

## INTISARI

Antioksidan merupakan suatu senyawa penangkal radikal bebas yang dapat mencegah penyakit degeneratif. Fraksi etil asetat etanolik daun kopi robusta telah dibuktikan memiliki aktivitas antioksidan 3,12 kali lebih besar dari vitamin C sehingga berpotensi sebagai antioksidan alami. Eksplorasi senyawa aktif antioksidan dalam daun kopi robusta perlu dilakukan dengan isolasi melalui pendekatan *bioassay guided isolation* yang lebih menguntungkan dibandingkan pendekatan fitokimia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui penerapan *bioassay guided isolation method* pada isolasi senyawa aktivitas antioksidan daun kopi robusta.

Penelitian ini bersifat analitik observasional dengan rancangan *cross sectional*. Ekstrak etanolik daun kopi robusta dibuat secara maserasi dengan etanol 70%, dilanjutkan fraksinasi dengan etil asetat perbandingan 1:1 v/v. Fraksi etil asetat disubfraksinasi dengan air, etil asetat dan n-heksana. Aktivitas antioksidan ditentukan dengan uji DPPH pada  $\lambda 517$  nm. Sub fraksi aktif antioksidan dipisahkan menggunakan KLT-P. Sub Sub Fraksi (SSF) antioksidan tertinggi dimurnikan menggunakan KLT dengan 3 fase gerak (non polar, semi polar, dan polar). Beda signifikan diuji statistik menggunakan *t-test*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sub fraksi paling aktif adalah sub fraksi etil asetat dan sub fraksi air dengan rata-rata nilai  $IC_{50}$  berturut-turut 35,200 dan 33,9810 ppm. Hasil pemisahan KLT-P diperoleh 5 SSF air dan 4 SSF etil asetat. SSF dengan aktivitas antioksidan tertinggi adalah SSFA4 (rata-rata nilai  $IC_{50}$  sebesar 64,1501 ppm). Pemisahan menggunakan KLT menghasilkan masing-masing 1 noda pada  $UV_{366}$  dan  $UV_{254}$ .

Kesimpulan penelitian ini adalah *bioassay guided isolation* dapat diterapkan dalam isolasi senyawa aktif antioksidan fraksi etil asetat daun kopi robusta dan SSFA4 adalah SSF paling aktif antioksidan dan berbeda signifikan terhadap SSF lainnya.

**Kata Kunci:** Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora* Peirre ex Froehner), fraksi etil asetat, DPPH,  $IC_{50}$ , isolasi, *Bioassay Guided Isolation*.

## ABSTRACT

**Background:** Antioxidant is a free radical antidote compound which can prevent degenerative disease. Ethanolic ethyl acetate fraction of Robusta coffee leaves has been proved having antioxidant activity which is 3,12 times bigger than vitamin C. It is necessary to do the exploration of active antioxidant compound in Robusta coffee leaves through *bioassay guided isolation* approach which is more beneficial than phytochemical approach. The aim of this research is to know the application of *bioassay guided isolation method* to the compound isolation of antioxidant activity of Robusta coffee leaves.

**Methods:** This was a cross-sectional design. The ethanolic leaf extract of Robusta coffee is made by maceration with 70% of ethanol. It is continued by fractionation with ethyl acetate in the ratio 1:1 v/v. Ethyl acetate fraction was fractionated to produce a sub fraction of water, ethyl acetate, and n-hexane. Antioxidant activity is determined by 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) test at  $\lambda$ 517 nm. The active sub fraction of antioxidants is separated by using Thin Layer Chromatography Preparation. Sub Sub Fraction (SSF) of highest antioxidant are purified by using Thin Layer Chromatography with 3 motion phases. The data were analyzed using *t-test*.

**Result:** The most active sub fractions are ethyl acetate and water with antioxidant activity were 35,200 and 33,9810 ppm. The results of TLC-P separation are 5 SSF of water and 4 SSF of ethyl acetate. SSF with highest antioxidant activity is SSFA4 with antioxidant activity of 64,1501 ppm. The separation by using TLC each obtained 1 stain on UV<sub>366</sub> and UV<sub>254</sub>.

**Conclusion:** Antioxidant can be isolated from ethyl acetate fractions of the ethanolic leaf extract of *coffea canephora peirre ex froehner* by bioassay guided isolation and SSFA4 is the most active antioxidant and significantly different with the other SSF.

**Key Words:** Robusta coffee leaves (*Coffea canephora* Peirre ex Froehner), ethyl acetate fraction, DPPH, IC<sub>50</sub>, isolation, *Bioassay Guided Isolation*.