

EKSTRAKSI TOTAL POLIFENOL DAN UJI AKTIVITAS  
ANTIOKSIDAN DARI KULIT ARI BIJI KOPI



LAPORAN TUGAS AKHIR

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan Pendidikan  
Diploma Tiga (D-3) Program Studi Teknik Kimia  
Jurusan Teknik Kimia  
Politeknik Negeri Ujung Pandang

MAGHFIRA REZKI RAMADHANY (331 19 037)

TRIENES GINANTHA DERA (331 19 047)

PROGRAM STUDI D-3 TEKNIK KIMIA  
JURUSAN TEKNIK KIMIA  
POLITEKNIK NEGERI UJUNG PANDANG  
MAKASSAR

2022

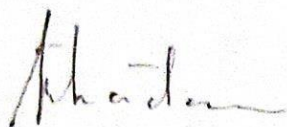
## HALAMAN PENGESAHAN

Laporan tugas akhir ini dengan judul “Ekstraksi Total Polifenol dan Uji Aktivitas Antioksidan dari Kulit Ari Biji Kopi” oleh Maghfira Rezki Ramadhany NIM 331 19 037 diterima dan disahkan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh Ahli Madya pada Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Ujung Pandang.

Makassar, 16 September 2022

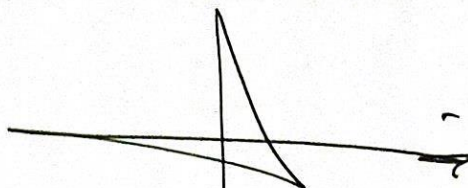
Menyetujui:

Pembimbing I,



Vilia Darma Paramita, STP, M. Food, Ph.D  
NIP. 19780323 200801 2 015

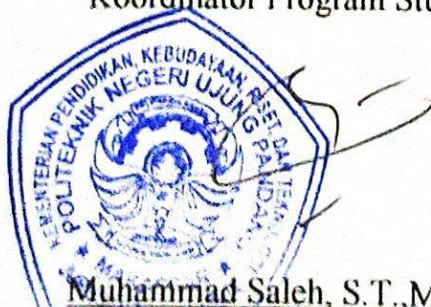
Pembimbing II,



Dr. A. Muh. Iqbal Akbar Asfar, S.T., M.T.  
NIP. 19820512 201502 1 003

Mengetahui:

Koordinator Program Studi



Muhammad Saleh, S.T., M.Si  
NIP. 19671008 199303 1 001

## HALAMAN PENGESAHAN

Laporan tugas akhir ini dengan judul “Ekstraksi Total Polifenol dan Uji Aktivitas Antioksidan dari Kulit Ari Biji Kopi” oleh Trienes Ginantha Dera NIM 331 19 047 diterima dan disahkan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh Ahli Madya pada Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Ujung Pandang.

Makassar, 16 September 2022

Menyetujui:

Pembimbing I,

Dra. Abigael Todingbua, M. Si.  
NIP. 19621011 198903 2 001

Pembimbing II,

Dr. A. Muh. Iqbal Akbar Asfar, S.T., M.T.  
NIP. 19820512 201502 1 003

Mengetahui:

Koordinator Program Studi




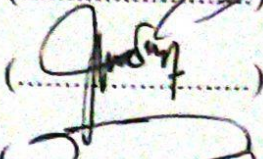
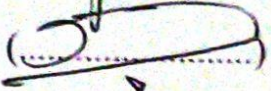
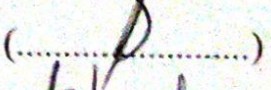
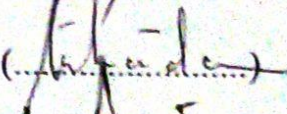

Muhammad Saleh, S.T., M.Si  
NIP. 19671008 199303 1 001

## HALAMAN PENERIMAAN

Pada hari ini, Jumat tanggal 16 September, Tim Penguji Ujian Sidang Laporan Tugas Akhir telah menerima hasil ujian sidang laporan tugas akhir oleh mahasiswa Maghfira Rezki Ramadhany dengan NIM 331 19 037 dengan judul "Ekstraksi Total Polifenol dan Uji Aktivitas Antioksidan dari Kulit Ari Biji Kopi".

Makassar, 16 September 2022

Tim Penguji Ujian Sidang Laporan Tugas Akhir:


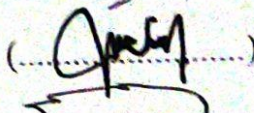
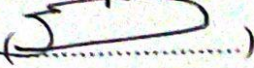
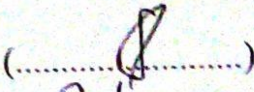
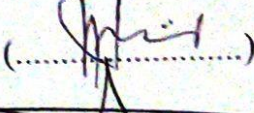

1. Ir. Rosalin, M.Si.	Ketua	
2. Muallim Syahrir, S.T., M.T.	Sekretaris	
3. Tri Hartono, L.R.S.C., M. Chem. Eng	Anggota	
4. Muhammad Yusuf, STP., M.Si.	Anggota	
5. Vilia Darma Paramita, STP, M. Food, Ph.D.	Anggota	
6. Dr. A. Muh. Iqbal Akbar Asfar, S.T., M.T.	Anggota	

## HALAMAN PENERIMAAN

Pada hari ini, Jumat tanggal 16 September 2022, Tim Penguji Ujian Sidang Laporan Tugas Akhir telah menerima hasil ujian sidang laporan tugas akhir oleh mahasiswa Trienes Ginantha Dera dengan NIM 331 19 047 dengan judul "Ekstraksi Total Polifenol dan Uji Aktivitas Antioksidan dari Kulit Ari Biji Kopi".

Makassar, 16 September 2022

Tim Penguji Ujian Sidang Laporan Tugas Akhir:

- |  |            |   |
|--|------------|---|
| 1. Ir. Rosalin, M.Si.                        | Ketua      | (  ) |
| 2. Muallim Syahrir, S.T., M.T.               | Sekretaris | (  ) |
| 3. Tri Hartono, L.R.S.C., M. Chem. Eng       | Anggota    | (  ) |
| 4. Muhammad Yusuf, STP., M.Si.               | Anggota    | (  ) |
| 5. Dra. Abigael Todingbua', M. Si.           | Anggota    | (  ) |
| 6. Dr. A. Muh. Iqbal Akbar Asfar, S.T., M.T. | Anggota    | (  ) |

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa karena berkat rahmat dan karunia-Nya, penulisan laporan tugas akhir ini yang berjudul “Ekstraksi Total Polifenol dan Uji Aktivitas Antioksidan dari Kulit Ari Biji Kopi” dapat diselesaikan dengan baik.

Dalam penulisan laporan tugas akhir ini tidak sedikit hambatan yang penulis alami. Namun, berkat bantuan berbagai pihak terutama pembimbing, hambatan tersebut dapat teratasi. Sehubungan dengan itu, penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada keluarga terutama kedua orang tua yang selalu memberikan motivasi, nasihat, cinta, perhatian, dan kasih sayang serta doa yang tentu takkan bisa penulis balas. Melalui lembaran ini penulis juga menyampaikan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Ir. Muhammad Anshar, M.Si., Ph.D. selaku Direktur Politeknik Negeri Ujung Pandang
2. Bapak Drs. Herman Banggalino, M.T. selaku Ketua Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Ujung Pandang
3. Bapak Muhammad Saleh, S.T., M.Si. selaku Koordinator Program Studi D-3 Teknik Kimia Politeknik Negeri Ujung Pandang.
4. Bapak Muallim Syahrir, S.T., M.T. selaku wali kelas 3B D-3 Teknik Kimia.
5. Ibunda Vilia Darma Paramita, STP, M. Food, Ph.D dan Dra. Abigael Todingbua', M. Si. sebagai pembimbing I yang telah mencurahkan

perhatian dan kesempatannya untuk mengarahkan penulis dalam menyelesaikan laporan tugas akhir.

6. Bapak Dr. A. Muh. Iqbal Akbar Asfar, S.T., M.T. sebagai pembimbing II yang telah mencurahkan perhatian dan kesempatannya untuk mengarahkan penulis dalam menyelesaikan proposal tugas akhir.

7. Bapak dan Ibu Dosen dan tenaga kependidikan Jurusan Teknik Kimia.

8. Serta ucapan terima kasih untuk teman-teman angkatan 2019 Jurusan Teknik Kimia khususnya teman-teman sekelas yang senantiasa membantu dan memberikan *support* hingga penyelesaian laporan tugas akhir ini.

Penulis menyadari bahwa laporan tugas akhir ini belum sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritikan dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan laporan tugas akhir ini dan demi perbaikan pada masa mendatang. Semoga laporan tugas akhir ini bermanfaat bagi pembacanya.

Makassar, September 2022

Penulis

## DAFTAR ISI

	hlm.
HALAMAN SAMBUTAN .....	i
HALAMAN PERSETUJUAN .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
HALAMAN PENERIMAAN .....	iv
KATA PENGANTAR .....	vi
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR TABEL .....	xi
SURAT PERNYATAAN .....	xii
RINGKASAN .....	xiv
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	2
1.3 Ruang Lingkup Penelitian .....	3
1.4 Tujuan Penelitian .....	3
1.5 Manfaat Penelitian .....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	5
2.1 Tanaman Kopi .....	5
2.2 Ekstraksi .....	6
2.3 Antioksidan .....	9
2.4 Polifenol .....	11
2.5 Spektrofotometri UV-Vis .....	12
2.6 <i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)</i> .....	14
BAB III METODE PENELITIAN .....	16

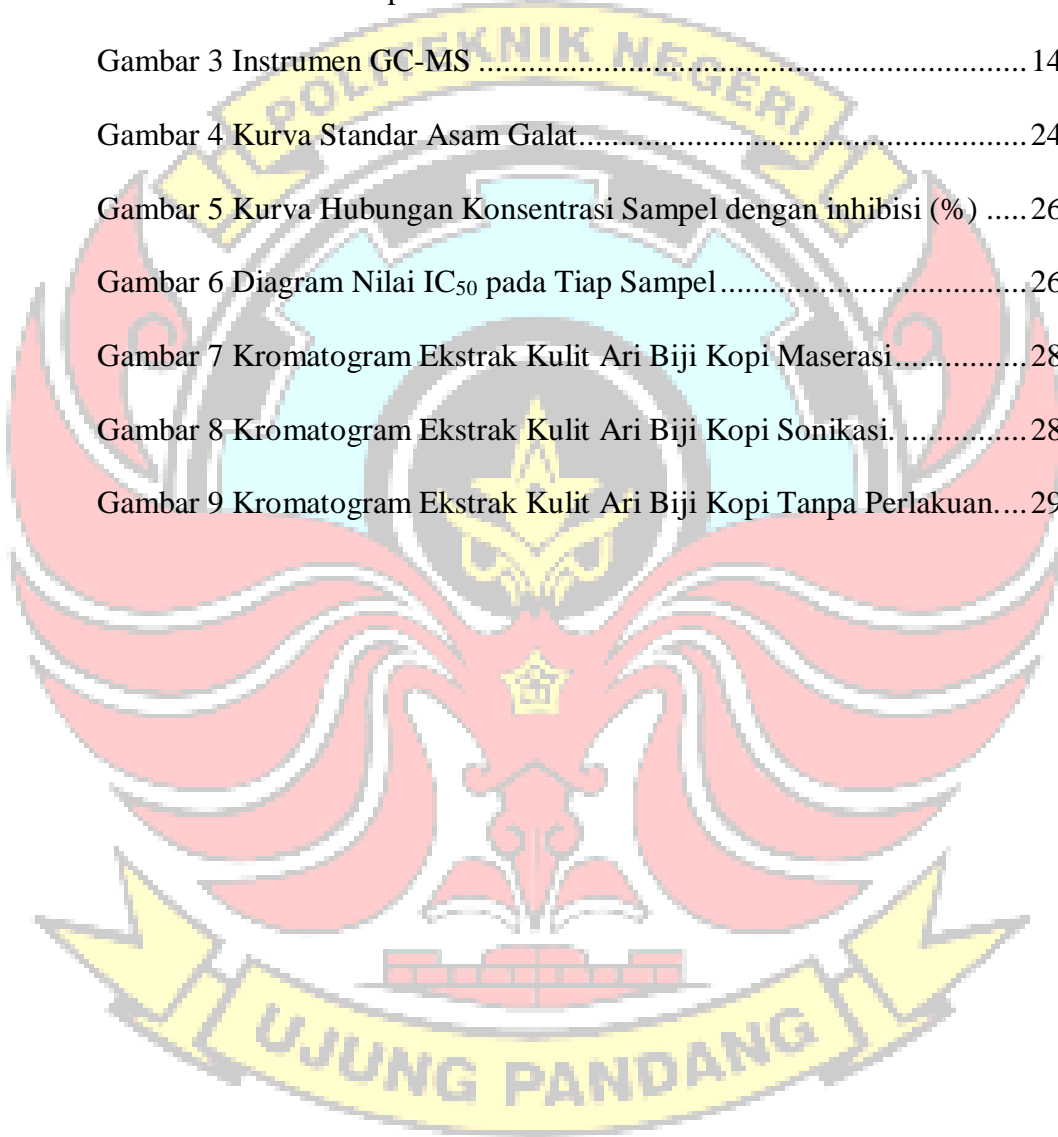


3.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	16
3.2 Alat dan Bahan .....	16
3.3 Prosedur Kerja.....	17
<b>BAB IV PEMBAHASAN.....</b>	<b>23</b>
4.1 Analisa Kadar Polifenol.....	23
4.2 Aktivitas Antioksidan.....	25
4.3 Analisa GC-MS.....	27
<b>BAB V PENUTUP.....</b>	<b>32</b>
5.1 Kesimpulan.....	32
5.2 Saran.....	32
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>33</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>39</b>



## DAFTAR GAMBAR

	hlm.
Gambar 1 Morfologi Buah Kopi.....	6
Gambar 2 Instrumen Spektrofotometri .....	12
Gambar 3 Instrumen GC-MS .....	14
Gambar 4 Kurva Standar Asam Galat.....	24
Gambar 5 Kurva Hubungan Konsentrasi Sampel dengan inhibisi (%) .....	26
Gambar 6 Diagram Nilai IC <sub>50</sub> pada Tiap Sampel.....	26
Gambar 7 Kromatogram Ekstrak Kulit Ari Biji Kopi Maserasi.....	28
Gambar 8 Kromatogram Ekstrak Kulit Ari Biji Kopi Sonikasi. ....	28
Gambar 9 Kromatogram Ekstrak Kulit Ari Biji Kopi Tanpa Perlakuan....	29



## DAFTAR TABEL

	hlm.
Tabel 1 Hasil analisis kadar polifenol dari kulit ari biji kopi untuk setiap waktu ekstraksi.....	24
Tabel 2 Kandungan senyawa terbanyak pada tiap perlakuan sampel kulit ari biji kopi.....	30



## SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Maghfira Rezki Ramadhany

NIM : 331 19 037

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa segala pernyataan dalam laporan tugas akhir ini, yang berjudul “Ekstraksi Total Polifenol dan Uji Aktivitas Antioksidan dari Kulit Ari Biji Kopi” merupakan gagasan, hasil karya saya sendiri dengan arahan pembimbing, dan belum pernah diajukan dalam bentuk apa pun pada perguruan tinggi dan instansi mana pun.

Semua data dan informasi yang digunakan telah dinyatakan secara jelas dan dapat diperiksa kebenarannya. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan oleh penulis lain telah disebutkan dalam naskah dan dicantumkan dalam daftar pustaka laporan tugas akhir ini.

Jika pernyataan saya tersebut di atas tidak benar, saya siap menanggung risiko yang ditetapkan oleh Politeknik Negeri Ujung Pandang.

Makassar, 8 September 2022



Maghfira Rezki Ramadhany

NIM 331 19 037

## SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Trienes Ginantha Dera

NIM : 331 19 047

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa segala pernyataan dalam laporan tugas akhir ini, yang berjudul “Ekstraksi Total Polifenol dan Uji Aktivitas Antioksidan dari Kulit Ari Biji Kopi” merupakan gagasan, hasil karya saya sendiri dengan arahan pembimbing, dan belum pernah diajukan dalam bentuk apa pun pada perguruan tinggi dan instansi mana pun.

Semua data dan informasi yang digunakan telah dinyatakan secara jelas dan dapat diperiksa kebenarannya. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan oleh penulis lain telah disebutkan dalam naskah dan dicantumkan dalam daftar pustaka laporan tugas akhir ini.

Jika pernyataan saya tersebut di atas tidak benar, saya siap menanggung risiko yang ditetapkan oleh Politeknik Negeri Ujung Pandang.

Makassar, 8 September 2022



Trienes Ginantha Dera

NIM 331 19 047

## **EKSTRAKSI TOTAL POLIFENOL DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA KULIT ARI BIJI KOPI**

### **RINGKASAN**

Kulit ari biji kopi belum dimanfaatkan secara optimal dan hanya dijadikan limbah yang tidak memiliki nilai ekonomi. Kulit ari biji kopi berpotensi menjadi antioksidan karena kaya akan kandungan senyawa yang bermanfaat, salah satunya senyawa fenolik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar total polifenol, aktivitas antioksidan, serta senyawa apa saja yang terkandung pada kulit ari biji kopi.

Pada penelitian ini, kulit ari biji kopi dihaluskan kemudian diekstrak total polifenolnya menggunakan metode maserasi dan sonikasi dalam pelarut metanol. Maserasi dilakukan dengan variasi waktu 6 dan 20 jam. Sedangkan sonikasi dilakukan dengan variasi waktu 10, 30 dan 40 menit. Kemudian ekstrak terbaik dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dan dianalisa kandungannya dengan Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kondisi optimum ekstraksi total polifenol pada kulit ari biji kopi pada metode maserasi 20 jam dengan kadar total polifenol sebanyak 21,2 mg GAE/g sedangkan pada sonikasi 30 menit diperoleh kadar total polifenol sebanyak 19,8 mg GAE/g. Aktivitas antioksidan kulit ari biji kopi tergolong kuat, ditandai dengan nilai  $IC_{50}$  pada maserasi 20 jam sebesar 86,573 ppm dan pada sonikasi 30 menit sebesar 88,878 ppm. Kulit ari biji kopi mengandung senyawa bioaktif yang dapat digolongkan dalam 4 golongan besar, yaitu alkaloid, asam lemak, steroid dan terpenoid.

# BAB I PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara eksportir kopi utama dunia yang menempati urutan ke-empat setelah Brazil, Vietnam dan Kolombia. Kopi merupakan produk ekspor utama yang dihasilkan Indonesia (Rosiana dkk., 2018). Lahan perkebunan kopi di Indonesia mencapai 1.249.615 Ha, sedangkan di Sulawesi Selatan luasnya mencapai 78.893 Ha (Direktorat Jenderal Perkebunan, 2021).

Kopi dalam bahasa latin disebut *Coffea sp.* Buah kopi terdiri dari lima bagian yaitu lapisan kulit luar, lapisan kulit tanduk, kulit ari, lapisan daging buah dan biji. Proses pengolahan kopi menghasilkan limbah kulit biji kopi sebanyak 40-45% (Marcelinda dkk., 2016). Pada kopi terdapat kulit ari yang hanya dianggap sebagai limbah perkebunan yang belum dimanfaatkan secara maksimal.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Marcelinda dkk. (2016), kulit ari biji kopi yang diekstrak dengan etil asetat mengandung polifenol. Senyawa polifenol yang ada pada limbah ini adalah *flavan-3-ol*, asam hidroksinamat, flavonol, antosianidin, katekin, epikatekin, rutin, tanin, dan asam ferulat (Esquivel dan Jimenez, 2012). Polifenol merupakan turunan senyawa fenol yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan, sehingga polifenol pada kulit ari biji kopi berpotensi menjadi bahan antioksidan alami. Polifenol mudah larut dalam pelarut polar. Selain sebagai antioksidan, polifenol dapat bermanfaat sebagai penghambat perkembangan beberapa penyakit seperti kanker, kardiovaskular, diabetes, osteoporosis dan neurodegeneratif (Pandey dan Rizvi, 2009).

Polifenol dapat diperoleh dari hasil ekstraksi dengan pelarut metanol. Pelarut metanol merupakan pelarut universal dapat mengikat senyawa kimia baik bersifat polar, semi polar dan nonpolar yang ada pada tumbuhan. Pelarut metanol juga tidak mudah ditumbuhi mikroba dan netral (Heni dan Zaharah, 2015). Metode ekstraksi dibedakan menjadi beberapa metode, yaitu maserasi, sonikasi, perkolasi dan sokletasi. Rahmadhani, dkk. (2020) pada penelitiannya mengenai ekstraksi kulit biji kakao sebagai sumber antioksidan menggunakan metode maserasi. Metode ini dipilih karena pengerjaannya lebih sederhana dibandingkan metode lainnya. Sedangkan Widarta dan Arnata (2016) pada penelitiannya mengenai ekstraksi komponen bioaktif pada daun alpukat menggunakan metode sonikasi. Kelebihan metode sonikasi adalah sederhana dan membutuhkan waktu yang lebih singkat sehingga lebih efisien.

Pada penelitian ini, kandungan total polifenol pada kulit ari biji kopi diekstrak dengan membandingkan dua metode ekstraksi yaitu maserasi dan sonikasi menggunakan pelarut metanol. Kemudian dilanjutkan penentuan kadar polifenol dengan menggunakan metode spektrofotometri ultraviolet-sinar tampak (UV-Vis) dengan larutan standar asam galat.

## **1.2 Rumusan Masalah**

1. Bagaimana pengaruh ekstraksi maserasi dan sonikasi terhadap total polifenol yang diperoleh?
2. Bagaimana sifat antioksidan ekstrak kulit ari biji kopi?
3. Senyawa kimia apa saja yang terkandung dalam kulit ari biji kopi?



### **1.3 Ruang Lingkup Penelitian**

Adapun yang menjadi ruang lingkup penelitian ini adalah analisis kandungan polifenol pada kulit ari biji kopi yang diperoleh dari limbah pengolahan kopi di Toko Kopi Ujung, Jalan Somba Opu Kota Makassar. Limbah kulit ari biji kopi terdiri atas campuran jenis kopi robusta dan kopi arabika yang berasal dari Toraja, Enrekang dan Malino. Proses pengerjaan pada penelitian ini memiliki variasi metode ekstraksi yaitu maserasi dengan lama perendaman 6 dan 20 jam, serta metode sonikasi dengan waktu 10, 30, dan 40 menit. Adapun pelarut yang digunakan adalah metanol. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Analisis kandungan polifenol dan antioksidan menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis. Sedangkan identifikasi kandungan kulit ari biji kopi menggunakan *Gas Chromatography and Mass Spectroscopy* (GC-MS).

### **1.4 Tujuan Penelitian**

Berdasarkan dari permasalahan diatas, maka tujuan dari penelitian ini antara lain:

1. Membandingkan metode ekstraksi maserasi dan sonikasi terhadap total polifenol yang diperoleh.
2. Menentukan sifat antioksidan ekstrak kulit ari biji kopi.
3. Mengidentifikasi beberapa senyawa kimia yang terkandung dalam kulit ari biji kopi.

### **1.5 Manfaat Penelitian**

Adapun manfaat dari penelitian ini antara lain:

1. Bagi peneliti, dapat dijadikan sebagai referensi untuk penelitian selanjutnya mengenai kandungan polifenol dan antioksidan dari ekstrak kulit ari biji kopi.
2. Bagi industri, dapat memberikan informasi mengenai kandungan aktivitas antioksidan dari ekstrak kulit ari biji kopi sebagai bahan tambahan pangan dan medis.
3. Bagi masyarakat, yaitu sebagai sumber informasi mengenai diversifikasi produk olahan kulit ari biji kopi.



## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman Kopi

Tanaman kopi (*Coffea sp.*) merupakan salah satu hasil perkebunan rakyat Indonesia yang mencapai 636,7 ton pada tahun 2017 dan telah diekspor ke lima benua (BPS, 2017). Oleh karena itu, kopi berperan penting sebagai salah satu sumber devisa negara dan sumber penghasilan petani di Indonesia (Rahardjo, 2012).

Sistematika taksonomi kopi:

- Kingdom : *Plantae*
- Subkingdom : *Trachebionta*
- Super Divisi : *Spermatophyta*
- Divisi : *Magnoliophyta*
- Kelas : *Magnoliopsida*
- Sub Kelas : *Astridae*
- Ordo : *Rubiales*
- Family : *Rubiaceae*
- Genus : *Coffea*
- Spesies : *Coffea sp.* (Rahardjo, 2017)

Tanaman kopi menghasilkan buahnya saat berusia 3 tahun. Bunganya berwarna putih dan beraroma wangi yang muncul pada ketiak daun. Buah yang terbentuk akan matang dalam 7-12 bulan (Rahardjo, 2017). Buah kopi terdiri dari lima bagian yaitu lapisan kulit buah, lapisan daging buah, lapisan kulit tanduk, kulit ari dan biji.



Gambar 1 Morfologi Buah Kopi  
(Luden, 2021)

Kulit ari biji kopi merupakan salah satu limbah yang dihasilkan pada proses pengolahan biji kopi. Limbah kulit ari biji kopi hanya dimanfaatkan sebagai pakan ternak. Pemanfaatan dan penggunaan kulit ari biji kopi masih kurang karena minimnya kepedulian serta informasi yang diperoleh masyarakat (Marcelinda dkk., 2016).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Marcelinda dkk (2016), kulit ari biji kopi yang diekstrak dengan etil asetat mengandung polifenol. Senyawa polifenol yang ada pada limbah ini adalah *flavan-3-ol*, asam hidroksinat, flavonol, antosianidin, katekin, epikatekin, rutin, tanin, dan asam ferulat (Esquivel dan Jimenez, 2012).

## 2.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah teknik pemisahan kimia yang memisahkan atau menarik satu atau beberapa komponen/senyawa dari suatu sampel menggunakan pelarut tertentu yang sesuai. Ekstraksi padat-cair merupakan proses perpindahan komponen/senyawa dari sampel padat ke dalam pelarutnya. Ekstraksi ini dapat

dilakukan jika komponen/senyawa yang ingin diekstrak dapat larut dalam pelarut pengekstraksi.

Kecepatan proses ekstraksi bergantung pada beberapa faktor yaitu temperatur, luas permukaan partikel (sampel), jenis pelarut, perbandingan analit dengan pelarut, kecepatan dan lama pengadukan. Agar kondisi optimum ekstraksi dapat tercapai maka beberapa hal yang harus diperhatikan:

- a. Kemampuan atau daya larut analit dalam pelarut harus tinggi.
- b. Pelarut yang digunakan harus selektif.
- c. Konsentrasi analit dalam sampel harus cukup tinggi.
- d. Tersedia metode untuk memisahkan kembali analit dari pelarut pengekstraksi.

Ekstraksi padat-cair dibedakan menjadi beberapa metode, yaitu maserasi, sonikasi, perkolasi dan sokletasi.

#### 2.2.1 Maserasi

Maserasi adalah salah satu jenis ekstraksi padat-cair yang paling sederhana, yaitu dengan cara merendam sampel pada suhu kamar dengan waktu tertentu menggunakan pelarut yang sesuai, sehingga dapat melarutkan analit dalam sampel. Sampel diaduk sesekali untuk mempercepat proses pelarutan analit. Kelebihan ekstraksi ini adalah alat dan cara yang digunakan sangat sederhana, dapat digunakan untuk analit baik yang tahan terhadap pemanasan maupun yang tidak tahan terhadap pemanasan. Namun kelemahannya adalah menggunakan banyak pelarut (Leba, 2017).

### 2.2.2 Sonikasi (ultrasonik)

Sonikasi adalah jenis ekstraksi padat-cair menggunakan ultrasonik (energi gelombang suara) untuk mengganggu partikel dalam sampel. Getaran yang dihasilkan mempercepat waktu kontak antara sampel dengan pelarut sehingga proses pemisahan senyawa dari sampel ke pelarut menjadi lebih cepat (Suryanto dan Taroreh, 2019). Metode ultrasonik diketahui memiliki kelebihan dibandingkan metode maserasi karena metode ultrasonik menggunakan gelombang ultrasonik yaitu gelombang akustik dengan frekuensi lebih besar dari 16-20 kHz. Salah satu kelebihan metode ekstraksi ultrasonik adalah kecepatan ekstraksinya dibandingkan dengan ekstraksi secara termal atau konvensional. Metode ultrasonik ini lebih aman, lebih singkat, dan meningkatkan jumlah rendemen kasar (Handayani dan Sriherfyna, 2016).

### 2.2.3 Perkolasi

Perkolasi adalah jenis ekstraksi padat-cair dengan cara mengalirkan pelarut secara perlahan pada sampel dalam suatu percolator. Pada proses ekstraksi ini, pelarut ditambahkan secara terus-menerus (Leba, 2017).

### 2.2.4 Sokletasi

Sokletasi adalah jenis ekstraksi padat-cair dengan alat soklet, pelarut dan sampel ditempatkan secara terpisah dan diekstraksi secara terus-menerus dengan pelarut yang relatif sedikit. Setelah proses ekstraksi selesai maka pelarut dapat diuapkan sehingga diperoleh ekstrak. Biasanya pelarut yang digunakan mudah menguap atau titik didihnya rendah (Leba, 2017).

Pemilihan metode ekstraksi sangat penting dilakukan karena tingkat keberhasilan metode tersebut dicerminkan dari hasil ekstraksi (Handayani dan Herfyna, 2016). Pada umumnya kelarutan zat aktif yang diekstrak akan bertambah besar dengan bertambah tingginya suhu. Akan tetapi, peningkatan suhu ekstraksi juga perlu diperhatikan, karena suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan kerusakan pada bahan yang sedang diproses (Margaretta dkk., 2011).

### **2.3 Antioksidan**

Antioksidan memiliki peran penting dalam tubuh manusia untuk mengurangi proses oksidasi dan efek berbahaya akibat radikal bebas (Cakmakci dkk., 2015). Antioksidan merupakan molekul yang mampu menghambat oksidasi pada molekul yang lain. antioksidan juga dapat diartikan sebagai substansi yang secara langsung merusak ROS (*Reactive Oxygen Species*) atau secara tidak langsung bertindak mengatur pertahanan antioksidan sehingga dapat dikatakan dapat menghambat produksi ROS (Gulcin, 2020).

Senyawa antioksidan telah menjadi kelompok bahan tambahan makanan yang sangat diperlukan dikarenakan sifatnya yang unik dapat memperpanjang umur simpan produk makanan tanpa efek buruk pada kualitas sensorik atau nutrisi pada pangan tersebut. Meskipun begitu, antioksidan yang digunakan dalam pangan harus murah, efektif, tidak beracun pada konsentrasi rendah, sangat stabil, mampu bertahan dalam pemrosesan, tidak memiliki bau, tidak berasa, tidak berwarna, mudah digabungkan, dan memiliki kelarutan yang baik dalam produk (Shahidi & Ambigaipalan, 2015).

Pengujian aktivitas antioksidan terdiri dari beberapa cara yang dapat dilakukan. Pengujian aktivitas antioksidan terbagi atas dua yaitu *Hydrogen Atom Transfer* (HAT) dan *Single Electron Transfer* (SET). Metode berbasis HAT mengukur kemampuan antioksidan untuk menghilangkan radikal bebas dengan donasi hidrogen. Contoh metode yang berdasarkan HAT yaitu *Oxygen Radical Absorbance Capacity Orac* (ORAC), *Total Radical Trapping Antioxidant Parameter* (TRAP), dan *Inhibition of Induced LDL Oxidation*. Metode berbasis SET mengukur kemampuan potensial antioksidan dengan cara mentransfer satu elektron untuk mengurangi senyawa lain, termasuk ion metal, karbonil, dan senyawa radikal. Contoh metode yang berbasis SET yaitu *Ferric Ion Reducing Antioxidant Power Assay* (FRAP), dan *1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl Radical Scavenging Assay* (DPPH) (Huang dkk., 2005). Untuk penentuan metode aktivitas antioksidan biasanya metode DPPH banyak digunakan karena lebih mudah dibandingkan metode lain.

Penggunaan reagen *1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) dalam menentukan aktivitas antioksidan merupakan salah satu uji untuk menentukan aktivitas antioksidan penangkal radikal. Metode DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil. DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 515-528 nm dengan warna violet gelap. Penangkap radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil (Gulcin, 2020).



## 2.4 Polifenol

Polifenol termasuk metabolit sekunder dari tanaman. Polifenol memiliki jenis senyawa yang sangat beragam serta merupakan senyawa bioaktif yang memiliki banyak manfaat bagi kesehatan manusia dan tidak toksik (Rasouli dkk., 2017). Polifenol merupakan senyawa fenolik, yaitu senyawa yang memiliki satu atau lebih cincin fenol (gugus hidroksi yang terikat pada cincin aromatik) sehingga mudah teroksidasi dengan menyumbangkan atom hidrogen pada radikal bebas. Senyawa fenolik alam sering berupa polifenol yang membentuk senyawa eter, ester, atau glikosida, contohnya flavonoid, tanin, tokoferol, kumarin, lignin, turunan asam sinamat dan asam organik polifungsional (Dhurhania dan Novianto, 2018). Kopi sebagai sumber utama kafein mengandung banyak komponen senyawa kimia lainnya yaitu golongan karbohidrat, lipid, senyawa nitrogen, vitamin, mineral, alkaloid dan senyawa fenolik (Valduga dkk., 2018).

Kandungan polifenol dalam ekstrak sangat dipengaruhi oleh teknik atau metode ekstraksi (Rasouli dkk., 2017). Senyawa polifenol merupakan senyawa organik yang memiliki sifat semipolar dimana memiliki tingkat kelarutan yang baik dalam pelarut semipolar seperti etanol, metanol, asetonitril, aseton, dan n-butanol (Marcelinda dkk., 2016; Tsao, 2010). Senyawa polifenol umumnya dalam bentuk glikosida sebagaimana hasil penelitian Al-Youssef (2017) menyatakan bahwa hasil skrining fitokimia dalam kulit kopi yang diekstraksi dengan etanol mengandung senyawa alkaloid, glikosida/karbohidrat, flavonoid, saponin, triterenes/sterol, tannin, and senyawa volatil.

Secara umum senyawa polifenol dikelompokkan dalam 2 kelompok besar yaitu flavonoid dan nonflavonoid atau asam fenolat (Tsao, 2010). Senyawa polifenol dalam kulit kopi ada 4 golongan besar yaitu *flavan-3-ols*, asam hidrosinamat, flavonol dan antosianin. Pengupasan kulit kopi yang masih merah menggunakan proses basah menghasilkan *sianidin-3-rutinosida*, *sianidin-3-glukosida*, dan aglikonnya sebagai antosianin utama (Esquivel & Jiménez, 2012). Senyawa polifenol berfungsi sebagai antioksidan melalui mekanisme antioksidan primer, yaitu memutus rantai proses oksidasi (Santoso, 2016).

## 2.5 Spektrofotometri UV-Vis



Gambar 2 Instrumen Spektrofotometri

Spektrofotometer UV-Vis merupakan salah satu instrumen yang dapat digunakan untuk menentukan kandungan senyawa secara kuantitatif dalam suatu sampel yang diukur pada daerah ultraviolet-sinar tampak dengan panjang gelombang 200-700 nm. Hasil pengukuran dari instrumen ini berupa serapan (absorbansi) dari beberapa konsentrasi larutan standar atau sampel (Wahyuni dan Marpaung, 2020). Sinar ultraviolet (UV) jauh memiliki rentang panjang gelombang  $\pm 10 - 200$  nm, sedangkan sinar ultraviolet dekat memiliki rentang

panjang gelombang  $\pm$  200-400 nm. Sinar pada panjang gelombang UV hanya bisa dilihat oleh beberapa hewan, contohnya burung, reptil dan serangga seperti lebah sedangkan manusia tidak bias melihat sinar UV (Suhartati, 2017).

Spektrofotometri UV adalah pengukuran suatu interaksi antara radiasi elektromagnetik dan molekul atau atom dari suatu zat kimia pada panjang gelombang ( $\lambda$ ) 190-380 nm . Spektrofotometri UV-Vis dapat digunakan untuk penentuan terhadap sampel yang pada umumnya diubah menjadi suatu larutan yang jernih. Untuk sampel yang berupa larutan, perlu diperhatikan beberapa syarat pelarut yang digunakan, yaitu:

1. Melarutkan sampel dengan sempurna.
2. Pelarut yang dipakai tidak mengandung ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur molekulnya serta tidak berwarna (tidak boleh mengabsorpsi sinar yang dipakai oleh sampel).
3. Tidak berinteraksi dengan molekul senyawa yang dianalisis.
4. Kemurniannya harus tinggi (Suhartati, 2017).

Prinsip kerja spektrofotometri UV-Vis yaitu apabila cahaya monokromatik melalui media (larutan), maka sebagian cahaya tersebut diserap, sebagian dipantulkan, dan sebagiannya lagi dipancarkan. Pada pengukuran kuantitatif dilakukan dengan perbandingan kurva kalibrasi dari hubungan konsentrasi deret larutan standar berdasarkan nilai absorbansi yang dihasilkan (Yanlinastuti dan Fatimah, 2016).

Kesalahan dalam pengukuran menggunakan spektrofotometer dapat ditimbulkan oleh beberapa hal, antara lain: adanya bekas jari yang menempel pada

dinding kuvet, adanya gelembung gas atau partikel yang tidak larut yang berada dalam jalan optis, stabilitas sampel serta konsentrasi analit. Untuk meminimalkan kesalahan tersebut salah satunya dengan cara mengendalikan konsentrasi analit sehingga didapatkan nilai serapan antara 0,2-0,8. Persentase kesalahan analisis yang dihasilkan pada pembacaan serapan 0,2-0,8 yang masih dapat diterima yaitu sebesar 0,5-1%.

## 2.6 Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

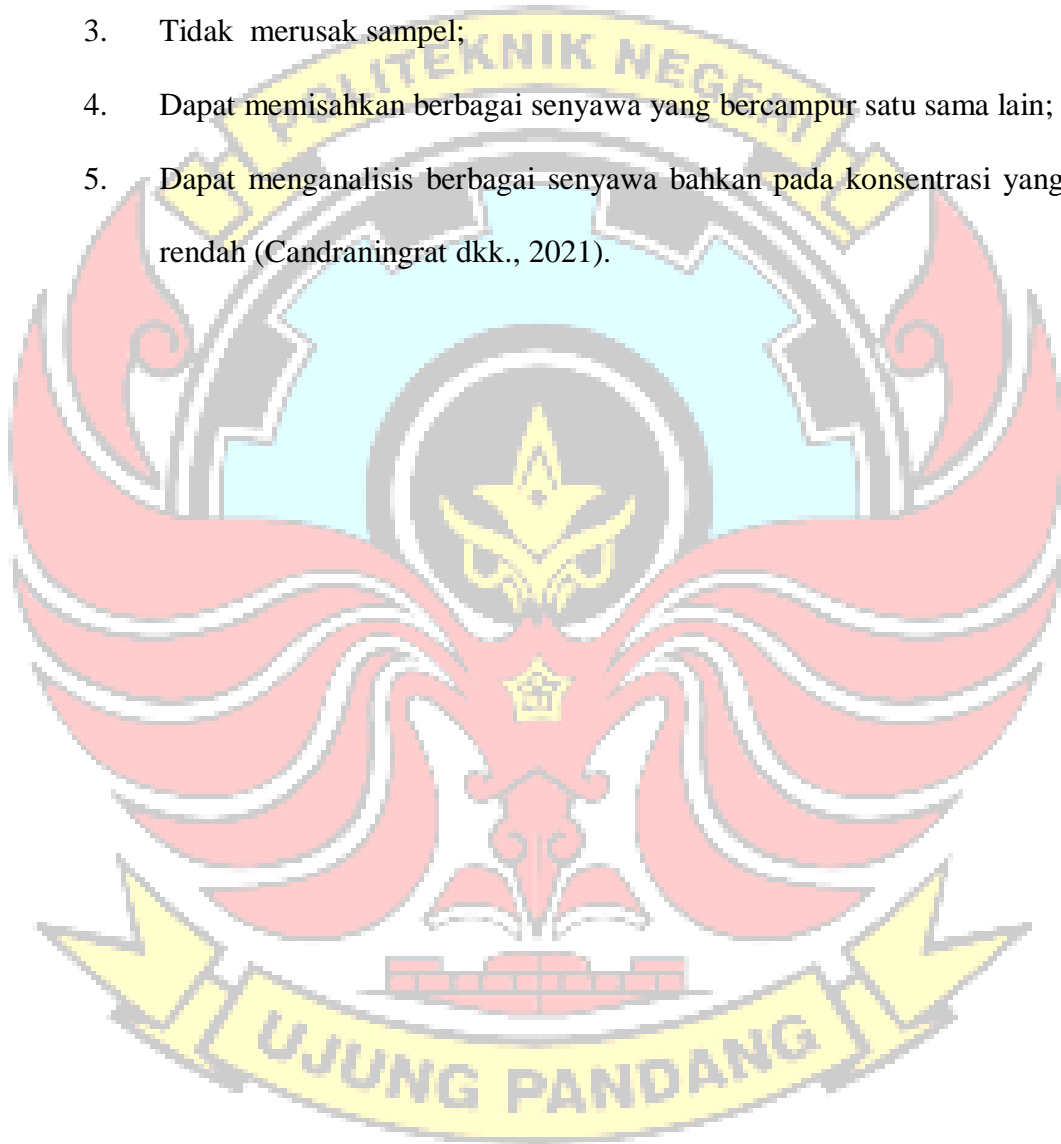


Gambar 3 Instrumen GC-MS

Kromatografi gas-spektrometri massa atau dikenal dengan GC-MS merupakan gabungan dari instrumen *Gas Chromatography* dengan prinsip dasar pemisahan sampel (solut – solut) yang mudah menguap dan dipadukan dengan analisis/detektor berupa *Mass Spectrometry* dengan prinsip mengidentifikasi senyawa sebagai penentu bobot molekul dan penentuan rumus molekul (Wijayanta dkk., 2022). Oleh karena itu, paduan keduanya menghasilkan data yang lebih akurat untuk mengidentifikasi senyawa yang dilengkapi dengan struktur molekulnya.

Metode GC-MS memiliki beberapa keunggulan, antara lain :

1. Efisien;
2. Resolusi tinggi sehingga dapat digunakan untuk menganalisis partikel yang sangat kecil;
3. Tidak merusak sampel;
4. Dapat memisahkan berbagai senyawa yang bercampur satu sama lain;
5. Dapat menganalisis berbagai senyawa bahkan pada konsentrasi yang rendah (Candraningrat dkk., 2021).



## BAB III METODE PENELITIAN

### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Ujung Pandang. Waktu pelaksanaannya selama 4 bulan yang dimulai pada bulan April sampai Agustus tahun 2022.

### 3.2 Alat dan Bahan

#### 3.2.1 Alat

- Sonikator
- Spektrofotometer UV/Vis
- Kuvet
- Erlenmeyer
- Rotavapor
- Gelas kimia
- Botol sampel
- Pipet mikro
- Labu takar
- Sieving
- Pipet ukur
- Corong
- Neraca
- Crusher
- Gunting

- Batang pengaduk
- Spatula
- *Gas Chromatography and Mass Spectroscopy (GC-MS)*.
- Labu semprot
- Bola hisap

### 3.2.2 Bahan

- Asam galat
- *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)*.
- Metanol
- Kulit ari kopi
- Kertas timbang
- Reagen Folin Ciocalteu
- $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5%
- Aquadest
- Kertas saring
- Aluminium foil

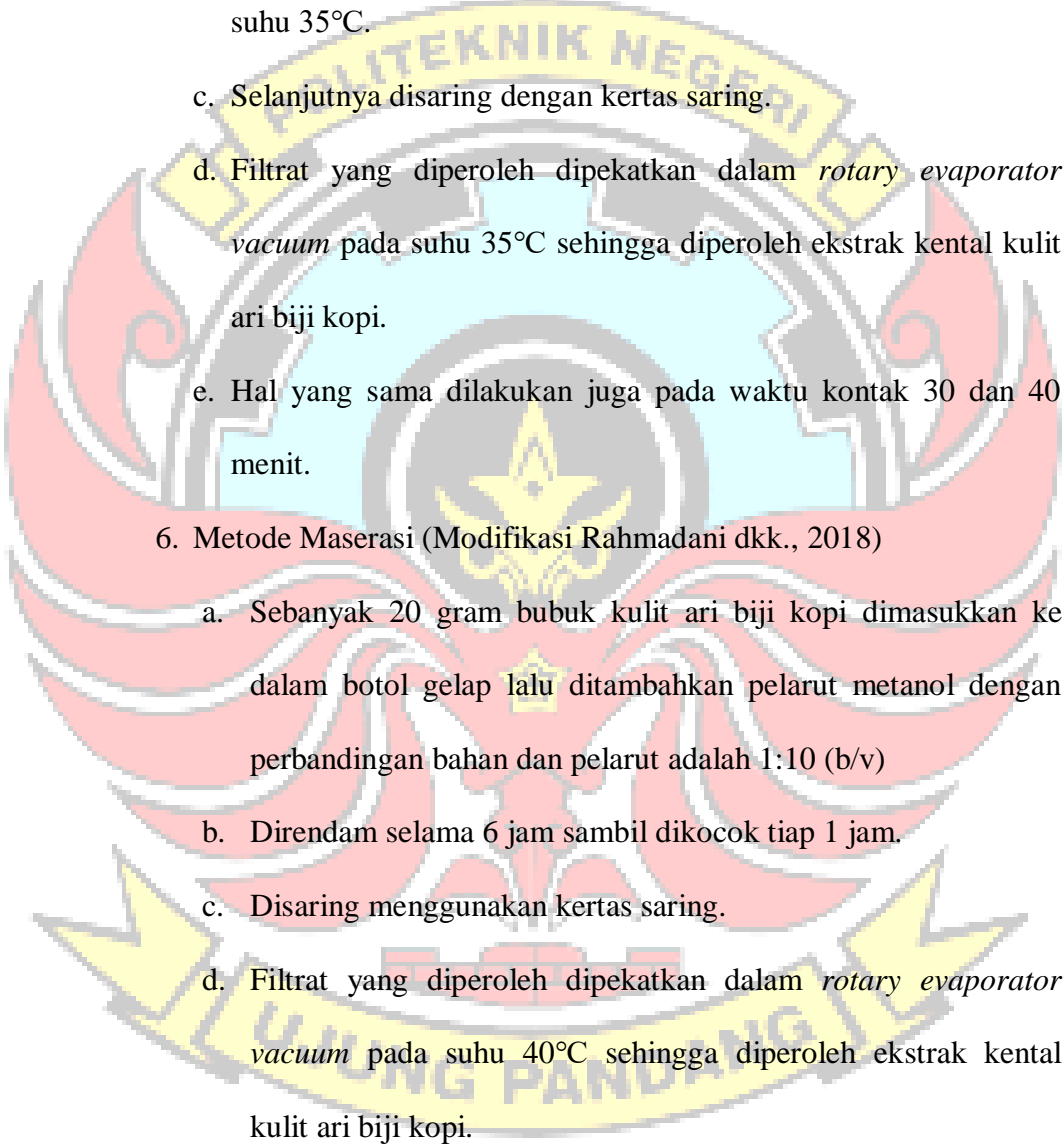
## 3.3 Prosedur Kerja

### 3.3.1 Preparasi Sampel

- a. Kulit ari biji kopi dikeringkan dengan bantuan sinar matahari.
- b. Kulit ari biji kopi yang sudah kering ditepungkan dengan *crusher* dan diayak pada ukuran 62,5  $\mu\text{m}$ .

### 3.3.2 Proses Ekstraksi

1. Metode Sonikasi (Modifikasi Widarta dan Arnata, 2017)

- 
- a. Sebanyak 20 gram bubuk kulit ari biji kopi ditambahkan pelarut metanol dengan perbandingan bahan dan pelarut adalah 1:10 (b/v).
  - b. Dimasukkan ke dalam *ultrasonic bath* selama 10 menit pada suhu 35°C.
  - c. Selanjutnya disaring dengan kertas saring.
  - d. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dalam *rotary evaporator vacuum* pada suhu 35°C sehingga diperoleh ekstrak kental kulit ari biji kopi.
  - e. Hal yang sama dilakukan juga pada waktu kontak 30 dan 40 menit.

6. Metode Maserasi (Modifikasi Rahmadani dkk., 2018)

- a. Sebanyak 20 gram bubuk kulit ari biji kopi dimasukkan ke dalam botol gelap lalu ditambahkan pelarut metanol dengan perbandingan bahan dan pelarut adalah 1:10 (b/v)
- b. Direndam selama 6 jam sambil dikocok tiap 1 jam.
- c. Disaring menggunakan kertas saring.
- d. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dalam *rotary evaporator vacuum* pada suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak kental kulit ari biji kopi.
- e. Hal yang sama dilakukan untuk waktu perendaman 20 jam dan dikocok tiap 1 jam pada 6 jam awal.



### 3.3.3 Pembuatan Larutan Standar Asam Galat dan Kurva Standar

- a. Larutan induk asam galat dibuat dalam 0,1 g/100mL.
- b. Asam galat ditimbang sebanyak 0,1 g, dilarutkan dengan aquadest ke dalam labu takar 100 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 1000 mg/L.
- c. Larutan induk dipipet sebanyak 0,5 mL ke dalam labu takar 50 mL dan ditambahkan aquadest sampai volume totalnya 50 mL.
- d. Dipipet masing-masing larutan sebanyak 1 mL kemudian ditambah 1 mL Reagen Folin Ciocalteu 10% dan dikocok. Didiamkan selama 8 menit, lalu ditambah 8 mL larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5%.
- e. Larutan didiamkan selama 2 jam pada suhu kamar. Serapannya diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 645 nm, lalu dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi asam galat (mg/L) dengan absorban.
- f. Prosedur c – e juga dilakukan untuk volume larutan induk yang dipipet sebanyak 1,5 ; 2,5 ; 3,5 dan 4,5 ml.

### 3.3.4 Penentuan Kadar Polifenol dengan Spektrofotometer (UV-Vis)

- a. Ekstrak kental (filtrat) dipipet sebanyak 0,2 mL ke dalam gelas kimia 100 mL dan diencerkan dengan 9,8 mL aquadest. Sampel yang telah diencerkan dipipet sebanyak 1 mL ke dalam botol vial lalu ditambahkan dengan 1 mL Reagen Folin Ciocalteu 10% dan

dikocok. Didiamkan selama 8 menit, lalu ditambah 8 mL larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5% dan dihomogenkan.

- b. Larutan didiamkan selama 2 jam pada suhu kamar. Serapannya diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 645 nm.
- c. Kemudian kadar polifenol ditentukan dengan metode kurva standar.

#### 3.3.5 Analisa Aktivitas Antioksidan ( $\text{IC}_{50}$ ).

- a. Sampel ditimbang sebanyak 0,1 g ke dalam labu ukur 100 mL menggunakan timbangan analitik.
- b. Sampel ditambahkan dengan metanol dan ditandabatkan lalu dihomogenkan sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm sebagai larutan stok.
- c. Larutan di dalam labu ukur 100 mL diencerkan pada labu ukur 10 mL dengan konsentrasi masing-masing 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm pada sampel maserasi. Sedangkan untuk sampel sonikasi konsentrasi 50 ppm, 70 ppm, 90 ppm, 110 ppm dan 130 ppm.
- d. Larutan DPPH 50 ppm dibuat dengan menimbang 5 mg padatan DPPH kemudian dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 100 mL.
- e. Penentuan aktivitas antioksidan masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 0,5 mL larutan sampel dengan pipet mikro.

- f. Sampel kemudian ditambahkan 3,5 mL larutan DPPH 50 ppm.
- g. Campuran dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit di tempat gelap.
- h. Pengukuran serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm.
- i. Pengukuran serapan dilakukan pula pada DPPH 50 ppm sebagai blanko.
- j. Aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam satuan persen hambatan dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{\text{ABS Blanko} - \text{ABS Sampel}}{\text{ABS Blanko}} \times 100\%$$

### 3.3.6 Analisa Kandungan Senyawa (GC-MS)

- a. Ekstrak ditimbang sebanyak 0,1 gram ke dalam 1 ml metanol dan dihomogenkan lalu disaring untuk memisahkan dari komponen yang tidak terlarut.
- b. Ditambahkan 75  $\mu\text{L}$  BSTFA dan 200  $\mu\text{L}$  *pyridine*
- c. Disonikasi pada suhu 50°C selama 20 menit. Sampel kemudian dimasukkan ke botol sampel dan diinjeksikan ke dalam GC-MS.

Instrumen yang digunakan adalah GCMS-OP 2010 Ultra Shimadzu Autosampler AOC-20i dengan gas pembawa helium. Suhu injektor 250°C dengan mode splitless, tekanan 76,9 kPa dan laju alir 14 mL/min dan rasio 1:10. Suhu sumber ion dan interface 200°C dan 280°C, waktu solvent cut 3 menit, 400-700 m/z. Jenis kolom SH-Rxi-

5Sil MS dengan panjang kolom 30 m dan diameter dalam 0,25 mm.  
Suhu awal kolom 110°C dengan waktu tahan 2 menit dan suhu dinaikkan hingga 200°C dengan laju 10°C/min dan suhu akhir 280°C dengan waktu tahan 9 menit dengan laju 5°C/min.

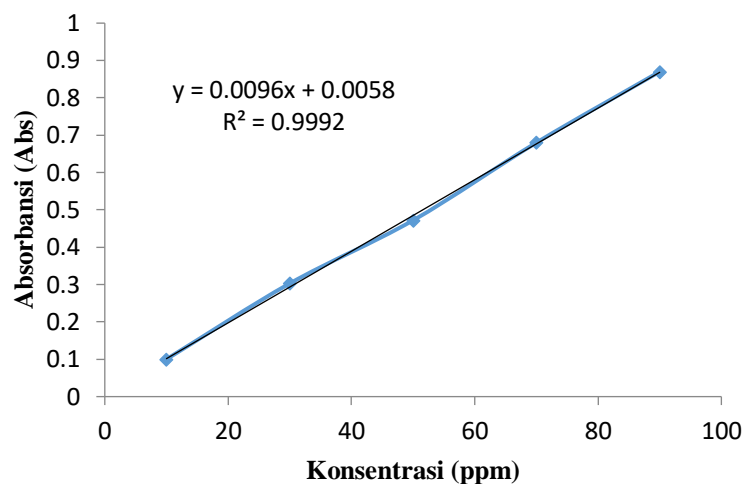


## BAB IV PEMBAHASAN

### 4.1 Analisa Kadar Polifenol

Polifenol merupakan senyawa bioaktif yang memiliki banyak manfaat bagi kesehatan manusia dan tidak toksik (Rasouli *dkk.*, 2017). Polifenol dari kulit ari biji kopi diperoleh melalui proses ekstraksi sonikasi dengan variasi waktu 10, 30 dan 40 menit juga melalui proses ekstraksi maserasi dengan variasi waktu 6 dan 20 jam. Penentuan kadar total fenolik pada ekstrak metanol kulit ari biji kopi menggunakan metode Folin Ciocalteu. Ekstrak direaksikan reagen Folin Ciocalteu karena reagen tersebut dapat bereaksi dengan senyawa fenolik dalam suasana basa membentuk larutan yang dapat diukur absorbansinya (Tahir *dkk.*, 2017). Oleh karena itu, ditambahkan lagi larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  sebagai pemberi suasana basa.

Penentuan kadar total fenolik pada penelitian ini digunakan asam galat sebagai larutan standar. Hal tersebut dikarenakan asam galat merupakan senyawa fenolik yang stabil (Syarif *dkk.*, 2016). Asam galat digunakan sebagai larutan standar dengan konsentrasi 10, 30, 50, 70 dan 90 ppm kemudian direaksikan dengan Folin Ciocalteu dan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Larutan standar dan ekstrak metanol kulit ari biji kopi diukur absorbannya menggunakan spektrofotometer UV/Vis pada panjang gelombang 645 nm.



Gambar 4 Kurva Standar Asam Galat

Kurva standar asam galat menghasilkan persamaan linear  $y = 0,0096x + 0,0058$  dengan  $R^2 = 0,9992$ . Absorbansi dari ekstrak metanol kulit ari biji kopi kemudian dimasukkan ke dalam persamaan tersebut dan diperoleh konsentrasi masing-masing ekstrak yang akan digunakan pada perhitungan kadar total polifenol. Hasil analisis kadar polifenol dari kulit ari biji kopi untuk setiap waktu ekstraksi dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1 Hasil analisis kadar polifenol dari kulit ari biji kopi untuk setiap waktu ekstraksi

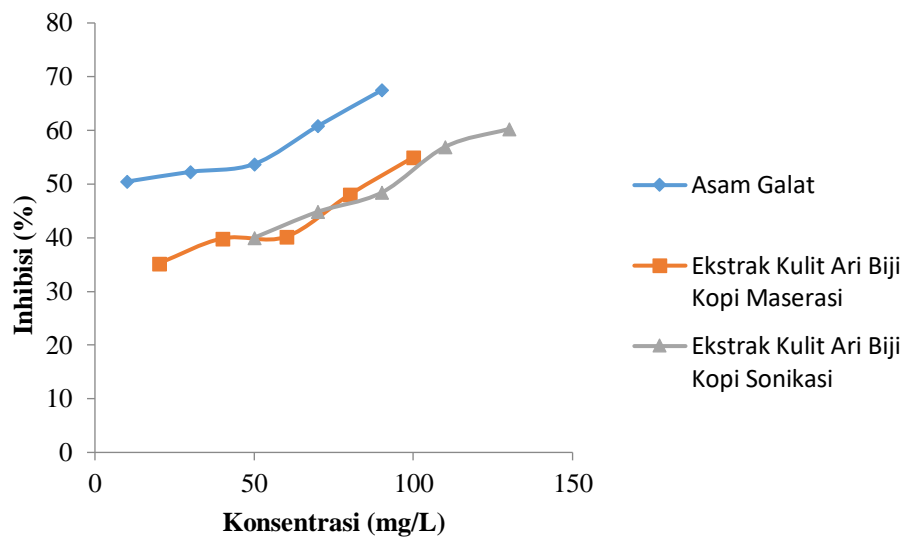
Ekstraksi	Waktu Ekstraksi	Konsentrasi (mg/L)	Kadar Polifenol	
			%	mg GAE/g
Sonikasi	10 menit	29,19	1,46	14,6
	30 menit	39,60	1,98	19,8
	40 menit	26,48	1,32	13,2
Maserasi	6 jam	29,34	1,47	14,7
	20 jam	42,47	2,12	21,2

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kadar polifenol kulit ari biji kopi yang terbanyak pada perlakuan 20 jam maserasi yaitu 21,2 mg GAE/g dan sonikasi 30 menit yaitu 19,8 mg GAE/g. Sedangkan yang paling sedikit diperoleh dari perlakuan 6 jam maserasi yaitu 14,7 mg GAE/g dan sonikasi 10 menit yaitu 14,6 mg GAE/g. Ekstraksi maserasi dilakukan pada suhu ruang 30°C sedangkan sonikasi dilakukan pada suhu 35°C. Pada ekstraksi sonikasi, kadar polifenol meningkat sampai di menit ke 30 lalu mengalami penurunan di menit ke 40. Hal ini menunjukkan bahwa polifenol mengalami penguraian pada waktu yang terlalu lama. Peningkatan suhu dan waktu ekstraksi perlu diperhatikan, karena suhu yang tinggi mengakibatkan kerusakan bahan (Ibrahim dkk., 2015). Kemudian pada penelitian Sari (2012) tentang pengujian total fenol *Kappahycus alvarezzi* metode ekstraksi ultrasonik dengan variasi suhu dan waktu menuliskan bahwa pengekstrakan pada suhu tinggi dengan waktu yang cukup lama dapat merusak kandungan polifenol yang ada di dalamnya.

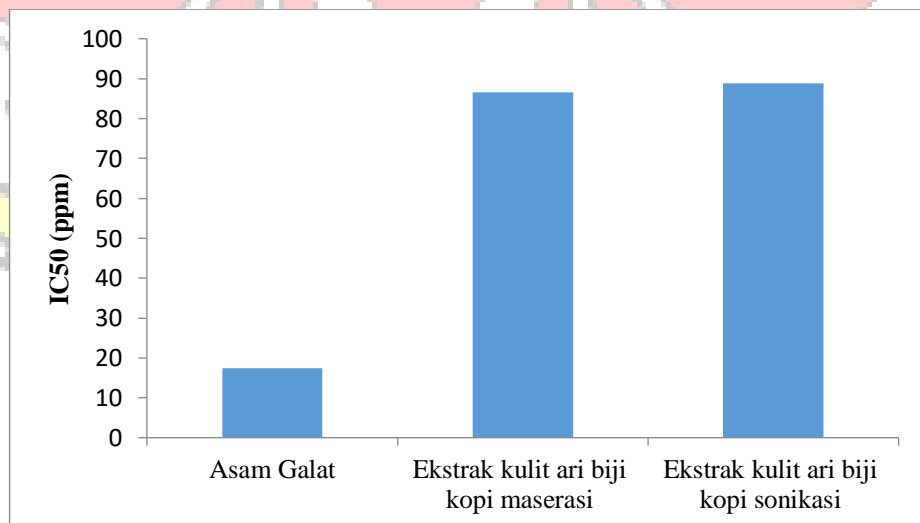
#### **4.2 Aktivitas Antioksidan**

Uji aktivitas antioksidan kulit ari biji kopi dilakukan pada hasil ekstraksi dengan metode maserasi 20 jam dan metode sonikasi 30 menit menggunakan metode DPPH. Prinsip kerja metode ini adalah adanya atom hidrogen dari senyawa antioksidan yang berikatan dengan elektron bebas pada radikal bebas pada senyawa radikal sehingga berubah menjadi senyawa nonradikal. Hal tersebut ditandai dengan perubahan warna dari ungu (violet) menjadi kuning (Setiawan dkk., 2018). Perubahan intensitas warna yang semakin pucat (ungu pudar - kuning - bening) juga diikuti dengan penurunan absorbansi DPPH

(Bayani, 2016). Perubahan warna serupa juga terjadi pada penelitian ini saat dilakukan reaksi antara ekstrak kulit ari biji kopi dan asam galat dengan radikal DPPH. Hal ini mengindikasikan bahwa dalam ekstrak kulit ari biji kopi dan asam galat terdapat senyawa fenolik sebagai antioksidan yang mampu mereduksi radikal DPPH.



Gambar 5 Kurva Hubungan Konsentrasi Sampel dengan inhibisi (%)



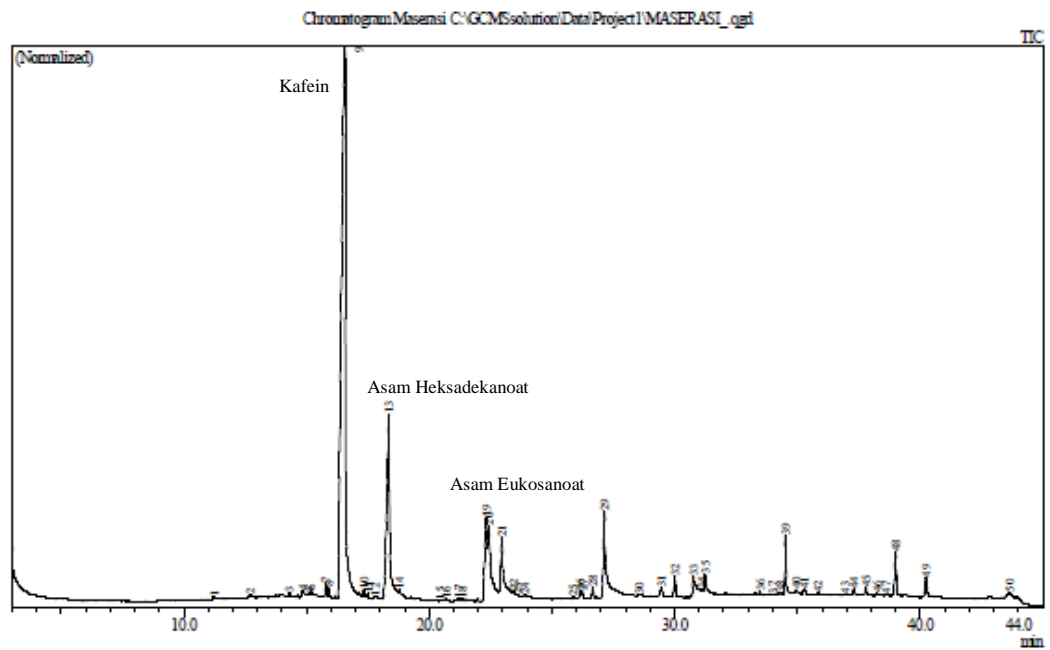
Gambar 6 Diagram Nilai IC<sub>50</sub> pada Tiap Sampel



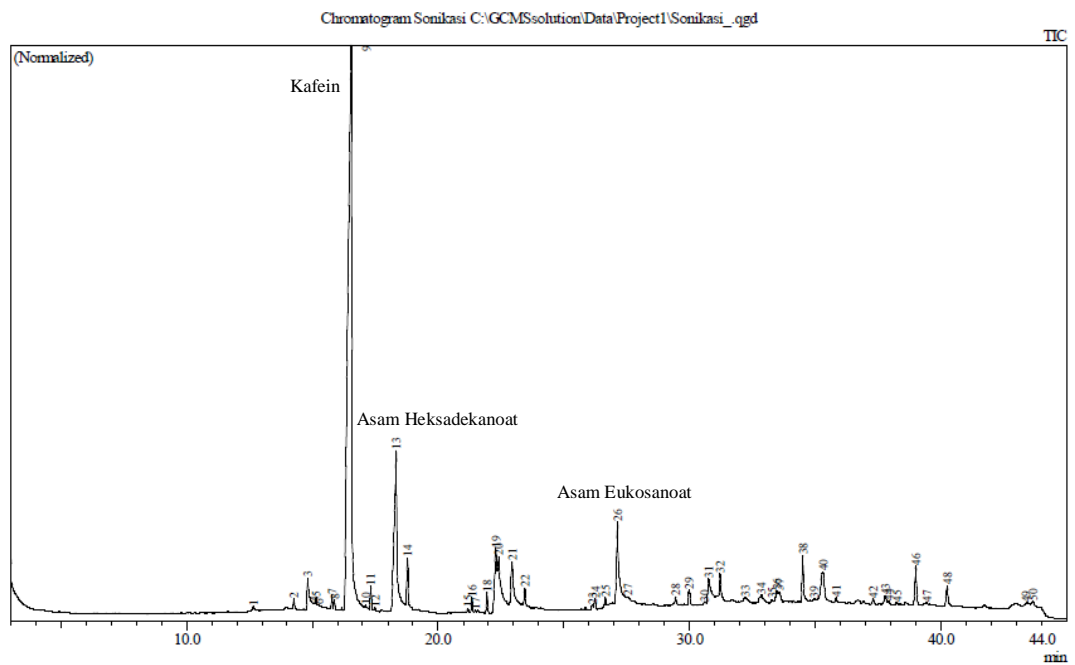
Nilai persen inhibisi yang telah dihitung dari setiap konsentrasi sampel digunakan untuk perhitungan  $IC_{50}$ . *Inhibitor Concentration* ( $IC_{50}$ ) merupakan nilai konsentrasi suatu bahan untuk menghambat aktivitas DPPH sebesar 50% (Widayani dkk., 2018). Suatu senyawa digolongkan ke dalam antioksidan sangat kuat jika nilai  $IC_{50}$  kurang dari 50 ppm, kuat jika  $IC_{50}$  bernilai 50-100 ppm, sedang jika  $IC_{50}$  bernilai 100-150 ppm dan lemah jika nilai  $IC_{50}$  151-200 ppm (Djaeni dkk., 2017). Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan ekstrak kulit ari biji kopi termasuk kedalam golongan antioksidan kuat dengan nilai  $IC_{50}$  pada maserasi 86,573 ppm dan pada sonikasi 88,878 ppm, sedangkan pada asam galat termasuk golongan antioksidan sangat kuat dengan  $IC_{50}$  17,371 ppm.

#### **4.3 Analisa GC-MS**

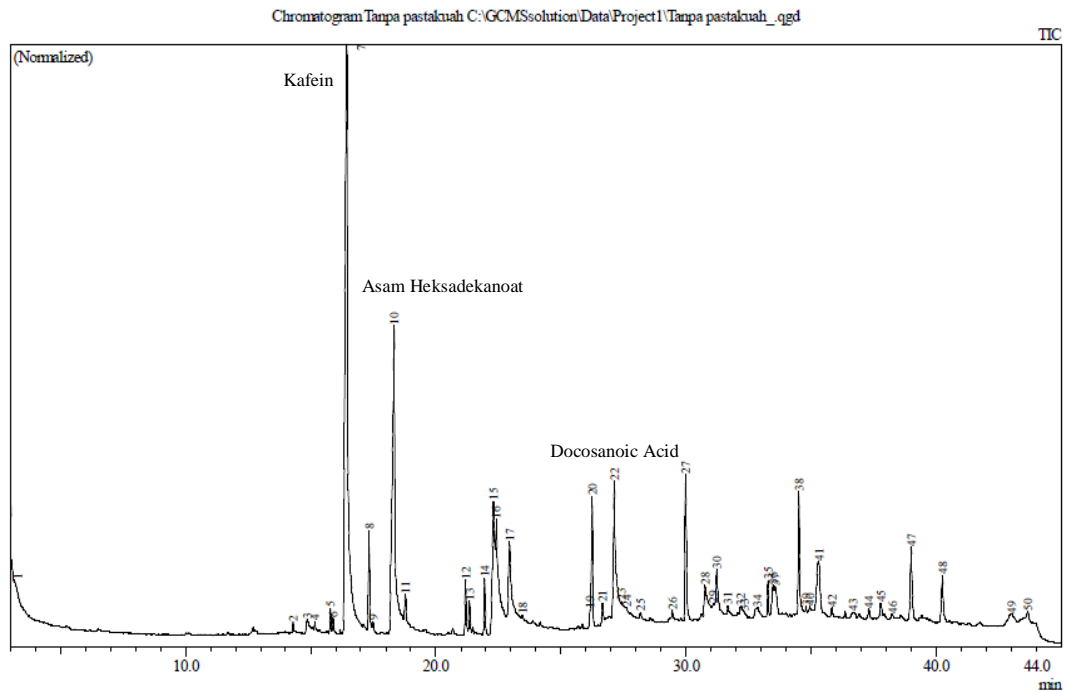
Ekstrak kulit ari biji kopi dengan perlakuan terbaik yaitu pada metode ekstraksi sonikasi 30 menit dan maserasi 20 jam diidentifikasi senyawa bioaktifnya dengan instrumen GC-MS. Masing-masing ekstrak ditimbang sebanyak 0,1 gram ke dalam 1 ml metanol dan dihomogenkan lalu disaring untuk memisahkan dari komponen yang tidak terlarut. Setelah itu ditambahkan 75  $\mu$ L BSTFA dan 200  $\mu$ L *pyridine*. BSTFA merupakan derivat yang mampu menderivatisasi banyak analit (Hanwar dkk., 2015). Piridin berfungsi sebagai katalis agar BSTFA dengan sampel cepat bereaksi. Selanjutnya disonikasi pada suhu 50°C selama 20 menit. Sampel kemudian dimasukkan ke botol sampel dan diinjeksikan ke dalam GC-MS.



Gambar 7 Kromatogram Ekstrak Kulit Ari Biji Kopi Maserasi



Gambar 8 Kromatogram Ekstrak Kulit Ari Biji Kopi Sonikasi.



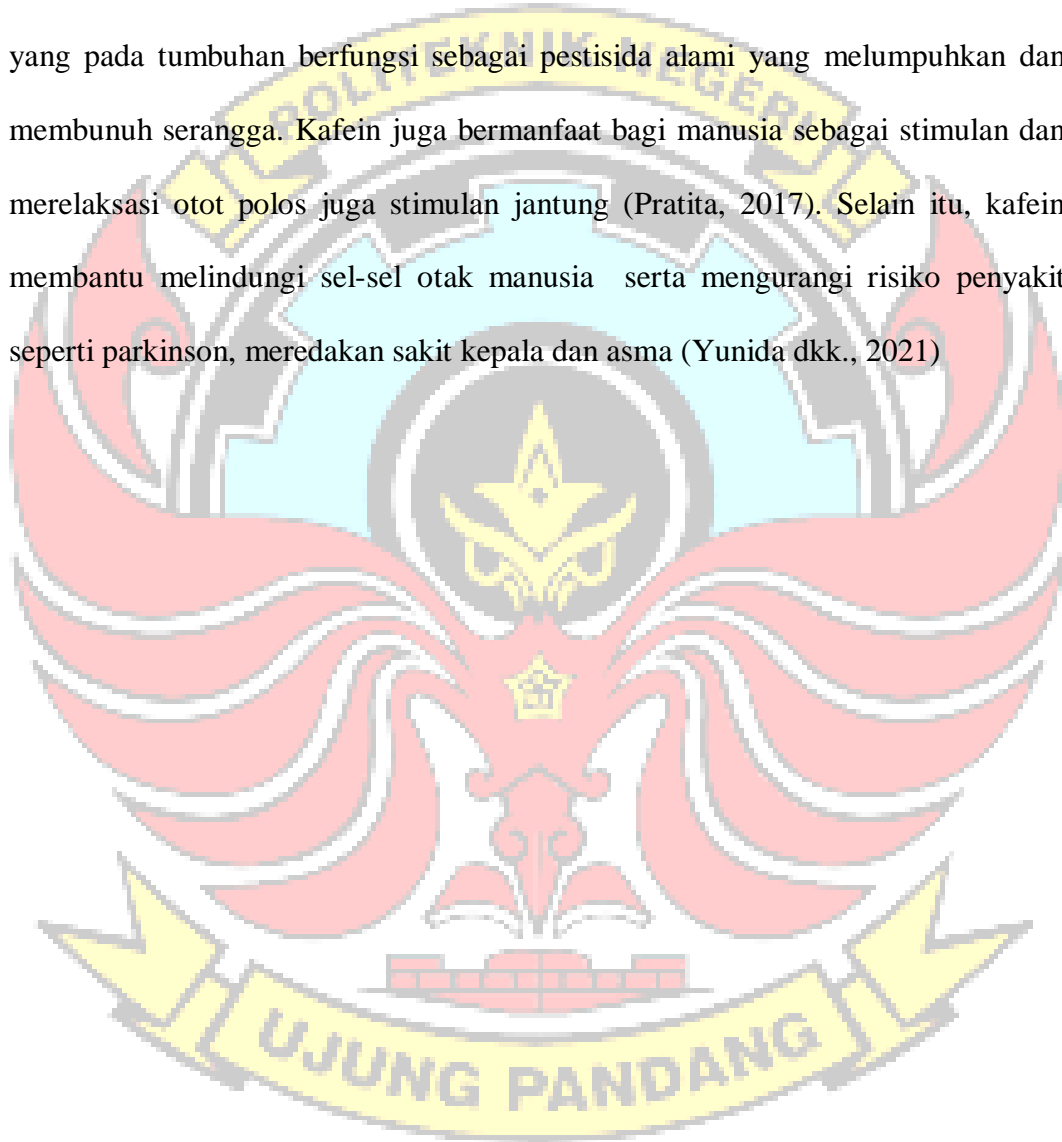
Gambar 9 Kromatogram Ekstrak Kulit Ari Biji Kopi Tanpa Perlakuan.



Tabel 2. Kandungan terbanyak pada tiap perlakuan sampel kulit ari biji kopi.

Senyawa Bioaktif	% Area			Manfaat	Golongan
	Maserasi	Sonikasi	Tanpa Perlakuan		
Kafein	50,84	49,69	27,28	Antioksidan (Chadjah dkk., 2020)	Alkaloid
Asam Oktadekanoat	14,71	13,32	19,8	Antikanker (Ambarwati dkk., 2020)	Asam Lemak
Asam Heksadekanoat	13,94	12,87	18,35	Antioksidan, hemolitik, hipokolestroslemlia, anti androgenik, antikanker (Ambarwati dkk., 2020)	Asam Lemak
Eucosanoic Acid	6,32	5,32	7,75	Antimikroba antioksidan (Zekeya <i>et al.</i> , 2022)	Asam Lemak
Cholesta-4,6-DIEN-3-OL, BENZOATE, (3,BETA)-	1,98	1,88	3,6	Antijamur (Kaur <i>et al.</i> , 2021)	Steroid
Squalene	1,78	-	2,78	Antioksidan dan anti-inflamasi (Sativa dkk., 2021)	Terpenoid
Asam Dokosanoat	1,62	2,5	5,61	Pelembut dan pelembab rambut (Sativa dkk., 2021)	Asam Lemak
Octadecanamide	0,97	3,3	19,18	Anti-alzheimer, hiperkolesterolemia, antihipertensi (Sari dkk., 2020)	Asam Lemak
Vitamin E	0,87	0,9	1,42	Antioksidan (Mubarak dkk., 2017), menjaga kelembapan kulit, anti-aging, melindungi dari sinar matahari, mencegah kanker kulit dan mempercepat proses penyembuhan luka (Basuki dan Devitasari, 2022)	Terpenoid
Asam Ftalat	0,72	-	-	antibakterial dan antifungal (Agustini, 2017)	Asam Lemak
Tetradecanoic Acid	0,31	1,57	0,78	Antibakteri (Waruwu dkk., 2019)	Asam Lemak
Stigmastan-3,5-diene	-	2,19	4,31	Sebagai metabolit sekunder, menghambat pertumbuhan sel kanker (Setianingsih dkk, 2017)	Steroid

Berdasarkan tabel 2 mengenai kandungan terbanyak pada tiap perlakuan sampel kulit ari biji kopi, 4 golongan terbesar senyawa bioaktif dengan beragam manfaat, diantaranya asam lemak, terpenoid, steroid dan alkaloid. Senyawa dengan nilai %area terbesar adalah kafein. Kafein merupakan senyawa alkaloid yang pada tumbuhan berfungsi sebagai pestisida alami yang melumpuhkan dan membunuh serangga. Kafein juga bermanfaat bagi manusia sebagai stimulan dan merelaksasi otot polos juga stimulan jantung (Pratita, 2017). Selain itu, kafein membantu melindungi sel-sel otak manusia serta mengurangi risiko penyakit seperti parkinson, meredakan sakit kepala dan asma (Yunida dkk., 2021)



## BAB V PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstraksi total polifenol pada kulit ari biji kopi dengan metode ekstraksi maserasi optimum pada waktu perendaman 20 jam dengan kadar polifenol yaitu 21,2 mg GAE/g sedangkan pada metode sonikasi optimum pada waktu 30 menit dengan kadar polifenol 19,8 mg GAE/g.
2. Aktivitas antioksidan pada kulit ari biji kopi tergolong kuat ditandai dengan nilai  $IC_{50}$  pada maserasi 86,573 ppm dan pada sonikasi 88,878 ppm. Sedangkan asam galat tergolong antioksidan sangat kuat dengan nilai  $IC_{50}$  17,571 ppm.
3. Kulit ari biji mengandung beberapa senyawa bioaktif yang memiliki manfaat yang baik. Contoh senyawanya adalah Kafein, Asam Oktadekanoat, Asam Heksadekanoat, *Eucosanoic Acid*, *Cholesta-4,6-dien-3-ol*, *benzoate*, *(3,Beta)-Squalene*, Asam Dokosanoat, *Octadecanamide*, Vitamin E, Asam Ftalat, *Tetradecanoic Acid* dan *Stigmastan-3,5-diene*.

### 5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, kulit ari biji kopi termasuk antioksidan kuat dan mengandung banyak senyawa asam lemak dengan beragam manfaat sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai pengembangan kulit ari biji kopi agar dapat dimanfaatkan kualitas terbaiknya menjadi produk olahan yang sesuai.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agustini, I.W.S., Kusmiati dan D. Handayani. 2017. Aktivitas Antibakteri dan Identifikasi Senyawa Kimia Asam Lemak dari Mikroalga *Lyngbya sp.* *Biopropal Industri*, 8(2), 99-107.
- Ambarwati, K., M. Jannah, dan A.R. Adawiyah. 2020. Kandungan Hexadecanoic Acid, Ethyl Ester pada *Nigella Sativa* untuk Prediksi Apoptosis pada Sel HeLa. *Jurnal Bidang Ilmu Kesehatan*, 10(1), 104-107.
- Al-Youssef, H. M. 2017. Pharmacognostic Studies on Coffee Arabical Husks: A Brilliant Source of Antioxidant Agents. *European Journal of Pharmacheutical and Medical Research*, 4 (1), 86–92.
- AOAC. (2005). *Association of Official Analytical Chemists 2005. Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists International Gaithersburg (MD).
- Basuki, S., dan R. Devitasari. 2022. Manfaat Vitamin E pada Kulit. *Jurnal Kulit dan Riset Kesehatan*, 1(2), 116-126.
- Bayani, Faizul. 2016. Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Buah Sentul (*Sandoricum koetjape* Merr.) *Jurnal Pengkajian Ilmu dan Pembelajaran Matematika dan IPA IKIP Mataram*, 4(2), 47-54.
- Badan Pusat Statistik. 2017. Statistik Kopi Indonesia (*Indonesian Coffee Statistic*) 2017. (S. D. T. Perkebunan, Ed.). Jakarta: Badan Pusat Statistik.
- Bonilla-Hermosa, V. A., Duarte, W. F., & Schwan, R. F. 2014. Utilization of coffee by-products obtained from semi-washed process for production of value-added compounds. *Bioresource Technology*, 166, 142-150.
- Cakmakci, S., Topdas, E. F., Kalin, P., Han, H., Sekerci, P., Kose, L. P., & Gulcin, I. 2015. Antioksidan Capacity and Functionality of Oleaster (*Eleaegnus Angustifolia*L.) Flour and Crust in a New Kind of Fruity Ice Cream. *International Journal of Food and Technology*, 50, 472-481.
- Chadajah, S., Musdalifah, M. Qaddafi dan Firnanely. 2021. Optimalisas Suhu dan Waktu Penyeduhan Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis* L.) P+3 terhadap Kandungan Antioksidan Kafein, Katekin dan Tanin. *Bencoolen Journal of Farmacy*, 1(1), 59-65.
- Chandraningrat, I.D.A.A.D, A.A.G.J. Santika, I.A.M.S. Dharmayanti, dan P.W. Prayascita. 2021. Review Kemampuan Metode GC-MS dalam Identifikasi

- Flunitrazepam Terkait dengan Aspek Forensik dan Klinik. *Jurnal Kimia*, 15(1), 12-19.
- Dhurhania, C.E. dan A, Novianto. 2018. Uji Kandungan Fenolik Total dan Pengaruhnya terhadap Aktivitas Antioksidan dar Berbagai Bentuk Sediaan Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*). *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 5 (2), 562-68.
- Direktorat Jendral Indonesia. 2021. *Luas Areal Kopi Menurut Provinsi di Indonesia*.
- Djaeni, M., N. Ariani, R. Hidayat, dan F.D. Utari. 2017. Ekstraksi Antosianin dari Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) Berbantu Ultrasonik: Tinjauan Aktivitas Antioksidan. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 6, 148-151.
- Esquivel, P. and Jimenez, V.M. 2012. Functional Properties Of Coffee and Coffee by Products. *Food Research International*, 46, 488-495.
- Gulcin, I. 2020. Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. *Archives of toxicology*, 94(4), 651-715.
- Handayani, H., dan F.H Sriherfyna. 2016. Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak Metode Ultrasonik Bath (Kajian Rasio Bahan : Pelarut dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Argoindustri*, 4(1), 262-272.
- Hanwar, D., A. Suhendi, I. Trisharyanti, B. Santoso, M. Safitri dan Haryoto. 2015. Analisis Profil Metabolit Sekunder Ekstrak Lempuyang Emprit dengan Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa. *University Research Colloquium*, 158-166.
- Heni, S.A., dan T.A. Zaharah. 2015. Efektifitas Antibakteri Ekstrak Kulit batang Belimbing Hutan (*Baccaurea angulata* Merr.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 4(1), 84-90.
- Huang, D., Ou, B., Prior, R. L., (2005). The Chemistry Behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841-1856.
- Ibrahim, A. M., Yunianta, dan F.H. Sriherfyna. 2015. Pengaruh Suhu dan Lama Waktu Ekstraksi Terhadap Sifat Kimia dan Fisik pada Pembuatan Minuman Sari Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) dengan Kombinasi Penambahan Madu sebagai Pemanis. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3(2), 530-541.
- Kaur, B., N. Kumar, S. Chawla, B. Sharma, S. Korpole, R. Sharma, M.K. Patel, K. Chorpa, O.P. Chaurasia, and S. Saxena. 2022. A Comparative Study of in-vitro and in-silico Anti-Candidal Activity and GC-MS Profiles or Snow



- Mountain Garlic vs. Normal Garlic. *Journal of Applied Microbiology*, 01-14.
- Leba, M. A. U. 2017. *Ekstraksi dan Real Kromatografi*. Yogyakarta: Deepublish.
- Lynch, J.M., dan Barbano, D.M. 1999. Kjeldhal Nitrogen Analysis as a Reference Method for Protein Determination in Dairy Products. *Journal of AOAC International*, 82(6), 1389-1398.
- Marcelinda, A., Ahmad R, dan Prismawiryanti. 2016. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Limbah Kulit Ari Biji Kopi (*Coffea sp*) Berdasarkan Tingkat Kepolaran Pelarut. *Jurnal of Science and Technology*, 5(1), 21-31.
- Margaretta, S., Handayani, S.D., Indraswati, N., dan Hindraso, H. 2011. Ekstraksi Senyawa Phenolics Pandanus Amaryllifolius Roxb. sebagai Antioksidan Alami. *Widya Teknik*, 10(1), 20-30.
- Mubarak, K., H. Natsir, A.W. Wahab dan P. Satrimafitrah. 2017. Analisis Kadar beta-Tokoferol (Vitamin E) dalam Daun Kelor (*Moringa oleifera lam*) dari Daerah Pesisir dan Pegunungan serta Potensinya sebagai Antioksidan. *Kovalen Jurnal Riset Kimia*, 3(1), 78-88.
- Nugraha, I. A. M. D. P., Prayascita P.W., Dwidhananta, I.M.S., Putra I.P.A.M., Cahyani N.K.N., dan P.O. Samirana.. 2020. Identifikasi Komponen Volatil Kulit Ari Biji Kopi (*Coffea Robusta*) Guna Optimalisasi Kebermanfaatannya. *Jurnal Farmasi Udayana*, 9(2), 100-109.
- Pandey, K. B., and Rizvi, S. I. 2009. Plant Polyphenols as Dietary Antioxidants in Human Health and Disease. *Oxidative medicine and celluler longevity*, 2(5), 270-278.
- Pratita, A.T.K. 2017. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Senyawa Alkaloid dari berbagai Ekstrak Kopi Ro busta (*Coffea canephora*). *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*, 17(2), 198-201.
- Rahadjo, Pudji. 2012. *Kopi: Panduan Budidaya dan Pengolahan Kopi Arabika dan Robusta*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Rahardjo, Pudji. 2017. *Berkebun Kopi*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Rahmadani, S., S. Sa'diah, dan S. Wardatun. 2018. Optimasi Ekstraksi Jahe Merah (*Zingiber officinale Roscoe*) dengan Metode Maserasi. *Jurnal Online Mahasiswa Bidang Farmasi*, 1(1).
- Rahmadhani, R., Putra, G.P.G., dan Suhendra, L. 2020. Karakteristik Ekstrak Kulit Kakao (*Theobroma cacao L.*) sebagai Sumber Antioksidan pada Perlakuan Ukuran Partikel dan Waktu Maserasi. *Jurnal Rekamaya dan Manajemen Agroindustri*, 8(2), 246-256.

- Rasouli, H., M. H., Farzaei, & Khodarahmi, R. 2017. Polyphenols and Their benefits : A review. *International Journal of Food Properties*, 20 (2), 1700–1741.
- Rosiana, N., Nurmalina, R., Winandi, R., dan Rifin, A. 2018. Dynamics of Indonesian Coffee Competition Among Competitor Countries. *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar*. 5(1), 1-10.
- Santoso, Umar. 2016. *Antioksidan Pangan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Sari, I.D., P.H. Riyadi dan Ramadhon. 2020. Pengaruh Suhu Evaporasi yang Berbeda Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak *Spirulina platensis*. *Prosiding Seminar Nasional Kelautan dan Perikanan Ke-VII*, 47-60.
- Sativa, N., Novianti, R.A. Pratiwi dan S. Hindun. 2021. Formulasi dan Uji Aktivitas Tonik Rambut Ekstrak Etanol Daun Bidara (*Ziziphus nummularia*) pada Kelinci. *Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat*, 32(1), 40-51.
- Shahidi, F. dan P. Ambigaipalan. 2015. Phenolics and Polyphenolics in Foods, beverages and Spices: Antioxidant Activity and Health effects – A review. *Journal of Functional Foods*, 18, 820-897.
- Setianingsih, S., R. Kartika, dan P. Simanjuntak. 2017. Isolasi Senyawa Kimia Stigmastan-3,5-dien yang Mempunyai Daya Toksik dari Daun Ekaliptus (*Eucalyptus deglupta* Blume). *Jurnal Kimia Mulawarman*, 15(1), 1-4.
- Setiawan, F., O. Yunita, dan A. Kurniawan. 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*) Menggunakan Metode DPPH, ABTS, dan FRAP. *Media Pharmaceutica Indonesia*, 2(2), 82-89.
- Suhartati, T. (2017). *Dasar-Dasar Spektrofotometri UV-Vis dan Spektrometri Massa untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Bandar Lampung: AURA.
- Suryanto, E. dan M. R. I. Taroreh. 2019. Ultrasound-Assisted Extraction Antioksidan Serat Pangan Dari Tongkol Jagung (*Zea mays* L.). *Chem. Prog*, 12(2), 104-110.
- Syarif, R.A., F. Sari, dan A.R. Ahmad. 2016. Rimpang Kecombrang (*Etilingera elator* Jack) sebagai Sumber Fenolik. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(2), 104-105.
- Tahir, M., A. Muflihunna, dan Syafrianti. 2017. Penentuan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Nilam (*Pogostemon cablin* Benth) dengan Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4(1), 215-218.

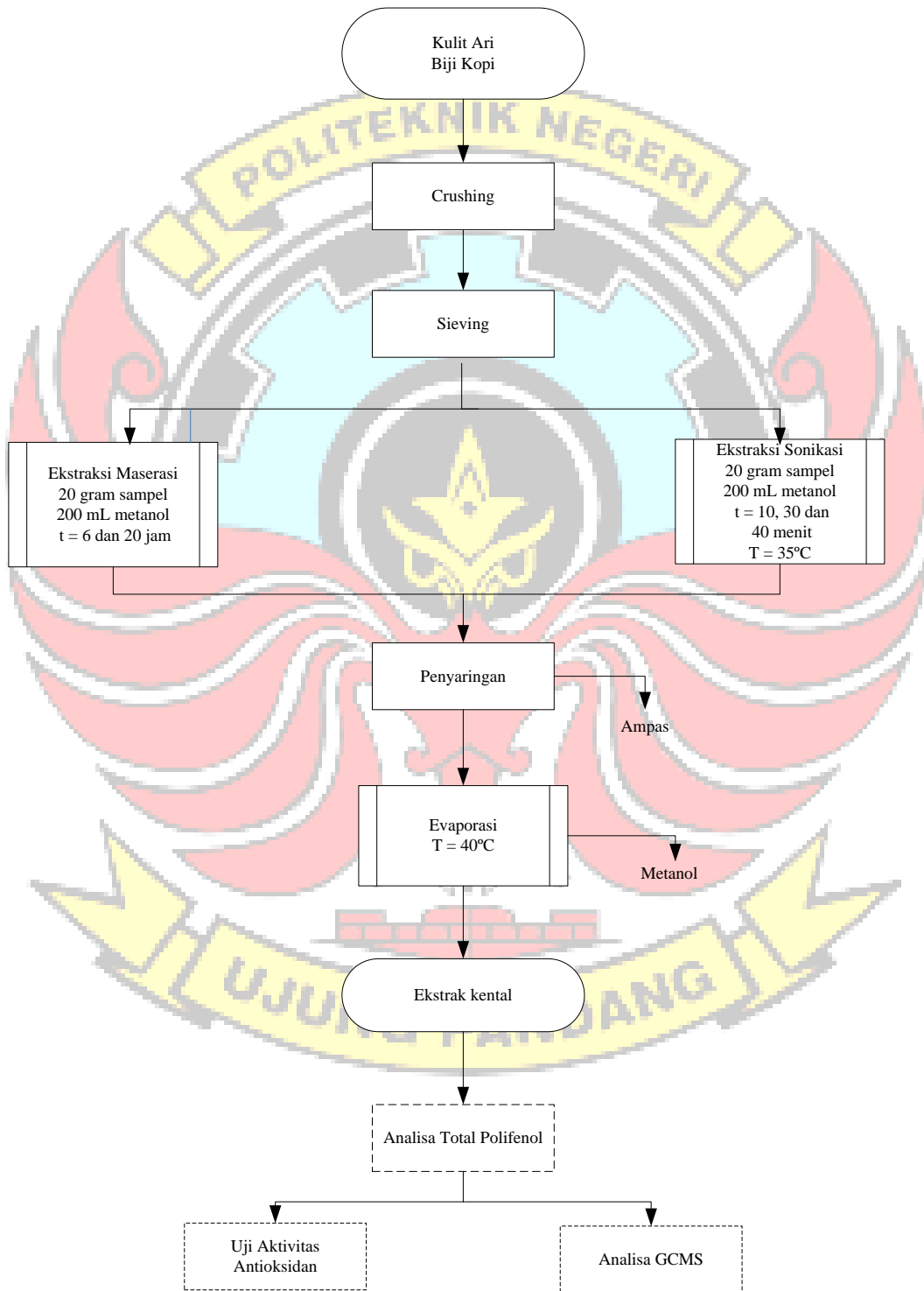
- Triawan, D. A., C. Banon, & M. Adfa. 2020. Biokonversi Kulit kopi Menjadi Pupuk Kompos pada Kelompok Tani Pangestu Rakyat Kabupaten Rejang Lebong. *Jurnal Pengabdian Al-ikhlas*. 5(2), 159-166.
- Tsao, R. 2010. Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenol. *Nutrients*, 2(12), 1231–1246.
- Valduga, A. T., Gonçalves, I. L., Magri, E., & Finzer, J. R. D. 2018. Chemistry , pharmacology and new trends in traditional functional and medicinal beverages. *Food Research International*, 120, 478-503.
- Wahyuni, S., dan P.M. Mauritz 2020. Penentuan Kadar Alkaloid Total Ekstrak Akar Kuning (*Fibraurea Chloroleuca Miers*) berdasarkan Perbedaan Konsentrasi Etanol dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Pendidikan Kimia dan ilmu Kimia*, 3(2), 52-61.
- Waruwu, B., S. Wardatun dan F.D. Sulistiyono. 2019. Identifikasi Metabolit Sekunder dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Buah Mangga Kasturi (*Mangifera casturi Kosterm*) terhadap *Streptococcus mutans*. Tesis. Bogor: Universitas Pakuan.
- Widarta, I.W.R., dan I.W. Arnata. 2017. Ekstraksi Komponen Bioaktif Daun Alpukat dengan Bantuan Ultrasonik Berbagai Jenis dan Konsentrasi Pelarut. *Jurnal AGRITECH*, 37(2):148-157.
- Widayani, A., E. Cahyono dan H. Harjono. 2018. Isolasi dan Uji Antioksidan Minyak Atsiri Daun Sirih Merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav.*) pada Minyak Goreng Curah. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 7, 214-220.
- Wijayanta, S., I. Catrawedarma, and A.Z. Hudaya. 2022. Statistical Characterzation of The Interfacial Behavior of The Sub-Regimes in Gas-Liquid Stratified Two-Phase Flow in a Horizontal Pipe. *Flow Meas. Instrum.*, 102-107.
- Yanlinastuti dan Fatimah, S. (2016). Pengaruh Konsentrasi Pelarut untuk Menentukan Kadar Zirkonium dalam Paduan U-Zr dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Pengelolaan instalasi Nuklir*, 9(17), 22-33.
- Yunida, M. T. Kamaluddin, Theodorus dan S. Mangunsong. 2021. Formulasi dan Karakterisasi Nanopartikel Kafein Hasil Isolasi dari Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora var. Robusta*). *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 7(1), 47-59.
- Zekeya, N., M. Ibrahim, B. Mamiro, H. Ndossi, M. Kilonzo, M. Mkangara, M. Chacha, J. Chilongola dan J. Kidegheso. 2022. Potential of Natural Phenolic

Antioxidant Compound from Bersama abyssinica (Meliathacea) for Treatment of Chronic Disease. *Studi Journal of Biological Sciences*, 29, 1-7.



## LAMPIRAN

### LAMPIRAN 1 DIAGRAM ALIR



## LAMPIRAN 2 PERHITUNGAN KADAR TOTAL POLIFENOL

- Perhitungan larutan induk asam galat 1000 ppm pada volume 100 mL

$$\begin{aligned}m &= 1000 \mu\text{g/mL} \times 100 \text{ mL} \\ &= 100.000 \mu\text{g} \\ &= 0,1 \text{ g (yang ditimbang)}\end{aligned}$$

- Pembuatan larutan standar asam galat dalam labu takar 50 mL

Untuk 10 ppm

$$M1.V1 = M2.V2$$

$$1000 \text{ mg/L} \times V1 = 10 \text{ mg/L} \times 50 \text{ mL}$$

$$V1 = \frac{10 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 50 \text{ mL}}{1000 \text{ mg/L}}$$

$$V1 = 0,5 \text{ mL (yang dipipet)}$$

Untuk konsentrasi selanjutnya dapat dilihat pada tabel berikut:

Konsentrasi larutan standar (ppm)	Volume larutan induk yang dipipet (mL)
10	0,5
30	1,5
50	2,5
70	3,5
90	4,5

- Pembuatan larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5%

$$7,5\% = 7,5 \text{ g Na}_2\text{CO}_3/100 \text{ mL aquadest}$$

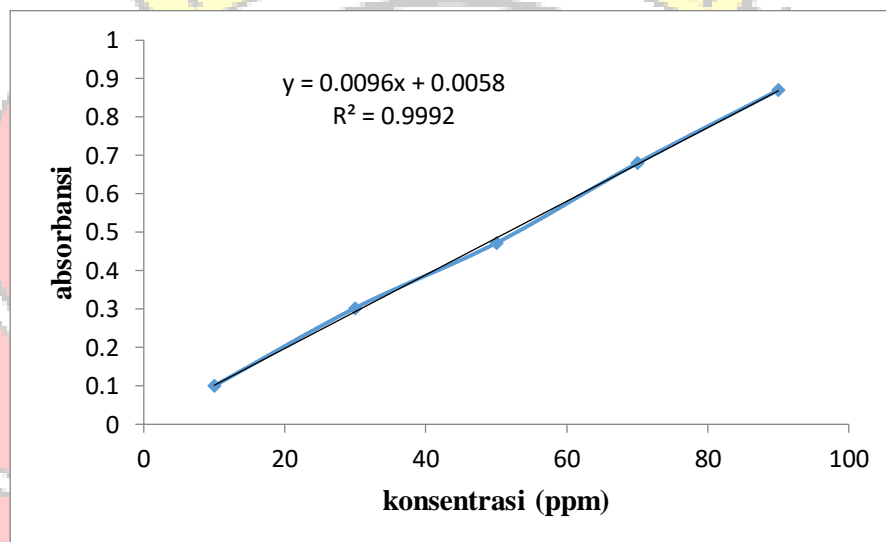
- Pembuatan larutan *Folin Ciocalteu* 10%

Pengenceran 10 ml larutan murni *Folin Ciocalteu* ke dalam labu takar 100 mL dengan aquadest.

Data kurva standar asam galat

Tabel Konsentrasi dan Absorbansi kurva standar asam galat

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
10	0,100
30	0,303
50	0,472
70	0,680
90	0,870



Perhitungan Kadar Total Polifenol

$$y = 0,0096x + 0,0058$$

$$x = \frac{y - 0,0058}{0,0096}$$

Keterangan:

y : Absorbansi (Abs)

x : Konsentrasi (mg/L)

- Untuk sampel sonikasi 10 menit replikasi 1

$$x = \frac{0,282 - 0,0058}{0,0096}$$

$$= 28,771 \text{ mg/L}$$

- Untuk sampel sonikasi 10 menit replikasi

$$x = \frac{0,290 - 0,0058}{0,0096}$$

$$= 29,604 \text{ mg/L}$$

- Konsentrasi rata-rata untuk sampel sonikasi 10 menit

$$\frac{R1+R2}{2} = \frac{28,771 \frac{\text{mg}}{\text{L}} + 29,604 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{2}$$

$$= 29,1875 \text{ mg/L}$$

Perhitungan kadar polifenol dalam %

$$\frac{C \times V \times fp}{m} \times 100\%$$

Keterangan

- C : Konsentrasi (polifenol) dalam sampel yang dianalisis (mg/L)
- V : Volume larutan sampel (L)
- M : Berat sampel kulit ari biji kopi
- Fp : Faktor pengenceran

Untuk sampel sonikasi 10 menit

$$\text{Kadar (\%)} = \frac{C \times V \times fp}{m} \times 100\%$$

$$= \frac{29,1875 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 0,2 \text{ L} \times \frac{10}{0,2}}{20001,2 \text{ mg}} \times 100\%$$

$$= 1,46\%$$

Perhitungan kadar total polifenol dalam mg GAE/g

- Untuk sampel sonikasi 10 menit

$$\text{Kadar total polifenol} = \frac{C \times V \times fp}{m}$$



$$= \frac{29,1875 \frac{mg}{L} \times 0,2 L \times \frac{10}{0,2}}{20,0012 g}$$

$$= 14,6 \text{ mg GAE/g}$$

Data perhitungan kadar total polifenol pada sampel lain dapat dilihat pada tabel berikut:

Sampel	Waktu Ekstraksi	Absorbansi Percobaan		Rata-rata	Total Polifenol	
		I	II	Konsentrasi (mg/L)	%	mg GAE/g
Sonikasi	10 menit	0,282	0,29	29,19	1,46	14,6
	30 menit	0,404	0,368	39,60	1,98	19,8
	40 menit	0,286	0,234	26,48	1,32	13,2
Maserasi	6 jam	0,287	0,288	29,34	1,47	14,7
	20 jam	0,377	0,45	42,47	2,12	21,2

### LAMPIRAN 3 PERHITUNGAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN

- Larutan sampel 1000 ppm diencerkan

Untuk sampel maserasi 20 jam

- Konsentrasi 20 ppm

$$1000 \text{ ppm} \times V1 = 20 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V1 = \frac{20 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,2 \text{ mL}$$

- Konsentrasi 40 ppm

$$1000 \text{ ppm} \times V1 = 40 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V1 = \frac{40 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,4 \text{ mL}$$

- Konsentrasi 60 ppm

$$1000 \text{ ppm} \times V1 = 60 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V1 = \frac{60 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,6 \text{ mL}$$

- Konsentrasi 80 ppm

$$1000 \text{ ppm} \times V1 = 80 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V1 = \frac{80 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,8 \text{ mL}$$

- Konsentrasi 100 ppm

$$1000 \text{ ppm} \times V1 = 100 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V1 = \frac{100 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 1 \text{ mL}$$

Untuk sampel sonikasi 30 menit

- Konsentrasi 50 ppm

$$1000 \text{ ppm} \times V1 = 50 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V1 = \frac{50 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,5 \text{ mL}$$

- Konsentrasi 70 ppm

$$1000 \text{ ppm} \times V1 = 70 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V1 = \frac{70 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,7 \text{ mL}$$

- Konsentrasi 90 ppm

$$1000 \text{ ppm} \times V1 = 90 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V1 = \frac{90 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,9 \text{ mL}$$

- Konsentrasi 110 ppm

$$1000 \text{ ppm} \times V1 = 110 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V1 = \frac{110 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 1,1 \text{ mL}$$

- Konsentrasi 130 ppm

$$1000 \text{ ppm} \times V1 = 130 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V1 = \frac{130 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 1,3 \text{ mL}$$

- Pembuatan larutan DPPH 50 ppm

$$50 \text{ ppm} = 50 \mu\text{g/mL}$$

$$M = C \times V$$

$$= 50 \mu\text{g/mL} \times 50 \text{ mL}$$

$$= 250 \mu\text{g} = 0,0025 \text{ g (dpph yang ditimbang)}$$

- Perhitungan % inhibisi

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{abs blanko} - \text{abs sampel}}{\text{abs blanko}} \times 100\%$$

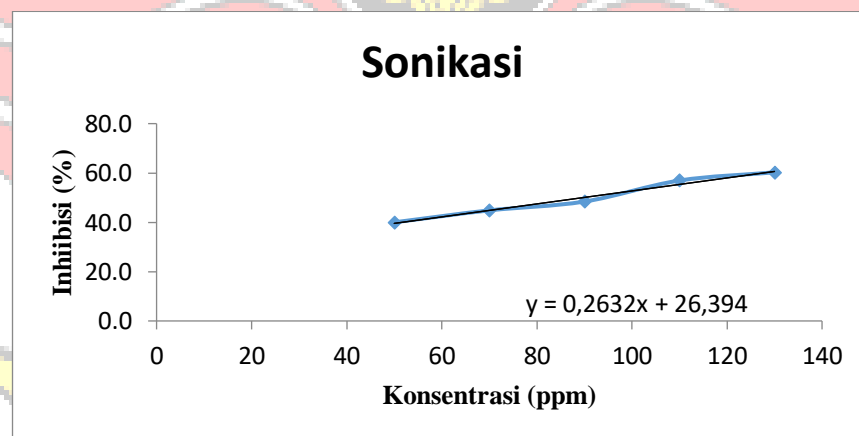
Untuk sampel maserasi 20 ppm

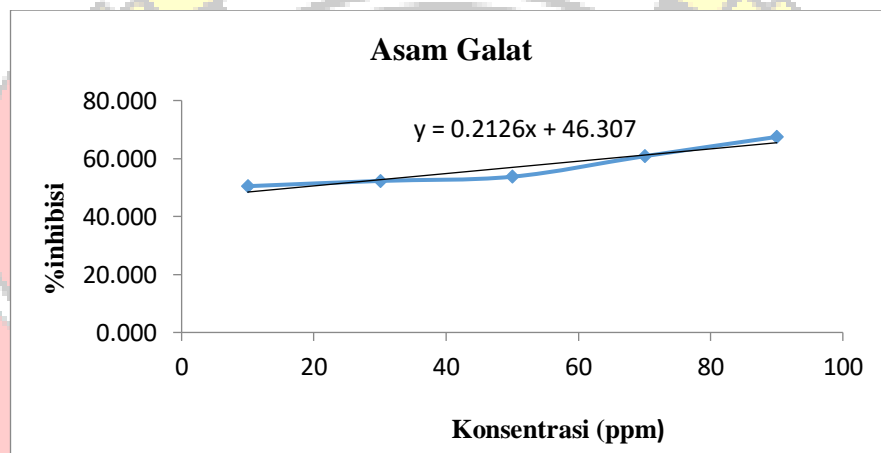
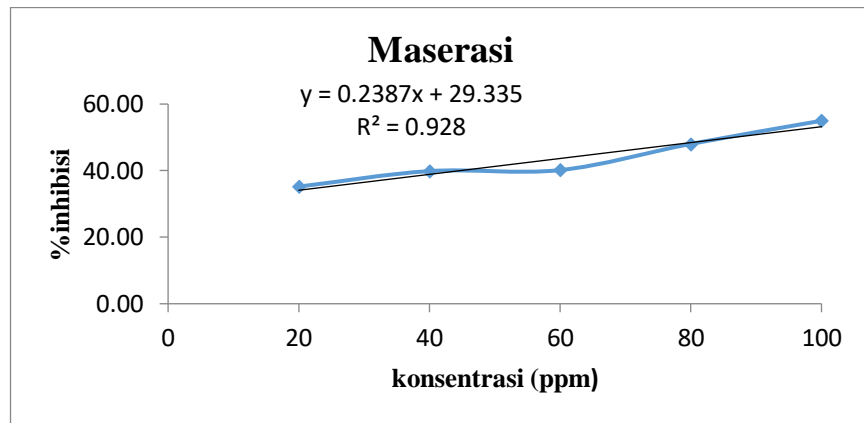
$$\text{Inhibisi}(\%) = \frac{1,653 - 0,992}{1,653} \times 100\%$$

$$= 40\%$$

Dilakukan perhitungan yang sama untuk %inhibisi sampel lain yang dapat dilihat pada tabel berikut:

Sampel	Konsentrasi (mg/L)	Inhibisi (%)
Asam Galat	10	50,454
	30	52,269
	50	53,721
	70	60,799
	90	67,453
Ekstrak kulit ari biji kopi maserasi	20	35,21
	40	39,87
	60	40,17
	80	48,03
Ekstrak kulit ari biji kopi sonikasi	100	54,99
	50	40,00
	70	44,83
	90	48,40
	110	56,93
	130	60,25





- Perhitungan IC<sub>50</sub>

- Untuk sampel asam galat

$$y = 0,2126x + 46,307$$

$$50 = 0,2126x + 46,307$$

$$x(\text{IC}_{50}) = \frac{50 - 46,307}{0,2126} = 17,371 \text{ ppm}$$

- Untuk sampel sonikasi

$$y = 0,2632x + 26,394$$

$$50 = 0,2632x + 26,394$$

$$x(\text{IC}_{50}) = \frac{50 - 26,394}{0,2632} = 88,8780 \text{ ppm}$$

- Untuk sampel maserasi

$$y = 0,2387x + 29,335$$

$$50 = 0,2387x + 29,335$$

$$x(IC_{50}) = \frac{50-29,336}{0,2387} = 86,5731 \text{ ppm}$$

Sampel	IC <sub>50</sub> (ppm)
Asam Galat	17,371
Ekstrak Kulit Ari Biji Kopi Sonikasi	88,8780
Ekstrak Kulit Ari Biji Kopi Maserasi	86,5731

#### LAMPIRAN 4 DOKUMENTASI KEGIATAN

Keterangan	Gambar
Kulit Ari Biji Kopi	
Serbuk Kulit Ari Biji Kopi	
Proses Ekstraksi Maserasi Kulit Ari Biji Kopi	

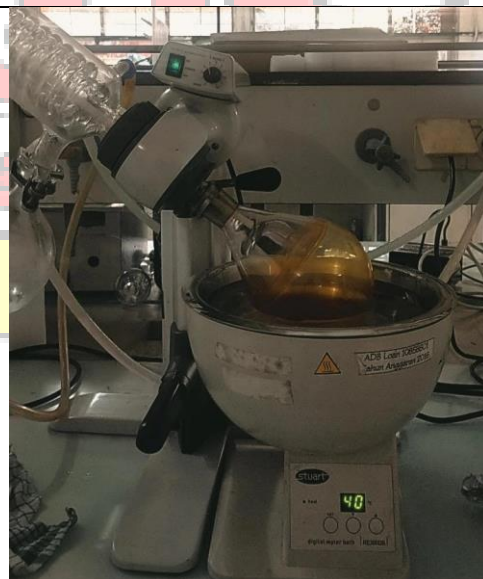
Proses Ekstraksi Sonikasi  
Kulit Ari Biji Kopi



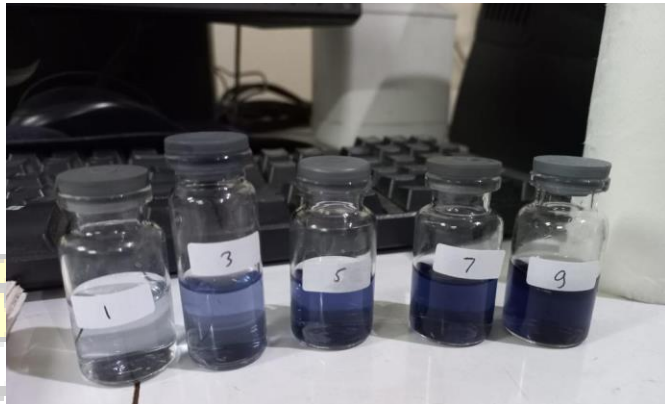
Penyaringan



Proses Evaporasi dengan  
*Rotary Evaporator*



Larutan Standar Asam Galat



Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

Wave length	abs
700.0	0.675
705.0	0.672
710.0	0.671
715.0	0.666
720.0	0.663
725.0	0.661
730.0	0.658
735.0	0.654
740.0	0.653
745.0	0.653

ID# : 1  
Baseline collected 20 Jun 20  
Collect Graph  
Baseline

Sampel Analisa Total Polifenol



Sampel Analisa Antioksidan





Sampel Analisa GC-MS

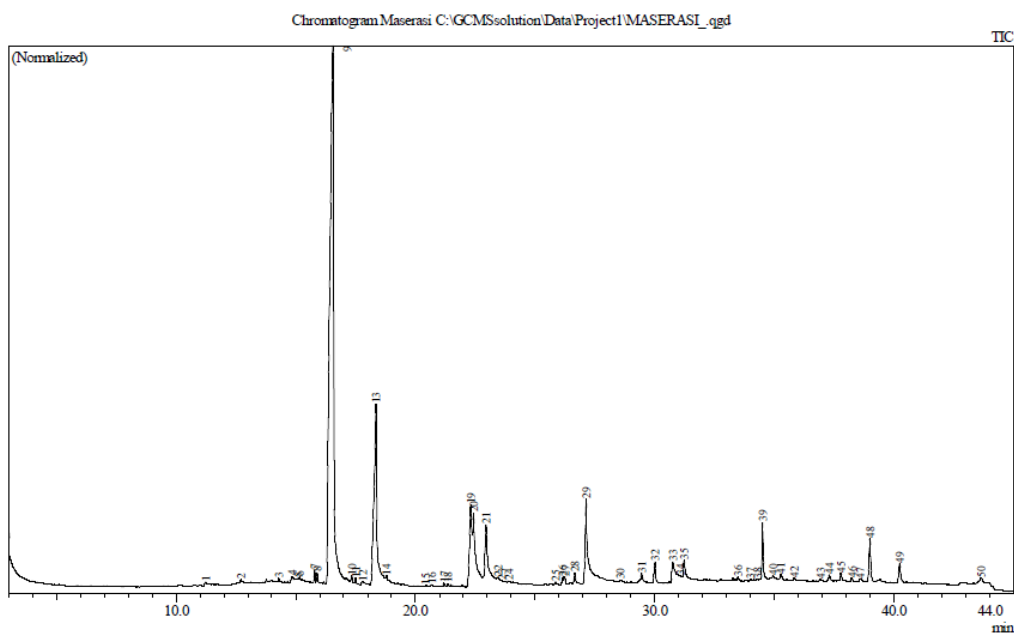


# LAMPIRAN 4 HASIL KROMATOGRAM HASIL GCMS KULIT ARI BIJI KOPI

## DATA REPORT GCMS-QP2010 ULTRA SHIMADZU

Analyzed by : Admin  
 Analyzed : 3/08/2022 7:18:45 PM  
 Sample Type : Unknown  
 Level # : 1  
 Sample Name : Maserasi  
 Sample ID :  
 IS Amount : [1]=1  
 Sample Amount : 1

### Sample Information



Peak Report TIC

Peak#	R.Time	Area	Area%	A/H Name
1	11.226	664719	0.13	5.06 2-METHYL-N-PHENYLACRYLAMIDE #
2	12.700	678972	0.13	4.36 1-HEXADECENE
3	14.300	428063	0.08	3.16 1-Dodecanol, 3,7,11-trimethyl-
4	14.843	1578341	0.31	6.19 Tetradecanoic acid
5	15.095	1276010	0.25	9.33 1-Hexadecanesulfonic acid, 3,5-dichloro-2,6-dimethyl-4-pyridyl ester
6	15.163	739049	0.14	3.61 1-HEXADECENE
7	15.787	1383376	0.27	2.80 2,6,10-TRIMETHYL,14-ETHYLENE-14-PENTADECNE
8	15.899	1123848	0.22	2.77 2-PENTADECANONE, 6,10,14-TRIMETHYL-
9	16.559	260387846	50.84	12.06 Caffeine
10	17.334	813944	0.16	3.13 HEXADECANOIC ACID, METHYL ESTER
11	17.503	645519	0.13	3.27 Benzenepropanoic acid, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxy-, methyl ester
12	17.791	1277729	0.25	9.67 1,2-Oxathiane, 6-dodecyl-, 2,2-dioxide
13	18.363	68910785	13.45	9.50 n-Hexadecanoic acid
14	18.789	601206	0.12	3.74 Hexadecanoic acid, ethyl ester
15	20.433	575849	0.11	12.07 4-Oxazolecarboxylic acid, 4,5-dihydro-2-phenyl-, 1-methylethyl ester
16	20.677	500707	0.10	6.06 1,7,7-TRIMETHYL-3-(2-PHENYLETHYLIDENE)BICYCLO[2.2.1]HEPTAN-2-ONE
17	21.193	487019	0.10	3.72 9,12-OCTADECADIENOIC ACID (Z,Z)-, METHYL ESTER
18	21.347	396066	0.08	3.59 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester
19	22.317	22701858	4.43	6.89 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-
20	22.433	27499149	5.37	9.32 OCTADEC-9-ENOIC ACID
21	22.957	24210974	4.73	9.97 Octadecanoic acid
22	23.454	2064412	0.40	7.66 ETHYL NONADECANOATE
23	23.592	1034295	0.20	7.18 1,54-DIBROMOTETRAPENTACONTANE
24	23.896	1085020	0.21	11.43 E-2-Trimethylsilyloxy-3-octene
25	25.865	470143	0.09	4.77 2-Nonadecanone
26	26.165	1125908	0.22	3.97 2-ETHYLHEXYL (2E)-3-(4-METHOXYPHENYL)-2-PROPENOATE #

Peak#	R. Time	Area	Area%	A/H Name
27	26.244	1051852	0.21	3.72 EICOSANOIC ACID, METHYL ESTER
28	26.666	1947767	0.38	4.41 4,8,12,16-Tetramethylheptadecan-4-olide
29	27.136	31295656	6.11	9.24 EICOSANOIC ACID
30	28.569	715823	0.14	8.42 5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic acid, methyl ester, (all-Z)-
31	29.460	2108207	0.41	5.89 2(3H)-FURANONE, 3-(2-(DECAHYDRO-6-HYDROXY-5-(HYDROXYMETHYL)-5
32	30.015	3666364	0.72	4.45 1,2-BENZENEDICARBOXYLIC ACID
33	30.757	8276594	1.62	10.18 Docosanoic acid
34	31.092	1084418	0.21	5.18 HEXADECANOIC ACID, ETHYL ESTER
35	31.233	4965630	0.97	6.22 Octadecanamide
36	33.475	838725	0.16	5.45 di-2-Ethylhexyl chloroformate
37	34.005	362700	0.07	5.66 2-HEXENAL, 2-ISOPROPYL 4-METHYL-
38	34.289	367899	0.07	5.11 Decanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester
39	34.513	9102595	1.78	3.89 Squalene
40	34.945	1986882	0.39	10.43 1-Pyrrolidinebutanoic acid, 2-[(1,1-dimethylethoxy)carbonyl]-.alpha.-nitro-, 2,6-bis(1,1- $\epsilon$
41	35.276	1396611	0.27	6.74 Cyclohexane, 1,2,3,4,5,6-hexaethyl-
42	35.826	394437	0.08	4.43 Octacosane
43	36.929	532130	0.10	7.46 9(11)-Dehydroergosteryl benzoate
44	37.300	1342063	0.26	5.35 CHOLESTA-4,6-DIEN-3-OL, BENZOATE, (3.BETA.)-
45	37.788	1430193	0.28	4.75 (22E)-STIGMASTA-4,6,22-TRIEN-3-YL ACETATE #
46	38.243	581694	0.11	5.14 .beta.-Tocopherol
47	38.596	709634	0.14	8.32 9-ANTHRACENECARBONITRILE
48	38.999	8788010	1.72	5.13 CHOLESTA-4,6-DIEN-3-OL, BENZOATE, (3.BETA.)-
49	40.238	4479994	0.87	5.85 Vitamin E
50	43.653	2127738	0.42	10.39 PREGNAN-12-ONE, 3-(ACETYLOXY)-20-HEXYL-, (3.ALPHA.)-
		512214423	100.00	

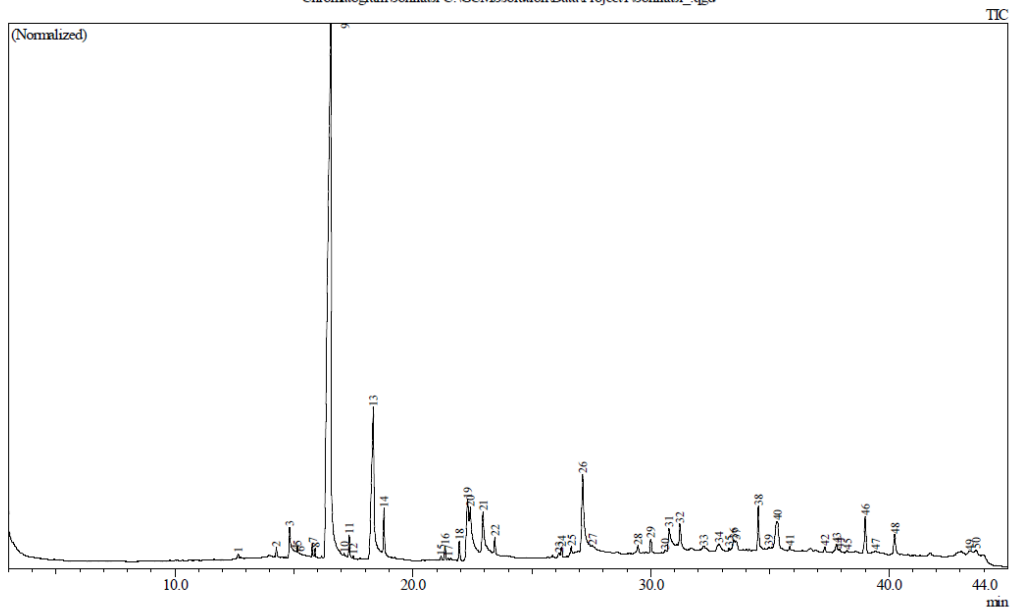


# DATA REPORT GCMS-QP2010 ULTRA SHIMADZU

Analyzed by : Admin  
 Analyzed : 3/08/2022 9:01:47 PM  
 Sample Type : Unknown  
 Level # : 1  
 Sample Name : Sonikasi  
 Sample ID :  
 IS Amount : [1]=1  
 Sample Amount : 1

## Sample Information

Chromatogram Sonikasi C:\GCMSolution\Data\Project1\Sonikasi\_qgd



Peak#	R.Time	Area	Area%	A/H	Name
1	12.660	597075	0.11	3.16	1-NONADECENE
2	14.264	1229382	0.24	3.03	Methyl tetradecanoate
3	14.821	8141017	1.57	6.20	Tetradecanoic acid
4	15.083	1093235	0.21	4.81	2- Bromopropionic acid, pentadecyl ester
5	15.148	1570880	0.30	3.65	1-OCTADECANETHIOL
6	15.258	455582	0.09	4.31	11-Dodecen-1-ol, 2,4,6-trimethyl-, (R,R,R)-
7	15.779	1517165	0.29	2.63	2,6,10-TRIMETHYL,14-ETHYLENE-14-PENTADECNE
8	15.883	1033994	0.20	2.66	2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl-
9	16.553	258018446	49.69	11.01	Caffeine
10	17.121	314248	0.06	3.33	2-PENTADECANONE, 6,10,14-TRIMETHYL-
11	17.324	2932039	0.56	3.02	HEXADECANOIC ACID, METHYL ESTER
12	17.493	426111	0.08	3.35	Benzenepropanoic acid, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxy-, methyl ester
13	18.340	57271969	11.03	8.62	n-Hexadecanoic acid
14	18.784	9317223	1.79	4.29	HEXADECANOIC ACID, ETHYL ESTER
15	21.190	617692	0.12	3.44	9,12-OCTADECADIENOIC ACID (Z,Z)-, METHYL ESTER
16	21.344	2221504	0.43	3.46	9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester
17	21.476	304994	0.06	3.10	Cyclohexadecanone
18	21.952	3004775	0.58	3.50	Octadecanoic acid, methyl ester
19	22.296	17748230	3.42	6.69	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-
20	22.413	23516069	4.53	10.28	OCTADEC-9-ENOIC ACID
21	22.947	18228401	3.51	9.15	Octadecanoic acid
22	23.450	3502214	0.67	4.39	Octadecanoic acid, ethyl ester
23	26.149	883517	0.17	5.13	2-ETHYLHEXYL (2E)-3-(4-METHOXYPHENYL)-2-PROPENOATE #
24	26.243	1411010	0.27	3.31	EICOSANOIC ACID, METHYL ESTER
25	26.659	1555375	0.30	4.18	4,8,12,16-Tetramethylheptadecan-4-olide
26	27.139	26240385	5.05	7.79	EICOSANOIC ACID

Peak#	R.Time	Area	Area%	A/H Name
27	27.550	260175	0.05	3.87 NONADECANAMIDE
28	29.453	1172973	0.23	3.86 Docosahexaenoic acid, 1,2,3-propanetriyl ester
29	29.981	2802356	0.54	4.64 Docosanoic acid, methyl ester
30	30.592	560972	0.11	6.15 Cholest-4-en-3-one, 26-(acetyloxy)-
31	30.764	10180611	1.96	9.78 Docosanoic acid
32	31.220	8488817	1.63	7.22 Octadecanamide
33	32.210	1820270	0.35	10.30 4,22-Stigmastadiene-3-one
34	32.859	3387956	0.65	10.87 cis-1-Chloro-9-octadecene
35	33.277	499325	0.10	3.25 TETRACOSANOIC ACID, METHYL ESTER
36	33.477	3051186	0.59	6.12 STIGMASTA-3,5-DIEN-7-ONE
37	33.569	2800568	0.54	6.24 Stigmasta-3,5-dien-7-one
38	34.508	7941023	1.53	4.15 9-OCTADECENAMIDE
39	34.942	643673	0.12	8.05 1-Pyrrolidinebutanoic acid, 2-[(1,1-dimethylethoxy)carbonyl]-.alpha.-nitro-, 2,6-bis(1,1-
40	35.307	11348143	2.19	9.56 STIGMAST-4-EN-3-ONE
41	35.830	610909	0.12	3.08 Nonacosane
42	37.302	1148896	0.22	4.81 CHOLESTA-4,6-DIEN-3-OL, BENZOATE, (3.BETA.)-
43	37.792	2193946	0.42	6.03 3.beta.-Acetoxystigmasta-4,6,22-triene
44	37.923	749506	0.14	5.20 Octadecanamide
45	38.238	492310	0.09	4.92 .beta.-Tocopherol
46	39.003	8060822	1.55	5.01 CHOLESTA-4,6-DIEN-3-OL, BENZOATE, (3.BETA.)-
47	39.435	279146	0.05	3.85 Stigmastan-3,5-diene
48	40.245	4649638	0.90	5.42 Vitamin E
49	43.375	1644311	0.32	16.11 17-Pentatriacontene
50	43.658	1275677	0.25	6.01 6-METHOXY-2,5,7,8-TETRAMETHYL-2-(4,8,12-TRIMETHYLTRIDECYL)CHRO
		519215741	100.00	

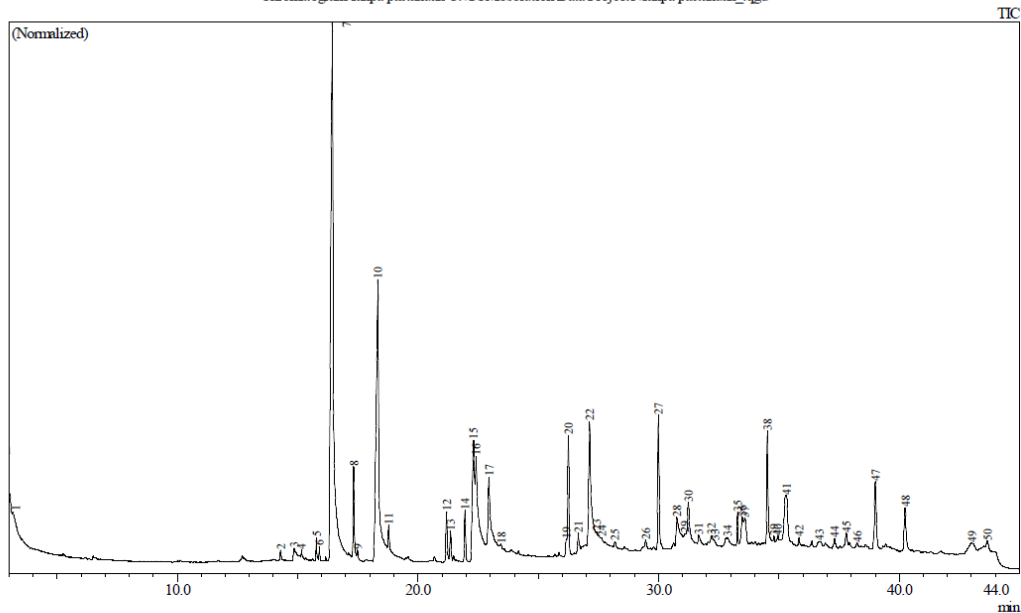


# DATA REPORT GCMS-QP2010 ULTRA SHIMADZU

Analyzed by : Admin  
 Analyzed : 3/08/2022 8:10:11 PM  
 Sample Type : Unknown  
 Level # : 1  
 Sample Name : Tanpa pastakuah  
 Sample ID :  
 IS Amount : [1]=1  
 Sample Amount : 1

## Sample Information

Chromatogram Tanpa pastakuah C:\GCMSsolution\Data\Project1\Tanpa pastakuah\_qgd



Peak#	R.Time	Area	Area%	A/H Name
1	3.170	648554	0.17	6.42 PYRIDINE
2	14.296	628182	0.16	2.91 TETRACOSANOIC ACID, METHYL ESTER
3	14.859	2411521	0.62	8.62 Tetradecanoic acid
4	15.166	719893	0.18	3.14 1-Heptadecene
5	15.787	1492693	0.38	2.79 2,6,10-TRIMETHYL,14-ETHYLENE-14-PENTADECNE
6	15.901	1058843	0.27	3.14 2-PENTADECANONE, 6,10,14-TRIMETHYL-
7	16.443	106516782	27.28	8.42 Caffeine
8	17.329	7984907	2.04	3.64 HEXADECANOIC ACID, METHYL ESTER
9	17.494	962107	0.25	3.98 Benzenepropanoic acid, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxy-, methyl ester
10	18.339	55257194	14.15	8.39 n-Hexadecanoic acid
11	18.784	4261568	1.09	5.75 HEXADECANOIC ACID, ETHYL ESTER
12	21.191	4424682	1.13	3.79 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester
13	21.348	2725572	0.70	3.85 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester
14	21.956	4277936	1.10	3.54 Octadecanoic acid, methyl ester
15	22.312	18650994	4.78	6.56 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-
16	22.421	25198454	6.45	10.31 OCTADEC-9-ENOIC ACID
17	22.951	19596658	5.02	10.44 Octadecanoic acid
18	23.458	2057842	0.53	9.32 3-Hexadecanol
19	26.167	1444387	0.37	3.56 2-ETHYLHEXYL 3-(4-METHOXYPHENYL)-2-PROPENOATE
20	26.250	9368434	2.40	3.31 EICOSANOIC ACID, METHYL ESTER
21	26.669	1607040	0.41	3.97 4,8,12,16-Tetramethylheptadecan-4-olide
22	27.136	20891158	5.35	7.14 EICOSANOIC ACID
23	27.425	1773896	0.45	5.39 Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester
24	27.633	2106977	0.54	11.25 DODECANE
25	28.180	627666	0.16	4.38 HENEICOSANOIC ACID, METHYL ESTER
26	29.458	945272	0.24	4.40 Spiro[androst-5-ene-17,1'-cyclobutan]-2'-one, 3-hydroxy-, (3.beta.,17.beta.)-

Peak#	R.Time	Area	Area%	A/H Name
27	29.984	13141832	3.37	4.18 Docosanoic acid, methyl ester
28	30.762	7044655	1.80	10.15 Docosanoic acid
29	31.092	1796123	0.46	6.78 HEXADECANOIC ACID, ETHYL ESTER
30	31.232	6396396	1.64	6.48 Octadecanamide
31	31.675	1043735	0.27	5.12 TRICOSANOIC ACID, METHYL ESTER
32	32.188	1709024	0.44	7.78 DOCOSANOIC ACID, 2-HYDROXY-, METHYL ESTER
33	32.342	528330	0.14	4.89 Butanoic acid, 3-methyl-, 3,7-dimethyl-2,6-octadienyl ester
34	32.859	2010179	0.51	11.30 cis-1-Chloro-9-octadecene
35	33.278	2335182	0.60	3.00 TETRACOSANOIC ACID, METHYL ESTER
36	33.483	3461814	0.89	5.39 GLYCINE, N-[N-(2-HYDROXYBENZOYL)-.BETA.-ALANYL]-, METHYL ESTER
37	33.572	4236175	1.08	6.91 Stigmasta-3,5-dien-7-one
38	34.515	10838086	2.78	4.05 Squalene
39	34.800	921986	0.24	4.80 Pentacosanoic acid, methyl ester
40	34.952	1413151	0.36	7.13 1-Pyrrolidinebutanoic acid, 2-[(1,1-dimethylethoxy)carbonyl]-.alpha.-nitro-, 2,6-bis(1,1-dimethylethoxy)-
41	35.304	12621503	3.23	10.91 STIGMAST-4-EN-3-ONE
42	35.827	614605	0.16	3.17 Nonacosane
43	36.677	1011147	0.26	9.84 Cholesta-4,6-dien-3-one
44	37.307	1086121	0.28	5.01 CHOLESTA-4,6-DIEN-3-OL, BENZOATE, (3.BETA.)-
45	37.792	1643090	0.42	5.40 3.beta.-Acetoxystigmasta-4,6,22-triene
46	38.242	498021	0.13	5.12 .beta.-Tocopherol
47	39.000	8502650	2.18	5.43 CHOLESTA-4,6-DIEN-3-OL, BENZOATE, (3.BETA.)-
48	40.245	5539121	1.42	5.58 Vitamin E
49	43.011	3437575	0.88	17.11 CHOLEST-4-ENE-3,6-DIONE
50	43.654	1059077	0.27	5.90 6-METHOXY-2,5,7,8-TETRAMETHYL-2-(4,8,12-TRIMETHYLTRIDECYL)CHRO
		390528790	100.00	

