

Kadar Bioaktif dan Aktivitas Antioksidan Seduhan Kopi Arabika dengan Variasi Metode Penyeduhan

Bioactive Content and Antioxidant Activity of Arabica Coffee Brewed with Various Brewing Methods

Christian Liguori^{1,3)}, Puspo Edi Giriwono^{2,3)*}, Dian Herawati^{2,3)}

¹⁾ Program Studi Ilmu Pangan, Sekolah Pascasarjana, IPB University, Bogor

²⁾ Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB University, Bogor

³⁾ South-East Asia Food & Agricultural Science and Technology (SEAFAST) Center, LPPM, IPB University, Bogor

Abstract. Coffee contains abundant bioactive compounds related to health, among which are phenolic acids and diterpenes. This study aimed to investigate phenolic acids and diterpenes content in Arabica Gayo coffee, and its *in-vitro* antioxidant activities due to different brewing methods. The manual brewing methods used were tubruk (steeping), V60 drip, and hanging drip bag. The analysis conducted was determination of phenolic acid content as chlorogenic acid isomers (as 3-caffeoylquinic acid (3-CQA), 4-caffeoylquinic acid (4-CQA), and 5-caffeoylquinic acid (5-CQA)), diterpenes content (as cafestol and kahweol), and antioxidant activity using DPPH and FRAP method. The result showed that tubruk brew had 3-CQA, 4-CQA, and 5-CQA content of 0.38, 0.45, and 1.11 mg/mL, respectively, while V60 brew contained 0.39, 0.45, and 1.18 mg/mL, respectively. They were significantly higher than those in the drip bag, 0.25, 0.33, and 0.85 mg/mL, respectively. Cafestol and kahweol content in tubruk were significantly higher, reaching 3.03 and 7.86 mg/L consecutively, as in V60 were 0.40 and 1.02 mg/L and in drip bag were 0.46 and 0.85 mg/L. DPPH result displayed no significant difference per sample volume (918.45-921.17 mg ascorbic acid equivalent/L). FRAP result showed tubruk brew has the highest activity with 635.12 mg gallic acid equivalent/L, compared to V60 and drip bag brew at 560.91 and 551.10 mg gallic acid equivalent/L, consecutively. The results revealed that brewing methods affect the bioactive content of the final brew, namely phenolic acids and diterpenes. Various methods may differ in the variety and amount of other extracted bioactive compounds, which affects the antioxidant activities of coffee brew.

Keywords: antioxidant activity, bioactive compound, coffee, manual brewing methods

Abstrak. Kopi mengandung banyak senyawa bioaktif yang berkaitan dengan kesehatan, di antaranya asam fenolat dan diterpen. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi kandungan asam fenolat dan diterpen pada kopi Arabika Gayo, serta aktivitas antioksidannya secara *in-vitro* sebagai akibat dari perbedaan metode penyeduhan. Metode penyeduhan manual yang digunakan adalah tubruk, V60 drip, dan *hanging drip bag*. Analisis yang dilakukan meliputi penentuan kadar asam fenolat sebagai isomer asam klorogenat (sebagai 3-caffeoylquinic acid (3-CQA), 4-caffeoylquinic acid (4-CQA), dan 5-caffeoylquinic acid (5-CQA)), kadar diterpen (sebagai kafestol dan kahweol), serta aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dan FRAP. Hasilnya menunjukkan seduhan tubruk memiliki kadar 3-CQA, 4-CQA, dan 5-CQA berturut-turut 0,38; 0,45; dan 1,11 mg/mL, sedangkan seduhan V60 mengandung 0,39; 0,45; dan 1,18 mg/mL. Kandungan tersebut secara signifikan lebih tinggi dibandingkan dalam seduhan *drip bag* berturut-turut sebesar 0,25; 0,33; dan 0,85 mg/mL. Kadar kafestol dan kahweol seduhan tubruk secara signifikan lebih tinggi, berturut-turut mencapai 3,03 dan 7,86 mg/L, sementara pada seduhan V60 adalah 0,40 dan 1,02 mg/L, serta pada seduhan *drip bag* adalah 0,46 dan 0,85 mg/L. Hasil uji DPPH menunjukkan tidak ada beda nyata untuk setiap satuan volume sampel (918,45-921,17 mg ekuivalen asam askorbat/L). Hasil uji FRAP menunjukkan seduhan tubruk memiliki aktivitas tertinggi yaitu 635,12 mg ekuivalen asam galat/L, dibanding seduhan V60 dan *drip bag* berturut-turut sebesar 560,91 dan 551,10 mg ekuivalen asam galat/L. Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode penyeduhan memengaruhi kandungan senyawa bioaktif seduhan akhir, yang dalam penelitian ini adalah asam fenolat dan diterpen. Perbedaan metode dapat menyebabkan perbedaan jenis dan jumlah senyawa bioaktif lain yang terekstrak, sehingga memengaruhi aktivitas antioksidan seduhan kopi.

Kata kunci: aktivitas antioksidan, kopi, penyeduhan manual, senyawa bioaktif

Aplikasi Praktis: Variasi metode penyeduhan karena faktor tradisi dan teknologi berpengaruh terhadap proses ekstraksi, sehingga selain mengakibatkan perbedaan profil organoleptik seduhan, dapat pula menyebabkan perbedaan kadar senyawa bioaktif dan aktivitas antioksidan pada seduhan akhir. Pengetahuan mengenai potensi senyawa bioaktif dan aktivitas antioksidan dalam seduhan dapat dijadikan daya tarik terhadap minuman kopi dan minat konsumen terkait preferensi metode penyeduhannya, serta menampilkan sisi lain kopi sebagai salah satu komoditas ekspor unggulan.

*Korespondensi: pegiriwono@apps.ipb.ac.id

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan penghasil kopi keempat terbesar di dunia. Kopi arabika merupakan komoditas unggulan yang produksinya terus meningkat, dengan Dataran Tinggi Gayo di Aceh sebagai salah satu penghasil terbesar yang memberikan sumbangsih lebih dari 25% produktivitas nasional (Kementan RI 2017). Keunggulan mutu organoleptik kopi Gayo telah dikenal luas karena kondisi tanah dan proses pascapanen yang baik (Muzaifa dan Hasni 2016), namun penelitian seputar senyawa fungsionalnya masih terbatas. Kopi sering diasosiasikan dengan kafein saja, meskipun telah banyak terungkap senyawa bioaktif lain yang berkorelasi dengan kesehatan seperti kelompok asam fenolat, alkaloid, dan diterpen (Lee *et al.* 2016; Liang *et al.* 2016; Farias-Pereira *et al.* 2019).

Asam fenolat kopi sebagian besar berupa asam klorogenat, dengan senyawa *5-caffeoylquinic acid* (5-CQA) sebagai isomer yang dominan, di samping 4-CQA dan 3-CQA. Asam fenolat merupakan kontributor utama sifat antioksidan kopi. Kelompok senyawa ini rentan terhadap suhu tinggi sehingga kadarnya turun selama proses penyangraian (Vignoli *et al.* 2014). Secara umum, kelarutannya dalam air cukup baik sehingga penyeduhan sederhana dapat mengekstrak 40-95% asam klorogenat dari biji kopi sangrai (Farah dan de Paula Lima 2019).

Lipid kopi merupakan fraksi non-polar yang banyak dieksplorasi karena kemampuannya sebagai pembawa senyawa citarasa sekaligus pembentuk bodi seduhan (Novaes *et al.* 2019). Diterpen mulanya dikaji sebagai faktor pembeda kopi arabika dan robusta. Diterpen utama dalam kopi arabika adalah kafestol dan kahweol, sedangkan dalam kopi robusta sebagian besar berupa kafestol (Schievano *et al.* 2014). Jumlah diterpen dapat berkisar 1,3-1,9% dari berat *green bean* kopi arabika, dan sebagian besar dalam bentuk ester dengan asam palmitat (Moeenfarid *et al.* 2015). Beberapa penelitian menunjukkan hubungan antara asupan diterpen atau konsumsi kopi dengan peningkatan kadar kolesterol (Daneschvar *et al.* 2021; Lu *et al.* 2023), namun riset-riset terkini mengungkapkan peran positif kafestol dan kahweol, seperti anti-inflamasi, anti-mutagenik, dan potensinya sebagai anti-diabetik (Mellbye *et al.* 2017; Ren *et al.* 2019).

Penyeduhan merupakan proses mengekstrak kandungan biji kopi. Faktor tradisi dan teknologi memunculkan beragam teknik penyeduhan. Metode penyeduhan manual (*manual brewing*) semakin populer dewasa ini seiring dengan meningkatnya minat konsumen terhadap citarasa otentik kopi yang unik karena perbedaan daerah penanaman dan proses pascapanen. Metode tubruk merupakan teknik penyeduhan manual khas Indonesia dengan cara menambahkan air panas langsung pada bubuk kopi. Seiring dengan berkembangnya kedai-kedai kopi, teknik filtrasi dengan kertas saring seperti V60 menjadi populer karena menghasilkan seduhan yang lebih bersih dan ringan. Kebutuhan akan kepraktisan memunculkan inovasi dalam bentuk *drip bag*, yaitu

kertas saring yang dapat digantungkan pada cangkir sehingga dapat menggantikan peran corong dan kertas saring sekaligus. Perbedaan teknik penyeduhan dapat memengaruhi keberadaan senyawa tertentu dalam seduhan, termasuk senyawa bioaktifnya (Milek *et al.* 2021). Ukuran partikel bubuk kopi (Derossi *et al.* 2018), suhu air dan durasi kontak bubuk kopi dengan air panas (Kaur *et al.* 2018), serta keberadaan bahan penyaring (Zhang *et al.* 2012) merupakan beberapa faktor yang dapat mempengaruhi proses ekstraksi.

Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi pengaruh metode penyeduhan terhadap kadar beberapa senyawa bioaktif dalam sampel kopi arabika gayo, yaitu asam fenolat dalam bentuk 3-CQA, 4-CQA, dan 5-CQA, serta diterpen berupa kafestol dan kahweol. Aktivitas antioksidan hasil seduhan secara *in vitro* diamati untuk mendapatkan gambaran awal mengenai potensinya ketika dikonsumsi. Pengamatan dilakukan terhadap biji kopi yang disangrai mengacu pada kelaziman tingkat sangrai komersial. Hasil yang diperoleh diharapkan dapat memperluas khazanah dan sudut pandang terhadap komoditas kopi lokal Indonesia, serta memperkaya pengetahuan tentang kopi dari segi manfaat kesehatan.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Objek penelitian berupa kopi Arabika Gayo yang diperoleh dalam bentuk *green bean*. Bahan yang digunakan dalam penyeduhan adalah akuades, *paper filter* V60 tipe VCF-01 (Hario, Jepang), dan *drip bag* (Wenzhou Zhanfei Packaging Co., Ltd., China). Senyawa standar yang digunakan adalah 3-CQA, 4-CQA, 5-CQA, asam galat, dan asam askorbat (Sigma, Amerika Serikat), serta kafestol dan kahweol (Phytolab, Jerman). Fase gerak HPLC yang digunakan adalah metanol, asam format, dan H₂O (Merck, Jerman). Reagen analisis meliputi KOH, Metil-Tert-Butil Eter (MTBE) dan etanol p.a (Merck, Jerman), serta 2,2-diphenyl-picrylhydrazyl (DPPH) dan TPTZ (Sigma, Amerika Serikat). Bahan-bahan lain yang digunakan antara lain KOH, NaCl, Na₂SO₄ anhidrat, asam asetat glasial, natrium asetat, FeCl₃.6H₂O, dan HCl (Merck, Jerman), serta akuades.

Metode percobaan

Percobaan dilakukan dalam tiga tahap, yaitu: (1) Evaluasi kopi arabika gayo komersial; (2) Penyangraian dan penyeduhan kopi; serta (3) Analisis kadar senyawa bioaktif dan aktivitas antioksidan. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan faktor metode penyeduhan yang meliputi metode tubruk, V60, dan *drip bag*. Percobaan dilakukan dengan tiga kali ulangan. Hasil yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan ANOVA dengan uji lanjut Duncan pada piranti lunak *microsoft excel* 2016 dan SPSS Statistics 24.

Evaluasi kopi arabika gayo komersial

Evaluasi dilakukan dengan melakukan pengamatan terhadap kopi yang dijual di kedai kopi yang menyajikan kopi Arabika Gayo dan menyediakan opsi penyeduhan manual. Biji kopi, kopi giling dengan ukuran hasil giling untuk tubruk dan V60, serta kopi siap seduh dalam *drip bag* dibeli dari lima kedai kopi secara daring, yaitu tiga kedai di daerah Jakarta dan dua kedai di daerah Tangerang. Pengamatan warna secara kuantitatif dilakukan untuk biji kopi dengan menggunakan kromameter CR-400 (Konica-Minolta, Jepang) mengacu pada metode Herawati *et al.* (2018) dan ditambah pengujian pembandingan menggunakan agtron meter RoAmi TRA-3000 (Truesystems, Korea Selatan), untuk kemudian digunakan sebagai acuan kecukupan penyangraian sampel penelitian. Pengamatan ukuran hasil giling dilakukan kualitatif untuk kopi giling tubruk, V60, dan kopi dalam *drip bag* secara visual. Kopi untuk seduhan tubruk digiling halus dan dikategorikan oleh kedai-kedai kopi sebagai *fine grind* pada labelnya. Kopi untuk seduhan V60 digiling sedikit lebih kasar dan dikategorikan sebagai *medium-fine grind* pada labelnya. Kopi dalam *drip bag* secara visual menyerupai kenampakan bubuk kopi tubruk. Hasil pengamatan tersebut digunakan sebagai acuan untuk penggilingan sampel penelitian.

Penyangraian dan penyeduhan kopi

Penyangraian kopi Arabika Gayo dilakukan dengan menggunakan Probatone 12 (Probat-Werke, Jerman) hingga diperoleh sampel dengan warna sesuai tingkat penyangraian dan kategori dalam skala agtron. Teknik penyangraian mengacu pada Herawati *et al.* (2018) dengan modifikasi, yaitu penentuan titik suhu akhir yang berbeda pada beberapa kali proses penyangraian dan diikuti pengukuran dengan agtron meter untuk mendapatkan ulangan yang paling mendekati acuan sampel komersial. Percobaan penggilingan kopi dilakukan hingga diperoleh hasil giling sesuai dengan acuan kualitatif dari sampel-sampel komersial untuk masing-masing metode penyeduhan, yaitu *fine grind* untuk tubruk dan *drip bag*, serta *medium fine grind* untuk V60. Ukuran partikel *fine* hingga *coarse* merupakan konsensus di kalangan barista yang dapat mengacu pada ukuran fisik benda yang umum, seperti garam, pasir, hingga serpihan. Pengaturan penggiling kopi (Feima, China) dalam penelitian ini adalah skala 2 dari 7 untuk *fine*, dan skala 4 dari 7 untuk *medium fine*.

Penyeduhan mengacu pada *Specialty Coffee Association of America-SCAA* (2015) menggunakan rasio kopi:air 1:18 (b/b), yaitu 15 g bubuk kopi diseduh dengan 270 g akuades bersuhu $93 \pm 3^\circ\text{C}$ menggunakan *gooseneck kettle* (Brewista, China). Seduhan tubruk dibuat dengan menuangkan seluruh akuades pada bubuk kopi, mendiamkan selama empat menit hingga ampas kopi mengendap, dan memisahkan larutannya dengan metode dekantasi. Seduhan V60 dibuat dengan menimbang bubuk kopi di atas *paper filter* pada V60 *set* (Hario, Jepang), menuangkan akuades secara *pulse pouring* dengan interval 30 detik, dan mengambil hasil seduhan

yang tertampung dalam *server V60 set*. Seduhan *drip bag* dibuat dengan cara menimbang bubuk kopi ke dalam *drip bag* yang dikaitkan pada bibir gelas, menuangkan akuades secara *pulse pouring* dengan interval 20 detik, dan mengambil hasil seduhan pada gelas. Hasil seduhan disimpan dalam *freezer* (-18°C). Pada hari pengujian, sampel diambil dari *freezer*, dilakukan proses *thawing*, kemudian diambil sampel untuk pengamatan jumlah padatan terlarut menggunakan refraktometer (Atago, Jepang). Sampel selanjutnya digunakan untuk uji kuantitatif.

Penentuan kadar asam fenolat

Kadar senyawa dalam bentuk isomer 3-CQA, 4-CQA, dan 5-CQA dianalisis menggunakan RP-HPLC detektor UV-Vis (Shimadzu, Jepang), mengacu pada metode Herawati *et al.* (2018). Sebanyak 2,0 mL seduhan kopi diambil dengan menggunakan mikropipet, disaring dengan membran PTFE $0,45 \mu\text{m}$ dan diinjeksikan ke dalam kolom Zorbax C18 (Octadecyl Silane/ODS), particle size $5 \mu\text{m}$, $4,6 \times 250 \text{ mm}$ (Agilent, Amerika Serikat). Elusi menggunakan metanol (A) dan 0,05% asam format dalam H_2O (B) dilakukan secara gradien pada suhu kolom 25°C dari 0 menit (5% A), 0-30 menit (90% A), 30-35 menit (90% A), 35-40 menit (5% A), dan 40-45 menit (5% A) dengan laju alir 1,0 mL/menit. Analisis dilakukan pada panjang gelombang 320 nm. Kurva standar dibuat pada enam titik dalam rentang konsentrasi 15,6-500,0 mg/L.

Penentuan kadar diterpen

Preparasi diawali dengan saponifikasi untuk mendapatkan seluruh fraksi diterpen dalam keadaan bebas tidak teresterifikasi. Prosedur saponifikasi mengacu pada Dias *et al.* (2014) dengan menambahkan 10,0 mL seduhan kopi dengan 2,0 mL KOH 2,5 M. Campuran dipanaskan selama 60 menit pada suhu 80°C , diekstraksi dengan MTBE, diambil fase organik, dan dikeringkan dengan gas nitrogen.

Penentuan kadar diterpen dilakukan menggunakan RP-HPLC dengan kolom Zorbax C18 dan detektor UV-Vis. Hasil pembacaan dinyatakan sebagai kafestol dan kahweol. Prosedur pengujian mengacu pada Zhang *et al.* (2012) dengan modifikasi. Fase organik kering dilarutkan dengan 1,5 mL larutan fase gerak, disaring dengan membran PTFE $0,45 \mu\text{m}$, dan diinjeksikan ke dalam kolom Zorbax C18. Elusi dilakukan menggunakan fase gerak metanol:air (85:15) secara isokratik selama 20 menit dengan laju alir 0,7 mL/menit. Analisis dilakukan pada panjang gelombang 320 nm untuk kafestol dan 290 nm untuk kahweol. Kurva standar dibuat pada tujuh titik pada rentang konsentrasi 1,6-100,0 mg/L.

Aktivitas antioksidan metode DPPH

Uji *2,2-diphenyl-picrylhydrazyl* (DPPH) menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu, Jepang) mengacu pada metode Vignoli *et al.* (2011), dengan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 517 nm. Standar yang digunakan adalah asam askorbat. Kurva

standar dibuat pada enam titik dalam rentang konsentrasi 0-1000 mg/L. Hasil analisis dinyatakan dalam miligram ekuivalen asam askorbat untuk setiap liter sampel (mg EAA/L) dan untuk setiap gram padatan terlarut (mg EAA/g).

Aktivitas antioksidan metode FRAP

Uji *Ferric Reducing Ability of Plasma* (FRAP) dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu, Jepang), mengacu pada Vignoli *et al.* (2014). Absorbansi diukur pada panjang gelombang 595 nm. Standar yang digunakan adalah asam galat. Kurva standar dibuat pada enam titik dalam rentang konsentrasi 0-20 mg/L. Hasil pengujian dinyatakan dalam milligram ekuivalen asam galat per liter sampel (mg EAG/L) dan per gram padatan terlarut (mg EAG/g).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik kopi Arabika Gayo komersial

Biji kopi secara visual berwarna coklat dengan permukaan sedikit berminyak bergantung dari tingkat penyangraian. Pengukuran warna secara kuantitatif dilakukan dengan menggunakan agtron meter dan kromameter. *Specialty Coffee Association of America* (SCAA) menetapkan acuan dengan menggunakan agtron meter yang berprinsip pada penggunaan sinar infra merah dan dinyatakan dalam skala 0-100. Semakin tinggi nilai agtron, semakin terang warna biji kopi. Skala agtron dibagi ke dalam delapan rentang, yaitu *very light to light* (95-85), *light to moderately light* (85-75), *moderately light to medium light* (75-65), *medium light to medium* (65-55), *medium to moderately dark* (55-45), *moderately dark to dark* (45-35), *dark to very dark* (35-25) (de Carvalho Pires *et al.* 2021). Pengukuran dengan kromameter berfokus pada nilai *lightness* (L*). Semakin tinggi nilai L*, semakin terang warna sampel yang dianalisis. Kopi komersial untuk penyeduhan manual umumnya disangrai pada rentang *moderately light to medium light* hingga *medium to moderately dark* seperti dapat dilihat pada Tabel 1. Sampel untuk penelitian dikondisikan mewakili kondisi tersebut, dan diperoleh hasil penyangraian *medium light to medium*.

Kehalusan hasil giling bergantung dari metode penyeduhan yang akan diaplikasikan. Penyeduhan dengan aliran air relatif lambat seperti V60 membutuhkan ukuran partikel bubuk kopi yang tidak terlampau halus untuk mencegah *over-extraction* sehingga digunakan

ukuran *medium-fine*. Penyeduhan tubruk secara tradisional menggunakan bubuk kopi halus untuk mendapatkan hasil seduhan yang kuat. Kopi dalam *drip bag* yang beredar di pasaran umumnya berbentuk gilingan halus. Laju alir melalui *drip bag* relatif cepat, sehingga hasil giling kopi dibuat lebih halus daripada kopi untuk V60 untuk mencegah *under-extraction*.

Kadar senyawa asam fenolat

Asam fenolat dominan dalam kopi adalah asam klorogenat, yaitu ester antara asam kuinat dan kelompok asam hidroksisinamat. Jenis asam klorogenat ditentukan dari jenis asam hidroksisinamat, letak atom karbon yang berikatan, serta jumlah ikatan esternya. Ester asam kuinat dengan asam kafeat atau *caffeoylquinic acid* (CQA) merupakan jenis asam klorogenat terbesar dalam kopi dengan variasi isomer yang sangat beragam, di antaranya 3-CQA, 4-CQA, dan 5-CQA, serta beberapa bentuk diester seperti 3,4-diCQA, 3,5-diCQA, dan 4,5-diCQA (Liang *et al.* 2016).

Metode penyeduhan berpengaruh terhadap jumlah asam fenolat yang terekstrak, seperti ditunjukkan pada Tabel 2. Metode tubruk dan V60 menghasilkan kadar senyawa 3-CQA, 4-CQA, dan 5-CQA yang tidak berbeda nyata, namun keduanya secara signifikan lebih tinggi daripada kandungan dalam seduhan *drip bag*. Senyawa 5-CQA ditemukan sebagai isomer dengan kadar tertinggi, diikuti dengan 4-CQA dan 3-CQA. Pola ini senada dengan pernyataan penelitian yang dilakukan oleh Farah dan de Paula Lima (2019), namun berbeda dengan hasil penelitian Moeenfard *et al.* (2014) yang menunjukkan asam fenolat yang dominan adalah 3-CQA. Faktor-faktor lain yang tidak dijadikan parameter dalam penelitian ini diduga berpengaruh terhadap jenis asam fenolat yang dominan, seperti perbedaan varietas, asal daerah penanaman, serta kondisi lingkungan.

Perbedaan prinsip setiap metode, laju alir, dan durasi penyeduhan adalah faktor-faktor yang dapat berpengaruh terhadap proses ekstraksi. Pembuatan kopi tubruk berprinsip pada imersi ketika kopi mengalami kontak dengan air panas secara terus-menerus selama proses penyeduhan. Pembuatan kopi V60 berprinsip pada perkolasi dengan interval waktu 30 detik untuk setiap penuangan air panas. Penyeduhan *drip bag* tergolong ke dalam perkolasi, namun dengan laju alir relatif lebih cepat dari V60 sehingga hanya dibutuhkan 20 detik untuk interval waktu penuangan. Oleh karenanya menjadi lebih singkat daripada V60.

Tabel 1. Perbandingan nilai *lightness* (L*) dan nilai agtron kopi komersial

Jenis Kopi	<i>Lightness</i> (L*)	Nilai Agtron	Kategori Tingkat Sangrai
Komersial I	21,52±0,36	55,73±0,99	<i>Medium light to medium</i>
Komersial II	21,73±3,94	53,17±1,93	<i>Medium to moderately dark</i>
Komersial III	22,73±3,33	61,03±2,86	<i>Medium light to medium</i>
Komersial IV	26,77±7,43	53,83±1,35	<i>Medium to moderately dark</i>
Komersial V	27,56±5,48	73,17±3,36	<i>Moderately light to medium light</i>
Sampel	25,75±0,58	58,33±0,91	<i>Medium light to medium</i>

Keterangan: Data merupakan rata-rata dari tiga kali ulangan

Tabel 2. Kadar senyawa asam fenolat dalam seduhan kopi

Senyawa	Metode Penyeduhan	Kadar (mg/mL)	Kadar (g/100 g Padatan Terlarut)
3-CQA	Tubruk	0,38±0,02 ^b	2,02±0,10 ^b
	V60	0,39±0,03 ^b	1,94±0,14 ^b
	<i>Drip bag</i>	0,25±0,00 ^a	1,26±0,02 ^a
4-CQA	Tubruk	0,45±0,02 ^b	2,40±0,16 ^b
	V60	0,45±0,02 ^b	2,27±0,08 ^b
	<i>Drip bag</i>	0,33±0,01 ^a	1,63±0,04 ^a
5-CQA	Tubruk	1,11±0,09 ^b	5,98±0,64 ^b
	V60	1,18±0,06 ^b	5,89±0,29 ^b
	<i>Drip bag</i>	0,85±0,02 ^a	4,26±0,09 ^a

Keterangan: Data merupakan rata-rata dari tiga kali ulangan; Perbedaan huruf menunjukkan perbedaan yang signifikan pada taraf signifikansi 5% (nilai $p < 0.05$)

Imersi merupakan proses difusi senyawa ke dalam air. Perkolasi mengandalkan gravitasi untuk menciptakan aliran air ke bawah melewati celah antar partikel. Hasil pengujian menunjukkan kandungan asam fenolat lebih tinggi pada metode imersi serta perkolasi lambat seperti V60, dibandingkan dengan perkolasi cepat seperti *drip bag*. Asam fenolat dapat larut dalam air, sehingga semakin lama kontak bubuk kopi dengan air, semakin banyak asam fenolat yang terekstrak. Hal ini sejalan dengan penelitian Angeloni *et al.* (2019) yang menunjukkan kadar 5-CQA seduhan V60 tidak berbeda nyata dengan seduhan *french press*. Penelitian terdahulu mengenai pengaruh metode penyeduhan kopi arabika terhadap kadar asam fenolat juga menunjukkan hal serupa, yaitu kadar 3-CQA, 4-CQA, dan 5-CQA antara seduhan *french press* dan *filter* tidak berbeda nyata (Moeenfard *et al.* 2014). Prinsip ekstraksi *french press* adalah imersi, sehingga relevan digunakan sebagai pembandingan metode tubruk dalam penelitian ini.

Kadar senyawa diterpen

Diterpen yang dominan dalam kopi adalah kafestol dan kahweol, terkandung dalam bentuk bebas maupun teresterifikasi. Proses pengujian didahului dengan saponifikasi dan ekstraksi seduhan untuk mendapatkan seluruh diterpen dalam keadaan bebas. Hasil pengujian tersaji pada Tabel 3. Metode penyeduhan berpengaruh signifikan terhadap kandungan kafestol dan kahweol, hasil seduhan tubruk menunjukkan kadar kafestol dan kahweol lebih tinggi daripada kedua metode perkolasi yang lain. Proses imersi selama 4 menit pada metode tubruk membebaskan fraksi minyak kopi lebih banyak hingga membentuk lapisan pada permukaan seduhan. Diterpen yang terdapat dalam fraksi minyak kopi oleh karenanya juga terdeteksi lebih tinggi (Zhang *et al.* 2012; Angeloni *et al.* 2019).

Metode V60 dan *drip bag* menggunakan kertas saring untuk memisahkan bubuk kopi dengan hasil seduhan. Bentuk konikal *dripper* V60 dan bentuk kantong *drip bag* menyebabkan akumulasi ampas kopi, sehingga ekstraksi menjadi lebih lambat (Rendón *et al.* 2017). Laju alir yang relatif cepat menyebabkan ekstraksi senyawa non-polar kurang optimal. Bahan kertas juga menyerap minyak, sehingga fraksi minyak yang lolos tidak setinggi

pada metode tubruk. Pengaruh waktu kontak, laju alir, dan keikutsertaan partikel halus bubuk kopi pada akhir seduhan juga tampak dalam penelitian Moeenfard *et al.* (2016). Kadar ester kafestol total dan ester kahweol total dalam penelitian tersebut terdeteksi paling tinggi pada metode seduh perebusan kopi (10 menit), diikuti *french press* (2,5-3 menit), mocha, dan *paper filter bag*. Kadar ester kafestol total berturut-turut sesuai jenis penyeduhan di atas adalah 232±9, 79±10, 36±3, dan 5±1 mg/L. Kadar ester kahweol total yang terdeteksi berturut-turut adalah 1016±29, 309±15, 123±2, dan 1,8±0,3 mg/L.

Tabel 3. Kadar senyawa diterpen dalam seduhan kopi

Senyawa	Metode Penyeduhan	Kadar (mg/L)	Kadar (g/100 g Padatan Terlarut)
Kafestol	Tubruk	3,03±0,58 ^b	15,15±2,91 ^b
	V60	0,40±0,08 ^a	2,13±0,48 ^a
	<i>Drip bag</i>	0,46±0,09 ^a	2,29±0,47 ^a
Kahweol	Tubruk	7,86±1,63 ^b	39,31±8,16 ^b
	V60	1,02±0,10 ^a	5,47±0,72 ^a
	<i>Drip bag</i>	0,85±0,28 ^a	4,25±1,41 ^a

Keterangan: Data merupakan rata-rata dari tiga kali ulangan; Perbedaan huruf menunjukkan perbedaan yang signifikan pada taraf signifikansi 5% (nilai $p < 0.05$)

Kafestol dan kahweol tidak menunjukkan aktivitas pada uji *in vitro*, namun memiliki sifat fungsional dalam uji *in vivo*. Kedua senyawa tersebut menunjukkan kemampuan dalam menurunkan stres oksidatif seluler melalui serangkaian modulasi genetik. Beberapa penelitian melaporkan adanya peningkatan produksi enzim fase II, penghambatan sekresi sitokin pro-inflamasi, dan peningkatan kadar GSH pada subjek yang diberi perlakuan asupan kafestol dan kahweol (Liang dan Kitts 2014; Ludwig *et al.* 2014; Ren *et al.* 2019). Pengamatan terhadap kadar kafestol dan kahweol oleh karenanya menjadi penting untuk memberikan sudut pandang baru dalam melihat sifat fungsional kopi secara lebih komprehensif.

Aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

Aktivitas antioksidan secara *in vitro* dapat diukur dari kemampuannya meredam radikal bebas. DPPH merupakan radikal bebas stabil dengan satu elektron tidak berpasangan. Bentuk ini dapat dinetralkan oleh senyawa antioksidan melalui dua alternatif mekanisme, yaitu *single electron transfer* (SET) dan *hydrogen atom transfer* (HAT) (Liang dan Kitts 2014). Hasil pengujian DPPH tersaji pada Tabel 4.

Penetralkan DPPH menyebabkan perubahan warna dari ungu menjadi kuning hingga tidak berwarna. Perubahan warna ini dianalisis secara kuantitatif pada panjang gelombang 517 nm (Vignoli *et al.* 2011). Absorbansi semakin rendah menunjukkan semakin banyak DPPH yang dapat dinetralkan oleh sampel. Aktivitas antioksidan tersebut dibandingkan dengan standar asam askorbat yang dapat menangkal radikal bebas DPPH dan lazim digunakan sebagai pembandingan karena umum terdapat dalam bahan nabati (Lo Scalzo 2008).

Tabel 4. Aktivitas antioksidan seduhan kopi dengan metode DPPH

Metode Penyeduhan	Aktivitas (mg Ekuivalen Asam Askorbat/L)	Aktivitas (mg Ekuivalen Asam Askorbat/100 g Padatan Terlarut)
Tubruk	918,45±9,42 ^a	45,92±0,47 ^a
V60	920,79±2,82 ^a	49,36±1,70 ^b
<i>Drip bag</i>	921,17±3,49 ^a	46,06±0,17 ^a

Keterangan: Data merupakan rata-rata dari tiga kali ulangan; Perbedaan huruf menunjukkan perbedaan yang signifikan pada taraf signifikansi 5% (nilai $p < 0.05$)

Hasil pengujian menunjukkan tidak ada beda nyata aktivitas antioksidan seduhan kopi untuk setiap satuan volume seduhan. Hal ini sejalan dengan penelitian Merez *et al.* (2018), bahwa tidak ada beda nyata aktivitas penetralan DPPH pada hasil seduhan metode *drip*, perkolator, dan *coffee machine*. Namun demikian, ada perbedaan aktivitas per 100 g padatan terlarut. Seduhan V60 terdeteksi memiliki aktivitas tertinggi dan secara nyata berbeda dari seduhan tubruk dan *drip bag*. Hal ini dipengaruhi oleh jumlah padatan terlarut dalam hasil seduhan. Sampel tubruk dan *drip bag* memiliki kandungan padatan terlarut 2,00°Brix, sedangkan V60 lebih rendah yaitu 1,87°Brix.

Senyawa dengan gugus fenol seperti asam fenolat umumnya memiliki mekanisme HAT, yaitu cara senyawa menstabilkan dirinya melalui resonansi setelah kehilangan atom hidrogen (Vicente *et al.* 2014). Kemudahan larut dalam air merupakan salah satu faktor yang diduga menyebabkan hasil uji DPPH pada seluruh perlakuan tidak berbeda nyata. Kelompok polifenol seperti kuersetin, kaempferol, dan flavonoid dapat turut serta meningkatkan hasil pembacaan aktivitas antioksidan (Górecki dan Hallmann 2020), sehingga aktivitas pada seduhan *drip bag* tidak berbeda nyata dengan tubruk dan V60 meskipun memiliki kadar CQA lebih rendah.

Aktivitas antioksidan dengan metode FRAP

Oksidasi dapat dinetralkan dengan proses reduksi dalam rangkaian reaksi redoks. Hal ini mendasari pemikiran tentang kemampuan suatu senyawa dalam mereduksi terkait kemampuannya sebagai antioksidan (Benzie dan Strain 1996). Metode yang digunakan adalah FRAP, yaitu reaksi yang berprinsip pada reduksi ion besi pada kompleks TPTZ (Fe^{3+} -TPTZ) sehingga menjadi Fe^{2+} -TPTZ. Warna larutan berubah dari kuning menjadi biru tua seiring berjalannya reaksi reduksi, kemudian intensitasnya diukur pada panjang gelombang 595 nm (Vignoli *et al.* 2014). Hasil pengujian metode FRAP tersaji pada Tabel 5. Standar yang digunakan adalah asam galat, yaitu kelompok asam fenolat yang memiliki aktivitas pereduksi sehingga relevan digunakan sebagai pembanding aktivitas antioksidan metode FRAP. Penelitian Skroza *et al.* (2022) menunjukkan asam galat memiliki nilai FRAP tertinggi dibandingkan dengan kelompok fenolat lain, yang ditandai dengan paling besarnya jumlah ion Fe^{2+} yang terbentuk selama reaksi.

Hasil pengujian menunjukkan adanya beda nyata antar metode penyeduhan, dengan aktivitas tertinggi

dimiliki oleh seduhan tubruk. Pola ini berbeda dengan aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Perbedaan mekanisme reaksi diduga terkait dengan jenis senyawa bioaktif yang terlibat dalam reaksi. Metode FRAP berprinsip pada mekanisme SET, sehingga aktivitas senyawa-senyawa yang bereaksi secara HAT tidak terdeteksi (Liang dan Kitts 2014). Senyawa bioaktif dapat pula terikat dengan senyawa lain atau terperangkap secara fisik, sehingga butuh waktu lebih lama untuk terekstrak. Keberadaannya dalam seduhan imersi akhirnya menjadi lebih besar, sehingga aktivitas antioksidan seduhan imersi terdeteksi lebih tinggi daripada perkolasi.

Tabel 5. Aktivitas antioksidan seduhan kopi dengan metode FRAP

Metode Penyeduhan	Aktivitas (mg Ekuivalen Asam Galat/L)	Aktivitas (mg Ekuivalen Asam Galat/g Padatan Terlarut)
Tubruk	635,12±39,55 ^b	31,76±1,98 ^b
V60	560,91±11,51 ^a	30,06±0,73 ^{ab}
<i>Drip bag</i>	551,10±31,29 ^a	27,56±1,56 ^a

Keterangan: Data merupakan rata-rata dari tiga kali ulangan; Perbedaan huruf menunjukkan perbedaan yang signifikan pada taraf signifikansi 5% (nilai $p < 0.05$)

KESIMPULAN

Kadar senyawa bioaktif serta aktivitas antioksidan seduhan kopi dipengaruhi oleh metode penyeduhan. Asam fenolat terdeteksi paling tinggi pada seduhan kopi dengan metode tubruk dan V60, sedangkan kafestol dan kahweol tertinggi ada dalam seduhan kopi dengan metode tubruk. Tidak ada beda nyata aktivitas antioksidan per volume sampel dalam uji DPPH, namun ada beda nyata dalam uji FRAP, yaitu aktivitas tertinggi ditemukan pada tubruk. Semakin singkat waktu kontak bubuk kopi dengan air, semakin sedikit senyawa yang dapat terekstrak. Metode perkolasi menyebabkan air lebih cepat meninggalkan bubuk kopi daripada imersi. Bahan penyaring membatasi jenis dan jumlah senyawa yang lolos ke dalam seduhan. Metode tubruk dinilai menghasilkan kandungan bioaktif dan kapasitas antioksidan secara FRAP tertinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Angeloni G, Guerrini L, Masella P, Bellumori M, Daluiso S, Parenti A, Innocenti M. 2019. What kind of coffee do you drink? an investigation on effects of eight different extraction methods. *Food Res Int* 116 (2019): 1327–1335. DOI: 10.1016/j.foodres.2018.10.022.
- Benzie IFF, Strain JJ. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Anal Biochem* 239(1): 70–76. DOI: 10.1006/abio.1996.0292.

- Daneschvar HL, Smetana GW, Brindamour L, Bain PA, Mukamal KJ. 2021. Impact of coffee consumption on physiological markers of cardiovascular risk: a systematic review. *Am J Med* 134(5): 626-636.e2. DOI: 10.1016/j.amjmed.2020.09.036.
- de Carvalho Pires F, Pereira RGFA, Baqueta MR, Valderrama P, da Rocha RA. 2021. Near-infrared spectroscopy and multivariate calibration as an alternative to the agron to predict roasting degrees in coffee beans and ground coffees. *Food Chem* 365(2021): 130471. DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.130471.
- Derossi A, Ricci I, Caporizzi R, Fiore A, Severini C. 2018. How grinding level and brewing method (Espresso, American, Turkish) could affect the antioxidant activity and bioactive compounds in a coffee cup. *J Sci Food Agric* 98(8): 3198–3207. DOI: 10.1002/jsfa.8826.
- Dias RCE, de Faria-Machado AF, Mercadante AZ, Bragagnolo N, de Toledo Benassi M. 2014. Roasting process affects the profile of diterpenes in coffee. *Eur Food Res Technol* 239(2014): 961–970. DOI: 10.1007/s00217-014-2293-x.
- Farah A, de Paula Lima J. 2019. Consumption of chlorogenic acids through coffee and health implications. *Beverages* 5(1): 1–29. DOI: 10.3390/beverages501011.
- Farias-Pereira R, Park C-S, Park Y. 2019. Mechanisms of action of coffee bioactive components on lipid metabolism. *Food Sci Biotechnol* 28(2019): 1287–1296. DOI: 10.1007/s10068-019-00662-0.
- Górecki M, Hallmann E. 2020. The antioxidant content of coffee and its in vitro activity as an effect of its production method and roasting and brewing time. *Antioxidants* 9(4): 308. DOI: 10.3390/antiox9040308.
- Herawati D, Giriwono PE, Dewi FNA, Kashiwagi T, Andarwulan N. 2018. Critical roasting level determines bioactive content and antioxidant activity of robusta coffee beans. *Food Sci Biotechnol* 28(2019): 7–14. DOI: 10.1007/s10068-018-0442-x.
- Kaur M, Tyagi S, Kundu N. 2018. Effect of brewing methods and time on secondary metabolites, total flavonoid and phenolic content of green and roasted coffee *coffea arabica*, *coffea canephora* and monsooned malabar. *European J Med Plants* 23(1): 1–16. DOI: 10.9734/EJMP/2018/40565.
- [Kementan RI] Kementerian Pertanian Republik Indonesia. 2017. Outlook kopi 2017. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian, Jakarta.
- Lee M, McGeer EG, McGeer PL. 2016. Quercetin, not caffeine, is a major neuroprotective component in coffee. *Neurobiol Aging* 46(2016): 113–123. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2016.06.015.
- Liang N, Kitts DD. 2014. Antioxidant property of coffee components: Assessment of methods that define mechanisms of action. *Molecules* 19(11): 19180–19208. DOI: 10.3390/molecules191119180.
- Liang N, Xue W, Kennepohl P, Kitts DD. 2016. Interactions between major chlorogenic acid isomers and chemical changes in coffee brew that affect antioxidant activities. *Food Chem* 213(2016): 251–259. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.06.041.
- Lo Scalzo R. 2008. Organic acids influence on DPPH scavenging by ascorbic acid. *Food Chem* 107(1): 40–43. DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.07.070.
- Lu M-Y, Lai JC-Y, Chen S-J. 2023. Influence of sex differences on serum lipid profiles among habitual coffee drinkers: Evidence from 23,072 Taiwan biobank participants. *Nutrients* 15(11): 2576. DOI: 10.3390/nu15112576.
- Ludwig I, Clifford M, Lean MEJ, Ashihara H, Crozier A. 2014. Coffee: Biochemistry and potential impact on health. *Food Funct* 5(8): 1695–1717. DOI: 10.1039/C4FO00042K.
- Mellbye FB, Jeppesen PB, Shokouh P, Laustsen C, Hermansen K, Gregersen S. 2017. Cafestol, a bioactive substance in coffee, has antidiabetic properties in KKAY mice. *J Nat Prod* 80(8): 2353–2359. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.7b00395.
- Merecz A, Marusińska A, Karwowski BT. 2018. The content of biologically active substances and antioxidant activity in coffee depending on brewing method. *Pol J Natur Sci* 33(2): 267–284.
- Milek M, Młodecki Ł, Dżugan M. 2021. Caffeine content and antioxidant activity of various brews of specialty grade coffee. *ACTA Sci Pol Technol Aliment* 20(2): 179–188. DOI: 10.17306/J.AFS. 2021.0890.
- Moeenfarid M, Rocha L, Alves A. 2014. Quantification of caffeoylquinic acids in coffee brews by HPLC-DAD. *J Anal Methods Chem* 2014: 965353. DOI: 10.1155/2014/965353.
- Moeenfarid M, Silva JA, Borges N, Santos A, Alves A. 2015. Quantification of diterpenes and their palmitate esters in coffee brews by HPLC-DAD. *Int J Food Prop* 18(10): 2284–2299. DOI: 10.1080/10942912.2014.933351.
- Moeenfarid M, Erny GL, Alves A. 2016. Variability of some diterpene esters in coffee beverages as influenced by brewing procedures. *J Food Sci Technol* 53(2016): 3916–3927. DOI: 10.1007/s13197-016-2378-6.
- Muzaifa M, Hasni D. 2016. Exploration study of gayo specialty coffee (*Coffea arabica* L.): Chemical compounds, sensory profile, and physical appearance. *Pakistan J Nutr* 15(5): 486–491. DOI: 10.3923/pjn.2016.486.491.

- Novaes FJM, Bayan FC, de Aquino Neto FR, Rezende CM. 2019. The occurrence of cafestol and kahweol diterpenes in different coffee brews. *Coffee Sci* 14(2): 265–280. DOI: 10.25186/cs.v14i2.1571.
- Ren Y, Wang C, Xu J, Wang S. 2019. Cafestol and kahweol: A review on their bioactivities and pharmacological properties. *Int J Mol Sci* 20(17): 4238. DOI: 10.3390/ijms20174238.
- Rendón MY, do Santos Scholz MB, Bragagnolo N. 2017. Is cafestol retained on the paper filter in the preparation of filter coffee? *Food Res Int* 100: 798–803. DOI: 10.1016/j.foodres.2017.08.013.
- [SCAA] Specialty Coffee Association of America. 2015. SCAA Standard: Golden Cup. <https://www.scaa.org/PDF/resources/golden-cup-standard.pdf> [26 October 2020].
- Schievano E, Finotello C, De Angelis E, Mammi S, Navarini L. 2014. Rapid authentication of coffee blends and quantification of 16-*O*-methylcafestol in roasted coffee beans by nuclear magnetic resonance. *J Agric Food Chem* 62(51): 12309–12314. DOI: 10.1021/jf505013d.
- Skroza D, Šimat V, Vrdoljak L, Jolić N, Skelin A, Čagalj M, Frleta R, Mekinić IG. 2022. Investigation of antioxidant synergisms and antagonisms among phenolic acids in the model matrices using FRAP and ORAC methods. *Antioxidants* 11(9): 1784. DOI: 10.3390/antiox11091784.
- Vicente SJV, Queiroz YS, Gotlieb SLD, da Silva Torres EAF. 2014. Stability of phenolic compounds and antioxidant capacity of regular and decaffeinated coffees. *Braz Arch Biol Technol* 57(1): 110–118. DOI: 10.1590/S1516-89132014000100016.
- Vignoli JA, Bassoli DG, Benassi MT. 2011. Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: The influence of processing conditions and raw material. *Food Chem* 124(3): 863–868. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.07.008.
- Vignoli JA, Viegas MC, Bassoli DG, de Toledo Benassi M. 2014. Roasting process affects differently the bioactive compounds and the antioxidant activity of arabica and robusta coffees. *Food Res Int* 61(2014): 279–285. DOI: 10.1016/j.foodres.2013.06.006.
- Zhang C, Linforth R, Fisk ID. 2012. Cafestol extraction yield from different coffee brew mechanisms. *Food Res Int* 49(1): 27–31. DOI: 10.1016/j.foodres.2012.06.032.

JMP-07-23-15-Naskah diterima untuk ditelaah pada 4 Juli 2023. Revisi makalah disetujui untuk dipublikasi pada 22 November 2023. Versi Online: <http://journal.ipb.ac.id/index.php/jmpi>