

Identifikasi Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Minuman Fungsional Cascara dari Kulit Kopi dengan Fermentasi Terkendali

Identification Phytochemical Compounds and Antioxidant Activity of Cascara Functional Drink Derived from Coffee Skin by Controlled Fermentation

Umi Rosidah¹, **Sugito Sugito**^{1*)}, Kiki Yuliati¹, Abdiansyah Abdiansyah¹, Fatin Anggraini¹

¹Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Pertanian,

Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya, Ogan Ilir 30662, Sumatera Selatan, Indonesia

^{*)}Penulis untuk korespondensi: sugitoluwian3@gmail.com

Sitasi: Rosidah U, Sugito S, Kiki Yuliati K, Abdiansyah A, Anggraini F. 2021. Identification phytochemical compounds and antioxidant activity of cascara functional drink derived from coffee skin by controlled fermentation. *In: Herlinda S et al. (Eds.), Prosiding Seminar Nasional Lahan Suboptimal ke-9 Tahun 2021, Palembang 20 Oktober 2021.* pp. 611-620. Palembang: Penerbit & Percetakan Universitas Sriwijaya (UNSRI).

ABSTRACT

The effect of relative humidity of fermentation room on phytochemical compound content and antioxidant activity of coffee skin-derived cascara was determined in this study. Robusta coffee skin was collected from Semendo, Muara Enim district, South Sumatera. A factorial completely randomized design was used and two factors were investigated, namely relative humidity of fermentation room (80, 85, 90 and 95 percent) and serving form of product (powder and solution). All experiment was carried out in triplicates. The observed parameters included both qualitative (saponin, flavonoid, alkaloid, and tannin test) and quantitative (pH value, phenol content, tannin content and antioxidant activity (IC₅₀)) characteristics. The results revealed that all samples contained saponin, flavonoid, alkaloid, and tannin, both in powdered and in cascara solution. Relative humidity of fermentation room showed significantly increased pH value, total phenol content, tannin content and increased antioxidant activity. On the other hand, serving form of product showed significantly increased pH value, decreased total phenol content and tannin content. Furthermore, interaction of the two factors showed significant effects on pH value and total phenol content. In conclusion, powdered cascara fermented in 95 per cent relative humidity was the best treatment, since it contained saponin, flavonoid, alkaloid, and tannin and had pH of 5.84, total phenol content of 2.45 mg/g, tannin content of 3.67 mg/g and IC₅₀ of 67,94 mg/kg.

Keywords: cascara, coffee skin, fermentation

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh RH ruang fermentasi terhadap kandungan senyawa fitokimia dan aktivitas antioksidan pada cascara yang berasal dari kulit kopi. Penelitian ini menggunakan kulit kopi robusta yang diambil dari Kecamatan Semendo Kabupaten Muara Enim Sumatera Selatan, sedangkan analisa kimia dilakukan di Laboratorium Kimia Hasil Pertanian, Universitas Sriwijaya. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial, yang terdiri atas 2 perlakuan, yaitu RH ruangan fermentasi (A1 = 80%, A2= 85%, A3 = 90% dan A4 = 95%), dan bentuk penyajian (B1 = serbuk dan B2 = ekstrak air), dan parameter yang berpengaruh nyata dilanjutkan dengan Uji BNJ 5%. Parameter yang diamati, meliputi uji kulitatif (Uji saponin, Uji flavonoid, Uji

alkaloid, Uji tanin) dan uji kuantitatif (meliputi Analisis pH, Kadar Fenol, Kadar Tanin dan Aktivitas Antioksidan IC₅₀). Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa seluruh sampel positif mengandung saponin, flavonoid, alkaloid dan tannin baik pada sampel cascara serbuk maupun pada ekstrak air. RH ruangan fermentasi berpengaruh nyata meningkatkan pH, kadar total fenol, kadar tannin dan menurunkan nilai IC₅₀. Pelarutan cascara dalam fraksi air secara nyata menurunkan kadar total fenol, kadar tanin dan meningkatkan nilai pH. Sedangkan interaksi faktor A dan B, berpengaruh nyata pada nilai pH, Total fenol, kadar tannin dan nilai IC₅₀. Perlakuan terbaik pada cascara yang difermentasi pada RH 95% dan dalam bentuk serbuk, dengan karakter sebagai berikut: positif mengandung Uji saponin, Uji flavonoid, Uji alkaloid, Uji tannin, nilai pH sebesar 5,84, kandungan total fenol sebesar 2,45 mg/g, kandungan tannin sebesar 3,67 mg/g dan nilai IC₅₀ sebesar 67,94 mg/Kg.

Kata kunci: cascara, fermentasi, kulit kopi

PENDAHULUAN

Mesocarp atau kulit merupakan limbah terbesar dari pabrik pengolahan kopi, karena jumlahnya mencapai 40-45% dari berat total biji kopi segar (Zia *et al.*, 2019). Jika dilihat dari angka tersebut, maka limbah kulit kopi sekitar 257.542,8 ton/tahun kulit biji kopi dihasilkan di seluruh Indonesia, atau sekitar 54.132,4 ton/tahun kulit biji kopi yang ada di Sumatera Selatan. Limbah ini belum dimanfaatkan secara optimal, karena sebagian besar hanya dibuang dan dimanfaatkan sebagai pupuk kandang Simanihuruk *et al.* (2010). Padahal kulit kopi dapat diolah menjadi produk yang memiliki nilai ekonomis tinggi, salah satunya adalah Cascara. Menurut Carpenter (2015), cascara merupakan produk olahan kulit kopi yang memiliki citarasa pahit (kelat), sedikit manis dan memiliki aroma seperti buah chery. Nafisah dan Widyaningsih, (2018), cascara memiliki bentuk seperti kismis, berbenruk bulat dengan tekstur berkerut, dan memiliki tekstur yang rapuh.

Produk cascara kurang disukai oleh masyarakat, karena memiliki beberapa kelemahan, antara lain: a) proses penyeduhannya memerlukan waktu yang relative lama, dan harus menggunakan air bersuhu mendekati 100 °C (air mendidih), hal ini menyulitkan pada saat penyajian sebelum dikonsumsi b) bentuknya kurang menarik, (lebih mirip bentuk kismis dibanding teh/kopi), c) cita rasanya kurang diterima masyarakat luas (masih terlalu pahit/kelat). d) masih memiliki flavor seperti rumput (bau langu). Untuk mengatasi masalah tersebut dapat diaplikasikan dengan teknologi fermentasi, secara terkendali. Fermentasi adalah

Fermentasi yang dikenal juga sebagai oksidasi enzimatis adalah serangkaian proses perubahan senyawa kimia (satu atau lebih) akibat adanya reaksi antara enzim dengan substrat yang dibantu dengan keberadaan oksigen yang mencukupi. Menurut Permatasari (2018) oksidasi enzimatis menyebabkan terbentuknya senyawa baru yang diikuti dengan perubahan fisik dan sensoris (antara lain warna, aroma dan rasa). Fermentasi yang terjadi pada cascara mirip dengan fermentasi pada teh, yang diawali dengan proses penggulangan teh yang menyebabkan kerusakan pada stuktur daun sehingga enzim yang ada pada teh keluar, dan bereaksi dengan substrat, pada proses fermentasi, daun teh diletakkan diudara terbuka supaya terjadi kontak antara substrat, enzim dan oksigen agar membentuk senyawa baru yang berkontribusi pada warna seduhan dan flavour teh.

Pada pembuatan teh, perubahan kimia yang terjadi akibat proses fermentasi berupa berubahnya polifenol menjadi senyawa theaflavin dan thearubigin (Heeger *et al.*, 2016). Menurut Kusumaningrum *et al.* (2013), theaflavin dan thearubigin merupakan komponen penting hasil fermentasi yang yang diinginkan, karena memperbaiki warna dan citarasa teh. Pada proses fermentasi, tahap pertama yang terbentuk adalah senyawa bisflavanol dan

theaflavin. Bisflavanol merupakan komponen yang tidak berwarna (sehingga tidak dikaitkan dengan warna seduhan), sedangkan theaflavin merupakan senyawa berwarna kuning dan rasa yang agak asam (sehingga dikaitkan dengan warna dan rasa seduhan teh). Tahap oksidasi selanjutnya adalah terbentuknya komponen thearubigin, komponen ini berwarna coklat yang berkontribusi pada seduhan teh, menjadi berwarna coklat kemerahan. Kandungan thearubigin pada teh biasanya lebih tinggi dibandingkan theaflavin karena senyawa ini merupakan hasil oksidasi lanjutan dari theaflavin.

Proses fermentasi pada cascara, memiliki efek positif terhadap warna seduhan dan cita rasa. Tetapi proses tersebut diduga merusak beberapa senyawa penting yang berkontribusi pada kapasitas antioksidan cascara (Sugito *et al.*, 2020). Menurut Suryaningrum *et al.* (2007), senyawa antioksidan seperti tannin yang berubah menjadi theaflavin dan thearubigin dapat menurunkan bahkan menghilangkan kemampuan sebagai bahan antioksidan. Sebagai contohnya, senyawa tanin pada teh tanpa oksidasi enzimatis (teh hijau) tidak dirubah menjadi senyawa turunan, sehingga akan menyebabkan karakteristik yang berbeda dengan teh yang diolah dengan proses oksidasi enzimatis (teh hitam). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh RH ruang fermentasi terhadap kandungan senyawa fitokimia dan aktivitas antioksidan pada cascara yang berasal dari kulit kopi robusta.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 1) air, 2) alkohol, 3) amil alkohol, 4) aquadest, 5) CaCO₃, 6) DPPH, 7) etanol 95%, 8) FeCl₃, 9) folin ciocalteu 50%, 10) H₂SO₄ 2N, 11) HCl 2N, 12) indikator phenolphthalein 1%, 13) kloroform, 14) kulit kopi, 15) metanol, 16) Na₂CO₃, 17) NaOH 0,1N, 18) pereaksi Bouchardat, 19) pereaksi Mayer, 20) pereaksi Wagner, 21) serbuk magnesium dan 22) Kopi robusta dari Semendo, Muara Enim, Sumsel.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah 1) alat titrasi, 2) blender (Philips HR-2116, Belanda), 3) *color reader*, 4) labu *Erlenmeyer*, 5) gelas Beaker, 6) gelas ukur, 7) kertas saring, 8) labu ukur 100 mL, 9) labu ukur 250 mL, 10) neraca analitik (Kenko KK-Lab, Japan), 11) penangas listrik (Mommert, Jerman), 12) penjepit tabung reaksi, 13) pH meter (ATC pH-2011, China), 14) pipet tetes, 15) pipet ukur, 16) pipet volume, 17) rak tabung reaksi, 18) spatula, 19) spektrofotometer UV-Vis (Jenway 6305, Inggris), 20) tabung reaksi, 21) *vortex* (VM-1000, Taiwan).

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RALF) dengan dua faktor perlakuan, yaitu (A) jenis sampel dan (B) RH ruangan Fermentasi. Faktor perlakuan (A) terdiri dari 2 taraf dan faktor perlakuan (B) terdiri 4 taraf, sehingga diperoleh 8 kombinasi perlakuan. Setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Faktor perlakuannya adalah sebagai berikut:

1. Jenis sampel (A) :

A₁ = Cascara utuh

A₂ = Ekstrak air

2. RH ruang Fermentasi (B) :

B₁ = 80%

B₂ = 85%

B₃ = 90%

B₄ = 95%

Data sifat fisik dan kimia yang diperoleh diolah menggunakan analisis keragaman (ANOVA). Perlakuan yang berpengaruh nyata diuji lanjut menggunakan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) 5%. Parameter yang diamati meliputi uji alkaloid (Depkes R.I., 1995), uji

Editor: Siti Herlinda et. al.

ISBN: 978-623-399-012-7

Penerbit: Penerbit & Percetakan Universitas Sriwijaya (UNSRI)

flavonoid (Farnsworth, 1966), uji saponin (Depkes R.I., 1995), uji pH, uji tanin (Farnsworth, 1966), total fenol (Modifikasi Sharma, 2011) dan aktivitas antioksidan (Modifikasi Atanassova *et al.*, 2011).

Menurut Galanakis (2017) yang telah dimodifikasi pembuatan cascara dilakukan sebagai berikut:

1. Buah kopi hasil pemetikan disiapkan dengan jenis robusta.
2. Kemudian buah kopi disortasi dipisahkan antara kopi yang masih mengkal, kopi petik chery, sisa batang dan kotoran.
3. Buah kopi dicuci dengan menggunakan air bersih untuk menghilangkan kotoran dan benda asing, kemudian ditiriskan selama 30 menit.
4. Selanjutnya buah kopi dikupas (pulping) secara manual.
5. Kulit kopi ditimbang, kemudian dimasukkan kedalam nampan dan difermentasi dalam sebuah container plastic tertutup selama 2 jam, RH ruangan fermentasi diatur dengan memasang humidifier, dan humidimeter. RH ruangan dikontrol sesuai perlakuan ($B_1 = 80\%$, $B_2 = 85\%$, $B_3 = 90\%$ dan $B_4 = 95\%$).
6. Kulit kopi dikeringkan dengan menggunakan *food drayer* kapasitas 5 kg, pada suhu 45 °C, selama 24 jam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1 menunjukkan bahwa seluruh sampel, baik sampel utuh (cascara), maupun ekstrak air, seluruhnya mengandung senyawa fitokimia yang diuji, yaitu: alkaloid, saponin, fenol, flavonoid, tannin, sterol. Alkaloid merupakan salah satu golongan senyawa pada tumbuhan yang merupakan metabolit sekunder terbesar (terdiri atas 5500 senyawa alkaloid yang sudah teridentifikasi). Alkaloid memiliki efek racun (jika digunakan dalam jumlah banyak), tetapi jika digunakan dalam takaran yang pas justru mempunyai aktivitas fisiologi yang penting bagi kesehatan, sehingga alkaloid dapat digunakan secara luas dalam bidang pengobatan (Harborne, 1996). Alkaloid memiliki struktur yang luas dan bentuk dasar yang berbeda-beda, sehingga memiliki aktivitas farmakologis yang beragam (Hadi, 2001). Alkaloid memiliki struktur yang mirip dengan efedrindan (bahan ini banyak digunakan untuk terapi pengobatan), terdapat dalam berbagai jenis tumbuhan.

Tabel 1. Hasil uji kualitatif fitokimia cascara dari kopi robusta

Senyawa Fitokimia	Sampel	
	Cascara	Ekstrak Air
Alkaloid	+	+
Saponin	+	+
Fenol	+	+
Flavonoid	+	+
Tanin	+	+
Sterol	+	+

Keterangan: tanda + artinya mengandung senyawa tersebut

Identifikasi senyawa fitokimia pada cascara dilakukan dengan mereaksikan ekstrak yang telah diencerkan (untuk ekstrak air), dan bubuk cascara dengan beberapa reagen, yaitu Mayer, Dragendorff, dan reagen Wagner. Reaksi positif pada pengujian alkaloid dengan reagen Mayer terjadi pada semua sampel, diindikasikan dengan terbentuknya endapan yang berwarna putih. Pada reagen Dragendorff reaksi positif diindikasikan dengan pembentukan endapan coklat muda hingga kuning terjadi pada seluruh sampel. Pada reagen Wagner, reaksi positif dicirikan dengan terbentuknya endapan disebabkan karena terbentuk senyawa kompleks antara alkaloid dari cascara dengan ion logam K^+ pada tiap-tiap pereaksi yang

digunakan (Marliana *et al.*, 2005). Hasil positif pengujian alkaloid harus terpenuhi syarat minimal yaitu terbentuk endapan pada dua reagen pengujian (dari tiga reagen uji), hal ini dapat disimpulkan bahwa uji alkaloid positif pada semua sampel. Endarini (2016) menyatakan, alkaloid dalam tumbuhan terdapat dalam 2 bentuk, yaitu bentuk bebas dan berbentuk kompleks (berikatan dengan mineral membentuk garam) yang memiliki sifat berbeda dari senyawa aslinya. Alkaloid yang berbentuk basa memiliki sifat tidak larut air tetapi mudah larut dalam pelarut nonpolar (seperti benzena, eter, kloroform). Sementara alkaloid yang mengikat logam dalam bentuk garam, mudah larut dalam pelarut polar. Kesimpulan ini menjadi dasar bahwa alkaloid pada cascara yang berasal dari kulit kopi berbentuk kompleks (garam organik) terlihat dari reaksi positif pada pelarut air.

Uji saponin dilakukan dengan metode Forth, prinsip adalah terjadi reaksi hidrolisis saponin dengan molekul air. Uji positif disebabkan karena terbentuknya molekul aglikon (disebabkan karena adanya pelepasan molekul gula dari bentuk senyawa glikosida), senyawa ini memiliki kemampuan membentuk busa atau buih dalam air (Mangiwa & Maryuni, 2019). Berdasarkan uji saponin, reaksi positif terjadi pada seluruh sampel baik sampel kering maupun ekstrak air (ciri positif dengan adanya busa yang berwarna putih). Setyowati *et al.* (2014), menyatakan bahwa uji saponin dikatakan positif jika terbentuk busa yang mampu bertahan minimal dalam waktu 10 menit, (setelah sampel dikocok), serta membentuk busa yang stabil setelah ditambahkan dengan bahan HCl 2M.

Saponin berupa glikosida dalam tanaman yang terdiri atas gugus sapogenin, heksosa, pentosa, atau unsur asam uronat (Winarno, 1990). Uji saponin yang paling sederhana dapat dilakukan dengan melakukan pengocokan pada ekstrak alkohol-air dari tumbuhan, hasil positif dicirikan dengan terbentuknya busa yang stabil yang berada di permukaan cairan. Saponin merupakan komponen glikosida kompleks, pada tanaman, saponin terdapat dalam kondisi terkondensasi dengan gula yang terikat pada senyawa hidroksil organik. Senyawa ini, apabila dihidrolisis secara sempurna akan menghasilkan 2 senyawa utama, yaitu gula dan bahan non-gula (aglikon). Saponin dikelompokkan menjadi dua kelompok besar yaitu Saponin triterpenoid dan saponin steroid. Kedua jenis saponin ini, memiliki tingkat kelarutan yang hampir sama yaitu larut dalam air dan etanol, tetapi tidak larut dalam eter (Robinson, 1995). Senyawa saponin memiliki sifat amfifilik artinya memiliki gugus yang bersifat polar dan non-polar dalam satu molekul, bersifat aktif permukaan, kondisi ini menyebabkan saponin dapat terhidrolisis dengan air dan mampu membentuk misel setelah dilakukan pengocokan. Misel mampu berinteraksi dengan air, karena bagian polar yang berada di posisi luar, dan bagian non polar berada pada posisi dalam, hal inilah menyebabkan nampak seperti berbusa pada molekul air (Robinson, 1995).

Pada pengujian fenol dinyatakan positif apabila terjadi perubahan warna hijau hingga hijau kehitaman pada sampel setelah ditambahkan dengan FeCl_3 5 %. Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa seluruh sampel dinyatakan positif, karena terjadi perubahan warna menjadi hijau tua. Hal ini disebabkan karena senyawa fenol memiliki gugus hidroksil (dalam jumlah banyak) yang mampu mengikat ion Fe^{3+} pada larutan FeCl_3 5 % sehingga terbentuk senyawa kompleks berwarna hijau sampai hijau kehitaman (Harborne, 1987).

Pada pengujian kandungan flavonoid dinyatakan positif bila terjadi perubahan warna pada ekstrak menjadi merah, kuning atau jingga pada sampel setelah ditambah dengan bahan Mg dan HCl. Dari hasil penelitian ini, menunjukkan bahwa semua sampel cascara (baik kering maupun ekstrak air/difermentasi pada RH ruang 80-95%) menunjukkan reaksi positif pada pengujian flavonoid. Khotimah (2016) menyatakan bahwa, hal ini disebabkan karena logam Mg (oksidator) dan HCl (membantu proses hidrolisis), mereduksi inti benzopiron yang menyusun struktur dasar flavonoid dan terbentuk garam flavilium (garam inilah yang berwarna merah atau jingga pada ekstrak cascara).

Flavonoid merupakan golongan fenol alam yang terdapat dalam jumlah paling besar jika dibandingkan dengan golongan lainnya. Flavonoid memiliki stuktur dasar yang terdiri atas rangkaian senyawa C6-C3-C6. Struktur flavonoid memiliki kerangka karbon yang terdiri dari dua gugus C6 (cincin benzene tersubstitusi) yang dihubungkan melalui rantai alifatik yang terdiri atas tiga senyawa karbon. Golongan flavonoid didominasi oleh senyawa yang larut dalam air, sehingga mudah diekstraksi dengan etanol 70% dan berada pada lapisan air setelah ekstrak dikocok dengan eter minyak bumi (pelarut organik). Flavonoid memiliki gugus fenol, akibatnya akan mengalami perubahan warna pada saat ditambah basa atau amoniak. Secara alami, Flavonoid yang ada pada tanaman, dalam bentuk glikosida artinya terikat pada gula tetapi sebagian kecil ada dalam bentuk aglikon (tanpa molekul gula). Flavonoid pada tumbuhan (termasuk pada bunga dan buah-buahan), umumnya berada bersamaan dengan golongan flavonoid lain, (atau berupa campuran beberapa flavonoid), akibatnya warna yang dihasilkan juga terdapat dalam rentang yang luas, dari cream (tidak berwarna) sampai ungu (warna gelap) (Roswita, 2006). Dalam metabolisme tubuh manusia, flavonoid memiliki fungsi positif bagi kesehatan, antara lain mampu menghambat enzim lipooksigenase yang berperan dalam biosintesis prostagaldin. Mampu menghambat reaksi oksidasi, sehingga memberikan efek positif jika dikonsumsi secara rutin sebagai bahan antioksidan (Robinson, 1995). Nurachman (2002) menyatakan bahwa flavanoid memiliki kapasitas antioksidan yang baik dan banyak digunakan sebagai salah satu komponen penting bahan baku obat-obatan.

Tabel 2, menunjukkan bahwa semakin tinggi RH ruangan fermentasi maka semakin tinggi pula pH cascara yang dihasilkan. Cascara dalam bentuk bubuk memiliki pH yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan pH cascara yang diekstrak dengan air. Artinya pH ekstrak cascara memiliki rasa yang lebih asam dibanding dengan bubuk cascaranya. PH tertinggi dimiliki cascara perlakuan A₁B₄ dan pH terendah dimiliki cascara perlakuan A₂B₁. Hasil uji statistic ($P > 0,05$) menunjukkan bahwa bentuk sajian dan RH ruangan fermentasi berpengaruh nyata terhadap pH cascara yang dihasilkan. Dari uji lanjut BNJ 5% menunjukkan bahwa perlakuan A₁B₄ berbeda tidak nyata dengan perlakuan A₁B₃, A₁B₂ dan berbeda nyata dengan perlakuan yang lain.

Tabel 2. Nilai pH Cascara kopi robusta

Perlakuan	Nilai pH	BNJ ($P > 0,05$)= 0,46
A ₂ B ₁	4,26	a
A ₂ B ₂	4,33	ab
A ₂ B ₃	4,73	b
A ₂ B ₄	4,85	bc
A ₁ B ₁	5,22	cd
A ₁ B ₂	5,47	de
A ₁ B ₃	5,58	de
A ₁ B ₄	5,84	e

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang sama ($P > 0,05$), artinya berbeda tidak nyata dan angka yang diikuti huruf berbeda ($P > 0,05$), artinya berbeda nyata

pH cascara dipengaruhi oleh kandungan senyawa yang ada didalam bahan, semakin tinggi RH ruangan fermentasi maka semakin tinggi pula pH cascara yang dihasilkan. Kulit kopi mengandung karbohidrat 35%, protein 5,2%, serat 30,8%, dan pulp atau daging buah yang melekat pada kulit kopi mengandung protein 8,9%, gula 4,1%. Kopi robusta mengandung kafein sebesar 1,50%-2,72% (Mulato *et al.*, 2006). Salah satu senyawa penyusun kafein adalah alkaloid yang ditandai dengan rasa pahit (Budiman *et al.*, 2010). Berdasarkan hal tersebut dapat disimpulkan bahwa, kulit kopi robusta memiliki kadar alkaloid yang lebih tinggi. Alkaloid adalah senyawa yang paling banyak ditemukan di alam

yang memiliki sifat basa atau alkali karena adanya atom nitrogen (N) yang terdapat pada senyawa tersebut (Putri *et al.*, 2013). pH cascara juga dipengaruhi oleh kadar tanin, selama proses fermentasi, terjadi perubahan senyawa fenol menjadi theaflavin dan thearubigin (senyawa polifenol), ini bersifat lebih basa jika dibandingkan dengan senyawa asalnya, yaitu senyawa fenol. Penurunan nilai pH cascara disebabkan oleh terbentuknya thearubigin merupakan produk utama pada proses fermentasi (oksidasi enzimatis). Semakin lama terjadi proses fermentasi maka menghasilkan thearubigin yang lebih banyak jika dibandingkan dengan theaflavin, sehingga seduhan teh semakin basa. Thearubigin pada teh hitam menurut Rohdiana (1999) memiliki warna kecoklatan dan memiliki sifat asam kuat.

Tabel 3, menunjukkan bahwa semakin tinggi RH ruangan fermentasi maka semakin tinggi pula kadar total fenol cascara yang dihasilkan. Cascara dalam bentuk bubuk memiliki pH yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan pH cascara yang diekstrak dengan air. Kadar total fenol tertinggi dimiliki cascara perlakuan A₂B₁ dan nilai IC₅₀ terendah dimiliki cascara perlakuan A₁B₄. Hasil uji statistik ($P > 0,05$) menunjukkan bahwa bentuk sajian dan RH ruangan fermentasi berpengaruh nyata terhadap nilai IC₅₀ cascara yang dihasilkan. Dari uji lanjut BNJ 5% menunjukkan bahwa perlakuan A₁B₄ berbeda tidak nyata dengan perlakuan A₁B₃ dan berbeda nyata dengan perlakuan yang lain.

Tabel 3. Kadar total fenol Cascara kopi robusta

Perlakuan	Kadar Fenol (mg/g)	BNJ ($P > 0,05$) = 0,09
A ₂ B ₁	1,88	a
A ₂ B ₂	1,96	ab
A ₂ B ₃	2,01	b
A ₂ B ₄	2,23	c
A ₁ B ₁	2,33	d
A ₁ B ₂	2,35	d
A ₁ B ₃	2,36	de
A ₁ B ₄	2,45	e

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang sama ($P > 0,05$), artinya berbeda tidak nyata dan angka yang diikuti huruf berbeda ($P > 0,05$), artinya berbeda nyata

Selama proses fermentasi (oksidasi enzimatis), senyawa polifenol mengalami oksidasi dengan bantuan enzim polifenol oksidase membentuk senyawa kompleks yang lain, tannin yang merupakan senyawa fenol mengalami oksidasi sehingga mempengaruhi total fenol pada seduhan teh (Puspaningrum dan Sumadewi, 2020). Menurut Somantri (2012), pada proses pengolahan terjadi oksidasi senyawa polifenol menjadi senyawa turunannya, sehingga pada pengolahan teh hijau (pengolahan yang minimalis), menghasilkan polifenol yang lebih tinggi. Pada penelitian ini, semakin tinggi RH ruangan fermentasi, maka kadar polifenol semakin tinggi, hal ini menunjukkan bahwa dengan adanya penambahan air dalam bentuk uap (dengan penyemprotan), mampu mengurangi oksidasi polifenol. Menurut Yuwanti *et al.* (2018) dengan adanya penambahan air di ruang fermentasi, maka mengurangi kadar oksigen dalam ruang fermentasi, sehingga oksidasi polifenol menjadi lebih rendah.

Tabel 4, menunjukkan bahwa semakin tinggi RH ruangan fermentasi maka semakin rendah pula kadar tanin cascara yang dihasilkan. Cascara dalam bentuk bubuk memiliki pH yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan pH cascara yang diekstrak dengan air. Kadar tanin tertinggi dimiliki cascara perlakuan A₁B₁ dan pH terendah dimiliki cascara perlakuan A₂B₄. Hasil uji statistik ($P > 0,05$) menunjukkan bahwa RH ruangan berpengaruh tidak nyata terhadap kadar tannin cascara, sementara bentuk sajian dan interaksi berpengaruh nyata terhadap kadar tanin cascara yang dihasilkan. Dari uji lanjut BNJ 5% menunjukkan

bahwa perlakuan A_1B_4 berbeda tidak nyata dengan perlakuan A_1B_1 , A_1B_2 , A_1B_3 dan berbeda nyata dengan perlakuan yang lain.

Saat dilakukan fermentasi, semakin lama waktu fermentasi maka jumlah senyawa yang tannin yang mengalami oksidasi akan semakin banyak dan semakin sedikit kandungan tannin dalam sampel tersebut. Namun, proses oksidasi enzimatik pada tannin ini tidak menyebabkan kehilangan senyawa tannin, dikarenakan oksidasi yang terjadi tidak terlalu tinggi, menyebabkan senyawa tannin yang berkurang hanya sedikit. Dari Tabel 4, menunjukkan bahwa semakin semakin tinggi RH ruangan fermentasi, kadar tannin pada cascara juga semakin tinggi, hal ini menunjukkan bahwa dengan adanya penyemprotan air pada ruang fermentasi dapat mengurangi oksidasi pada senyawa tannin.

Tabel 4. Kadar total tanin Cascara kopi robusta

Perlakuan	Kadar Tanin (mg/g)	BNJ ($P > 0,05$)= 0,34
A_2B_4	2,33	a
A_2B_3	2,37	a
A_2B_2	2,42	a
A_2B_1	2,43	a
A_1B_4	3,33	b
A_1B_3	3,41	b
A_1B_2	3,44	b
A_1B_1	3,46	b

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang sama ($P > 0,05$), artinya berbeda tidak nyata dan angka yang diikuti huruf berbeda ($P > 0,05$), artinya berbeda nyata

Tabel 5. Aktivitas antioksidan dalam IC_{50} kopi robusta

Perlakuan	Kadar Fenol (mg/Kg)	BNJ ($P > 0,05$)= 3,56
A_1B_4	66,40	a
A_1B_3	66,93	a
A_1B_2	67,54	a
A_1B_1	67,94	a
A_2B_4	68,40	a
A_2B_3	69,99	ab
A_2B_2	73,40	bc
A_2B_1	75,39	c

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang sama ($P > 0,05$), artinya berbeda tidak nyata dan angka yang diikuti huruf berbeda ($P > 0,05$), artinya berbeda nyata

Tabel 5, menunjukkan bahwa semakin tinggi RH ruangan fermentasi maka semakin rendah pula nilai IC_{50} cascara yang dihasilkan. Cascara dalam bentuk bubuk memiliki nilai IC_{50} yang lebih rendah jika dibandingkan dengan nilai IC_{50} cascara yang diekstrak dengan air. Nilai IC_{50} tertinggi dimiliki cascara perlakuan A_2B_1 dan nilai IC_{50} terendah dimiliki cascara perlakuan A_1B_4 . Hasil uji statistik ($P > 0,05$) menunjukkan bahwa bentuk sajian berpengaruh tidak nyata terhadap nilai IC_{50} cascara, RH ruangan dan interaksi berpengaruh nyata terhadap nilai IC_{50} cascara yang dihasilkan. Dari uji lanjut BNJ 5% menunjukkan bahwa perlakuan A_1B_4 berbeda tidak nyata dengan perlakuan A_1B_1 , A_1B_2 , A_1B_3 dan berbeda nyata dengan perlakuan yang lain.

Aktifitas antioksidan diukur dalam 2 kriteria, yaitu kemampuan penangkapan radikal bebas terhadap DPPH (dengan satuan %) dan kemampuan penghambatan oksidasi dalam IC_{50} mg/L ekstrak. Semakin tinggi nilai persen penghambatan, menunjukkan kemampuan senyawa tersebut, sebagai bahan antioksidan semakin bagus, artinya memiliki daya hambat yang mendekati DPPH (Marcelinda *et al.*, 2016). IC_{50} menunjukkan kemampuan sebuah senyawa (dalam satuan berat/volume) dapat mereduksi oksidator sebanyak 50% dari jumlah awal, jika nilai IC_{50} besar, artinya dibutuhkan jumlah yang banyak/ besar untuk

menghambat oksidasi, dapat disimpulkan bahwa kemampuan bahan sebagai agen antioksidan kurang baik (Soeroso *et al.*, 2017). Semakin rendah nilai IC₅₀ dapat diartikan semakin bagus bahan tersebut digunakan untuk agen antioksidan (Wigati *et al.*, 2018). Tabel 5 menunjukkan bahwa semakin besar RH fermentasi, maka semakin tinggi pula kapasitas antioksidan yang dimiliki oleh cascara, artinya nilai IC₅₀ cascara lebih kecil. Nilai IC₅₀ terkecil pada perlakuan A₁B₄ sebesar 66,40 mg/kg bahan, artinya dalam 1 kg bahan terdapat 66,4 mg bahan antioksidan yang mampu menurunkan 50% oksidator dari jumlah oksidator mula-mula. Nilai IC₅₀, sejalan dengan kadar tannin dan kadar total fenol yang terdapat pada cascara, karena tannin dan fenol memiliki kemampuan sebagai bahan antioksidan. Semakin tinggi kadar tannin dan total fenol, maka nilai Nilai IC₅₀nya semakin kecil, artinya cascara memiliki daya hambat yang besar terhadap reaksi oksidasi.

Menurut Lestari *et al.* (2018), senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan merupakan senyawa yang mempunyai gugus hidroksil (-OH) dan gugus alkoksi (-OR) misalnya pada senyawa fenol. Menurut Coronel *et al.*, (2004) menyatakan ada empat kelompok utama polifenol pada kulit kopi antara lain flavan-3-ols, *hydroxycinnamic acid*, *flavanols*, dan *anthicyanidins*. Selain itu kulit kopi juga mengandung antosianin, vitamin C, betakaroten, gula reduksi, dan antioksidan (Ariadi dan Windrati, 2015). Bahan-bahan lain yang berpotensi sebagai antioksidan pada kulit kopi antara lain asam klorogenat, asam galat, asam *protocatechuic*, dan rutin (Heeger *et al.*, 2017).

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah: seluruh sampel positif mengandung saponin, flavonoid, alkaloid dan tannin baik pada sampel cascara serbuk maupun pada ekstrak air. RH ruangan fermentasi berpengaruh nyata meningkatkan pH, kadar total fenol, kadar tannin dan menurunkan nilai IC₅₀. Pelarutan cascara dalam fraksi air secara nyata menurunkan kadar total fenol, kadar tannin dan meningkatkan nilai pH. Sedangkan interaksi faktor A dan B, berpengaruh nyata pada nilai pH, Total fenol, kadar tannin dan nilai IC₅₀. Perlakuan terbaik pada cascara yang difermentasi pada RH 95% dan dalam bentuk serbuk, dengan karakter sebagai berikut: positif mengandung Uji saponin, Uji flavonoid, Uji alkaloid, Uji tannin, nilai pH sebesar 5,84, kandungan total fenol sebesar 2,45 mg/g, kandungan tannin sebesar 3,67 mg/g dan nilai IC₅₀ sebesar 67,94 mg/Kg

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian/publikasi artikel ini dibiayai oleh: Anggaran DIPA Badan Layanan Umum Universitas Sriwijaya, Tahun Anggaran 2021 Nomor: SP DIPA-023.17.2.677515/2021, tanggal 23 November 2020 Sesuai dengan SK Rektor Nomor: 0010/UN9/SK.LP2MP.PT/2021 Tanggal 28 April 2021.

DAFTAR PUSTAKA

- Galanakis CM. 2017. *Handbook of coffee processing by-products: sustainable applications*. United Kingdom. Academic Press.
- Harborne JB. 1987. *Metode fitokimia: penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Heeger A, A Konsinska-Cagnazzo, E Cantergini, and W Andlauer. 2016. Bioactives of coffee cherry pulp and its utilisation for production of *cascara* beverage. *Food Chemistry*. 221: 969-975.

- Heeger A, Agnieszka KC, Ennio C, Wilfried A. 2017. Bioactives of coffee cherry pulp and its utilisation for production of cascara beverage. *Food chem.* 221(1): 969-975.
- Mangiwa S, Maryuni AE. 2019. Skrining fitokimia dan uji antioksidan ekstrak biji kopi sangrai jenis arabika (*Coffea arabica*) asal wamena dan moanemani, papua. *Jurnal Biologi Papua.* 11(2): 103-109.
- Marcelinda A, Ridhay A, Prismawirayanti. 2016. Aktivitas antioksidan ekstrak limbah kulit ari biji kopi berdasarkan tingkat kepolaran pelarut. *J. Nat. Sci.* 5(1): 21-23.
- Marlina, DS, Suryanti V, Suyono. 2005. Skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis komponen kimia buah labu siam (*Sechium edule Jacq. Swart*) dalam ekstrak etanol. *Jurnal Biofarmasi.* 3(1): 26-31.
- Mulato S, Widyotomo S, Suharyanto E. 2006. *Teknologi proses dan pengolahan produk primer dan sekunder kopi.* Jember: Pusat Penelitian Kopi dan Kakao.
- Nafisah D, Widyaningsih TD. 2018. Kajian metode pengeringan dan rasio penyeduhan pada proses pembuatan teh cascara kopi arabika (*Coffea arabica L.*). *Jurnal Pangan dan Agroindustri.* 6(3): 37-47.
- Puspaningrum DHD, Sumadewi NLU. 2020. Pengaruh pengeringan terhadap total fenol dan kapasitas antioksidan kulit buah kopi arabika (*Coffea arabica L.*). *Sci. J. Food. Tech.* 6(2): 89-95.
- Roswita MA. 2006. Pemanfaatan buah salak (*Sallaca zalacca (Gaertner) Voss*) kualitas rendah menjadi sari buah (kajian garam dan lama perendaman dalam larutan gula). *Skripsi.* Universitas Brawijaya Malang.
- Sharma GN. 2011. Phytochemical screening and estimation of total phenolic content in aegle marmelos seeds. *Int. J. Pharm. Clin. Res.* 2(3): 27-29.
- Simanihuruk KJ, Sirait. 2010. Silase kulit buah kopi sebagai pakan dasar pada kambing boerka sedang tumbuh. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner.
- Soeroso EG, Lestario LN, Martono Y. 2017. Penambahan gula dapat meningkatkan stabilitas warna ekstrak antosianin buah murbei hitam yang terpapar cahaya fluoresens. *J. Teknol. Industri Pangan.* 28 (1): 62-69.
- Sugito, Rosidah U, Yuliati K. 2020. Identifikasi senyawa fitokimia dan aplikasi fermentasi pada pembuatan cascara. Penelitian SATEKS. Universitas Sriwijaya.
- Wigati EI, Pratiwi E, Nissa TF, Utami NF. 2018. Uji karakteristik fitokimia dan aktivitas antioksidan biji kopi robusta (*coffea canephora pierre*) dari Bogor, Bandung dan Garut dengan metode *DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)*. *Fitofarmaka.* 8(1).
- Yuwanti, S, Lindriati T, Anggraeni RD. 2018. Stabilitas, total polifenol, dan aktivitas antioksidan mikroemulsi ekstrak cascara (teh kulit kopi) menggunakan minyak kelapa dan minyak kelapa sawit. *Jurnal Agroteknologi.* 12(2):184-195.
- Zia K, Y Aisyah, Zaidiyah, Widayat HP. 2019. Karakteristik fisikokimia dan sensori permen jelly kulit buah kopi (pulp) dengan penambahan gelatin dan sari lemon (*Citrus limon L.*). *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia.* 11(1): (32-38).