merupakan bagian dari kulit luar buah kopi yang biasanya dipisahkan selama pemrosesan biji. Sayangnya, limbah ini sering tidak dimanfaatkan secara optimal dan sebagian besar hanya dibuang ke lingkungan sekitar, menyebabkan penumpukan limbah organik yang membahayakan lingkungan. Limbah yang membusuk dapat menimbulkan bau tidak sedap, mengganggu mikroorganisme tanah, serta meningkatkan emisi gas rumah kaca (Nur dkk., 2019). Selain berpotensi sebagai bahan minuman herbal, cascara juga dapat diolah menjadi pupuk atau kompos karena kandungan karbon organik, selulosa, hemiselulosa, lignin, dan mineral penting seperti kalium, kalsium, fosfor, serta magnesium yang tinggi. Lignin dan seratnya membantu meningkatkan kandungan bahan organik tanah, sedangkan mineralnya menjadi sumber hara makro dan mikro bagi tanaman. Proses pengomposan cascara mampu menurunkan kadar senyawa fitotoksik seperti kafein dan tanin, sehingga kompos yang dihasilkan aman digunakan serta efektif memperbaiki sifat fisik, kimia, dan biologi tanah, mendukung kesuburan serta pertumbuhan tanaman secara berkelanjutan (Pongsiriyakul *et al.*, 2024). Oleh karena itu pengelolaan dan pemanfaatan limbah cascara secara berkelanjutan sangat diperlukan untuk mengurangi dampak negatif terhadap lingkungan

Cascara dikenal memiliki rasa yang unik dengan aroma buah yang cukup kuat dan mengandung berbagai senyawa bioaktif dan fenolik, seperti tannin (1,8–8,56%), pektin (6,5%), kafein (1,3%), asam klorogenat (2,6%), serta asam kafeat (1,6%). Kandungan antosianin yang mencapai 43%, yang tersusun dari senyawa-senyawa seperti sianidin, delphinidin, sianidin 3-glikosida, delphinidin 3-glikosida, dan pelargonidin 3-glikosida. (Husna dkk., 2023). Selain itu cascara mengandung polifenol, antisoanin, vitamin C, betakaroten, gula reduksi, serta berbagai antioksidan. Penelitian dari (Sholichah dkk., 2019) menunjukkan bahwa kandungan polifenol dalam cascara kopi Robusta lebih tinggi dibandingkan dengan jenis Arabika, yaitu mencapai 8,089%, serta menunjukkan potensi aktivitas antioksidan sebesar 57,5%. Senyawa polifenol ini memiliki gugus hidroksil (-OH) yang berfungsi dalam menetralsisir radikal bebas melalui mekanisme pemutusan rantai oksidatif, sehingga dapat mengurangi kerusakan sel yang disebabkan oleh stres oksidatif.

Kulit kopi yang masih segar mengandung berbagai nutrisi, di antaranya protein sebesar 6,11%, serat kasar 18,69%, tanin 2,47%, kafein 1,36%, lignin 52,59%, lemak 1,07%, abu 9,45%, serta mineral seperti kalsium 0,23% dan fosfor 0,02% (Puspaningrum & Sari, 2021). Dalam proses pemanfaatan sebagai sumber antioksidan, kulit buah kopi yang telah mengalami pengeringan lebih diunggulkan dibandingkan dalam kondisi segar. Pengeringan terbukti mampu meningkatkan konsentrasi senyawa fenolik serta aktivitas antioksidannya. Secara umum, pengeringan dengan paparan sinar matahari dinilai lebih efektif dalam mempertahankan kadar senyawa fenol dibandingkan metode pengeringan menggunakan alat pengering kabinet (Wibisono dkk., 2024). Cascara dari kulit kopi yang difermentasi dengan kelembaban 95% memiliki kandungan senyawa fenol 2,45 mg/g dan aktivitas antioksidan dengan IC₅₀ sebesar 67,94 mg/kg (Rosidah dkk., 2021).

Penelitian terkait pemanfaatan kopi dan produk sampingannya menunjukkan potensi besar sebagai bahan kosmetik dan produk fungsional. Ekstrak biji kopi Robusta (*Coffea canephora*) dalam masker gel *peel-off* pada penelitian (Yasir dkk., 2022) mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin dengan aktivitas antioksidan tinggi (IC₅₀ 7,104 ppm) serta pH 5,3 yang sesuai dengan kulit

tanpa menyebabkan iritasi. Kandungan flavonoid sebesar 5,86 mg/g mampu memberikan manfaat sebagai pelembap alami. Penelitian dari (Badruttamam & Rianto, 2023) mendukung potensi ekstrak kopi, baik Robusta maupun Arabika, dalam produk perawatan kulit untuk meningkatkan kelembapan dan elastisitas kulit serta menghambat penuaan dini. Selain biji kopi, produk sampingan seperti cascara memiliki kandungan kafein dan senyawa fenolik yang tinggi (Komes *et al.*, 2021), berperan dalam aktivitas antioksidan dan pengembangan produk minuman fungsional. Program pemberdayaan masyarakat di Desa Sukorejo (Mahriani dkk., 2019) juga menunjukkan bahwa cascara dapat menjadi minuman kaya antioksidan bernilai ekonomi tinggi, mendukung keberlanjutan industri kopi. Secara keseluruhan, kopi dan limbahnya memiliki potensi besar sebagai bahan aktif dalam kosmetik dan minuman fungsional berbasis antioksidan.

Hasil penelitian sebelumnya terkait pada pengujian kandungan senyawa cascara kopi Robusta dan Arabika yaitu hasil penelitian (Fadhillah dkk., 2023) bahwa kopi Robusta memiliki kadar tanin dan polifenol lebih tinggi dibandingkan Arabika, serta aktivitas antioksidan yang lebih unggul (39–57% vs 22,5–33,5%). Oleh karena itu, Robusta lebih potensial untuk dijelaskan terkait senyawa antioksidannya. Penelitian selama lima tahun terakhir juga menunjukkan cascara sebagai sumber antioksidan yang signifikan, dengan minuman cascara mampu menghambat DPPH sebesar 53–78%, menunjukkan kapasitas antioksidan yang kuat. Selain itu, mengeringkan cascara menggunakan oven bersuhu rendah (45°C) mempertahankan kandungan mineral yang mendukung aktivitas antioksidan.

Paparan sinar matahari dapat merugikan kulit akibat radiasi ultraviolet (UV) yang terdiri atas UV A (320–400 nm), UV B (290–320 nm), dan UV C (200–290 nm). UV B lebih berpotensi menyebabkan kulit terbakar, sementara UV A menembus lebih dalam dan merusak DNA secara tidak langsung, sehingga memicu penuaan kulit. Paparan UV berlebih dapat menyebabkan sunburn, eritema, hiperpigmentasi, penuaan dini, dan meningkatkan risiko kanker kulit (Kusumawardany dkk., 2023).

Antioksidan yang terkandung dalam cascara memiliki kemampuan untuk melindungi kulit dari kerusakan akibat stres oksidatif serta peradangan yang dipicu oleh radikal bebas. Senyawa ini mampu menetralkan radikal bebas, memperlambat

proses penuaan, dan berkontribusi dalam menjaga kesehatan kulit secara menyeluruh. Selain itu, antioksidan juga berfungsi dalam mempercepat regenerasi sel kulit, sehingga kulit tetap tampak muda dan sehat. Dengan kandungan antioksidan yang tinggi serta kemampuannya dalam menjaga kelembapan kulit, cascara berpotensi besar untuk dikembangkan menjadi bahan dasar produk perawatan kulit, seperti pelembap yang mampu melindungi kulit dari efek buruk radikal bebas dan mempertahankan hidrasi, elastisitas, serta vitalitas kulit.

Minyak atsiri adalah ekstrak cair dari tumbuhan aromatik yang mengandung senyawa mudah menguap dengan sifat larut dalam lemak dan memiliki aroma khas, sehingga banyak digunakan dalam berbagai sektor industri, termasuk farmasi, kosmetik, pangan, minuman, dan aromaterapi. Komposisinya didominasi oleh senyawa terpenoid, terutama monoterpen seperti limonene, pinene, dan camphene, serta senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, dan antiinflamasi. Minyak atsiri dapat diperoleh melalui berbagai metode ekstraksi seperti hidrodestilasi, destilasi uap, *solvent-free microwave extraction* (SFME), *microwave hydrodiffusion and gravity* (MHG), serta hidrodestilasi berbantuan enzim (HDEA). Pemilihan metode sangat mempengaruhi kualitas dan rendemen minyak yang dihasilkan. Dalam industri, minyak atsiri tidak hanya digunakan sebagai bahan baku kosmetik dan farmasi, tetapi juga untuk produk fungsional seperti desinfektan, insektisida, dan aromaterapi (Siswantito dkk., 2023).

Selama ini, pemanfaatan antioksidan dari cascara kopi umumnya dilakukan dengan menyeduhnya menjadi teh. Namun, terdapat metode yang lebih optimal untuk mengangkat potensi antioksidannya, yaitu melalui proses pengolahan menjadi minyak atsiri. Aktivitas antioksidan pada teh cascara sangat bergantung pada konsentrasi larutan serta teknik penyeduhan yang digunakan. Hal ini disebabkan oleh keterbatasan kelarutan senyawa aktif dalam air, serta kemungkinan degradasi senyawa tersebut akibat suhu tinggi. Sebaliknya, pengolahan menjadi minyak atsiri memungkinkan perolehan senyawa aktif dalam jumlah yang lebih tinggi. Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh (Syabila *et al.*, 2024), ekstrak etanol dari cascara menunjukkan tingkat aktivitas antioksidan paling tinggi dibandingkan dengan ekstrak menggunakan pelarut lain seperti air, n-heksana, metanol, dan etil asetat, dengan persentase aktivitas yang berada dalam kisaran

78,25% hingga 79,50%. Temuan ini menunjukkan bahwa metode destilasi atau ekstraksi dengan pelarut yang tepat efektif mengisolasi senyawa volatil seperti terpenoid dan ester, serta menjaga kestabilan antioksidan dalam minyak atsiri, sehingga berpotensi digunakan dalam industri kosmetik dan perawatan kulit.

Salah satu metode yang umum digunakan untuk mengevaluasi potensi aktivitas antioksidan adalah metode DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*). Metode ini mengukur kemampuan suatu senyawa dalam mereduksi radikal bebas DPPH. Reaksi antara senyawa antioksidan dengan radikal bebas tersebut akan menyebabkan perubahan warna larutan dari ungu menjadi kuning pucat, yang selanjutnya dapat diukur nilai absorbansinya pada panjang gelombang sekitar 517 nm. Hasil dari pengujian ini umumnya dinyatakan dalam bentuk nilai IC_{50} , yaitu konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% aktivitas radikal bebas. Semakin rendah nilai IC_{50} , maka semakin kuat aktivitas antioksidan dari senyawa tersebut (Prasetyo dkk., 2021). Penggunaan metode DPPH sangat sesuai dalam mengevaluasi kemampuan senyawa fitokimia dalam minyak atsiri cascara kopi sebagai antioksidan alami.

Selain itu, untuk mengetahui komposisi senyawa kimia dalam minyak atsiri cascara kopi digunakan metode *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS) yang mampu memisahkan dan mengidentifikasi senyawa volatil dalam campuran kompleks. Penggunaan GC-MS memungkinkan identifikasi senyawa terpenoid, ester, fenol, dan senyawa aromatik lainnya secara kuantitatif dan kualitatif (Fatmawati dkk., 2018). Teknik ini sangat relevan untuk mengidentifikasi komponen utama dalam minyak atsiri yang memiliki potensi aktivitas biologis, seperti linalool, eugenol, dan β -caryophyllene.

Melalui penelitian ini, diharapkan cascara kopi yang sebelumnya hanya dianggap limbah dapat dimanfaatkan sebagai sumber bahan aktif alami yang bermanfaat dan ramah lingkungan. Penelitian ini juga diharapkan menjadi kontribusi dalam pengembangan produk berbasis bahan alam serta pengelolaan limbah pertanian secara berkelanjutan.

1.2 Identifikasi Masalah

1. Belum diketahui senyawa fitokimia minyak atsiri cascara kopi Robusta (*Coffea canephora*).
2. Belum ada data terbaru mengenai aktivitas senyawa antioksidan minyak atsiri cascara kopi Robusta (*Coffea canephora*).

1.3 Ruang Lingkup

Ruang lingkup pada penelitian ini difokuskan pada ekstraksi minyak atsiri dari kulit buah kopi Robusta (*Coffea canephora*) menggunakan metode destilasi. Identifikasi senyawa kimia dalam minyak atsiri menggunakan alat *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS). Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*). Penelitian ini tidak membahas uji toksisitas, uji klinis, maupun formulasi produk jadi berbasis minyak atsiri.

1.4 Batasan Masalah

1. Cascara yang digunakan ialah cascara dari kulit buah kopi Robusta (*Coffea canephora*) yang berwarna merah.
2. Penelitian ini dibatasi pada identifikasi senyawa fitokimia dari minyak atsiri cascara kopi Robusta (*Coffea canephora*) dengan menggunakan GC-MS dan software PubChem.
3. Untuk identifikasi senyawa antioksidan menggunakan metode DPPH.

1.5 Rumusan Masalah

1. Apa saja senyawa fitokimia yang terkandung dalam minyak atsiri cascara kopi Robusta (*Coffea canephora*) berdasarkan analisis menggunakan GC-MS?
2. Bagaimana aktivitas senyawa antioksidan dari minyak atsiri cascara kopi Robusta (*Coffea canephora*) berdasarkan uji DPPH?

1.6 Tujuan Penelitian

1. Mengidentifikasi senyawa fitokimia dalam minyak atsiri cascara kopi Robusta (*Coffea canephora*) menggunakan GC-MS.

2. Mengetahui aktivitas senyawa antioksidan minyak atsiri cascara kopi Robusta (*Coffea canephora*) dengan metode uji DPPH.

1.7 Manfaat Penelitian

Penelitian ini memiliki beberapa manfaat, manfaat-manfaat tersebut antara lain adalah :

1. Manfaat penelitian secara teoritis

Hasil penelitian yang didapatkan dapat menambah wawasan ilmiah mengenai kandungan senyawa fitokimia pada minyak atsiri cascara kopi serta aktivitas antioksidannya sebagai referensi dalam berbagai bidang yang masih minim dibahas dalam kajian akademik.

2. Manfaat penelitian secara praktis

Hasil penelitian dapat dijadikan dasar dalam pengembangan produk berbasis cascara kopi sebagai bahan aktif antioksidan alami untuk industri makanan, kosmetik atau farmasi.

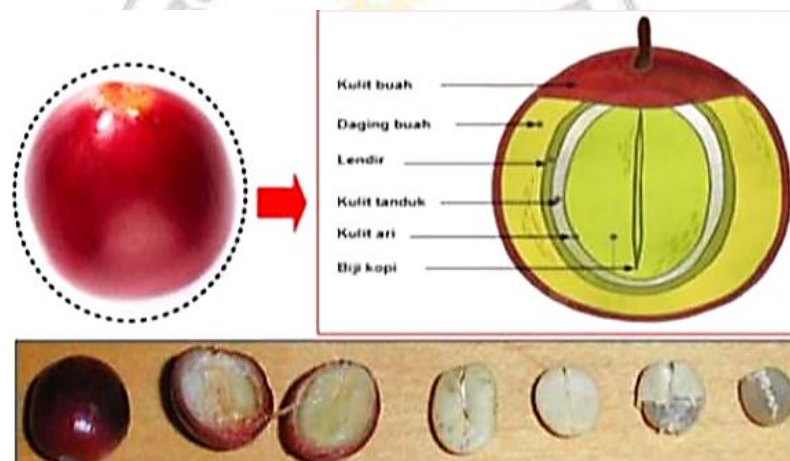


BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Cascara Kopi Robusta (*Coffea canephora*)

Kopi Robusta dikenal secara ilmiah sebagai *Coffea canephora* berasal dari kata “robust” yang mencerminkan cita rasa yang kuat dan pahit. Berdasarkan data Taxonomy NCBI, sistematika kopi Robusta (*Coffea canephora*) meliputi Kingdom Plantae, Divisi Magnoliophyta, Kelas Magnoliopsida, Ordo Rubiales, Famili Rubiaceae, Genus Coffea, Spesies *Coffea canephora*. Spesies ini berasal dari daerah sub-Sahara Afrika Tengah dan Barat.



Gambar 2.1 Anatomi Buah Kopi (Sirappa dkk., 2024)

Kopi Robusta (*Coffea canephora*) merupakan salah satu varietas kopi yang banyak dibudidayakan di Indonesia, terutama di wilayah dengan ketinggian antara 400 hingga 800 meter di atas permukaan laut. Tanaman ini tergolong dalam famili Rubiaceae dan memiliki ciri morfologi yang khas, baik pada organ vegetatif maupun generatif. Secara vegetatif, tanaman kopi Robusta memiliki batang yang tumbuh tegak dengan pola percabangan simpodial. Batangnya bersifat keras, berkayu, berwarna coklat kehijauan pada fase muda, dan berubah menjadi coklat tua seiring pertambahan usia. Daunnya berbentuk lonjong hingga elips, tersusun berpasangan secara berhadapan (oppositus), dan memiliki permukaan mengkilap. Ujung daun meruncing dengan tepi rata, serta tulang daun yang tampak jelas. Pada

bagian generatif, bunga kopi Robusta muncul pada ketiak daun dan tersusun dalam kelompok (inflorescence) yang terdiri atas 3–7 kuntum bunga. Bunga berwarna putih, memiliki aroma harum, dan mekar secara serempak. Tanaman ini bersifat allogami (penyerbukan silang), sehingga memerlukan bantuan serangga atau angin untuk proses penyerbukan. Morfologi akar tanaman kopi Robusta terdiri dari akar tunggang yang kuat dan menjalar cukup dalam ke dalam tanah, serta akar lateral yang berkembang luas ke samping. Sistem perakaran ini memungkinkan tanaman menyerap air dan unsur hara secara optimal, meskipun ditanam di lahan dengan tingkat kesuburan sedang (Zasari dkk., 2023).

Buah kopi Robusta memiliki struktur berlapis dari bagian luar hingga ke dalam. Lapisan paling luar disebut eksokarp atau kulit buah, yang tipis serta mengandung klorofil dan pigmen, sehingga saat matang akan berubah warna menjadi merah. Di bawahnya terdapat mesokarp, yaitu bagian daging buah yang kaya air dan gula, memberikan rasa manis alami. Mesokarp ini memiliki dua bagian, yaitu sisi luar yang lebih tebal dan keras, serta sisi dalam yang memiliki tekstur seperti gel atau lendir. Lapisan berikutnya adalah endokarp atau kulit tanduk, yakni bagian keras yang membungkus biji dan berada di antara daging buah dan biji kopi. Biji kopi dibungkus oleh testa, yaitu selaput tipis berwarna hijau yang juga dikenal sebagai *silver skin*. Bagian terdalam adalah endosperma, yaitu biji kopi itu sendiri yang diolah menjadi minuman (Sirappa *et al.*, 2024).

Kopi merupakan komoditas global yang sangat penting dan merupakan salah satu minuman paling populer di seluruh dunia, berperan sebagai pilar ekonomi utama di banyak negara berkembang. Namun, perlu dicatat bahwa konsumsi kopi umumnya hanya berfokus pada biji kopi, yang menyumbang sekitar 20% dari total berat buah kopi. Sebaliknya, 80% sisanya terdiri dari produk sampingan yang dihasilkan selama proses pengolahan. Salah satu produk sampingan pertama yang muncul setelah panen dan pengolahan kopi adalah cascara. Karakteristik dan komposisi cascara sangat dipengaruhi oleh metode pemrosesan pasca panen yang digunakan. Kulit kopi cascara dihasilkan dari metode pengeringan tradisional dan terdiri dari kulit, pulp, lendir, perkamen, serta bagian dari *silverskin*, yang secara keseluruhan mencakup hampir 45% dari total massa ceri kopi. Secara umum, cascara sering dianggap sebagai limbah lingkungan, dan

jika tidak dikelola dengan baik, akumulasi bahan ini dapat menimbulkan masalah serius bagi lingkungan (Jiarong *et al.*, 2022).



Gambar 2.2 Cascara Kopi (Rahmat, 2022)

Cascara yang merupakan hasil samping dari proses pengolahan kopi, tidak hanya dipandang sebagai limbah, tetapi juga memiliki potensi besar sebagai sumber minyak atsiri. Minyak atsiri yang diperoleh dari cascara mengandung beragam senyawa bioaktif yang berpotensi dimanfaatkan dalam industri pangan, kosmetik, maupun farmasi. Hal ini memberikan nilai tambah secara ekonomis terhadap limbah tersebut sekaligus mendukung prinsip pemanfaatan yang berkelanjutan. Proses ekstraksi minyak atsiri dari cascara dapat dilakukan melalui berbagai teknik, seperti hidrodistilasi, distilasi uap, ekstraksi gelombang mikro tanpa pelarut (*solvent-free microwave extraction*), hidrodifusi mikrogravitasi, serta hidrodistilasi yang dibantu oleh enzim. Metode-metode tersebut telah menunjukkan kontribusi nyata dalam aplikasi industri dan farmasi. Di samping itu, minyak atsiri juga memiliki manfaat sebagai agen terapeutik dan banyak dikaji dalam pengembangan aromaterapi. Penggunaannya meluas di berbagai sektor industri, antara lain sebagai disinfektan, insektisida, bahan dalam produk kosmetik, cologne, losion rambut, hingga sampo. Penelitian oleh (Siswantito dkk., 2023) menunjukkan keberhasilan dalam memanfaatkan limbah kulit nenas, menghasilkan produk seperti pelembab kulit, garam mandi, lilin aromaterapi, dan produk sejenis lainnya.

2.2 Minyak Atsiri

Minyak atsiri merupakan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan melalui jalur biosintesis asam mevalonat dan termasuk dalam kelompok terpen. Saat ini, pemanfaatan minyak atsiri telah berkembang luas di berbagai bidang,

seperti dalam pembuatan parfum, bahan aktif dalam kosmetik, serta sebagai senyawa yang memiliki aktivitas antibiotik, antioksidan, imunostimulan, dan agen terapi untuk membantu meredakan stres maupun gangguan kesehatan ringan lainnya. Secara karakteristik organoleptik, minyak atsiri memiliki rasa pahit, aroma khas yang harum, serta tampilan bening atau jernih, yang warnanya dapat bervariasi tergantung dari tanaman asalnya. Minyak ini mudah larut dalam pelarut organik, namun memiliki kelarutan yang rendah dalam air. Kualitas minyak atsiri maupun produk turunannya dapat menurun akibat oksidasi dan penguapan jika terpapar langsung oleh cahaya matahari dan udara (Lailatul Qodri, 2020).

Minyak atsiri memiliki karakteristik fisik dan kimia yang unik, seperti volatilitas tinggi, kelarutan dalam pelarut organik, serta sifat hidrofobik (Agarwal dkk., 2022). Komponen utama minyak atsiri meliputi terpenoid (monoterpen dan seskuiterpen), fenolik, alkohol, ester, dan aldehida (Septiani dkk., 2024). Karakteristik lain yang penting adalah:

- a. Volatilitas : Minyak atsiri mudah menguap pada suhu kamar.
- b. Aroma khas : Setiap minyak atsiri memiliki aroma yang berbeda tergantung pada jenis tumbuhan asalnya.
- c. Aktivitas bioaktif : Banyak minyak atsiri memiliki sifat antioksidan, antimikroba, dan antiinflamasi

Minyak atsiri dapat diperoleh dari berbagai bagian tanaman dengan menggunakan metode ekstraksi yang beragam, tergantung pada jenis bahan dan kondisi prosesnya. Pemilihan metode ekstraksi yang kurang tepat dapat memengaruhi kualitas alami serta bioaktivitas minyak atsiri, sehingga penting untuk memastikan teknik yang digunakan sesuai standar pengendalian kualitas. Distilasi uap menjadi salah satu metode yang paling umum diterapkan untuk mengekstraksi minyak atsiri dari tanaman. Melalui metode ini, rendemen minyak atsiri yang diperoleh dapat mencapai sekitar 93%. Proses tersebut melibatkan penerapan panas dalam bentuk uap yang berfungsi untuk merusak struktur sel tanaman dan melepaskan minyak atsiri secara efektif (Agarwal dkk., 2022).

Minyak atsiri memiliki potensi besar sebagai pelembap alami dalam formulasi produk perawatan kulit berkat kandungan senyawa bioaktifnya. Beberapa jenis minyak atsiri, seperti lavender dan jeruk, diketahui mampu membantu

menjaga hidrasi kulit dengan mempertahankan keseimbangan kelembaban alami (Guzmán & Lucia, 2021). Selain itu, minyak atsiri juga kaya akan polifenol dan flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan, mampu menangkal radikal bebas yang dapat merusak struktur sel kulit, sehingga membantu menjaga kelembutan dan elastisitas kulit (Septiani dkk., 2024). Sifat antiinflamasi yang dimiliki oleh kandungan terpenoid dalam minyak atsiri juga berperan dalam meredakan iritasi dan peradangan kulit, menjaga kesehatan serta kelembapan kulit secara optimal (Agarwal dkk., 2022).

Antioksidan dalam minyak atsiri membantu mencegah kerusakan kolagen akibat radikal bebas yang dapat mempercepat penuaan kulit. Dengan perlindungan terhadap stres oksidatif, minyak atsiri dapat meningkatkan kemampuan kulit untuk menjaga kelembaban alaminya. Sebagai contoh, penelitian menunjukkan bahwa minyak atsiri dari jeruk kalamansi memiliki aktivitas antioksidan tinggi yang membantu menjaga kesehatan dan hidrasi kulit (Agarwal dkk., 2022). Beberapa penelitian terbaru telah menunjukkan manfaat minyak atsiri dalam formulasi pelembap kulit. Penelitian dari (Guzmán & Lucia, 2021) menemukan bahwa minyak atsiri lavender secara efektif dapat meningkatkan kelembutan dan hidrasi kulit ketika digunakan dalam formulasi krim pelembap. Penelitian yang telah dilakukan oleh (Agarwal dkk., 2022) menunjukkan bahwa minyak atsiri yang diekstraksi dari kulit jeruk nipis memiliki potensi sebagai pelembap alami berkat aktivitas antioksidannya yang signifikan. Penelitian lain oleh (Septiani dkk., 2024) melaporkan bahwa minyak atsiri jeruk kalamansi mampu menjaga kelembaban kulit serta memperbaiki tekstur permukaannya melalui efek antioksidan yang kuat, menjadikannya bahan yang menjanjikan dalam perawatan kulit alami.

2.3 Antioksidan

Radikal bebas adalah molekul tidak stabil yang memiliki elektron tidak berpasangan, sehingga bersifat sangat reaktif dan mudah merusak sel tubuh. Molekul ini dapat terbentuk secara alami dari proses metabolisme, namun juga dipicu oleh faktor eksternal seperti polusi, paparan sinar ultraviolet, dan asap rokok. Keberadaan radikal bebas yang berlebihan dalam tubuh dapat memicu kondisi stres oksidatif yang merusak DNA, protein, dan lipid, serta menyebabkan berbagai

penyakit degeneratif seperti kanker dan diabetes. Untuk mengatasi dampak negatif tersebut, tubuh memerlukan antioksidan. Antioksidan berperan dalam menetralkan radikal bebas dengan menyumbangkan elektron tanpa menjadikannya senyawa yang reaktif, sehingga mampu melindungi sel dari kerusakan. Asupan antioksidan yang cukup terbukti dapat memperkuat sistem imun, memperlambat proses penuaan, serta menurunkan risiko terjadinya berbagai penyakit degeneratif. Sumber antioksidan dapat diperoleh dari bahan alami seperti buah-buahan, sayuran, dan tumbuhan herbal. Dibandingkan dengan antioksidan sintetis yang berpotensi menimbulkan efek samping bila dikonsumsi dalam jumlah berlebihan, antioksidan alami dinilai lebih aman untuk digunakan. Dengan menjaga keseimbangan kadar radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh, kesehatan sel dan fungsi fisiologis dapat dipertahankan dengan baik (Lubis dkk., 2021).

Antioksidan merupakan senyawa yang berperan dalam menyerap atau menetralkan radikal bebas, sehingga dapat mencegah terjadinya berbagai penyakit degeneratif, seperti gangguan kardiovaskular, kanker, dan penyakit lainnya. Senyawa ini memiliki peran penting bagi tubuh dalam menonaktifkan radikal bebas serta melindungi sel normal, protein, dan lipid dari kerusakan yang ditimbulkan. Berkat struktur molekulnya yang khas, antioksidan mampu menyumbangkan elektron kepada radikal bebas tanpa kehilangan stabilitasnya, serta berfungsi menghentikan reaksi berantai yang dipicu oleh radikal bebas tersebut (Pratiwi dkk., 2023). Antioksidan terbagi menjadi sintetis dan alami. Antioksidan buatan seperti BHT (*Butylated Hydroxytoluene*) dan BHA (*Butylated Hydroxyanisole*) telah umum dimanfaatkan dalam industri pangan. Namun, penggunaannya dibatasi karena dapat menimbulkan efek samping, seperti gangguan pada fungsi hati dan risiko toksisitas apabila dikonsumsi dalam jumlah berlebih. Sebagai solusi yang lebih aman, antioksidan alami menjadi pilihan karena banyak terdapat pada tumbuhan yang mengandung senyawa fenolik, flavonoid, serta triterpenoid (Sari dkk., 2018). Kombinasi senyawa bioaktif dari tumbuhan tersebut memberikan potensi besar untuk dikembangkan sebagai bahan alami penangkal radikal bebas yang lebih aman dibandingkan antioksidan sintetis.

Senyawa dalam golongan flavonoid menunjukkan potensi sebagai antioksidan karena adanya rangkaian afinitas hipotesis antara flavonoid dan residu

asam amino, yang memberikan kontribusi signifikan dalam memprediksi interaksi antara flavonoid dan protein untuk memahami aktivitas biologisnya. Aktivitas antioksidan pada senyawa flavonoid berkaitan dengan keberadaan struktur orto-dihidroksi pada cincin B, yang memungkinkan terjadinya konjugasi antara ikatan rangkap C2–C3 dan gugus karbonil pada posisi C4, serta adanya gugus hidroksil di posisi C3 dan kombinasi gugus karbon serta hidroksil di posisi C5 pada cincin A. Susunan struktur ini meningkatkan efektivitas flavonoid dalam menangkap spesies oksigen reaktif (ROS). Dalam mekanisme penghambatan ROS, flavonoid juga berperan dalam mengaktifasi jalur pensinyalan enzim antioksidan endogen, seperti katalase (Cat), superoksida dismutase (SOD), dan glutathion peroksidase (GPx), yang berfungsi untuk mencegah pembentukan hidrogen peroksida (H_2O_2) dan radikal hidroksil ($\bullet OH$) (Ayu dkk., 2024).

Antioksidan diklasifikasikan menjadi tiga kelompok utama, yaitu antioksidan primer, sekunder, dan tersier. Antioksidan primer berfungsi mencegah terbentuknya radikal bebas baru serta mengubah radikal bebas menjadi senyawa yang tidak berbahaya; contoh dari kelompok ini antara lain transferin, feritin, dan albumin. Di sisi lain, antioksidan sekunder berperan dalam menangkap radikal bebas dan menghentikan reaksi berantai yang dapat menyebabkan kerusakan sel lebih lanjut. Contoh senyawanya meliputi vitamin C, vitamin E, dan beta-karoten yang banyak ditemukan dalam buah-buahan. Sementara itu, antioksidan tersier merupakan senyawa yang mendukung proses pemulihan sel dan jaringan yang telah mengalami kerusakan akibat radikal bebas, misalnya enzim metionin sulfoksida reduktase yang diketahui berperan dalam memperbaiki DNA, terutama pada penderita kanker (Vickda, 2023).

2.4 *Gas Chromatography – Mass Spectrometry (GC- MS)*

Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) adalah teknik analisis yang menggabungkan dua metode analitik yang kuat, yaitu kromatografi gas (GC) dan spektrometri massa (MS). GC berfungsi untuk memisahkan komponen-komponen dalam campuran berdasarkan volatilitas dan interaksi dengan kolom kromatografi, sedangkan MS digunakan untuk mengidentifikasi dan mengukur massa dari setiap komponen yang terpisah. Kombinasi kedua metode ini

memungkinkan analisis yang akurat dan sensitif terhadap senyawa organik, sehingga banyak digunakan dalam berbagai bidang, termasuk kimia, biokimia, dan analisis lingkungan. Metode GC-MS memiliki berbagai aplikasi yang luas, mulai dari analisis residu pestisida dalam produk pertanian hingga identifikasi senyawa dalam sampel biologis.

GC-MS sangat efektif dalam mendeteksi senyawa-senyawa yang terdapat dalam campuran kompleks, seperti dalam industri parfum, makanan, dan farmasi. Keunggulan GC-MS terletak pada kemampuannya untuk memberikan informasi kuantitatif dan kualitatif secara bersamaan, yang sangat penting dalam penelitian dan pengembangan produk. Proses identifikasi senyawa menggunakan GC-MS melibatkan beberapa langkah penting. Pertama, komponen dalam sampel dipisahkan melalui kolom kromatografi gas, yang menghasilkan kromatogram dengan puncak-puncak yang menunjukkan waktu retensi dari masing-masing senyawa. Selanjutnya, setiap puncak dianalisis menggunakan spektrometri massa untuk mendapatkan pola fragmentasi yang unik, yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi struktur molekul dari senyawa tersebut (Nugraha & Nandiyanto, 2021).

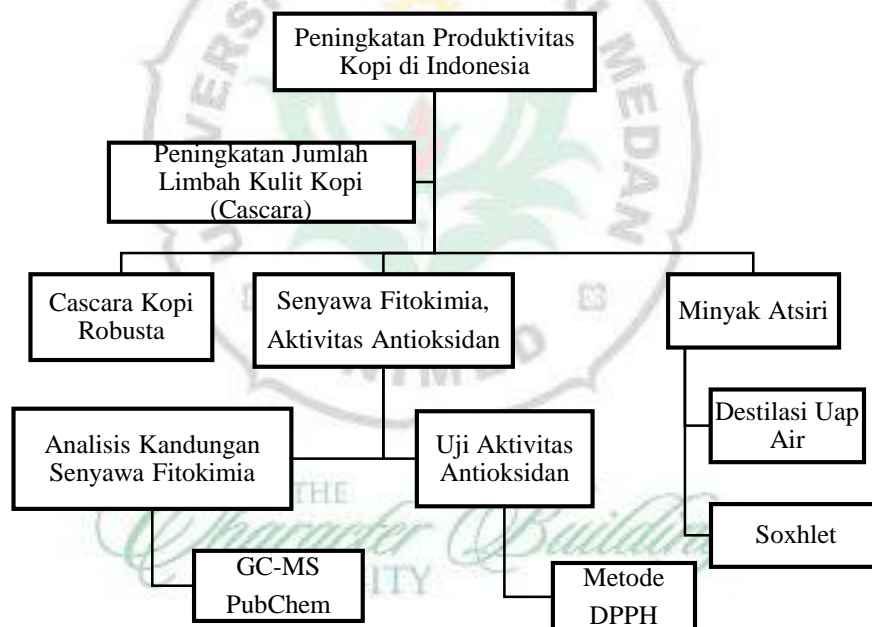
2.5 Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil)

Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil) merupakan salah satu pendekatan yang digunakan untuk mengevaluasi kapasitas antioksidan suatu senyawa. Stabilitas radikal DPPH memberikan gambaran tentang seberapa reaktif senyawa yang dianalisis. DPPH memiliki karakteristik penyerapan cahaya yang tinggi, ditandai dengan warna ungu pekat pada panjang gelombang 517 nm. Teknik ini bekerja dengan prinsip mengukur seberapa besar kemampuan senyawa dalam menetralkan radikal DPPH secara kuantitatif melalui spektrofotometri UV-Vis. Nilai IC₅₀ yang diperoleh dari analisis tersebut mencerminkan potensi senyawa dalam menghambat radikal bebas (Asrifaturfingah dkk., 2024).

Pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH umumnya dilakukan dengan melihat nilai IC₅₀ (*Inhibitory Concentration 50%*), yaitu konsentrasi senyawa antioksidan yang dibutuhkan untuk menetralkan 50% radikal DPPH. Berdasarkan nilai IC₅₀, aktivitas antioksidan dapat diklasifikasikan sebagai

sangat kuat jika IC50 kurang dari 50 $\mu\text{g/mL}$, kuat pada kisaran 50–100 $\mu\text{g/mL}$, sedang antara 100–150 $\mu\text{g/mL}$, dan lemah jika melebihi 150 $\mu\text{g/mL}$. Pengelompokan ini didasarkan pada efektivitas senyawa atau ekstrak dalam menangkap radikal bebas. Semakin rendah nilai IC50, semakin kecil konsentrasi yang diperlukan untuk menurunkan jumlah radikal bebas hingga setengahnya, yang berarti potensi antioksidannya semakin tinggi. Oleh sebab itu, senyawa dengan nilai IC50 yang rendah digolongkan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat baik, sedangkan nilai IC50 yang tinggi menunjukkan daya hambat yang rendah terhadap radikal bebas.

2.6 Kerangka Berpikir



Gambar 2.3 Skema Kerangka Berpikir

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Universitas Negeri Medan Jl. William Iskandar Ps. V, Kenangan Baru, Kec. Percut Sei Tuan, Kabupaten Deli Serdang, Sumatera Utara 20221 dan Laboratorium Universitas Sumatera Utara yang berlokasi di Jl. Dr. T. Mansur No 9, Padang Bulan, Kota Medan Prov. Sumatera Utara pada semester Genap Tahun Ajaran 2025/2026. Penelitian di lakukan mulai dari bulan Mei 2025 sampai Juli 2025.

3.2 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian eksperimental. Jenis penelitian ini digunakan untuk dapat membuktikan hipotesis penelitian.

3.3 Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah kulit kopi (cascara) dari tanaman kopi Robusta (*Coffea canephora*) yang diperoleh dari Desa Lima Raya, Kec. Raya, Kabupaten Simalungun, Sumatera Utara. Sampel dalam penelitian ini adalah kulit kopi (cascara) yang sudah dikeringkan dari buah kopi yang berwarna merah.

3.4 Variabel Penelitian

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah minyak atsiri yang diekstrak dari cascara kopi yang telah di keringkan dengan metode soxhletasi. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kandungan senyawa fitokimia dan aktivitas antioksidan pada minyak atsiri cascara.

3.5 Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah eksperimental deskriptif. Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian kualitatif dan kuantitatif. Penelitian kualitatif bertujuan untuk mengidentifikasi dan menganalisis keberadaan senyawa

fitokimia dari minyak atsiri kopi Robusta (*Coffea canephora*). Penelitian kuantitatif bertujuan untuk mengukur IC₅₀ antioksidan dari minyak atsiri dengan pembandingan vitamin C.

3.6 Defenisi Operasional

1. Cascara adalah bagian dari kulit luar dan daging buah kopi Robusta (*Coffea canephora*) yang telah mengalami proses pengeringan. Dalam penelitian ini, cascara kopi Robusta digunakan sebagai bahan dasar untuk diekstraksi minyak atsirinya melalui destilasi uap air dan soxhletasi.
2. Minyak atsiri adalah komponen volatil yang dihasilkan dari tumbuhan, memiliki aroma khas dan mengandung berbagai senyawa bioaktif. Dalam penelitian ini, minyak atsiri menjadi objek utama dalam analisis kandungan fitokimia serta uji aktivitas antioksidan.
3. Antioksidan adalah senyawa yang mampu menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan oksidatif pada sel. Dalam penelitian ini, aktivitas antioksidan dari minyak atsiri diukur berdasarkan kemampuannya mereduksi radikal bebas DPPH, yang dinyatakan dalam nilai IC₅₀.
4. Senyawa fitokimia adalah senyawa kimia alami yang terdapat pada tumbuhan. Dalam penelitian ini, senyawa fitokimia merujuk pada senyawa-senyawa aktif yang terkandung dalam minyak atsiri cascara kopi Robusta dan teridentifikasi melalui analisis GC-MS seperti senyawa golongan fenol, ester, alkohol, dan terpenoid.
5. GC-MS (*Gas Chromatography Mass Spectrometry*) adalah teknik analisis yang menggabungkan kromatografi gas (GC) dan spektrometri (MS) untuk mengidentifikasi dan mengukur senyawa dalam campuran kimia. Dalam penelitian ini, GC-MS digunakan untuk menganalisis dan mengidentifikasi kandungan senyawa fitokimia dalam minyak atsiri cascara kopi Robusta.
6. DPPH (*2,2 - diphenyl - 1 - picrylhydrazil*) adalah senyawa radikal bebas yang digunakan sebagai indikator dalam pengujian aktivitas antioksidan. Senyawa ini memiliki warna ungu yang berubah menjadi kuning ketika bereaksi dengan senyawa antioksidan, menunjukkan penurunan aktivitas radikal bebas.

3.7 Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data pada penelitian ini dilakukan melalui serangkaian percobaan laboratorium. Tahap pertama adalah proses ekstraksi minyak atsiri dari cascara kopi Robusta menggunakan metode soxhletasi, kemudian dihitung rendemennya untuk mengetahui jumlah minyak yang dihasilkan. Selanjutnya, karakterisasi komponen kimia dilakukan dengan instrumen *Gas Chromatography–Mass Spectrometry* (GC–MS) untuk mengidentifikasi senyawa fitokimia berdasarkan retensi waktu, pola spektrum massa, serta persentase area puncak kromatogram. Setelah itu, aktivitas antioksidan minyak atsiri diuji menggunakan metode DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*) dengan pengukuran penurunan absoransi pada panjang gelombang 517 nm. Nilai persen inhibisi pada berbagai konsentrasi sampel kemudian dianalisis untuk menentukan IC_{50} sebagai indikator kekuatan antioksidan.

3.8 Instrumen Penelitian

3.8.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas laboratorium (Pyrex®), lemari pengering, peralatan destilasi uap, peralatan soxhlet, *rotary evaporator*, botol vial berwarna gelap, batang pengaduk, timbangan digital, lemari pendingin, mikropipet, GC-MS (*Gas Chromatography-Mass Spectrometry*), komputer, spektrofotometer VIS, kuarsa *cuvette*, *vortex*, tabung reaksi, labu ukur dan erlenmeyer.

3.8.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit kopi Robusta atau cascara (*Coffea canephora*), akuades, natrium sulfat anhidrat (Na_2SO_4), minyak atsiri cascara kopi, etanol 96%, larutan DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*), vitamin C.

3.9 Prosedur Penelitian

3.9.1 Proses Pengeringan Cascara

Untuk menghasilkan cascara dari kulit kopi, proses yang sederhana dapat dilakukan dengan mengeringkannya di bawah sinar matahari pada suhu 30-35°C

selama satu minggu hingga buah kopi menjadi berwarna coklat kehitaman yang semula berwarna merah cherry. Metode pengeringan dengan sinar matahari diketahui mampu meningkatkan kandungan total fenol pada cascara, karena suhu yang rendah dapat menjaga keberadaan polifenol dibandingkan dengan suhu yang lebih tinggi. Buah kopi yang sudah dikeringkan akan dipisahkan biji dengan kulitnya (cascara) menggunakan mesin pulper kopi. Kulit yang terpisah dengan bijinya akan digunakan untuk proses selanjutnya.

3.9.2 Ekstraksi Minyak Atsiri dari Cascara

Metode distilasi minyak atsiri pada penelitian ini mengacu pada prosedur yang diadaptasi dari (Dewi dkk., 2018). Cascara kopi yang telah dikeringkan dan dipisahkan dari bijinya ditempatkan di atas saringan dalam ketel distilasi yang memiliki kapasitas 3 kg bahan kering. Air ditambahkan di bagian bawah ketel, tepat di bawah rak saringan, untuk menghasilkan uap selama proses distilasi. Proses ini dilakukan pada tekanan atmosfer dan dengan variasi waktu distilasi antara 4 hingga 8 jam. Untuk menjaga ketersediaan air selama proses berlangsung, dilakukan penambahan air secara berkala setiap satu jam (*make-up water*).

Uap yang dihasilkan dari distilasi dikondensasikan menjadi destilat, yang kemudian ditampung dalam corong pisah. Destilat tersebut dibiarkan selama 24 jam agar terbentuk dua lapisan secara alami, yaitu lapisan minyak atsiri dan lapisan air. Lapisan minyak atsiri dipisahkan dengan penambahan natrium sulfat anhidrat (Na_2SO_4) secara perlahan, sekitar ± 5 mg, hingga tidak terlihat adanya gumpalan, yang menandakan bahwa air telah terserap seluruhnya. Campuran antara minyak atsiri dan Na_2SO_4 kemudian disaring menggunakan metode filtrasi vakum untuk memisahkan padatan. Minyak atsiri yang diperoleh dari proses ini disimpan dalam botol kaca berwarna gelap yang telah dikeringkan dan ditutup rapat guna menjaga stabilitas dan kualitasnya. Setiap variasi waktu distilasi dilakukan dengan satu kali ulangan untuk memperoleh hasil yang konsisten. Namun pada pelaksanaan, metode ini tidak menghasilkan rendemen minyak atsiri, sehingga dilakukan penyesuaian metode menggunakan sokhletasi.

3.9.2a. Ekstraksi Cascara dengan Metode Soxhletasi

Metode destilasi uap yang direncanakan pada awal penelitian tidak menghasilkan rendemen minyak atsiri yang memadai, diduga akibat rendahnya kandungan minyak atsiri pada cascara kering sehingga tidak terbentuk fase minyak yang terpisah. Sebagai alternatif, dilakukan modifikasi metode ekstraksi menggunakan soxhletasi dengan pelarut etanol yang merujuk pada penelitian (Firyanto dkk., 2020).

Sebanyak 200 gram cascara kering dimasukkan ke dalam thimble dan diekstraksi menggunakan 600 mL etanol dalam alat soxhlet selama 5 jam. Ekstraksi dihentikan ketika pelarut di labu bawah tidak lagi berwarna, menandakan pelarut telah jenuh. Ekstrak yang diperoleh kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 38°C selama 3 jam untuk menghilangkan pelarut. Ekstrak pekat berwarna kuning kecokelatan yang dihasilkan disimpan dalam botol vial gelap dan digunakan untuk analisis GC-MS serta pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH.

3.9.3 Analisis Minyak Atsiri Cascara dengan GC-MS

Sampel minyak atsiri hasil ekstraksi terlebih dahulu diencerkan menggunakan pelarut n-heksana berkualitas GC grade dengan konsentrasi sekitar 1–2 mg/mL agar sesuai dengan sensitivitas instrumen. Larutan kemudian dimasukkan ke dalam vial GC yang bersih dan tertutup rapat menggunakan septa, serta diberi label sesuai kode sampel. Untuk mengurangi kemungkinan adanya partikel yang mengganggu sistem, larutan sampel dapat disaring terlebih dahulu menggunakan membran filter PTFE 0,22 µm atau dibiarkan mengendap sebelum diambil bagian supernatannya. Apabila diperlukan, standar internal atau standar n-alkanes dapat ditambahkan untuk membantu perhitungan indeks retensi.

Sebelum analisis, instrumen GC–MS diperiksa dan disiapkan agar berfungsi optimal. Gas pembawa helium dihubungkan dan diatur tekanannya sesuai metode yang digunakan, umumnya sekitar 10–15 psi. Kolom kapiler (misalnya DB-5MS dengan panjang 30 m, diameter 0,25 mm, dan ketebalan film 0,25 µm) dipastikan terpasang dengan benar pada inlet dan detektor. Selanjutnya, suhu inlet diatur pada 250 °C, sedangkan oven diprogram mulai dari suhu rendah (misalnya 50 °C)

kemudian dinaikkan secara bertahap hingga suhu tinggi akhir sesuai metode. Sebelum digunakan, kolom dikondisikan dengan cara dipanaskan pada suhu tinggi selama 30–60 menit untuk menghilangkan kontaminan. Selain itu, dilakukan autotune pada spektrometer massa untuk memastikan resolusi dan sensitivitas dalam kondisi baik.

Setelah instrumen stabil, analisis diawali dengan injeksi blanko pelarut untuk memastikan baseline bersih dan tidak ada kontaminasi. Kemudian, sampel diinjeksi secara otomatis melalui autosampler atau secara manual menggunakan syringe dengan volume injeksi sekitar 1 μ L. Mode injeksi dapat menggunakan split atau splitless, tergantung konsentrasi sampel, dengan laju alir gas pembawa sekitar 1,0 mL/menit. Selama analisis, program suhu oven berjalan sesuai metode yang telah ditentukan, misalnya dimulai pada suhu 50 °C dengan kenaikan 10 °C per menit hingga mencapai 280 °C, lalu ditahan selama beberapa menit. Spektrometer massa dioperasikan dengan metode ionisasi elektron (EI) pada energi 70 eV dengan rentang pemindaian m/z 40–500.

Data yang diperoleh ditampilkan dalam bentuk kromatogram total ion (Total Ion Chromatogram/TIC). Setiap puncak yang muncul mewakili senyawa dalam sampel dan diidentifikasi berdasarkan waktu retensi serta pola fragmentasi spektrum massa. Spektrum tiap puncak kemudian dibandingkan dengan pustaka spektrum, seperti NIST, untuk menentukan identitas senyawanya. Persentase area puncak digunakan untuk memperkirakan komposisi relatif tiap senyawa dalam minyak atsiri. Apabila standar n-alkanes digunakan, maka indeks retensi dihitung untuk memperkuat identifikasi. Hasil akhir disajikan dalam bentuk tabel yang memuat nama senyawa, waktu retensi, persentase area, dan kualitas kecocokan dengan pustaka (Nugraha & Nandiyanto, 2021).

3.9.4 Uji Antioksidan Minyak Atsiri Cascara (*Coffea canephora*) Menggunakan Metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH berdasarkan modifikasi dari penelitian (Nurmala dkk., 2024). Nilai IC_{50} digunakan sebagai indikator aktivitas antioksidan, dengan kriteria: sangat kuat ($IC_{50} < 50$ μ g/mL), kuat (50–100 μ g/mL), sedang (100–150 μ g/mL), dan lemah (>150 μ g/mL).

Semakin rendah nilai IC_{50} , maka semakin tinggi kemampuan senyawa dalam menangkap radikal bebas.

3.9.4.1 Pembuatan Larutan DPPH

Sebanyak 10 mg DPPH yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam labu takar berkapasitas 50 ml, kemudian ditambahkan etanol hingga mencapai garis tanda dan dilarutkan, sehingga diperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi 200 ppm.

3.9.4.2 Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH

Sebanyak 5 mL larutan baku DPPH dipipet dan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL, kemudian ditambahkan metanol hingga mencapai tanda batas untuk memperoleh larutan dengan konsentrasi akhir sebesar 40 ppm. Selanjutnya, panjang gelombang maksimum larutan tersebut diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dalam rentang 400–800 nm. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa panjang gelombang maksimum berada pada 515,5 nm.

3.9.4.3 Pengukuran Serapan Blanko

Sebanyak 1 mL larutan DPPH (200 μ g/ml) ditambahkan etanol hingga mencapai garis tanda, lalu dihomogenkan dalam labu takar dan dibiarkan selama 30 menit dalam kondisi gelap. Setelah periode tersebut, absorbansinya diukur pada panjang gelombang maksimum 515 nm.

3.9.4.4 Pengukuran Absorbansi DPPH dan Sampel Minyak Atsiri Cascara (*Coffea canephora*)

Sebanyak 25 ml minyak atsiri cascara kopi (*Coffea canephora*) dilarutkan dalam labu takar 25 ml dengan etanol, kemudian volumenya dicukupkan hingga mencapai garis tanda, sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Dari larutan uji tersebut, dipipet 0,5 ml, 0,1 ml, 1,5 ml, 2 ml, dan 2,5 ml, yang masing-masing dimasukkan ke dalam labu takar 25 ml, menghasilkan konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, dan 500 ppm. Selanjutnya, ke dalam masing-masing labu takar ditambahkan 1 ml larutan DPPH dengan konsentrasi 200 ppm, lalu volumenya dicukupkan dengan etanol hingga mencapai garis tanda.

3.9.4.5 Pengukuran absorbansi DPPH Setelah Penambahan Vitamin C

Ditimbang sebanyak 25 mg masing-masing vitamin C kemudian dimasukkan dalam labu tentukur 50 ml dan dilarutkan dengan etanol, kemudian dicukupkan volumenya hingga garis tanda sehingga diperoleh konsentrasi 500 µg/ml (LIB I) kemudian LIB I dipipet 5 ml dimasukkan ke dalam labu tentukur 50 ml sehingga diperoleh larutan konsentrasi 50 µg/ml (LIB II). Selanjutnya dari LIB II dipipet sebanyak 2.5 ml, 5 ml, 7.5 ml, 10 ml, dan 12.5 ml dimasukkan dalam labu tentukur 25 ml lalu ditambahkan 2.5 ml larutan DPPH (konsentrasi 20 µg) lalu volumenya dicukupkan dengan etanol sampai garis tanda sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 5 µg/ml, 10 µg/ml, 15 µg/ml, 20 µg/ml dan 25 µg/ml lalu larutan didiamkan selama 10 menit dan diukur pada panjang gelombang maksimum 515 nm.

3.10 Analisis Data

3.10.1 Teknik Analisis Menggunakan GC-MS (*Gas Chromatography – Mass Spectrometry*)

Identifikasi kandungan metabolit sekunder dalam minyak atsiri dilakukan dengan menggunakan metode Kromatografi Gas-Spektrometri Massa (GC-MS). Sampel minyak atsiri dilarutkan dalam pelarut polar, seperti n-heksana pada konsentrasi tertentu. Proses analisis dilakukan dengan alat GC-MS yang telah dikalibrasi untuk mendeteksi senyawa volatil. Data yang dihasilkan berupa kromatogram yang menunjukkan puncak senyawa aktif dalam minyak atsiri, yang kemudian dibandingkan dengan pustaka seperti NIST atau *Wiley Library* untuk mengidentifikasi senyawa yang ada. Dalam penelitian (Nugraha & Nandiyanto, 2021) mengungkapkan bahwa GC-MS merupakan metode yang efektif untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder dalam minyak atsiri yang memiliki sifat antioksidan.

3.10.2 Teknik Analisis Menggunakan *Software* PubChem dan PASS Online

Setiap nama senyawa yang diperoleh dari hasil analisis kromatografi gas disalin satu per satu dan tempelkan nama-nama tersebut ke dalam kolom pencarian di software PubChem. Setelah menekan enter, akan mendapatkan informasi seperti nama IUPAC, berat molekul, dan rumus kimia. Selanjutnya, identifikasi

bioaktivitas masing-masing senyawa berdasarkan deskripsi yang tersedia. Database Substance akan memberikan informasi umum mengenai struktur kimia, sinonim, nomor registrasi, deskripsi, serta tautan ke situs web dan referensi yang berkaitan dengan struktur protein 3D, hasil penyaringan biologi, dan PubMed. Lakukan langkah yang sama pada Database BioAssay untuk memperoleh informasi tentang bioaktivitas senyawa yang telah disebutkan di PubChem Substance.

Selain itu, struktur senyawa yang diperoleh dari PubChem dalam format SMILES kemudian dimasukkan ke dalam perangkat lunak PASS Online (*Prediction of Activity Spectra for Substances*). Aplikasi ini digunakan untuk memprediksi aktivitas biologis suatu senyawa berdasarkan strukturnya dengan menampilkan nilai Pa (*probability to be active*) dan Pi (*probability to be inactive*). Senyawa dengan nilai Pa yang lebih tinggi dibandingkan Pi diinterpretasikan memiliki potensi aktivitas biologis, termasuk sebagai antioksidan. Dengan demikian, kombinasi penggunaan PubChem dan PASS Online memberikan informasi yang lebih komprehensif mengenai struktur, karakteristik, serta potensi bioaktivitas senyawa yang teridentifikasi dari minyak atsiri cascara kopi robusta (Susanti et al., 2021).

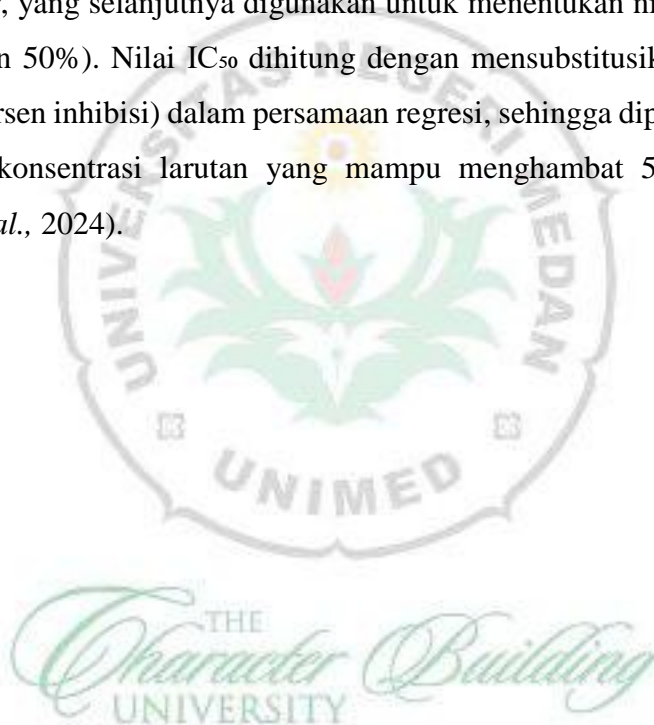
3.10.3 Teknik Analisis Menggunakan Metode DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan dari minyak atsiri cascara kopi (*Coffea canephora*) yang dihasilkan melalui distilasi uap air dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (2,2 -*difenil-1-pikrilhidrazil*). DPPH merupakan radikal bebas yang stabil, ditandai dengan delokalisasi electron yang berlebih, sehingga memberikan warna ungu ketika larut dalam methanol. Ketika DPPH berinteraksi dengan senyawa lain yang dapat mendonorkan atom hidrogen, akan terbentuk DPPH nonradikal, yang di tandai dengan hilangnya warna ungu dan perubahan menjadi lebih pucat. Hasil pengujian menunjukkan bahwa komponen kimia dalam minyak atsiri cascara kopi (*Coffea canephora*) memiliki aktivitas antioksidan yang signifikan, terlihat dari perubahan warna ungu warna DPPH yang awalnya ungu menjadi kuning (Widayani et al., 2018).

Pengujian selanjutnya ialah mengukur nilai absorbansi sampel menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517nm. Untuk menentukan nilai IC₅₀, menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100$$

Nilai persentase inhibisi yang diperoleh kemudian digunakan untuk membuat kurva hubungan antara konsentrasi larutan dan persen inhibisi, yang dianalisis menggunakan Microsoft Excel. Dari kurva tersebut diperoleh persamaan regresi linier, yang selanjutnya digunakan untuk menentukan nilai IC₅₀ (inhibitory concentration 50%). Nilai IC₅₀ dihitung dengan mensubstitusikan angka 50 pada sumbu y (persen inhibisi) dalam persamaan regresi, sehingga diperoleh nilai x yang merupakan konsentrasi larutan yang mampu menghambat 50% radikal bebas (Septiani *et al.*, 2024).



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Berikut ini merupakan keseluruhan hasil penelitian dari skripsi ini, yang terdiri atas tiga fase utama. Urutannya dimulai dari ekstraksi minyak atsiri cascara kopi Robusta, selanjutnya menganalisis senyawa fitokimia melalui GC-MS dan yang terakhir menganalisis aktivitas senyawa antioksidan minyak atsiri dengan metode DPPH.

4.1.1 Hasil Ekstraksi Minyak Atsiri Cascara Kopi Robusta

Ekstraksi minyak atsiri dari cascara kopi Robusta dilakukan dengan metode destilasi uap. Namun berdasarkan hasil pengamatan, metode ini tidak menghasilkan minyak atsiri yang terdeteksi secara kuantitatif. Oleh karena itu, proses ekstraksi selanjutnya dilakukan menggunakan metode *soxhletasi* dengan pelarut etanol selama enam jam. Bahan baku yang digunakan berupa kulit buah kopi merah yang telah melalui proses pengeringan secara alami (kering angin) hingga kadar airnya berkurang secara signifikan. Proses pengeringan ini bertujuan untuk meningkatkan efisiensi perolehan minyak atsiri selama ekstraksi.



Gambar 4. 1 Minyak Atsiri Cascara Kopi Robusta (Dokumentasi Pribadi)

Ekstraksi dilakukan dalam dua tahap (pengulangan) masing-masing menggunakan 100 gram cascara kering dengan penambahan 300 ml pelarut etanol.

Dengan demikian, total bahan yang digunakan dalam keseluruhan proses adalah 200 gram cascara dan 600 ml pelarut. Setelah proses *soxhletasi* selesai, diperoleh larutan ekstrak sebanyak 500 ml yang selanjutnya diuapkan menggunakan *rotary evaporator* selama 3 jam untuk menghilangkan pelarut. Hasil akhir di proses ini adalah minyak atsiri sebanyak 8 ml dengan persentase rendaman sebesar 4,75%.

4.1.2 Hasil Identifikasi Minyak Atsiri Cascara Menggunakan GC-MS

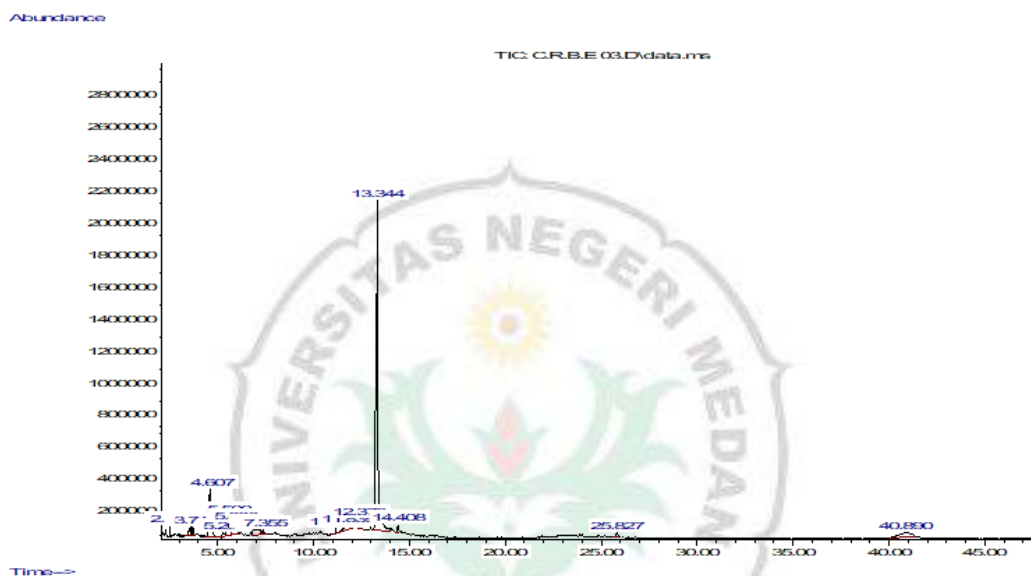
Identifikasi senyawa menggunakan GC-MS menghasilkan kromatogram analisis yang mencakup informasi area, waktu retensi dan juga kelimpahan (*abundance*) yang dibutuhkan untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif. Selain itu hasil analisis GC-MS juga dilengkapi nama senyawa yang disertai dengan area cakupan, referensi, nomor CAS (*Chemical Abstracts Service*) dan kualitatif (*Qual*). Berikut ini merupakan hasil identifikasi senyawa bioaktif minyak atsiri cascara Kopi Robusta dengan metode GC-MS (*Gas Chromatography Mass Spectrometry*).

Tabel 4. 1 Hasil Identifikasi Senyawa Fitokimia Minyak Atsiri Cascara

| Pk | RT | Area | Library/ID | Qual |
|----|--------|-------|---|------|
| 1 | 2,511 | 0,41 | Hydrazine, 1,1-dibutyl | 53 |
| 2 | 3,574 | 1,57 | 2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone | 62 |
| 3 | 3,713 | 0,71 | 2,5-dioxo-3-isopropyl-6-methylpiperazine | 40 |
| 4 | 4,609 | 10,42 | 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one | 95 |
| 5 | 5,269 | 0,50 | Di-2-ethylhexyl amine | 35 |
| 6 | 5,499 | 6,63 | 1,2-Benzenediol | 83 |
| 7 | 5,832 | 3,36 | 2-Furancarboxaldehyde,5-(hydroxymethyl) | 60 |
| 8 | 6,972 | 3,11 | 1,4-Benzenediol | 72 |
| 9 | 7,236 | 0,66 | 1,4-Benzenediol | 64 |
| 10 | 7,354 | 0,62 | Resorcinol 1,3-Benzenediol | 53 |
| 11 | 11,169 | 0,39 | Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl- | 70 |
| 12 | 11,836 | 2,38 | Quinic acid | 64 |
| 13 | 12,378 | 103 | 4-Pyridinamine, 2,6-dimethyl- | 43 |
| 14 | 13,344 | 62,12 | Caffeine | 95 |
| 15 | 14,407 | 0,76 | Hexadecanoic acid | 98 |
| 16 | 25,823 | 0,65 | .beta.-Sitosterol | 92 |
| 17 | 40,888 | 4,66 | 5'-Methyl-[2,2'] Bithiophenyl-5-Carboxylic Acid (2-Oxo-1,2-Dihydroindol-3-Yli | 18 |

Keterangan : Diadaptasi dari penelitian (Damanik, 2025) yang belum terpublikasi

Dari Table 4.1 hasil dari GC-MS menunjukkan bahwa hasil kromatogram dari minyak esensial cascara kopi robusta terdapat sebanyak 17 Peak yang dimulai dari senyawa Hydrazine, 1,1-dibutyl dengan waktu retensi terendah 2,511 sampai yang tertinggi yakni senyawa 5'-Methyl-[2,2'] Bithiophenyl-5-Carboxylic Acid (2-Oxo-1,2-Dihydroindol-3-Yli.



Gambar 4. 2 Kromatogram Minyak Atsiri Cascara Kopi Robusta

4.1.3 Hasil Identifikasi Senyawa Antioksidan Minyak Atsiri Cascara Menggunakan PubChem dan PASS Online

Berdasarkan hasil GC-MS terdapat 17 senyawa fitokimia yang berasal dari ekstrak minyak atsiri cascara kopi robusta. Senyawa-senyawa tersebut diidentifikasi untuk mencari Canonical SMILE menggunakan database kimia Pubchem (Tabel 4.2). Fungsi mengoleksi Canonical SMILE untuk memprediksi aktivitas senyawa dengan menggunakan PASS Online.

Tabel 4. 2 Hasil Identifikasi Senyawa Antioksidan Menggunakan Pubchem dan Pass

| No | Nama Senyawa | Canonical SMILE | Pa | Golongan |
|----|---------------------------------------|----------------------------|-------|-------------|
| 1 | 2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone | CCCCN(CCCC)N(CC(C)C)CC(C)C | 0,344 | Antioksidan |

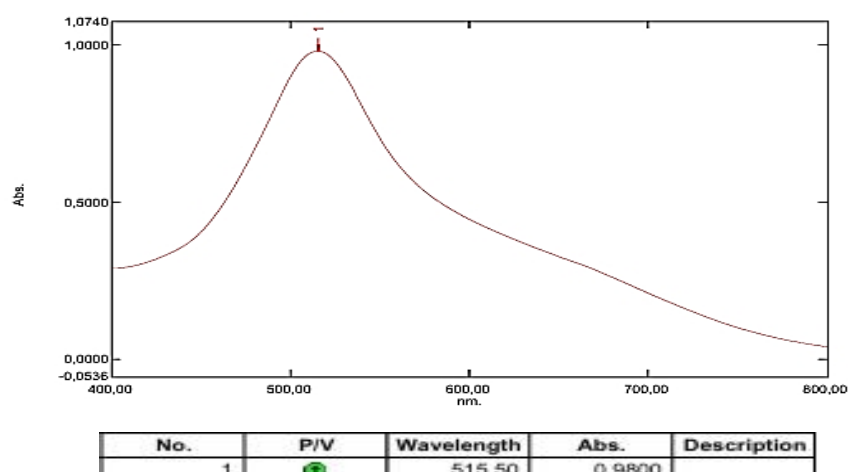
| | | | | |
|---|---|--|-------|-------------|
| 2 | 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one | <chem>CC1=C(C(=O)C(CO1)O)O</chem> | 0,587 | Antioksidan |
| 3 | 1,2-Benzenediol | <chem>C1=CC=C(C(=C1)O)O</chem> | 0,501 | Antioksidan |
| 4 | 2-Furancarboxaldehyde,5-(hydroxymethyl) | <chem>C1=COC(=C1)C=O</chem> | 0,143 | Antioksidan |
| 5 | 1,4-Benzenediol | <chem>C1=CC(=CC=C1O)O</chem> | 0,453 | Antioksidan |
| 6 | Resorcinol 1,3-Benzenediol | <chem>C1=CC=C(C(=C1)CC2=C(C=C(C=C2)O)O</chem> | 0,390 | Antioksidan |
| 7 | Quinic acid | <chem>C1[C@@H](C([C@H](CC1(C(=O)O)O)O)O)O</chem> | 0,830 | Antioksidan |
| 8 | Hexadecanoic acid | <chem>CCCCCCCCCCCCCCCC(=O)O</chem> | 0,222 | Antioksidan |

Pada PASS Online, potensi aktivitas biologis senyawa ditentukan berdasarkan dua parameter, yaitu P_a (*probability of activity*) dan P_i (*probability of inactivity*). Jika $P_a > P_i$, maka senyawa diprediksi memiliki aktivitas biologis sesuai kategori yang ditampilkan. Semakin tinggi nilai P_a , semakin besar pula peluang senyawa tersebut aktif.

4.1.4 Hasil Analisis Aktivitas Senyawa Antioksidan Minyak Atsiri Cascara Menggunakan Metode DPPH

4.1.4.1 Hasil Pengukuran Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH

Spektrum serapan larutan DPPH diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada rentang panjang gelombang 400–800 nm untuk menentukan panjang gelombang maksimum, yang merupakan parameter penting dalam pengujian aktivitas antioksidan. Berdasarkan hasil pengukuran, larutan DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*) sebanyak 10 mg yang dilarutkan dalam etanol menunjukkan absorbansi maksimum pada panjang gelombang tertentu, sebagaimana ditampilkan pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Kurva Serapan Maksimum Larutan DPPH

Dari gambar terlihat bahwa larutan DPPH memiliki puncak serapan maksimum pada panjang gelombang sekitar 517 nm dengan nilai serapan sekitar 1,07. Hal ini menunjukkan konsentrasi DPPH yang stabil dan siap untuk digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan, karena perubahan serapan pada panjang gelombang ini akan mencerminkan interaksi DPPH dengan senyawa antioksidan.

4.1.4.2 Hasil Analisis Peredaman DPPH oleh Sampel Uji dan Vitamin C

Persentase peredaman dihitung berdasarkan nilai absorbansi larutan DPPH sebelum dan sesudah penambahan larutan uji. Berdasarkan hasil analisis yang telah dilakukan, diperoleh nilai persen peredaman untuk setiap variasi konsentrasi larutan uji seperti yang terlihat pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil Analisis Peredaman Radikal Bebas oleh Minyak Atsiri dan Vitamin C

| No | Konsentrasi (mg/L) | Absorbansi | | % Inhibisi | |
|----|--------------------|------------|-----------|------------|-----------|
| | | Ulangan A | Ulangan B | Ulangan A | Ulangan B |
| 1 | 0,00 | 0,850 | 0,853 | 0,00 | 0,00 |
| 2 | 16,05 | 0,793 | 0,775 | 6,71 | 9,14 |
| 3 | 32,10 | 0,715 | 0,697 | 15,88 | 18,29 |
| 4 | 48,15 | 0,623 | 0,619 | 26,71 | 27,43 |
| 5 | 64,20 | 0,539 | 0,534 | 36,59 | 37,40 |
| 6 | 80,25 | 0,424 | 0,423 | 50,12 | 50,41 |

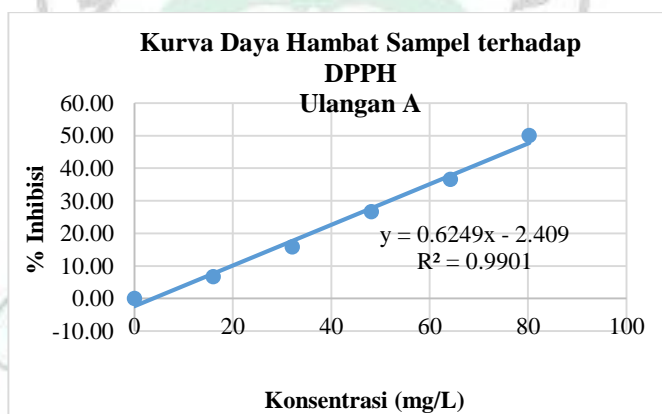
Tabel 4. 4 Hasil Analisis Peredaman Radikal Bebas oleh Vitamin C

| Konsentrasi Larutan Vitamin C (ppm) | % Inhibisi |
|-------------------------------------|------------|
| 0 | 0,934 |
| 1 | 13,4368 |
| 2 | 25,9100 |
| 3 | 35,3319 |
| 4 | 48,2869 |
| 5 | 56,5316 |

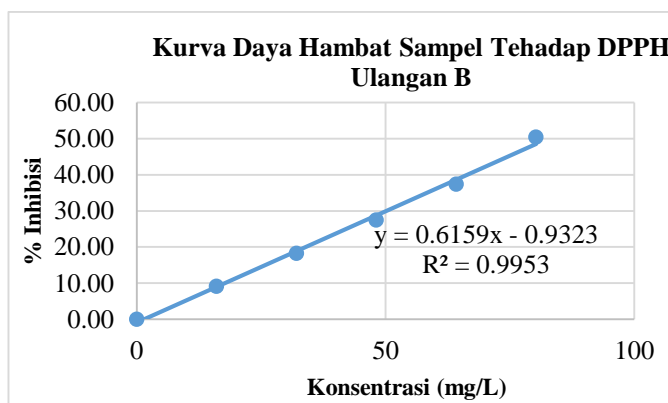
Keterangan : Diadaptasi dari penelitian (Melinda *et al.*, 2024).

4.1.4.3 Analisis IC₅₀ (*Inhibitory Concentration*) Sampel Uji dan Vitamin C

Nilai IC₅₀ diperoleh berdasarkan persamaan regresi linier dengan cara memplot konsentrasi larutan uji dan persen peredaman DPPH sebagai parameter aktivitas antioksidan, dimana konsentrasi larutan uji (ppm) sebagai absis dan nilai persen peredaman sebagai ordinat. Hasil persamaan regresi linier yang diperoleh dapat dilihat pada Gambar 4.4 dan tabel 4.5.



(a)



(b)

Gambar 4. 4 Grafik Persamaan Regresi Linier Aktivitas Antioksidan

Tabel 4. 5 Hasil Persamaan Regresi Linier yang Diperoleh dari Minyak Atsiri Cascara dan Vitamin C

| No | Sampel | Persamaan Regresi | IC ₅₀ (mg/L) | Kategori |
|----|-------------------------|--|-------------------------|-------------|
| 1 | Minyak Atsiri Cascara A | $Y = 0,6249x - 2,409$ $R^2 = 0,9901$ | 83,87 | Kuat |
| 2 | Minyak Atsiri Cascara B | $Y = 0,6159x - 0,9323$ $R^2 = 0,9953$ | 82,70 | Kuat |
| 3 | Vitamin C | $Y = 11,0174x - 3,1322$ | 4,25 | Sangat Kuat |

4.2 Pembahasan

4.2.1 Ekstraksi Minyak Atsiri Cascara Kopi Robusta

Ekstraksi minyak atsiri dari cascara kopi Robusta (*Coffea canephora*) dalam penelitian ini pada awalnya menggunakan metode destilasi uap. Akan tetapi, metode tersebut tidak menghasilkan rendemen minyak atsiri yang dapat terukur secara kuantitatif. Kegagalan ini diduga disebabkan oleh rendahnya kandungan senyawa volatil dalam cascara yang telah mengalami proses pengeringan, serta struktur fisik cascara yang berserat padat, sehingga menyulitkan pelepasan senyawa aromatik ke dalam fase uap. Selain itu, senyawa atsiri diketahui bersifat tidak stabil terhadap suhu tinggi. Selama proses pemanasan, senyawa-senyawa ini dapat mengalami degradasi atau transformasi melalui berbagai reaksi kimia seperti oksidasi, isomerisasi, siklisasi, dan dehidrogenasi, yang pada akhirnya menurunkan keberhasilan proses ekstraksi menggunakan metode distilasi uap (Dewi dkk., 2018).

Di samping keterbatasan metode, karakteristik bahan baku juga menjadi faktor penting dalam menentukan keberhasilan ekstraksi. Cascara, yang merupakan kulit buah kopi, bukanlah bagian tanaman yang secara alami kaya akan minyak atsiri. Bagian daun dan bunga pada umumnya memiliki kandungan senyawa volatil lebih tinggi karena mengandung lebih banyak kelenjar minyak. Hal ini diperkuat oleh penelitian (Berlian dkk., 2023), yang menunjukkan bahwa ekstraksi minyak atsiri dari daun tanaman Callistemon menghasilkan rendemen yang jauh lebih tinggi dibandingkan dari buah, meskipun jumlah bahan yang digunakan serupa. Oleh karena itu, penggunaan cascara sebagai bahan baku pada proses destilasi uap

memiliki keterbatasan inheren, baik dari segi kandungan senyawa volatil maupun struktur jaringan tanaman yang kurang mendukung pelepasan minyak.

Berdasarkan pertimbangan tersebut, metode *soxhletasi* dipilih sebagai alternatif karena lebih sesuai untuk bahan kering dengan kandungan volatil rendah. Metode ini menggunakan pelarut etanol yang bersifat semi-polar dan mampu mengekstraksi berbagai senyawa polar dan semi-polar seperti fenol, flavonoid, dan senyawa antioksidan lainnya. Sistem sirkulasi pelarut panas secara berulang dalam alat soxhlet memungkinkan kontak maksimal antara pelarut dan bahan, sehingga meningkatkan efisiensi ekstraksi tanpa merusak struktur senyawa bioaktif. Meskipun rendemen yang diperoleh dari cascara kopi robusta tergolong rendah, yaitu 4,75%, hasil ini mencerminkan kemampuan metode *soxhletasi* dalam mengekstraksi senyawa aktif dari bahan dengan kandungan minyak atsiri yang terbatas. Temuan ini selaras dengan laporan (Al-Yousef & Amina, 2018), yang menyatakan bahwa bagian buah tanaman secara umum menghasilkan minyak atsiri dalam jumlah lebih rendah dibandingkan bagian daun atau bunga karena perbedaan distribusi dan jumlah kelenjar penghasil minyak.

4.2.2 Analisis GC-MS Minyak Atsiri Cascara

Berdasarkan hasil analisis GC-MS, minyak atsiri cascara kopi Robusta teridentifikasi mengandung 17 senyawa volatil dengan kadar dan golongan fitokimia yang bervariasi. Senyawa dengan persentase area tertinggi adalah kafein (62,12%) yang termasuk alkaloid purin. Dominasi kafein ini sejalan dengan sifat khas cascara dan biji kopi yang diketahui kaya akan alkaloid. Kafein berperan sebagai senyawa bioaktif dengan aktivitas farmakologis yang luas, seperti stimulan sistem saraf pusat, peningkat metabolisme, serta memiliki kontribusi terhadap aktivitas antioksidan meskipun bukan antioksidan primer.

Komponen lain yang terdeteksi dalam jumlah cukup signifikan adalah 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one (10,42%) dari golongan lakton heterosiklik. Senyawa ini dikenal sebagai furaneol, yang berkontribusi pada aroma khas kopi dan telah dilaporkan memiliki kemampuan sebagai penangkap radikal bebas. Selain itu, terdapat pula senyawa fenolik yang cukup dominan, antara lain 1,2-benzenediol (pirokatekol, 6,63%) dan 1,4-benzenediol (hidrokuinon, 3,11%).

Kedua senyawa ini memiliki gugus hidroksil aktif yang berperan penting dalam aktivitas antioksidan melalui mekanisme donasi elektron untuk menetralkan radikal bebas. Senyawa fenolik lain yang teridentifikasi adalah furfural dan turunannya dengan konsentrasi sekitar 3–4%, yang juga diketahui memiliki aktivitas antioksidan serta memberikan kontribusi terhadap karakteristik aroma cascara.

Selain senyawa utama tersebut, analisis GC-MS juga mendeteksi komponen minor (<1%) yang terdiri dari berbagai golongan seperti asam lemak jenuh, sterol, amina, serta siloksan. Walaupun jumlahnya relatif kecil, senyawa-senyawa ini tetap memberikan kontribusi terhadap profil kimia secara keseluruhan, meskipun perannya terhadap aktivitas antioksidan tidak dominan.

Profil kimia ini menunjukkan bahwa minyak atsiri cascara kopi Robusta memiliki karakteristik yang berbeda dibandingkan minyak atsiri tanaman aromatik pada umumnya. Minyak atsiri dari bunga, daun, atau rempah biasanya didominasi oleh senyawa terpenoid, baik monoterpen maupun seskuiterpen, yang tidak ditemukan pada cascara. Ketiadaan senyawa terpenoid menegaskan bahwa cascara kopi lebih menonjol pada kandungan alkaloid dan fenoliknya, yang justru memberikan kontribusi utama terhadap aktivitas biologis, terutama sifat antioksidan.

Keberadaan senyawa fenolik seperti pirokatekol, hidrokuinon, serta turunan furan mendukung hasil uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH yang menunjukkan kemampuan minyak atsiri cascara dalam meredam radikal bebas. Senyawa fenolik dikenal mampu mendonorkan atom hidrogen atau elektron untuk menstabilkan radikal bebas, sedangkan kafein berkontribusi sebagai antioksidan sekunder dengan mekanisme penghambatan pembentukan radikal. Hasil ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa cascara dan produk samping kopi kaya akan senyawa fenolik serta menunjukkan potensi aktivitas antioksidan yang cukup kuat (Esquivel & Jiménez, 2012).

Dengan demikian, komposisi fitokimia minyak atsiri cascara kopi Robusta memperkuat bukti bahwa bagian kulit buah kopi tidak hanya berpotensi sebagai bahan minuman herbal, tetapi juga sebagai sumber senyawa bioaktif alami dengan prospek pemanfaatan dalam bidang kesehatan dan industri pangan fungsional.

4.2.3 Identifikasi Senyawa Antioksidan Minyak Atsiri Cascara Menggunakan Pubchem dan PASS Online

Berdasarkan hasil identifikasi menggunakan GC-MS, diperoleh beberapa senyawa fitokimia yang selanjutnya dianalisis bioaktivitasnya melalui PubChem dan diprediksi potensinya dengan PASS Online. Hasil prediksi aktivitas antioksidan pada PASS Online didasarkan pada dua parameter utama, yaitu Pa (*probability of activity*) dan Pi (*probability of inactivity*). Nilai Pa menunjukkan probabilitas senyawa untuk memiliki aktivitas biologis tertentu, sedangkan Pi menunjukkan probabilitas ketidakaktifannya. Senyawa dikatakan berpotensi aktif apabila nilai Pa > Pi, dan semakin tinggi nilai Pa, semakin besar kemungkinan senyawa tersebut benar-benar memiliki aktivitas biologis yang ditunjukkan.

Pada tabel hasil analisis, terlihat bahwa sebagian besar senyawa yang teridentifikasi memiliki nilai Pa yang lebih tinggi dibandingkan Pi, sehingga dapat diprediksi sebagai senyawa dengan aktivitas antioksidan. Senyawa 2,5-dimethyl-4-hydroxy-(2H)-furanone dan 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one menunjukkan nilai Pa yang cukup tinggi, sehingga termasuk dalam kategori senyawa dengan potensi antioksidan. Senyawa-senyawa tersebut diketahui mengandung gugus hidroksi (-OH) dan struktur aromatik yang dapat mendonorkan atom hidrogen untuk menetralkan radikal bebas, sehingga mendukung aktivitas antioksidannya.

Selain itu, senyawa lain seperti Resorcinol, Quinic acid, dan Hexadecanoic acid juga diprediksi memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai Pa yang signifikan. Resorcinol misalnya, merupakan senyawa fenolik sederhana yang telah banyak dilaporkan memiliki peran dalam menangkap radikal bebas melalui mekanisme donasi proton. Sementara itu, Quinic acid yang termasuk golongan asam fenolat juga memiliki aktivitas biologis penting, terutama dalam menekan stres oksidatif. Keberadaan berbagai senyawa dengan aktivitas antioksidan ini menunjukkan bahwa minyak atsiri cascara kopi robusta memiliki komposisi fitokimia yang berkontribusi terhadap kemampuan meredam radikal bebas.

Struktur kimia dari senyawa-senyawa utama yang teridentifikasi dalam minyak atsiri cascara kopi menunjukkan karakteristik khas yang berkaitan erat dengan aktivitas biologisnya. Senyawa fenolik seperti pirokatekol, hidrokuinon,

dan resorsinol memiliki gugus hidroksil (-OH) pada cincin aromatik yang berperan penting dalam aktivitas antioksidan. Mekanisme utama yang mendasari aktivitas ini adalah donasi proton dan elektron kepada spesies radikal bebas seperti DPPH•, OH•, dan O₂•⁻. Setelah mendonorkan elektron, senyawa fenolik mengalami stabilisasi melalui delokalisasi muatan dalam sistem resonansi aromatik, sehingga mencegah propagasi radikal lebih lanjut dan menjaga integritas sel. Sebagai contoh, pirokatekol bekerja melalui dua gugus hidroksil orto yang sangat reaktif, memungkinkan netralisasi radikal dan pembentukan struktur stabil. Hidrokuinon, yang memiliki posisi para dari dua gugus hidroksilnya, juga berperan dalam menangkali propagasi oksidasi lipid melalui mekanisme serupa (Yang *et al.*, 2024). Penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian (Sholichah dkk., 2019) yang menyatakan bahwa kulit kopi Arabika dan Robusta mengandung senyawa golongan fenolik yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi. Senyawa tersebut merupakan komponen bioaktif utama dalam cascara kopi dan berperan penting dalam menangkali radikal bebas, sehingga mendukung temuan hasil identifikasi senyawa pada minyak atsiri cascara dalam penelitian ini.

Selain itu, senyawa seperti furaneol dan HMF (*hydroxymethylfurfural*) juga menunjukkan sifat antioksidan melalui mekanisme reaksi *Maillard-derived antioxidant*, yaitu struktur karbonil dan hidroksil dalam molekul tersebut memungkinkan pembentukan interaksi konjugasi dengan spesies radikal dan menghasilkan struktur yang lebih stabil (Bolchini *et al.*, 2025). Meskipun disebut sebagai "minyak atsiri", hasil identifikasi melalui GC-MS tidak menunjukkan keberadaan senyawa terpenoid khas seperti linalool, caryophyllene, atau limonene yang umumnya menjadi komponen utama dalam minyak atsiri tanaman aromatik. Fraksi volatil dalam minyak atsiri cascara kopi Robusta ini lebih didominasi oleh senyawa fenolik volatil, alkaloid, dan heterosiklik, yang memberikan karakteristik unik dibandingkan minyak atsiri konvensional. Temuan ini memperkuat potensi minyak atsiri cascara sebagai antioksidan alami yang tidak hanya aktif secara teoritis, tetapi juga menunjukkan mekanisme biologis yang kuat dan terverifikasi, sehingga dapat dimanfaatkan dalam pengembangan produk fungsional di bidang pangan, kosmetik, dan farmasi.

4.2.4 Analisis Aktivitas Senyawa Antioksidan Minyak Atsiri Cascara Menggunakan Metode DPPH

4.2.4.1 Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH

Penentuan panjang gelombang maksimum bertujuan untuk mengetahui panjang gelombang di mana senyawa uji memberikan absorbansi tertinggi. Penetapan panjang gelombang ini penting karena berkaitan dengan sensitivitas metode analisis perubahan absorbansi terhadap setiap satuan konsentrasi akan paling besar pada panjang gelombang maksimum, sehingga menghasilkan tingkat kepekaan analisis yang optimal. Panjang gelombang 515,5 nm yang diperoleh berada dalam rentang spectrum cahaya tampak, yaitu 400-800 nm. Nilai tersebut juga termasuk dalam kisaran panjang gelombang karakteristik DPPH (*2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil*) yang umumnya berada pada rentang 515-520 nm.

Berdasarkan Gambar 4.3 didapatkan hasil panjang serapan maksimum DPPH pada 515,5 nm dengan nilai absorbansi 0,988. Menurut Sirivibulkovit *et al.*, (2018) dalam hasil penelitian (Sulistiyani *et al.*, 2024) bahwa ekstrak dengan radikal bebas DPPH bekerja sempurna bila diukur pada panjang gelombang 515-520 nm karena larutan DPPH dapat memberikan absorbansi maksimum pada panjang gelombang tersebut dan menurun secara stoikiometri ketika elektronnya menjadi berpasangan. Dari hasil scanning yang dilakukan, terlihat hasil yang didapatkan panjang gelombang serapan maksimum DPPH sesuai dengan panjang gelombang maksimum secara teoritis yaitu pada gelombang 515 nm.

4.2.4.2 Uji Aktivitas Antioksidan Minyak Atsiri Cascara

Berdasarkan hasil uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH, minyak atsiri dari cascara kopi Robusta menunjukkan kemampuan yang cukup kuat dalam meredam radikal bebas. Hal ini ditunjukkan oleh nilai persen inhibisi yang meningkat secara signifikan seiring bertambahnya konsentrasi sampel. Pada konsentrasi 80 mg/L, % inhibisi mencapai lebih dari 50%, baik pada ulangan A maupun B, yang mencerminkan aktivitas antioksidan yang tinggi. Aktivitas ini mencerminkan kemampuan senyawa bioaktif dalam minyak atsiri untuk mendonorkan elektron atau atom hidrogen dalam menetralkan radikal bebas DPPH yang bersifat stabil, sehingga absorbansi larutan menurun secara konsisten.

Penelitian ini sejalan dengan karakteristik senyawa fenolik dan turunan terpen yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan tinggi, sebagaimana dilaporkan oleh beberapa penelitian sebelumnya.

Minyak atsiri yang diperoleh dari cascara kopi Robusta (*Coffea canephora*) berdasarkan hasil analisis GC-MS terbukti mengandung sejumlah senyawa bioaktif yang didominasi oleh golongan senyawa fenolik dan turunan furan (furon). Senyawa-senyawa tersebut diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi, yang berperan penting dalam menangkal radikal bebas penyebab stres oksidatif pada sel-sel kulit. Salah satu senyawa fenolik yang umum ditemukan dalam minyak atsiri adalah eugenol, yang memiliki kemampuan sebagai radikal scavenger melalui mekanisme donasi hidrogen, sehingga mampu menghentikan rantai reaksi oksidasi yang merusak jaringan kulit (Guo *et al.*, 2021). Selain itu, senyawa turunan furon seperti 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone juga dilaporkan memiliki kapasitas tinggi dalam menangkap radikal hidroksil dan oksigen singlet, dua jenis radikal bebas yang sangat reaktif terhadap sel (de Sousa *et al.*, 2023). Dominasi kedua golongan senyawa tersebut pada minyak atsiri cascara menunjukkan bahwa minyak ini memiliki potensi antioksidan yang kuat, serta sangat relevan untuk dikembangkan sebagai bahan aktif dalam produk skincare alami, karena kemampuannya dalam melindungi kulit dari penuaan dini, menjaga kelembapan, dan mencegah kerusakan akibat paparan sinar UV serta polusi lingkungan. Meskipun nilai IC_{50} minyak atsiri cascara kopi mencapai 82 mg/L dan tergolong kuat menurut klasifikasi aktivitas antioksidan ($IC_{50} < 100$ mg/L), efektivitasnya masih belum dapat menandingi vitamin C sebagai standar antioksidan, yang memiliki IC_{50} jauh lebih rendah. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun potensial, minyak atsiri ini belum kinerja antioksidan murni sintetis atau alami seperti asam askorbat.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian analisis kandungan senyawa fitokimia dan aktivitas senyawa antioksidan minyak atsiri cascara kopi Robusta (*Coffea canephora*) yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Senyawa fitokimia yang terkandung dalam minyak atsiri cascara kopi Robusta berdasarkan analisis GC-MS ialah *Hydrazine*, *1,1-dibutyl*; *2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone*; *2,5-dioxo-3-isopropyl-6-methylpiperazine*; *2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one*; *Di-2-ethylhexyl amine*; *1,2-Benzenediol*; *2-Furancarboxaldehyde*, *5-(hydroxymethyl)-*; *1,4-Benzenediol*; *Resorcinol* *1,3-Benzenediol*; *Cyclooctasiloxane*, *hexadecamethyl-*; *Quinic acid*; *4-Pyridinamine*, *2,6-dimethyl-*; *Caffeine*; *Hexadecanoic acid*; *.beta.-Sitosterol*; *5'-Methyl-[2,2'] Bithiophenyl-5-Carboxylic Acid (2-Oxo-1,2-Dihydroindol-3-Yli*
2. Minyak atsiri hasil ekstraksi dari cascara kopi robusta menunjukkan aktivitas antioksidan yang cukup kuat berdasarkan hasil uji DPPH. Nilai IC₅₀ yang diperoleh berada pada kategori kuat, yang mengindikasikan kemampuan senyawa-senyawa dalam minyak atsiri untuk menangkap radikal bebas secara efektif. Hal ini menunjukkan bahwa minyak atsiri dari cascara kopi berpotensi untuk dikembangkan sebagai sumber antioksidan alami dalam bidang pangan, kesehatan, maupun kosmetik.

5.2 Saran

Sebagai penutup penelitian ini, penulis menyadari masih terdapat keterbatasan dalam pelaksanaan penelitian, sehingga diperlukan pengembangan lebih lanjut. Oleh karena itu, penulis memberikan saran sebagai berikut :

1. Penelitian terhadap minyak atsiri cascara kopi Robusta sebaiknya dikembangkan dengan variasi metode ekstraksi lain, seperti Soxhlet atau ekstraksi pelarut, untuk membandingkan rendemen dan komposisi senyawa

yang dihasilkan. Selain itu, perlu ditambahkan metode uji aktivitas antioksidan lain, seperti ABTS atau FRAP, guna memperkuat validitas data biologis. Penelitian lanjutan juga disarankan untuk mencakup uji toksisitas serta isolasi senyawa dominan, sehingga kontribusi masing-masing senyawa terhadap aktivitas antioksidan dapat diketahui secara lebih spesifik dan mendalam.

2. Hasil penelitian ini berpotensi menjadi dasar pengembangan produk berbasis minyak atsiri cascara kopi Robusta, misalnya sebagai bahan aktif dalam kosmetik, suplemen kesehatan, atau aromaterapi. Selain itu, penelitian juga dapat diperluas dengan membandingkan kandungan fitokimia cascara dari berbagai varietas kopi, sehingga dapat diketahui varietas dengan potensi bioaktif terbaik sebagai sumber bahan baku industri farmasi maupun produk kesehatan alami.



DAFTAR PUSTAKA

- Agarwal, P., Sebghatollahi, Z., Kamal, M., Dhyani, A., Shrivastava, A., Singh, K. K., Sinha, M., Mahato, N., Mishra, A. K., & Baek, K. H. (2022). Citrus Essential Oils in Aromatherapy: Therapeutic Effects and Mechanisms. *Antioxidants*, *11*(12). <https://doi.org/10.3390/antiox11122374>
- Al-Yousef, H. M., & Amina, M. (2018). Essential oil of Coffee arabica L. Husks: A brilliant source of antimicrobial and antioxidant agents. *Biomedical Research (India)*, *29*(1), 174–180. <https://doi.org/10.4066/biomedicalresearch.29-17-867>
- Asrifaturfingah, A., Listiowati, E., Matsna, F. U., Putriliana, S. Z., & Ulya, N. A. H. (2024). Analisis Aktivitas Senyawa Antioksidan Pada Berbagai Daun Tanaman Herbal dengan Metode DPPH. *Jurnal Pharmascience*, *11*(1), 98. <https://doi.org/10.20527/jps.v11i1.16477>
- Ayu, I. W., Putu Nyoman, N., Udayani, W., & Putri, G. A. (2024). Artikel Review : Peran Antioksidan Flavonoid dalam Menghambat Radikal Bebas. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research (JSSCR)*, *6*(2), 188–197. <https://doi.org/https://doi.org/10.37311/jsscr.v6i2.27055>
- Badruttamam, M. I., & Rianto, B. (2023). Potential of Coffee Extract as Anti-aging for Cosmetic Product Ingredients: A Systematic Literature Review. *Herbal Medicines Journal Of Indonesia*, *1*(2), 18–28. <https://ojs.stikesylpp.ac.id/index.php/JIFMI/article/view/592>
- Bolchini, S., Nardin, T., Morozova, K., & Scampicchio, M. (2025). *Antioxidant Maillard Reaction Products from Milk Whey: A Food By-Product Valorisation*. 1–17.
- BPS. (2024). Badan Pusat Statistik. In Solimah, Wahyunindarsih, U. Mawarsari, S. Gusmiati, Y. Kurniawan, Lasmiyati, S. Muslikhah, M. Syaipulloh, A. Asyanti, S. Nusaliyawati, & D. Camalia (Eds.), *BPS-STATISTICS INDONESIA* (Vol. 8, Issues 1–2). [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- de Sousa, D. P., Damasceno, R. O. S., Amorati, R., Elshabrawy, H. A., de Castro, R. D., Bezerra, D. P., Nunes, V. R. V., Gomes, R. C., & Lima, T. C. (2023). Essential Oils: Chemistry and Pharmacological Activities. In *Biomolecules* (Vol. 13, Issue 7). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/biom13071144>
- Dewi, L. K., Friatnasary, D. L., Herawati, W., Nurhadianty, V., & Cahyani, C. (2018). Studi Perbandingan Metode Isolasi Ekstraksi Pelarut dan Destilasi Uap Minyak Atsiri Kemangi terhadap Komposisi Senyawa Aktif. *Jurnal Rekayasa Bahan Alam Dan Energi Berkelanjutan*, *2*(1), 13–19.
- Esquivel, P., & Jiménez, V. M. (2012). Functional properties of coffee and coffee by-products. *Food Research International*, *46*(2), 488–495. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.05.028>

- Fadhillah, D., Muzaifa, M., Hasni, D., & Nilda, C. (2023). Faktor-faktor yang Mempengaruhi Mutu Cascara (Literature Review: The Influencing Factors of Cascara Quality). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian*, 8(3), 377–383. www.jim.unsyiah.ac.id/JFP
- Fatmawati, F., Pamudjo, I., & Asih, S. (2018). Identifikasi Komponen Minyak Atsiri Dalam Kopi Rempah Menggunakan KG SM. *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*, 2(2), 46–53.
- Firyanto, R., Kusumo, P., & Yuliasari, I. E. (2020). Pengambilan Minyak Atsiri Dari Tanaman Sereh Menggunakan Metode Ekstraksi Soxhletasi. *CHEMTAG Journal of Chemical Engineering*, 1(1), 1. <https://doi.org/10.56444/cjce.v1i1.1252>
- Guo, Y., Pizzol, R., Gabbanini, S., Baschieri, A., Amorati, R., & Valgimigli, L. (2021). Absolute antioxidant activity of five phenol-rich essential oils. *Molecules*, 26(17). <https://doi.org/10.3390/molecules26175237>
- Guzmán, E., & Lucia, A. (2021). Essential oils and their individual components in cosmetic products. *Cosmetics*, 8(4). <https://doi.org/10.3390/cosmetics8040114>
- Husna, A., Zaidiyah, & Rohaya, S. (2023). Karakteristik Sensori Campuran Teh Cascara Berdasarkan Perbedaan Metode Pengolahan Kopi. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian*, 8(2), 295–302. <https://doi.org/https://doi.org/10.17969/jimfp.v8i2.24439>
- Jiarong, Z., Xuequan, S., Pinhe, L., Tongze, Z., A, J. J., & Harold, C. (2022). Preliminary Characterization of Phytochemicals and Novel Compounds. *Foods*, 11, 1–19. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/foods11121710>
- Komes, D., Vojvodić Cebin, A., Pudić, R., Šeremet, D., Mandura, A., Natucci Pasquino, M., & Pudić, R. (2021). The assesement of bioactive potential and sensory acceptability of coffee and its byproducts- cascara and silverskin. *Hrvatski Časopis Za Prehrambenu Tehnologiju, Biotehnologiju i Nutricionizam*, 16(1–2), 35–40. <https://doi.org/10.31895/hcptbn.16.1-2.5>
- Kusumawardany, S. F., Utami, N., & Saryanti, D. (2023). Fotoproteksi Dan Aktivitas Antioksidan Nanoenkapsulasi Ekstak Etanol Buah Kersen (Muntingia calabura L.). *Majalah Farmasi Dan Farmakologi*, 27(3), 133–139. <https://doi.org/10.20956/mff.v27i3.24892>
- Lailatul Qodri, U. (2020). Analisis Kuantitatif Minyak Atsiri Dari Serai (Cymbopogon sp) Sebagai Aromaterapi. *Jurnal Farmasi Tinctura*, 1(2), 64–70. <https://doi.org/10.35316/tinctura.v1i2.999>
- Lubis, S. S., Sari, A. N., Fahmi, M. H., Diningrat, D. S., & Pendahuluan, A. (2021). Sebagai Antioksidan Alami. 2(1), 11–18. <https://doi.org/https://doi.org/10.30598/biofaal.v2i1pp11-18>
- Mahriani, Arimurti, S., & Wathon, S. (2019). Peningkatan Nilai Ekonomi Kulit Buah Kopi Robusta (Coffea canephora) Melalui Produksi Teh Celup Cascara Sebagai Minuman Fungsional Kaya Antioksidan. *Warta*

- Pengabdian*, 13(4), 123. <https://doi.org/10.19184/wrtp.v13i4.10113>
- Melinda, R., Sartika Daulay, A., Ridwanto, R., & Amin Nasution, M. (2024). Penetapan Kadar Vitamin C dan Aktivitas Antioksidan Hasil Perasan Buah Jambu Biji Kristal. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 4(3), 438–449. <https://doi.org/10.37311/ijpe.v4i3.28891>
- Nugraha, A., & Nandiyanto, A. B. D. (2021). How to read and Interpret GC/MS Spectra. *Indonesian Journal of Multidisciplinary Research*, 1(2), 171–206. <https://doi.org/10.17509/ijomr.v1i2.35191>
- Nur, A., Suloi, F., Syam, N. F., Jufri, N., Sari, R., Mahendradatta, M., Korespondensi, P., & Juli, D. (2019). Pemanfaatan Limbah Kulit Kopi sebagai Upaya Pemberdayaan Ibu-ibu Rumah Tangga di Desa Latimojong, Kabupaten Enrekang (Utilization of Coffe Skin (Exocarp) Waste as an Effort to Empower Housewives in Latimojong Village, Enrekang District). *Agrokreatif*, 5(3), 246–250.
- Nurmala, N., Syarifah, S., Nilsya, N., Melisa, M., Dina, D., Ayu, A., & Chairunnisa, C. (2024). Analisis GC-MS Minyak Atsiri dan Uji Antioksidan Kulit Jeruk Manis (*Citrus sinensis*) Sebagai Lip Balm. *Journal of Pharmaceutical and Health Research*, 5(1), 9–16. <https://doi.org/10.47065/jharma.v5i1.4850>
- Pongsiriyakul, K., Wongsurakul, P., Kiatkittipong, W., Premashthira, A., Kuldilok, K., Najdanovic-Visak, V., Adhikari, S., Cognet, P., Kida, T., & Assabumrungrat, S. (2024). Upcycling Coffee Waste: Key Industrial Activities for Advancing Circular Economy and Overcoming Commercialization Challenges. *Processes*, 12(12), 1–69. <https://doi.org/10.3390/pr12122851>
- Prasetyo, E., Kiromah, N. Z. W., & Rahayu, T. P. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Terhadap Ekstrak Etanol Kulit Buah Durian (*Durio zibethinnus L.*) dari Desa Alasmalang Kabupaten Banyumas. *Jurnal Pharmascience*, 8(1), 75. <https://doi.org/10.20527/jps.v8i1.9200>
- Pratiwi, A. ., Yusran, Islawati, & Artati. (2023). Analisis Kadar Antioksidan pada Ekstrak Daun Binahong Hijau *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis. *Bioma : Jurnal Biologi Makassar*, 8(2), 66–74. <https://journal.unhas.ac.id/index.php/bioma>
- Puspaningrum, D. H. D., & Sari, N. K. Y. (2021). Pengaruh Pengeringan Dan Rasio Penyeduhan Terhadap Sifat Fisik Dan Kimia Teh Cascara Kopi Arabika (*Coffea arabika L.*). *Pro Food*, 6(2), 710–718. <https://doi.org/10.29303/profood.v6i2.159>
- Rahmat, T. (2022). Gastro Wisata Cascara : Pengolahan Limbah Kulit Kopi Menjadi Teh Herbal Cascara Sebagai Alternatif Wisata Gastronomi. *Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat Babakti*, 2(2), 126–135. <https://doi.org/10.53675/babakti.v2i2.954>
- Rosidah, U., Sugito, S., Yuliati, K., Abdiansyah, A., & Anggraini, F. (2021). Identifikasi Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Minuman

Fungsional Cascara dari Kulit Kopi dengan Fermentasi Terkendali. *Sustainable Urban Farming Guna Meningkatkan Kesejahteraan Masyarakat Di Era Pandemi*, 611–620.

- Sari, A. N., Kusdianti, K., & Dinatingrat, D. S. (2018). Potensi Antioksidan Alami pada Ekstrak Kulit Buah Jamblang (*Syzigium cumini* (L.) Skeels) Menggunakan Metode DPPH (The Potency of Natural Antioxidant in The Rind Extract of Jamblang (*Syzigium cumini* (L.) Skeels) using DPPH Method). *Jurnal Bios Logos*, 8(1). <https://doi.org/10.35799/jbl.8.1.2018.20593>
- Septiani, N., Maryanti, E., Hermansyah, O., & Putri, M. W. J. (2024). Uji Aktivitas Antioksidan Minyak Atsiri Kulit Buah Jeruk Kalamansi (*Citrus microcarpa Bunge*). *Journal Ilmiah Pharmacy*, 11(1), 1–8. <https://doi.org/https://doi.org/10.52161/jiphar.v11i1.529>
- Sholichah, E., Apriani, R., Desnilasari, D., Karim, M. A., & Havelly, H. (2019). By-Product Kulit Kopi Arabika Dan Robusta Sebagai Sumber Polifenol Untuk Antioksidan Dan Antibakteri. *Jurnal Industri Hasil Perkebunan*, 14(2), 57. <https://doi.org/10.33104/jihp.v14i2.5195>
- Sirappa, M. P., Heryanto, R., & Silitonga, Y. R. (2024). Standardisasi Pengolahan Biji Kopi Berkualitas. *Warta BSIP Perkebunan*, 2(1), 18–25.
- Siswantito, F., Natasya, A., Nugroho, R., Listiarini Iskandar, R., Sitanggung, C. O., Al-Qordhiyah, Z., Rosidah, C., Nurhayati, S., Sari, A., & Karawang, S. (2023). Produksi Minyak Atsiri melalui Ragam... (Siswantito, dkk) 178 Produksi Minyak Atsiri Melalui Ragam Metode Ekstraksi Dengan Berbahan Baku Jahe. *Inovasi Teknik Kimia*, 8(3), 178–184. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.31942/inteka.v8i3.8072>
- Sulistiyani, M., Mahatmanti, W., Huda, N., Prasetyo, R., Kimia, J., Matematika, F., Ilmu, D., & Alam, P. (2024). Indonesian Journal of Chemical Science Optimization of Microplate Type Uv-Vis Spectrophotometer Performance as an Antioxidant Activity Testing Instrument. In *J. Chem. Sci* (Vol. 13, Issue 1). <http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/ijcs>
- Susanti, R., Biologi, J., & Negeri Semarang Jl Raya Sekaran, U. (2021). Identifikasi Senyawa Bioaktif Moringa Oleifera Lam. Sebagai Antioksidan Melalui Ligan Pada Mammalian Target Of Rapamycin (Mtor) Pathway Untuk Prediksi Pencegahan Stunting Secara In Silico. *Prosding Semnas Biologi Ke-9 Tahun 2021*, 256–261. <http://www.swisstargetprediction.ch/>.
- Syabila, F. A., Maria, F., & Supriyanti, T. (2024). *Herb-Fortified Arabica Cascara Infusion as a Functional Beverage*. 4(2), 1–10.
- Vickda, I. (2023). Uji Efektivitas Moitturizer Ekstrak Daun Randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.) DENGAN METODE DPPH. *SKRIPSI, VIII(I)*, 1–19.
- Wibisono, Y., Handayani, A. M., Adhamatika, A., Ardhiarisca, O., Sari, E. K. N., & Haqqi, M. I. (2024). Mutu Kimia Teh Kulit Kopi Kering (Cascara) dan Aktivitas Antioksidan Berdasarkan Proses Pengeringan yang Berbeda.

Oryza (*Jurnal Pendidikan Biologi*), 13(1), 35–41.
<https://doi.org/10.33627/oz.v13i1.1666>

- Yang, S., Yang, Y., Jin, Z., Li, B., Lin, Y., Yang, S., Yang, Y., Jin, Z., & Li, B. (2024). Classification and and antioxidant antioxidant assays assays of of polyphenols : polyphenols : a a review review. *Journal of Future Foods*, 4(3), 193–204. <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2023.07.002>
- Yasir, A. S., Suryaneta, S., Fahmi, A. G., Saputra, I. S., Hermawan, D., & Berliyanti, R. T. (2022). Formulasi Masker Gel Peel-Off Berbahan Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Khas Lampung. *Majalah Farmasetika*, 7(2), 153. <https://doi.org/10.24198/mfarmasetika.v7i2.37312>
- Zasari, M., Kartika, K., & Altin, D. (2023). Eksplorasi-Karakterisasi Morfologi Kopi Robusta Lokal di Pulau Bangka. *Agrikultura*, 34(2), 200. <https://doi.org/10.24198/agrikultura.v34i2.43179>



THE
Character Building
UNIVERSITY

LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Izin Penelitian di Laboratorium Biologi



KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS,
DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS NEGERI MEDAN
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
Jalan Willem Iskandar, Psr V Medan Estate - Kotak Pos 1589 Medan 20221
Telp.(061) 6613365, 6613276, 6618754 Fax. (061) 6614002 - 6613319
Laman: www.unimed.ac.id

Nomor : 2299/UN33.4.1/PG/2025
Lampiran : 1 (satu) berkas Proposal Penelitian
Perihal : Izin Melaksanakan Penelitian

Medan, 22 April 2025

Yth. Pimpinan Laboratorium Biologi, FMIPA UNIMED
Jl. William Iskandar Ps. V, Kenangan Baru, Kec. Percut Sei Tuan, Kabupaten Deli Serdang, Sumatera Utara.
di
Tempat

Dengan hormat, kami memohon bantuan Saudara agar dapat memberikan izin melaksanakan Penelitian di instansi yang Saudara pimpin kepada mahasiswa tersebut di bawah ini :

Nama : ANGGRIANI BR. PASARIBU
NIM : 4211220008
Program Studi : BIOLOGI
Dosen Pembimbing : Dr. Diky Setya Diningrat, S.Si., M.Si.
Judul Penelitian : Analisis Kandungan Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Senyawa Antioksidan Minyak Atsiri Kopi Robusta (*Coffea canephora*)

Perlu diketahui bahwa kegiatan ini dilaksanakan untuk memperoleh data yang akan digunakan dalam penyusunan Skripsi mahasiswa tersebut guna memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si.).

Demikian disampaikan, atas perhatian dan kerja sama yang baik diucapkan terima kasih

a.n Dekan
Wakil Dekan Bidang Akademik

Dr. Jamaludin Purba, M.Si.
NIP. 196413071991031002

Lampiran 2. Surat Izin Penelitian di Laboratorium Kimia



KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS,
DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS NEGERI MEDAN
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
Jl. Willem Iskandar Psr V - Medan Estate, Kotak Pos No. 1589 Medan 20221
www.fmipa.unimed.ac.id

Nomor : 299/UN33.4.1/PG/2025
Lampiran : 1 (satu) berkas Proposal Penelitian
Perihal : Izin Melaksanakan Penelitian

Medan, 22 April 2025

Yth. Kepala Laboratorium Kimia FMIPA Unimed
Jl. William Iskandar Psr V, Kenangan Baru, Kec. Percut Sei Tuan
di
Tempat

Dengan hormat, kami memohon bantuan Saudara agar dapat memberikan izin melaksanakan Penelitian di instansi yang Saudara pimpin kepada mahasiswa tersebut di bawah ini :

Nama : Anggriani Br Pasaribu
NIM : 4211220008
Program Studi : S-1 Biologi
Dosen Pembimbing : Dr. Diky Setya Diningrat, M.Si
Judul Penelitian : Analisis Kandungan Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Senyawa Antioksidan Minyak Atsiri Kopi Robusta (*Coffea canephora*)
Tempat Penelitian : Laboratorium Kimia FMIPA Unimed

Perlu diketahui bahwa kegiatan ini dilaksanakan untuk memperoleh data yang akan digunakan dalam penyusunan skripsi mahasiswa tersebut guna memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si) di FMIPA Unimed.

Demikian kami sampaikan, atas perhatian dan kerja sama yang baik diucapkan terima kasih.

a.n. Dekan,
Wakil Dekan Bidang Akademik



Dr. Jamalun Purba, M.Si
NIP. 19641207 199103 1 002

Lampiran 3. Surat Izin Penelitian di Laboratorium Farmasi USU



KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS,
DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS NEGERI MEDAN
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
Jl. Willem Iskandar Psr V - Medan Estate, Kotak Pos No. 1589 Medan 20221
www.fmipa.unimed.ac.id

Nomor : 000/UN33.4.1/PG/2025 Medan, 22 April 2025
Lampiran : 1 (satu) berkas Proposal Penelitian
Perihal : Izin Melaksanakan Penelitian

Yth. Kepala Laboratorium Farmasi Universitas Sumatera Utara
Jl. Dr. T. Mansyur No. 9, Padang Bulan, Kecamatan Medan Baru, Kota Medan, Sumut
di
Tempat

Dengan hormat, kami memohon bantuan Saudara agar dapat memberikan izin melaksanakan Penelitian di instansi yang Saudara pimpin kepada mahasiswa tersebut di bawah ini :

Nama : Anggriani Br Pasaribu
NIM : 4211220008
Program Studi : S-1 Biologi
Dosen Pembimbing : Dr. Diky Setya Diningrat, M.Si
Judul Penelitian : Analisis Kandungan Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Senyawa Antioksidan Minyak Atsiri Kopi Robusta (*Coffea canephora*)
Tempat Penelitian : Laboratorium Farmasi Universitas Sumatera Utara

Perlu diketahui bahwa kegiatan ini dilaksanakan untuk memperoleh data yang akan digunakan dalam penyusunan skripsi mahasiswa tersebut guna memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si) di FMIPA Unimed.

Demikian kami sampaikan, atas perhatian dan kerja sama yang baik diucapkan terima kasih.

a.n. Dekan,
Wakil Dekan Bidang Akademik

Dr. Jamalum Purba, M.Si
NIP. 19641207 199103 1 002

Lampiran 4. Surat Selesai Penelitian di Laboratorium Kimia



UNIVERSITAS NEGERI MEDAN
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
LABORATORIUM KIMIA

Jl. Willem Iskandar Psr V - Medan Estate, Kotak Pos No. 1589 Medan 20221

Laman : fmipa.unimed.ac.id

SURAT KETERANGAN

No. 068 /UN33.4.7.3/LK/2025

Laboratorium Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Medan, menerangkan bahwa :

Nama : Anggriani Br Pasaribu
NIM : 4211220008
Program Studi : S-1 Biologi
Judul Penelitian : Analisis Kandungan Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Senyawa Antioksidan Minyak Atsiri Cascara Kopi Robusta (*Coffea canephora*)

Benar telah selesai melakukan penelitian sesuai dengan judul penelitian mahasiswa tersebut dari tanggal 09 Mei 2025 s/d 08 Juli 2025.

Demikian Surat Keterangan ini dibuat dengan sebenarnya untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Mengetahui
Wakil Dekan Bidang Akademik,

Dr. Lasker P. Sinaga, M.Si
NIP. 19790802 200912 1 002

Medan, 08 Juli 2025
Kepala Laboratorium,

apt. Nora Susanti, S.Si., M.Sc
NIP. 19781022 200912 2 001

Surat Keterangan ini sudah dicetak sebanyak 4 kali.

© SiManTep FMIPA Unimed - Dicitak Oleh : Muhammad Nizam, S.Si
Pada hari, tanggal : Thursday, 10 July 2025 Jam : 14:21:03

Lampiran 5. Surat Selesai Penelitian di Laboratorium Farmasi USU

Universitas Sumatera Utara
Fakultas Farmasi
Laboratorium Pusat
Penelitian

Alamat:

Jalan Tri Dharma No.5 Pintu 4
Padang Bulan, Kec. Medan Baru,
Kota Medan, Sumatera Utara
20155

Email: farmasi@usu.a.c.id

Telepon: (061) 8223558

SURAT KETERANGAN BEBAS LABORATORIUM
Nomor: 044/UN5.2.1.11.3.24/SPB/2025

Dengan ini menerangkan:

Nama : Anggriani Br. Pasaribu
NIM : 4211220008
Program Studi : S-1 (Biologi)
Judul Penelitian : Analisis Kandungan Senyawa Fitokimia dan Aktivitas
Senyawa Antioksidan Minyak Atsiri Cascara Kopi
Robusta (*Coffea canephora*)
Pembimbing : Dr. Diky Setya Diningrat, S.Si., M.Si.

Benar telah melakukan penelitian untuk keperluan Skripsi yang dilakukan pada:

Lama Penelitian : 3 Juni 2025 – 8 Juli 2025

Kelebihan waktu penelitian : -







Dan juga yang bersangkutan telah menyelesaikan seluruh urusan administrasi pada Laboratorium Pusat Penelitian.

Demikian disampaikan, atas perhatiannya diucapkan terima kasih.

Medan, 9 Juli 2025
Kepala Laboratorium

Bayu Eko Prasetyo, S.Farm., M.

Lampiran 6. Dokumentasi

| Cascara Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>) | |
|--|--|
|  |  |
| <p>Kulit buah kopi (Cascara) yang digunakan pada penelitian</p> | <p>Ukuran cascara kopi yang digunakan ialah 2,5 cm x 1,5 cm</p> |
| Ekstraksi Minyak Atsiri Cascara Kopi | |
|  |  |
| <p>1. Cascara diblender untuk memperkecil ukuran sampel agar lebih mudah diekstraksi</p> | <p>2. Cascara ditimbang sebanyak 100 gram</p> |
|  |  |
| <p>3. Cascara dimasukkan kedalam selongsong sebagai tempat penyaringan.</p> | <p>4. Penambahan etanol sebanyak 300 ml sebagai pelarut</p> |



5. Ekstraksi minyak atsiri cascara dengan metode soxhletasi selama 6 jam



6. Perubahan warna pelarut menjadi kuning kecoklatan bahwa sampel telah terekstrak



7. Sampel yang bercampur dengan pelarut di uapkan dengan rotary evaporator selama 3 jam



8. Setelah di uapkan terdapat yield sebanyak 8 ml dengan warna coklat pekat

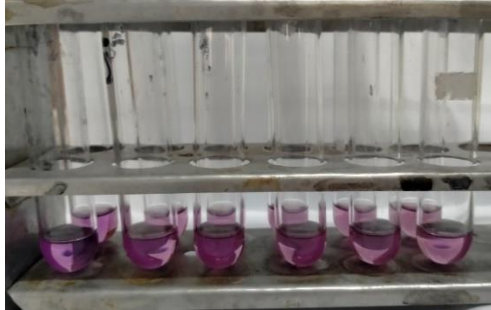
Analisis Senyawa Fitokimia dengan GC-MS



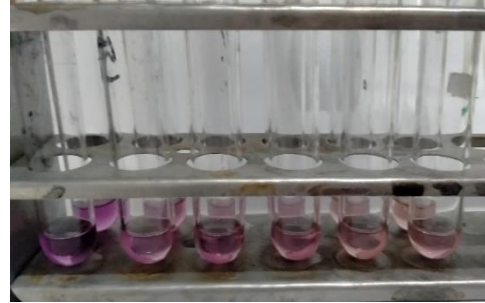
1. Alat GC-MS untuk mengidentifikasi senyawa fitokimia pada minyak atsiri cascara



2. Sampel minyak atsiri cascara saat *running* GC-MS

Uji Antioksidan Metode DPPH

1. Sampel setelah direaksikan dengan DPPH sebelum inkubasi 30 menit



2. Sampel setelah direaksikan dengan DPPH setelah inkubasi 30 menit

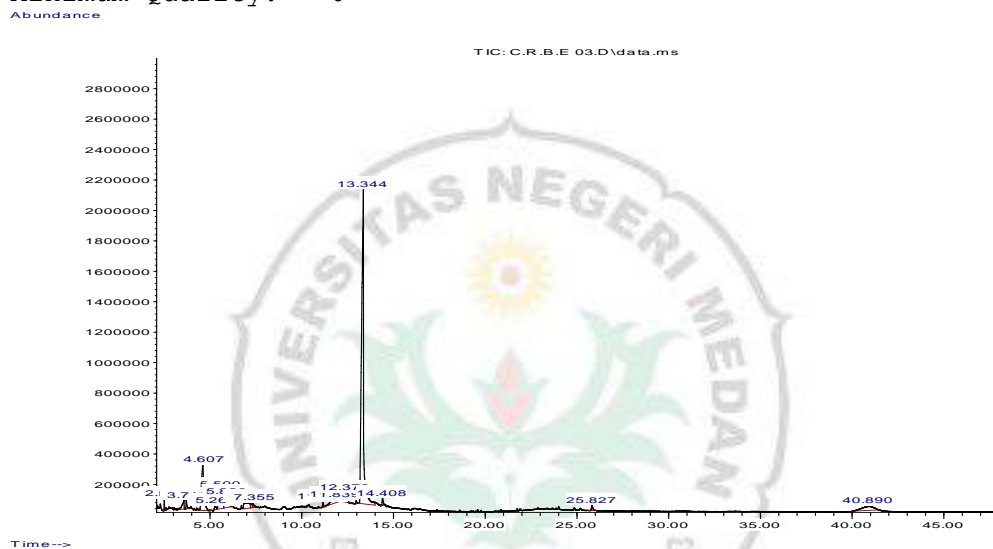


THE
Character Building
UNIVERSITY

Lampiran 7. Data Hasil GC-MS Minyak Atsiri Cascara Kopi Robusta

Library Search Report

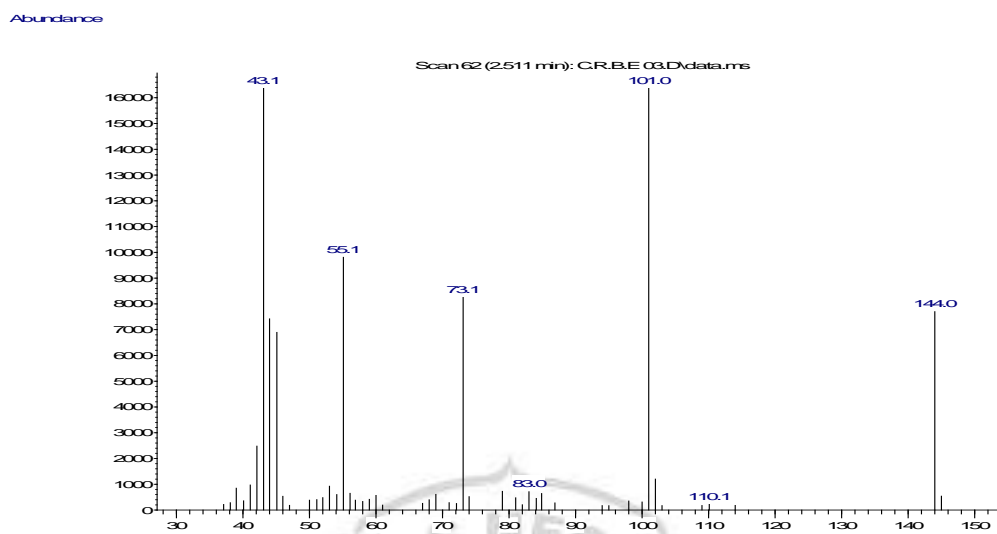
Search Libraries: C:\Database\WILLEY09TH.L
 Minimum Quality: 0
 C:\Database\NIST20.L
 Minimum Quality: 0



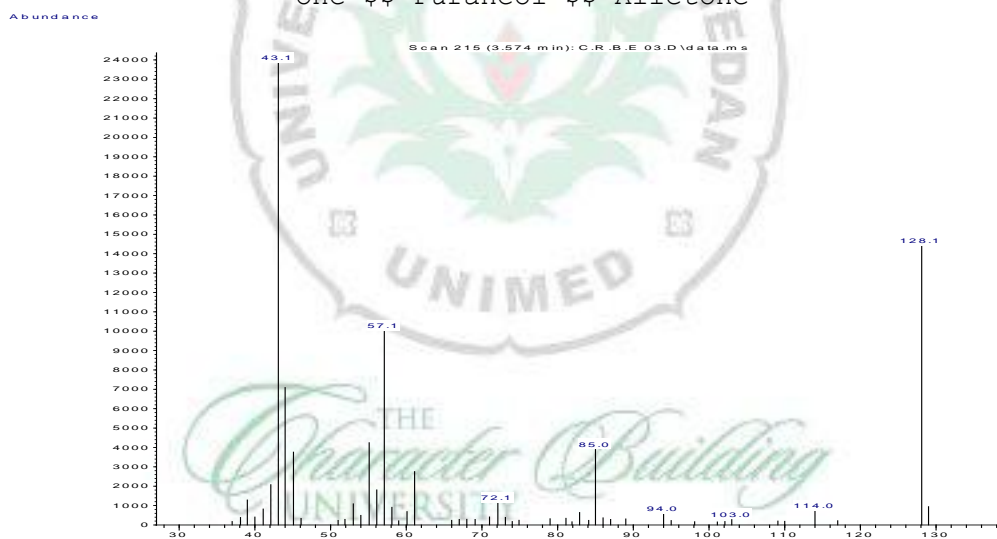
Unknown Spectrum: Apex

Integration Events: ChemStation Integrator - autoint1.e

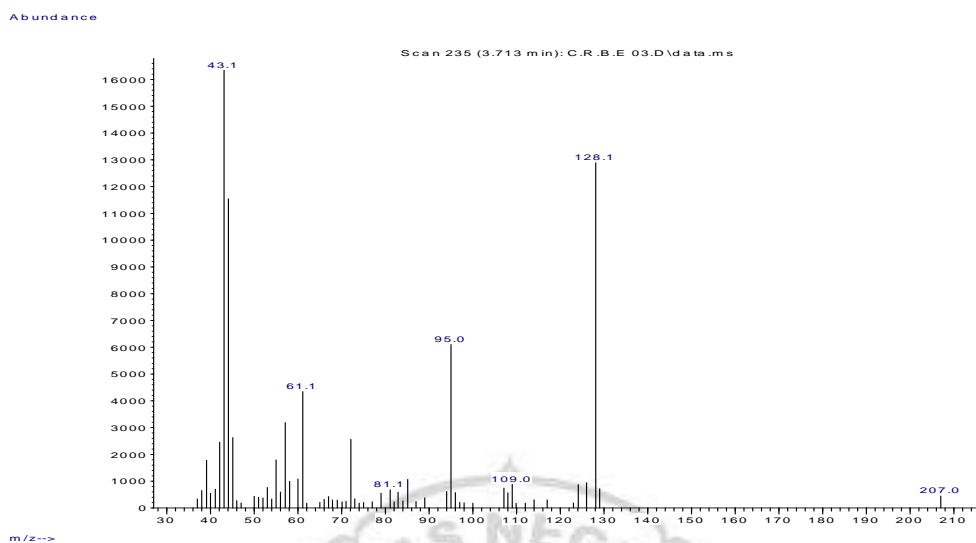
| Pk# | RT | Area% | Library/ID | Ref# |
|-------------|-------|-------|--------------------------------------|-------|
| CAS# | Qual | | | |
| 1 | 2.511 | 0.41 | C:\Database\WILLEY09TH.L | |
| | | | Hydrazine, 1,1-dibutyl- | 57411 |
| 007422-80-2 | 53 | | utylhydrazine \$\$ 1,1-Dibutylhydraz | |
| | | | ine | |



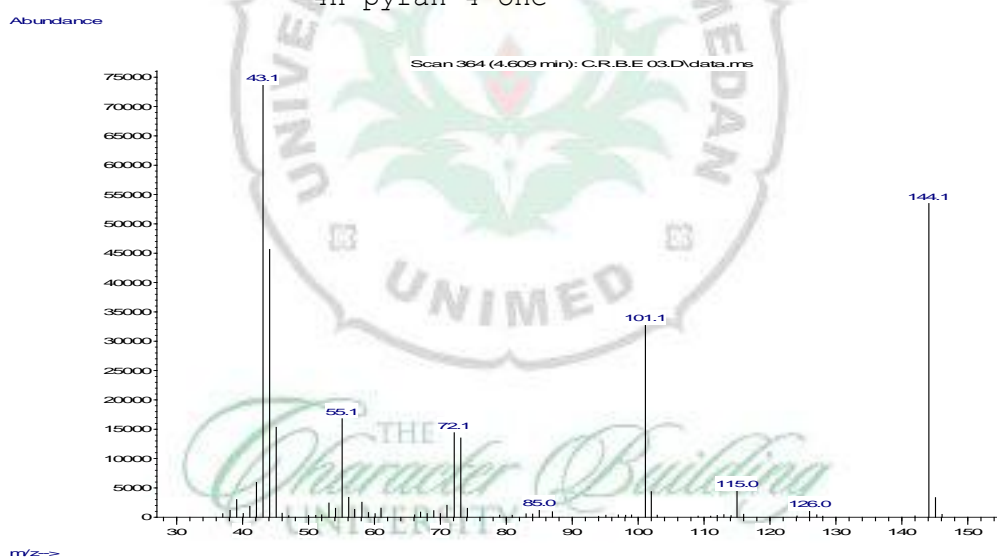
2 3.574 1.57 C:\Database\WILLEY09TH.L
 2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furan 33160
 003658-77-3 62
 one \$\$ Furaneol \$\$ Alletone



3 3.713 0.71 C:\Database\WILLEY09TH.L
 2,5-dioxo-3-isopropyl-6-methylpiperazine 107224
 022160-42-5 40
 razine \$\$ Cyclo(-Ala-Val)

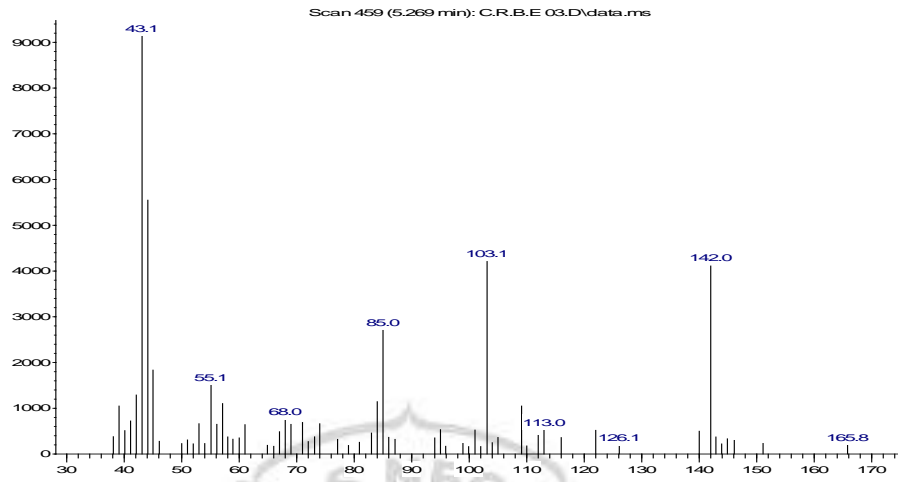


4 4.609 10.42 C:\Database\WILLEY09TH.L
 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl 55962
 028564-83-2 95
 -4H-pyran-4-one



5 5.269 0.50 C:\Database\WILLEY09TH.L
 Di-2-ethylhexyl amine \$\$ Di-2-ethy 295439
 999295-43-9 35
 lhexylamine

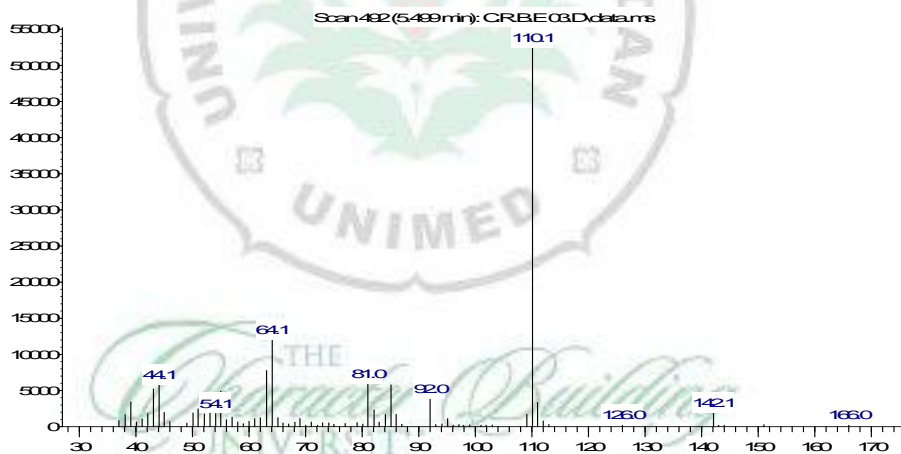
Abundance



m/z-->

6 5.499 6.63 C:\Database\WILLEY09TH.L
 1,2-Benzenediol (CAS) \$\$ Pyrocatec 15999
 000120-80-9 83
 hol \$\$ BRENCATECHIN \$\$ Fournine 6

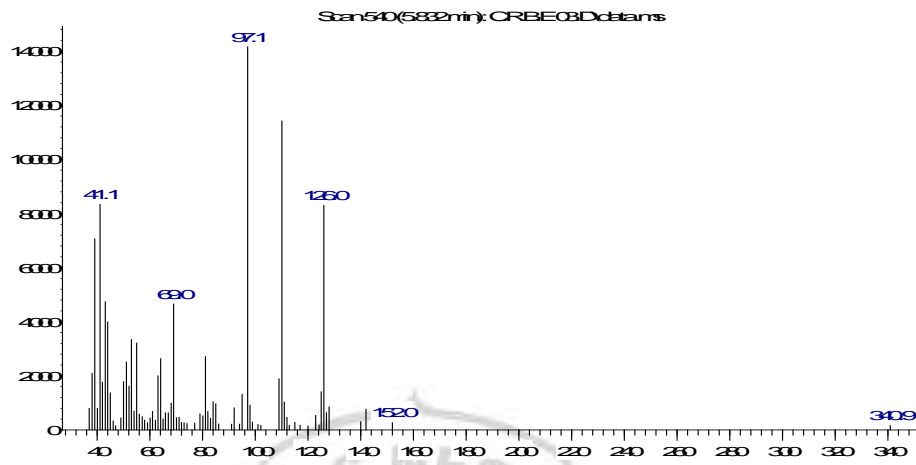
Abundance



m/z-->

7 5.832 3.36 C:\Database\WILLEY09TH.L
 2-Furancarboxaldehyde, 5-(hydroxymethyl)-
 ethyl)- (CAS) \$\$ 5-Oxymethylfurfur
 000067-47-0 60
 ole

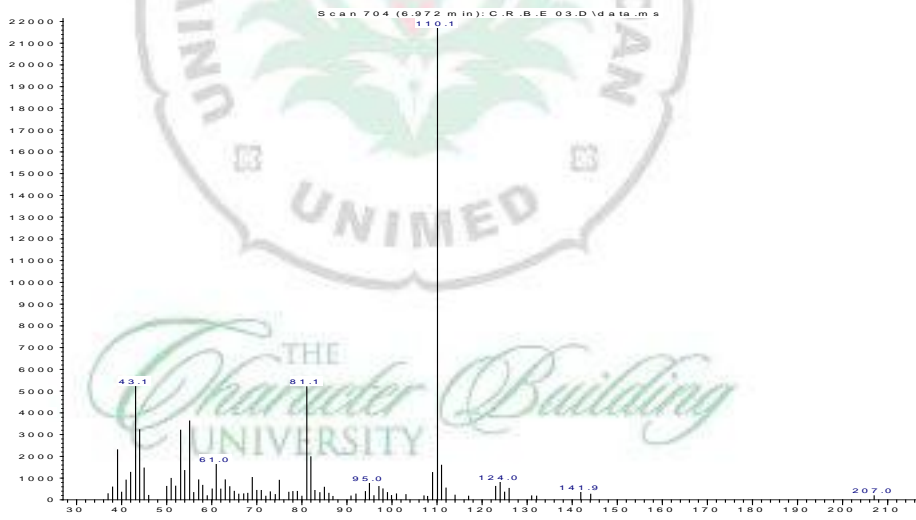
Abundance



m/z-->

8 6.972 3.11 C:\Database\WILLEY09TH.L
 1,4-Benzenediol (CAS) \$\$ Hydroquin 16034
 000123-31-9 72
 one \$\$ Diak 5 \$\$ Phiaquin \$\$ Eldoq
 uin

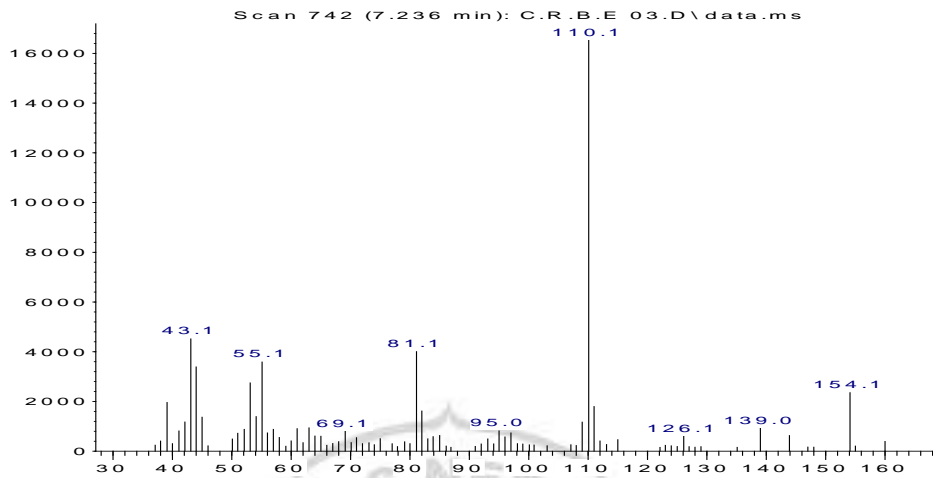
Abundance



m/z-->

9 7.236 0.66 C:\Database\WILLEY09TH.L
 1,4-Benzenediol (CAS) \$\$ Hydroquin 16031
 000123-31-9 64
 one \$\$ Diak 5 \$\$ Phiaquin \$\$ Eldoq
 uin

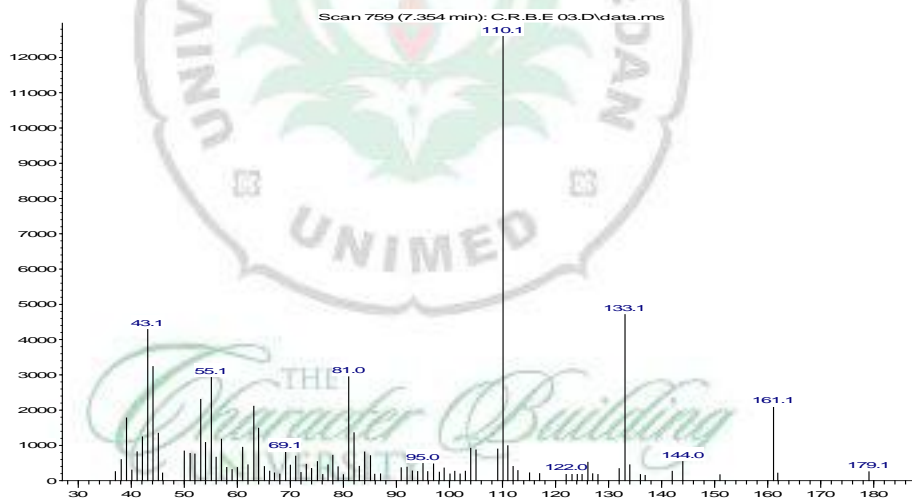
Abundance



m/z-->

10 7.354 0.62 C:\Database\WILLEY09TH.L
 Resorcinol \$\$ 1,3-Benzenediol \$\$. 16014
 000108-46-3 53
 alpha.-Resorcinol \$\$ m-Benzenediol

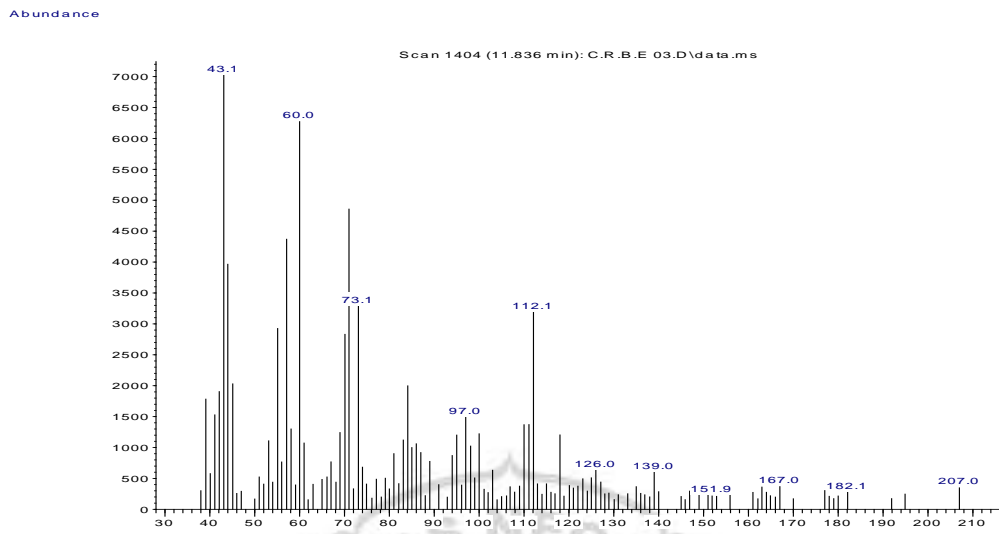
Abundance



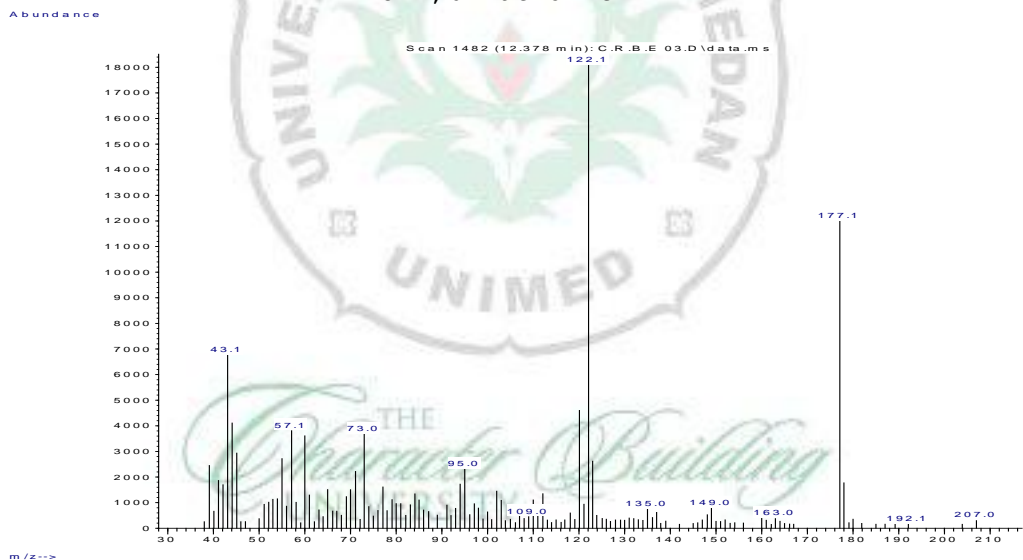
m/z-->

11 11.169 0.39 C:\Database\WILLEY09TH.L
 Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl- 775048
 000556-68-3 70
 \$\$ Hexadecamethyl-cyclooctasioxan

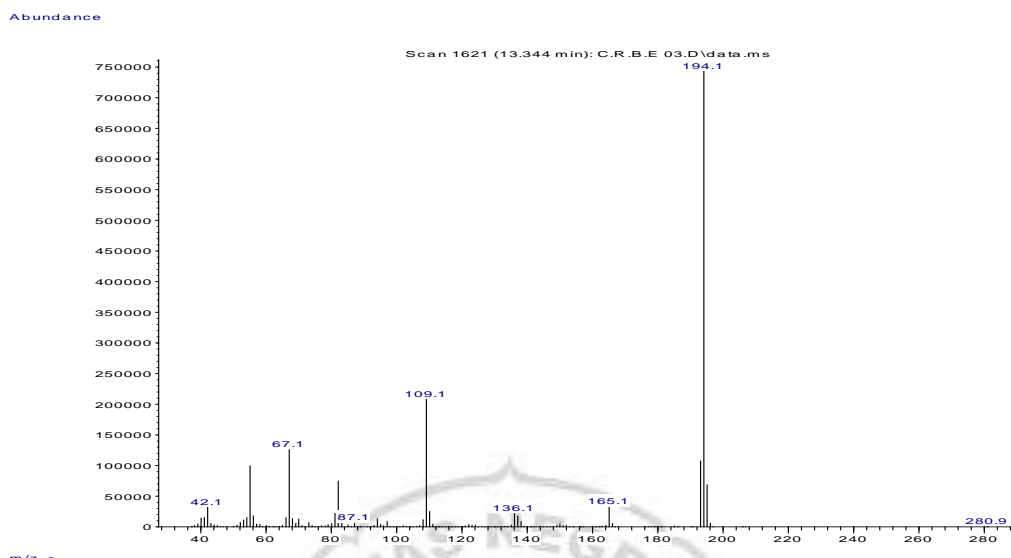
12 11.836 2.38 C:\Database\WILLEY09TH.L
 Quinic acid \$\$ (1R,3R,4R,5R)-(-)-Q 157135
 000077-95-2 64
 uinic acid \$\$ D(-)-Quininic acid



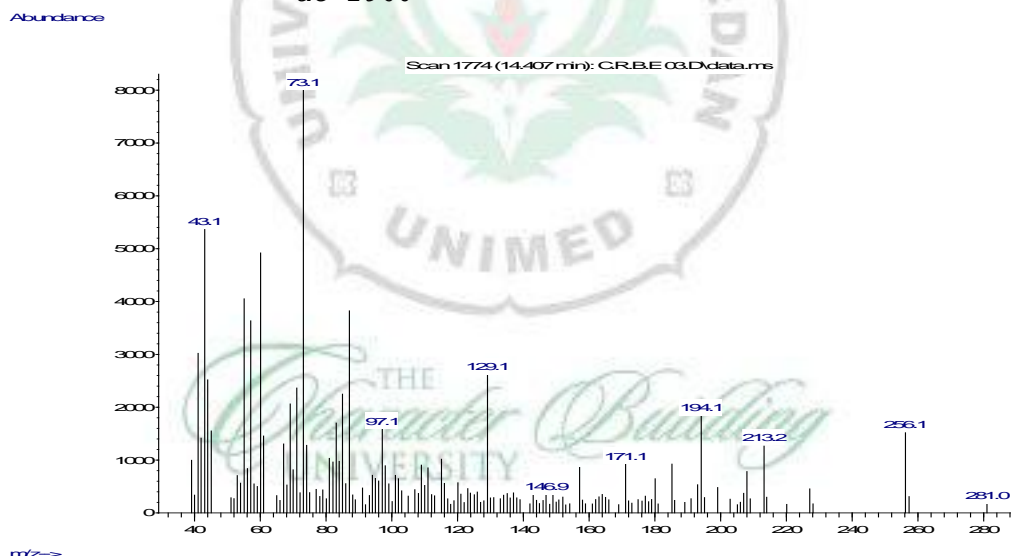
13 12.378 1.03 C:\Database\WILLEY09TH.L
 4-Pyridinamine, 2,6-dimethyl- \$\$ 4 26954
 003512-80-9 43
 -Amino-2,6-lutidine



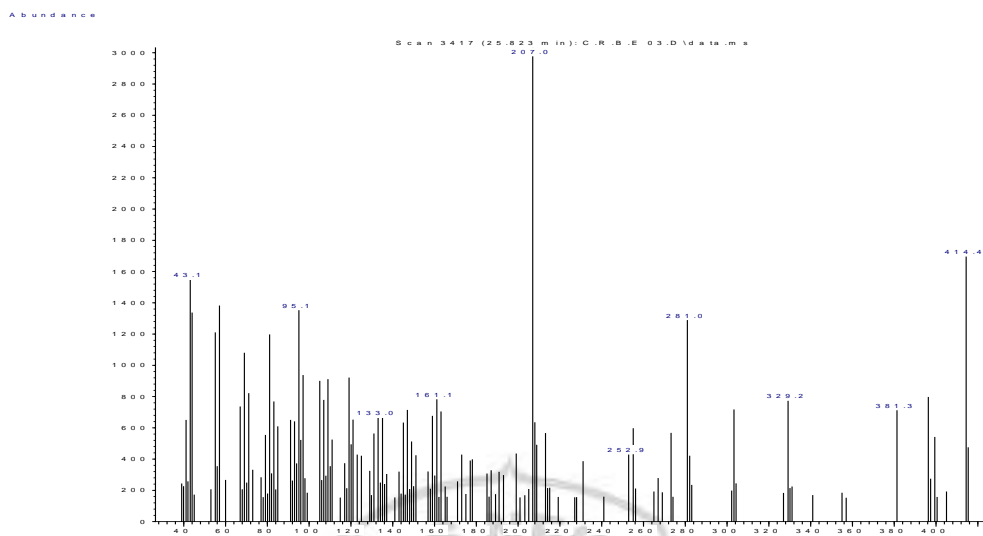
14 13.344 62.12 C:\Database\WILLEY09TH.L
 Caffeine (CAS) \$\$ 1H-Purine-2,6-di 162603
 000058-08-2 95
 one, 3,7-dihydro-1,3,7-trimethyl-
 (CAS)



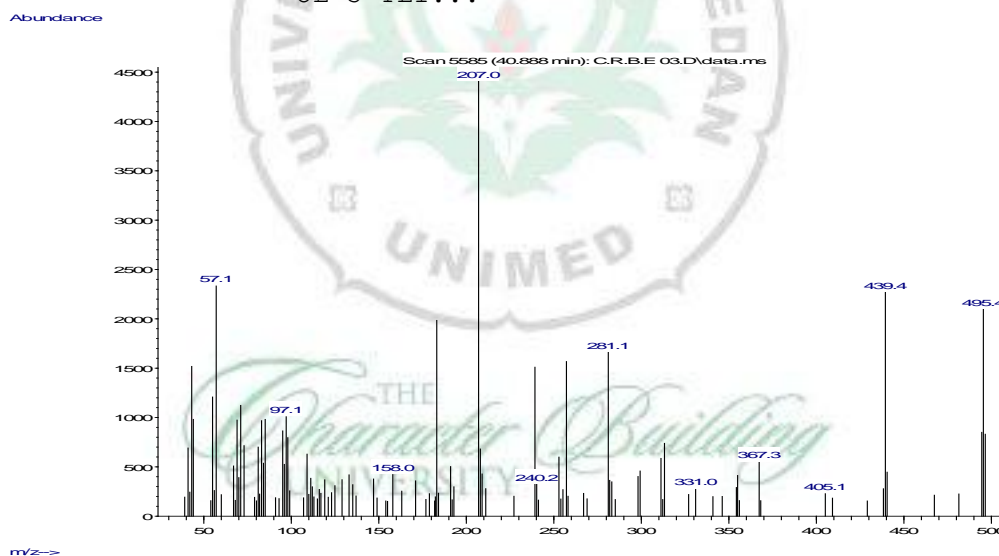
15 14.407 0.76 C:\Database\WILLEY09TH.L
Hexadecanoic acid (CAS) \$\$ Palmiti 337719
000057-10-3 98
c acid \$\$ Palmitinic acid \$\$ Prifr
ac 2960



16 25.823 0.65 C:\Database\WILLEY09TH.L
.beta.-Sitosterol \$\$ Stigmast-5-en 679078
000083-46-5 92
-3-ol, (3.beta.)- \$\$ Stigmast-5-en
-3.beta.-ol



17 40.888 4.66 C:\Database\WILLEY09TH.L
 5'-METHYL-[2,2']BITHIOPHENYL-5-CAR 607087
 999607-08-7 18
 BOXYLIC ACID (2-OXO-1,2-DIHYDROIND
 OL-3-YLI...



UMUM A2.M Thu Jul 10 14:25:40 2025

Area Percent Report

Data Path : D:\DATA 2025\T\UPI\EMILIA JULI\
 Data File : C.R.B.E 03.D
 Acq On : 10 Jul 2025 13:19
 Operator : SISTEM
 Sample : C.G.B.E 03
 Misc : UPI (Sig #1); (Sig #2)
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Integration Parameters: autoint1.e

Integrator: ChemStation 6890 Scale Mode: Large solvent
peaks clipped

Method : C:\msdchem\1\methods\UMUM A2.M
Title :

Signal : TIC: C.R.B.E 03.D\data.ms

| peak of # total | R.T. min | first scan | max scan | last scan | PK TY | peak height | corr. area | corr. % max. | % |
|--------------------------|-------------|---------------|-------------|--------------|----------|----------------|---------------|-----------------|---|
| 1 0.410% | 2.510 | 53 | 62 | 70 | PV | 74005 | 1049388 | 0.66% | |
| 2 1.574% | 3.574 | 176 | 215 | 223 | PV 2 | 55347 | 4029329 | 2.53% | |
| 3 0.708% | 3.710 | 223 | 235 | 249 | PV 5 | 52990 | 1811729 | 1.14% | |
| 4 10.419% | 4.607 | 332 | 364 | 413 | PV | 294996 | 26673787 | 16.77% | |
| 5 0.498% | 5.267 | 413 | 459 | 477 | PV 4 | 21477 | 1275293 | 0.80% | |
| 6 6.630% | 5.500 | 477 | 492 | 527 | VV | 122489 | 16972422 | 10.67% | |
| 7 3.360% | 5.830 | 527 | 540 | 587 | VV 2 | 70705 | 8601800 | 5.41% | |
| 8 3.112% | 6.975 | 677 | 704 | 738 | VV 3 | 39341 | 7966026 | 5.01% | |
| 9 0.664% | 7.239 | 738 | 742 | 754 | VV 5 | 30660 | 1699485 | 1.07% | |
| 10 0.625% | 7.355 | 754 | 759 | 791 | VB 2 | 29020 | 1599428 | 1.01% | |
| 11 0.390% | 11.168 | 1292 | 1308 | 1317 | BV 2 | 33351 | 997421 | 0.63% | |
| 12 2.384% | 11.839 | 1317 | 1404 | 1444 | PB 2 | 18639 | 6102295 | 3.84% | |
| 13 1.034% | 12.379 | 1471 | 1482 | 1528 | VB | 56269 | 2645906 | 1.66% | |
| 14 62.124% | 13.344 | 1584 | 1621 | 1714 | BV | 1835011 | 159040937 | 100.00% | |
| 15 0.762% | 14.408 | 1758 | 1774 | 1792 | PV 3 | 46041 | 1950261 | 1.23% | |
| 16 0.648% | 25.827 | 3388 | 3417 | 3439 | BB 3 | 33270 | 1658725 | 1.04% | |
| 17 4.660% | 40.890 | 5462 | 5585 | 5661 | BB 3 | 27154 | 11931078 | 7.50% | |