

## AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SEDUHAN DAUN KOPI KAWA KERING (*Coffea arabica* L) DENGAN METODE DPPH

Musyirna Rahmah Nasution<sup>1\*</sup>, Martina Br Manullang<sup>1</sup>, Lamun Bathara<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau

<sup>2</sup> Universitas Riau

[\\*musyirnarahmah@stifar-riau.ac.id](mailto:*musyirnarahmah@stifar-riau.ac.id)

### ABSTRAK

Kopi Kawa merupakan minuman tradisional dari daun kopi yang menjadi minuman khas daerah Tanah Datar di Sumatera Barat. Daun kopi kawa yang kering diseduh dengan air panas sehingga menghasilkan warna kecoklatan. Daun kopi kawa (*Coffea robusta* L) ini mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid. Flavonoid telah diketahui memiliki aktivitas antioksidan. Telah dilakukan penelitian yang bertujuan untuk menentukan aktivitas antioksidan dari seduhan daun kopi kawa dengan menggunakan metode DPPH secara spektrofotometri. Konsentrasi uji yang digunakan adalah 5%, 2.5%, 1.25%, 0.625%, 0.313%, 0.156%. Hasil menunjukkan bahwa seduhan daun kopi kawa kering pada konsentrasi 5% telah memberikan penghambatan radikal DPPH sebesar 87,036%. IC<sub>50</sub> yang diperoleh adalah sebesar 0,5258 % b/v. Seduhan daun kopi kawa merupakan minuman kesehatan yang memiliki aktivitas antioksidan yang kuat.

**Kata kunci:** Kopi Kawa, Antioksidan, DPPH

### ABSTRACT

*Kawa Coffee is a traditional beverage made from coffee leaves which is a typical drink in Tanah Datar in West Sumatra. The dried kawa coffee leaves are brewed with hot water to produce a brownish color. Kawa coffee leaves (Coffea robusta L) contain secondary metabolites such as flavonoids. Flavonoids have been known to have antioxidant activity. Research has been conducted to determine antioxidant activity from steeping kawa coffee leaves using the DPPH method by spectrophotometry. The test concentrations used were 5%, 2.5%, 1.25%, 0.625%, 0.313%, 0.156%. The results showed that steeping dried kawa coffee leaves at a concentration of 5% had given DPPH radical inhibition of 87.036%. The IC<sub>50</sub> obtained is 0.591%. Steeping kawa coffee leaves is a health drink that has strong antioxidant activity.*

**Keywords:** Kawa coffee, DPPH, Antioxidant

### PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan senyawa yang penting dalam menjaga kesehatan tubuh karena berfungsi sebagai penangkap radikal bebas yang

banyak terbentuk di dalam tubuh.

Antioksidan ini ada yang diproduksi sendiri oleh tubuh sebagai mekanisme pertahanan awal dan ada juga yang diperoleh dari makanan, buah-buahan

dan sayuran<sup>1</sup>. Dampak negatif dari pola hidup dan pola konsumsi manusia berpengaruh pada meningkatnya efek radikal bebas dan berbagai macam penyakit degeneratif. Untuk mengurangi serangan radikal bebas, antioksidan alami mampu melindungi tubuh terhadap kerusakan yang disebabkan oksigen reaktif dan menangkap radikal bebas<sup>2</sup>.

Salah satu tumbuhan yang berkhasiat sebagai antioksidan adalah daun kopi. Daerah Sumatera, pada mulanya orang minum kopi bukanlah kopi bubuk yang berasal dari biji, melainkan cairan dari daun kopi yang masih segar atau kulit buah yang diseduh dengan air panas dinamakan “Kawa daun” atau “Kopi Kawa”. Kopi Kawa dibuat dengan cara mengeringkan (dije-mur, disangrai atau dipanggang) daun kopi yang didapatkan dari proses pemangkasannya. Daun kopi kering kemudian direbus sampai menghasilkan minuman berwarna kecoklatan seperti hasil seduhan daun teh.

“*Aia Kawa*” dipercaya mengandung alkaloida, kafein, saponin, flavonoid, dan polifenol yang dapat mencegah berbagai penyakit karsinogenik<sup>3</sup>. Flavonoid adalah golongan senyawa polifenol yang

diketahui memiliki sifat sebagai penangkap radikal bebas, penghambat enzim hidrolisis dan oksidatif, dan bekerja sebagai antiinflamasi<sup>4</sup>.

Beberapa penelitian telah dilaporkan bahwa aktivitas antioksidan minuman penyegar daun kopi robusta (*Coffea robusta* L) diperoleh persen inhibisi sebesar 83,21%, total fenolik 6,57% dan kafein 0,812%<sup>5</sup>. Berdasarkan penelitian lainnya kadar kofein pada sampel daun kopi kawa yang telah kering adalah 0,17% dan Susut pengeringan simplisia daun kopi kawa (*Coffea robusta* L) adalah 7,785%<sup>6</sup>. Literatur lain melaporkan bahwa terdapat korelasi kadar fenol terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun muda dan daun tua kopi Arabika (*Coffea arabica*), kopi Robusta (*Coffea canephora*), dan kopi Liberika (*Coffea liberica*) berpotensi sebagai sumber antioksidan yang dapat diaplikasikan sebagai bahan alami untuk fortifikasi pangan<sup>7</sup>. Khotimah pada penelitiannya menjelaskan bahwa aktivitas antioksidan lebih tinggi pada helaian ke-3 dan ke-4 yang diproses secara segar dan dikeringkan dalam *cabinet drier* dan *smoker*<sup>3</sup>.

Khasiat seduhan daun kopi kawa yang dikeringkan secara tradisional dan pemanfaatannya secara tradisional sebagai minuman antioksidan belum dilaporkan. Pada penelitian ini akan diteliti aktivitas antioksidan seduhan daun kopi kawa (*Coffea arabica* L) kering yang diambil dari Kabupaten Tanah Datar kota Batusangkar Sumatera Barat. Pengujian dilakukan dengan alat *microplate reader* dan metode DPPH.

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat**

Alat yang digunakan yaitu kompor, alat-alat gelas, timbangan analitik digital (*Shimadzu*®), tabung reaksi (*Pyrex*®), corong, spatel, plat tetes, *microplate reader* (*Biotek* ®), mikro pipet (*Nesco*®), pipet tetes, pipet volum, dan gelas ukur (*Pyrex*®).

### **Bahan**

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun kawa segar dan daun kawa kering, bahan-bahan yang digunakan untuk uji adalah akuades, metanol, *1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) untuk pengujian antioksidan dan vitamin C.

### **Prosedur Kerja**

#### **1. Pengambilan Sampel**

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun kawa segar dan kering yang berasal dari Tabek Patah, Kecamatan Salimpaung, Kabupaten Tanah Datar, Batu Sangkar Sumatera Barat.

#### **2. Pengasapan Daun Kawa Segar**

Daun kawa yang masih kelihatan segar dan masih hijau, dicuci dan ditiriskan sampai daunnya kering, jepit satu persatu daun kawa ke bambu yang telah disediakan khusus untuk pengasapan, hingga bambu tadi terisi penuh, Pengasapan dilakukan di atas tungku yang berada di bawah tanah, pengasapan ini dilakukan selama  $\pm 10$  menit, saat daun kawa sudah mulai berwarna kecoklatan, angkat daun kawa dari tungku dan dibiarkan sampai dingin, setelah dingin remas daun kawa dan dipisahkan dari ranting-rantingnya dan daun kawa kering siap dipakai.

#### **3. Identifikasi Sampel**

Sampel daun kawa segar dalam keadaan utuh diidentifikasi di Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Jurusan Biologi Universitas Riau Pekanbaru.

#### 4. Pengujian Fitokimia

Uji pendahuluan kandungan metabolit sekunder dilakukan terhadap daun kawa segar dan kering. Sebanyak 4 g sampel segar dan kering dihaluskan dengan lumpang kemudian ditambahkan masing-masing 5 ml air suling dan klorofom lalu dikocok kuat dan dibiarkan beberapa saat sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan air digunakan untuk uji senyawa flavonoid, fenolik, dan saponin. Lapisan klorofom digunakan untuk uji senyawa terpenoid, dan steroid. Sedangkan untuk uji alkaloid memiliki prosedur tersendiri<sup>8</sup>.

##### a. Uji Flavonoid

Beberapa tetes lapisan air pada plat tetes ditambah 1-2 butir logam magnesium dan beberapa tetes asam klorida pekat. Terjadinya warna jingga, merah muda sampai merah menandakan adanya senyawa flavonoid.

##### b. Uji Fenolik

Beberapa tetes lapisan air pada plat tetes ditambah 1-2 tetes larutan besi (III) klorida 1%. Bila terbentuk biru/ungu, berarti terdapat senyawa fenolik.

##### c. Uji Saponin

Lapisan air didalam tabung reaksi dikocok. Apabila terbentuk busa yang bertahan selama 5 menit, berarti positif adanya saponin.

##### d. Uji Terpenoid dan Steroid

Lapisan kloroform disaring melalui pipet yang berisi norit. Hasil saringan dipipet 2-3 tetes dan dibiarkan mengering pada plat tetes. Setelah kering ditambahkan pereaksi Liebermann-Burchard (2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat). Terbentuknya warna merah berarti positif adanya terpenoid dan warna hijau-biru berarti positif adanya steroid.

##### e. Uji Alkaloid

Sampel daun kopi kawa sebanyak 4 g, ditambahkan 10 ml kloroform, kemudian ditambahkan 10 ml larutan kloroform beramoniak 0,05 M, diaduk kemudian disaring. Kadalam tabung reaksi ditambahkan 1 ml asam sulfat 2 N, kocok selama 2 menit, biarkan hingga terbentuk dua lapisan dan terjadi pemisahan. Ambil lapisan asam (atas) dan tambahkan 1-2 tetes pereaksi Mayer jika terbentuk endapan putih dengan pereaksi Mayer menunjukkan hasil yang positif untuk alkaloid.

## **5. Pengujian Aktivitas Antioksidan**

### **1. Pembuatan Larutan DPPH**

Pada tahap awal pengujian, terlebih dahulu dibuat larutan induk untuk larutan DPPH sebanyak 10 mg DPPH dilarutkan dalam 10 ml larutan metanol kocok hingga homogen lalu disimpan didalam botol gelap sehingga didapatkan larutan dengan konsentrasi 1000 ppm. Kemudian dibuat konsentrasi 40 ppm dengan cara dipipet 0,4 ml larutan induk DPPH (1000 ppm) dalam labu ukur 10 ml dan ditambahkan metanol sampai tanda batas.

### **2. Persiapan Sampel Seduhan Daun Kawa Kering**

Sampel daun kawa kering diambil sebanyak 20 g diseduh dalam 100 ml akuades panas sehingga konsentrasi sampel menjadi 20%. Lalu dari 20% dilakukan pengenceran sebesar 5% dengan cara dipipet 2,5 ml sampel lalu ditambahkan akuades sampai tanda batas. Pengujian dilakukan dalam 6 seri konsentrasi yaitu 5%; 2,5%; 1,25%; 0,625%; 0,3125% dan 0,1562% dalam larutan akuades.

### **3. Persiapan Vitamin C**

Vitamin C ditimbang 10 mg dilarutkan dalam 10 ml larutan metanol sampai tanda batas, sehingga didapatkan konsentrasi 1000 ppm. Kemudian dibuat konsentrasi 100 ppm dengan cara dipipet 1 ml larutan induk vitamin C (1000 ppm). Pengujian dilakukan 6 seri konsentrasi 100 µg/mL; 50 µg/mL; 25 µg/mL; 12,5 µg/mL; 6,25 µg/mL dan 3,125 µg/mL dalam larutan metanol. Masing-masing dilakukan 3 kali pengulangan.

### **4. Uji Penangkal Radikal DPPH**

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan *microplate reader* dengan metode *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH). Pada panjang gelombang 517 nm. Baris A dimasukkan sampel sebanyak 100 µl (*plate* terdiri dari baris A-H). Sebanyak 50 µl metanol dimasukkan pada masing-masing sumur pada baris B-G. Baris A dipipet sebanyak 50 µL dan dimasukkan ke baris B dan dilakukan sampai baris F, baris F dipipet 50 µL lalu buang, sehingga diperoleh konsentrasi 5%, 2,5%, 1,25%, 0,625%, 0,3125%, 0,1562%. Sedangkan pada baris H diisi dengan MeOH 50 µl. Baris A-G

ditambahkan DPPH sebanyak 80 µl dengan konsentrasi 40 µg/mL, kemudian di diamkan selama 30 menit. Aktivitas penangkapan radikal diukur sebagai penurunan absorbansi DPPH dengan *microplate reader* dan olah data. Kontrol positif yang digunakan sebagai pembanding yaitu asam askorbat dengan konsentrasi 100 µg/mL.

### 5. Analisa data

Data hasil penelitian dalam bentuk nilai absorbansi (A), kemudian dianalisa untuk menentukan persen inhibisi (%I)

$$\% I = \frac{\text{Abs DPPH} - \text{Abs Sampel}}{\text{Abs DPPH}} \times 100\%$$

Absorbansi DPPH

Kemudian dibuat persamaan regresi linier antara konsentrasidan persen inhibisi untuk menentukan nilai IC<sub>50</sub> sampel dengan rumus sebagai berikut:

$$Y = a + bx$$

Ket: a (intersep), b(slope), Y (inhibisi 50%) dan x (IC<sub>50</sub>)

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Kopi menjadi minuman favorit masyarakat karena rasanya yang enak dan manfaat atau khasiat yang ditimbulkannya.Selain bijinya, daun

kopi dimanfaatkan sebagai bahan minuman. Di Tanah Datar Sumatera Barat, tempat minuman ini diperkenalkan, minuman ini biasa disebut daunkopi kawa.Daunkopi kawa sangat populer di Sumatera Barat.Seduhan kopi bukan berasal dari biji kopinya, tapi dari daun kopi yang telah diasap (di-sangai) terlebih dulu.Lebih mirip seperti teh namunKopi Kawa Daun memiliki rasa yang mirip seperti kopi namun dengan warna yang lebih encer.Daun kopi kawa memberi cita rasa khas, yaitu wangi rempah dan agak sepat seperti seduhan teh yang kental.

Pada penelitian ini, sampel yang digunakan adalah seduhan daun kopi kawa kering yang diambil di daerah Tabek Patah, Kecamatan Salimpaung, Kabupaten Tanah Datar, Batu Sangkar, Sumatera Barat.Daun yang diambil adalah daun segar lalu dilakukan proses pengeringan, dimulai dengan pencucian, penjepitan satu persatu daun kawa diatas bambu. Kemudian dilakukan pengasapan terhadap daun kopi kawa tersebut.

Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan dalam suatu penelitian fitokimia yang bertujuan

untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang sedang diteliti. Pada sampel daun kawa segarmengandung flavonoid, fenolik, saponin dan steroid. Sedangkan pada sampel daun kawa kering mengandung senyawa flavonoid, fenolik dan steroid. Kandungan saponin pada sampel daun kawa kering dinyatakan negatif, yakni dengan tidak munculnya busa setelah pengocokan (Tabel 1).

**Tabel I. Hasil Skrining Fitokimia Daun Kawa Segar dan Kering (*Coffea arabica* L).**

Pengujian	Pereaksi	Daun Segar	Daun Kering
Alkaloid	Mayer	-	-
Flavonoid	FeCl <sub>3</sub>	+	+
Fenolik	Mg/HCl	+	+
Saponin	Air	+	-
Terpenoid	Liebermann - Burchard	-	-
Steroid	Liebermann - Burchard	+	+

Sifat yang dimiliki saponin antara lain mempunyai rasa pahit, membentuk busa yang stabil dalam larutan air. Ditinjau dari rasa seduhan daun kawa kering tidak memiliki rasa pahit. Diduga proses pengeringan akan menghilangkan kandungan saponin<sup>9</sup>. Berdasarkan literatur kandungan metabolit sekunder telah banyak diketahui aktivitas farmakologisnya. Senyawa seperti flavonoid dan fenolik

diketahui memiliki aktivitas antioksidan<sup>10</sup>.

Pengujian aktivitas antioksidan seduhan daun kawa kering (*Coffea arabica* L) dilakukan dengan metoda DPPH dengan alat *microplate reader*. Metode ini dipilih karena pengerjaan sederhana, mudah, cepat dan ekonomis<sup>11</sup>. Rancangan penelitian yang dibuat adalah sebagai kontrol radikal adalah larutan yang mengandung DPPH dan metanol, sebagai blanko adalah aquadest dan larutan uji dibuat dalam enam seri konsentrasi yaitu 5; 2,5; 1,25; 0,625; 0,313 dan 0,156% dalam larutan akuades. Sedangkan kontrol positif adalah asam askorbat 0,01%.

Tujuan dari pembuatan serial konsentrasi adalah untuk melihat konsentrasi yang paling efektif terhadap aktivitas antioksidan. Hasil uji aktivitas seduhan daun kawa kering memiliki aktivitas penghambatan radikal bebas atau antioksidan yaitu pada konsentrasi 5-0,1562%; adalah 87,03% - 18,360% (Tabel 2). Persen inhibisi adalah kemampuan suatu sampel untuk menghambat aktivitas radikal bebas. Hal ini terlihat bahwa pada

konsentrasi 5% seduhan daun kopi kawa kering mampu menangkap radikal DPPH 85%. Persen inhibisi ini menggambarkan aktivitas antioksidan kuat. Pada data tabel 2 terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel maka semakin tinggi % inhibisi dan semakin tinggi pula aktivitas antioksidannya.

**Tabel II. Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Seduhan Daun Kawa Kering (*Coffea arabica* L).**

Kons %	Rata-rata ±SD	Abs Sampel	Persen Inhibisi
5	0,111±0,004	0,062	87,036
2,5	0,125±0,007	0,075	84,233
1,25	0,176±0,041	0,127	73,371
0,625	0,240±0,050	0,19	60,056
0,313	0,388±0,028	0,338	28,942
0,156	0,438±0,028	0,388	18,36

Ket: Abs Kontrol; 0,52; Abs Blanko; 0,049

Berdasarkan data tersebut, kemudian ditentukan nilai  $IC_{50}$  (*Inhibition concentration* 50%) ditentukan berdasarkan persamaan regresi linier antara  $\ln$  konsentrasi dan persen inhibisi. Persamaan regresi grafik sampel uji yang diperoleh adalah  $y = 21,539 \ln(x) + 61,326$  ( $R^2 = 0,932$ ). Nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh adalah 0,5258 %  $b/v$ .  $IC_{50}$  adalah konsentrasi yang menggambarkan aktivitas sampel yang dapat

menangkap radikal sebesar 50%. Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya.

Aktivitas antioksidan vitamin C sebagai kontrol positif menunjukkan bahwa pada konsentrasi 100  $\mu\text{g/mL}$  (0,01%) memiliki persen inhibisi sebesar 98,81%. Berdasarkan data tabel 3 diperoleh  $y = 18,32 \ln(x) + 13,62$

$R^2 = 0,998$  dengan nilai  $IC_{50}$  adalah 1,98  $\mu\text{g/mL}$ . Aktivitas vitamin C lebih besar dibandingkan seduhan daun kopi kawa dikarenakan vitamin C yang digunakan adalah senyawa murni sedangkan seduhan daun kawa terdiri dari campuran senyawa kimia. Namun demikian, seduhan daun kawa berkhasiat sebagai antioksidan.

**Tabel III. Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Vitamin C**

Kons $\mu\text{g/mL}$	Rata-rata ±SD	Abs Sampel	% Inhibisi
100	0,080±0,006	0,003	98,811
50	0,118±0,0005	0,04	84,016
25	0,147±0,0005	0,07	72,259
12,5	0,177±0,001	0,1	60,502
6,25	0,207±0,004	0,13	48,481
3,125	0,245±0,003	0,168	33,554

Ket: Abs Kontrol; 0,329; Abs Blanko; 0,077

Metode DPPH biasanya digunakan untuk menentukan

aktivitas antioksidan beberapa senyawa atau ekstrak bahan alam. Suatu senyawa dapat dikatakan memiliki aktivitas antioksidan apabila senyawa tersebut mendonorkan atom hidrogen yang ditandai dengan semakin hilangnya warna<sup>12</sup>.



**Gambar I.**Reaksi Radikal DPPH dengan Antioksidan<sup>12</sup>

Perubahan intensitas warna ungu ini terjadi karena adanya peredaman radikal bebas yang dihasilkan oleh bereaksinya molekul DPPH dengan atom hidrogen yang dilepaskan oleh molekul senyawa sampel sehingga terbentuk senyawa *difenil pikril hidrazin* dan menyebabkan terjadinya perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning. Pemudaran warna mengakibatkan penurunan nilai absorbansi sinar yang dapat dilihat pada *microplate reader*. Semakin pudar warna DPPH setelah direaksikan dengan antioksidan menunjukkan aktivitas antioksidan yang semakin besar pula.

## KESIMPULAN

Seduhan daun kawa kering (*Coffea arabica* L) yang diolah secara tradisional memiliki aktivitas antioksidan yaitu pada konsentrasi 5% telah mampu menangkap radikal DPPH sebesar 87,036%. Sedangkan IC<sub>50</sub> yang diperoleh adalah sebesar 0,5258 % b/v. Namun aktivitasnya lebih kecil dibanding vitamin C (1,98 µg/mL).

## DAFTAR PUSTAKA

1. Trilaksani, W. 2003. *Antioksidan : Jenis, Sumber, Mekanisme Kerja Peran Terhadap Kesehatan*. Term Paper Introductory Science Philosophy (PPS702).IPB.
2. Herdianan, D.D., Utami R, Anandito RBK. 2014. Kinetika Degradasi Termal Aktivitas Antioksidan Pada Minuman Wedang Uwuh Siap Minum. *Jurnal Teknosains Pangan*.3(3).
3. Khotimah., K, 2014., Karakteristik Kimia Kopi Kawa Dari Berbagai Umur Helai Daun Kopi Yang Diproses Dengan Metode Berbeda., *Jurnal Teknologi Pertanian.*, vol 9:No1, Universitas Mulawarman.
4. Pourmorad, F, Hosseinimehr, SJ and Shahabimajd, N. 2006, Antioxidant Activity, Phenol and Flavonoid Content of Some Selected Iranian Medicinal Plants, *Africa Journal of Biotechnology*, Vol (11), 1142-1145.
5. Setiawan, E. A., Dimas. R and Siswanti. Pengaruh Penyangraian Daun Kopi Robusta (*Coffea Robusta*) Terhadap Karakteristik Kimia Dan Sensory Minuman Penyegar.

- Surakarta. *Jurnal Teknosains Panga*. Vol. 4 No 2 April 2015.
6. Sanjaya, W.F., Rasyid, R, Zulharmita. 2013. Penetapan Kadar Kofein Daun Kopi Kawa ( *Coffea Robusta* ,Lind). *Jurnal Farmasi Higea*. Vol. 5: 137-143.
  7. Susanti, S., Pristiana, D.Y., dan Nurwantoro.,2017., Antioksidan dan Kadar Fenol Berbagai Ekstrak Daun Kopi (*Coffea sp.*): Potensi Aplikasi Bahan Alami untuk Fortifikasi Pangan *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*.,6(2), <https://doi.org/10.17728/jatp.205>
  8. Marjoni, R. 2016. *Dasar-Dasar Fitokimia untuk Diploma III Farmasi*. Jakarta: Trans Info Media.
  9. Minarno, E, B. 2015. Skrining Fitokomia dan Kandungan Total Flavonoid pada Buah *Carica pubescens* Lenne & K. Koch di Kawasan Bromo, Cangar, dan Dataran Dieng. *El-Hayah*. 5(2): 73-82.
  10. Raharjo, T.J. 2013. *Kimia Hasil Alam*. Cetakan Pertama. Pustaka Pelajar.Yogyakarta.
  11. Hartanto, H. 2012. Identifikasi Potensi Antioksidan Minuman Coklat Dari Kakao Lindak (*Theobroma cacao* L) Dengan Berbagai Cara Preparasi: Metoda Radikal Bebas 1,1 Diphenyl-2-Pichrylhydrazil (DPPH). *Skripsi Universitas Katolik Widya Mandala*. Surabaya.
  12. Molyneux, P., 2004, The Use of Stable Free Radical Dphenylpicril-Hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *Journal Science Of Technology*. Vol. 26(2):211-219.