

PENGARUH METODE PENGERINGAN BEKU (*Freeze Drying*) TERHADAP NILAI TOTAL FENOL DAN NILAI *SUN PROTECTION FACTOR* (SPF) EKSTRAK ETANOL BIJI KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora* Pierr A. Froehner)

Iin Suhesti

Program Studi D3 Farmasi Politeknik Indonusa Surakarta
Jl. Palem No. 8, Jati, Cemani, Sukoharjo, Surakarta
Email: iin.suhesti13@gmail.com

Abstrak

Biji kopi robusta (*Coffea canephora*, Pierr A. Froehner) memiliki kandungan senyawa fenolik yang berpotensi sebagai bahan aktif tabir surya. Kandungan fenolik yang tinggi pada suatu ekstrak dapat meningkatkan nilai SPF ekstrak tersebut. SPF merupakan suatu ukuran kemampuan tabir surya untuk mencegah kerusakan pada kulit akibat paparan sinar matahari. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan total fenol dan nilai SPF pada ekstrak biji kopi robusta menggunakan metode pengeringan beku (*freeze drying*). *Freeze drying* merupakan metode pengawetan produk dengan cara dibekukan, lalu dikeringkan (*disublimasikan*) dengan cara di vakum. Menghasilkan produk yang awalnya berfasa liquid menjadi produk padat tanpa mengandung air. Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorium dengan obyek ekstrak kering biji kopi robusta sebanyak 250 ppm dan diencerkan menjadi 5 konsentrasi yaitu 40, 50, 60, 70 dan 80 ppm kemudian diukur serapannya secara duplo menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada interval panjang gelombang 290 nm sampai diatas 320 nm yang memiliki nilai serapan minimal 0,05 kemudian dihitung nilai SPFnya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji kopi robusta memiliki nilai total fenol sebesar $850 \pm 0,001$ mg/GAE g ekstrak dan nilai SPF pada konsentrasi 40, 50, 60, 70, dan 80 ppm secara berturut-turut sebesar $3,31 \pm 0,01$; $4,59 \pm 0,06$; $5,88 \pm 0,03$; $6,97 \pm 0,06$ dan $8,23 \pm 1,06$. Nilai SPF tertinggi terdapat pada konsentrasi 80 ppm yaitu dengan nilai SPF $8,23 \pm 1,06$ dengan tipe proteksi maksimal.

Kata kunci: biji kopi robusta, total fenol, sun protection factor, freeze drying

PENDAHULUAN

Tabir surya merupakan suatu sediaan yang mengandung senyawa yang dapat menyerap, menghamburkan atau memantulkan sinar matahari yang mengenai kulit sehingga dapat digunakan untuk melindungi fungsi dan struktur kulit manusia dari kerusakan akibat sinar surya (Mario *et al.*, 2010).

Penentuan efektifitas sediaan tabir surya dilakukan dengan cara menghitung nilai SPF dari sediaan secara *in vivo* dan *in vitro*. Penentuan nilai SPF secara *in vivo* dilakukan dengan membagi nilai *Minimal Erythema Dose* (MED) pada kulit yang terlindungi setelah pemberian 2 mg/cm² produk tabir surya dengan MED pada kulit yang tidak terlindungi (Stanley, 2014), sedangkan penentuan nilai SPF secara *in vitro* menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Ade dkk., 2013) dengan mengukur area di bawah kurva (AUC) dibagi dengan interval panjang gelombang bersangkutan (Yuliani, 2010). Semakin besar

SPF maka semakin kuat perlindungan tabir surya yang diberikan (Nofianty, 2008).

Hubungan antara SPF dengan spektrofotometri yaitu:

$$AUC = \frac{\text{Jumlah dua sisi yang sejajar} \times \text{tinggi}}{2}$$

Rumus I. AUC

$$\log \text{ SPF} = \frac{\text{Jumlah AUC}}{\text{Selisih } \lambda \text{ terbesar} - \lambda \text{ terkecil}}$$
$$\text{SPF} = \text{anti log SPF}$$

Rumus II. SPF secara *in vitro*

Keterangan:

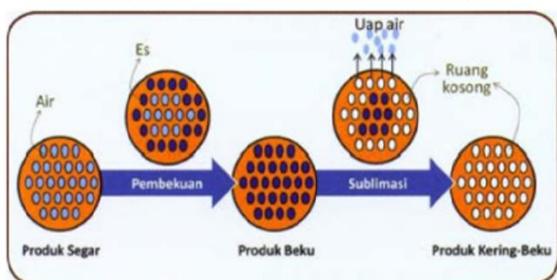
SPF : Faktor proteksi cahaya

AUC : Area dibawah kurva

Ekstrak yang digunakan dalam penentuan nilai SPF yaitu ekstrak kopi robusta (*Coffea canephora* Pierr A. Froehner) yang dikeringkan menggunakan metode pengeringan beku (*freeze drying*).

Freeze drying merupakan metode pengawetan produk dengan cara dibekukan, lalu dikeringkan (disublimasikan) dengan cara di vakum. Menghasilkan produk yang awalnya berfasa liquid menjadi produk padat tanpa mengandung air (Hakim, 2013). Keunggulan *freeze drying* yaitu dalam mempertahankan mutu hasil pengeringan, diantaranya dapat mempertahankan stabilitas ekstrak (menghindari perubahan aroma, warna, dan unsur organoleptik lain), dapat menghambat aktivitas mikroba serta mencegah terjadinya reaksi kimia dan aktivitas enzim yang dapat merusak kandungan kimia ekstrak (Nofrianti, 2013).

Prinsip *freeze drying* dimulai dengan proses pembekuan ekstrak, dan dilanjutkan dengan pengeringan; yaitu mengeluarkan/memisahkan hampir sebagian besar air dalam ekstrak yang terjadi melalui mekanisme sublimasi (Foodreview Indonesia, 2013).



[Sumber: Hakim, 2013; Foodreview Indonesia, 2013]

Gambar 1. Mekanisme terjadinya *freeze drying*

Gambar 1 tersebut menjelaskan bahwa dengan mengendalikan kondisi tekanan (P) dan suhu (T), air dapat berbentuk gas (uap), cair (air) atau padatan (es). Proses pengeringan beku (*freeze drying*) terjadi melalui mekanisme sublimasi yang terjadi pada suhu dingin, yaitu kisaran antara -50°C sampai -53°C sehingga lebih aman terhadap resiko terjadinya degradasi senyawa dalam ekstrak (Pasca Panen, 2015).

Pengeringan beku ini dapat meninggalkan kadar air sampai 1%, sehingga produk bahan alam yang dikeringkan menjadi stabil dan sangat memenuhi syarat untuk pembuatan sediaan farmasi dari bahan alam

yang kadar airnya harus kurang dari 10%. Proses pengeringan beku ini dapat digunakan untuk ekstrak cair maupun ekstrak kental, prosesnya berlangsung selama 18–24 jam. Lebih disarankan ekstrak yang dikeringkan dalam *freeze drying* sudah dalam ekstrak kental sehingga waktu pengeringan akan lebih cepat. Kapasitas alat *freeze drying* mampu mengeringkan ekstrak sampai 6 L sekaligus (Haryani, dkk., 2012).

Komponen kimia kopi robusta adalah alkaloid, saponin, flavonoid, dan polifenol (Balitbangkes, 2000). Kopi merupakan sumber penting polifenol, diantaranya asam kafeat, asam klorogenat, asam kumarat, asam ferulat, dan asam sinapat (Hecimovic *et al.*, 2011). Metabolit sekunder terbesar pada kopi adalah asam klorogenat. Kadar asam klorogenat pada kopi robusta lebih tinggi dari pada kopi arabika yaitu sekitar 10% sedangkan pada kopi arabika sekitar 6–7% (Panggabean, 2011).

Biji kopi robusta berpotensi sebagai tabir surya karena memiliki nilai SPF, hal ini berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Suhesti (2019) pada ekstrak etanol biji kopi robusta dengan metode pengeringan oven menghasilkan nilai SPF sebesar $8,77 \pm 0,04$ dengan tipe proteksi maksimal pada konsentrasi 80 ppm.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Spektrofotometer UV-1700, ultrasonic LC 30 H, *rotari evaporator*, *freeze dryer*, labu ukur, timbangan analitik, beaker gelas, erlenmeyer, bulb, mikropipet, pipet ukur, pipet tetes, batang pengaduk, kertas perkamen, *aluminum foil*, botol semprot, printer3, desikator, spatula dan cawan porselin.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak kering biji kopi robusta (*Coffea canephora* Pierr A. Froehner), etanol 96%, metanol, *purified water*, reagen *folin-ciocalteau*, Na_2CO_3 dan asam galat.

Determinasi tumbuhan

Determinasi tumbuhan dilakukan di “Herbarium Bogoriense”, Bidang Botani Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi-LIPI Cibinong, Jl. Raya Jakarta-Bogor KM. 46 Cibinong Bogor, 16911-Jawa Barat.

Ekstraksi biji kopi robusta

Pembuatan ekstrak biji kopi robusta dilakukan dengan metode maserasi, yaitu serbuk kopi yang telah diayak, ditimbang sebanyak 1,6 kg lalu di ekstraksi dengan menggunakan 6,4L etanol 96% dengan cara maserasi (perendaman), diaduk dengan stirer ± 3 jam. Didiamkan/endapkan selama 24 jam. Ekstrak kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring (filtrat 1), dan sisanya di remaserasi lagi dengan menggunakan etanol 96% sebanyak 1,6 L dan diaduk dengan stirer ± 1 jam lalu disaring (filtrat 2). Selanjutnya filtrat 1 dan filtrat 2 disatukan, kemudian dimasukkan pada *rotari evaporator* pada suhu 40–50°C sampai kental/diuapkan pelarutnya hingga menjadi ekstrak kental selama 6–8 jam (Balitro, 2014).

Analisis rendemen ekstrak

Ekstrak biji kopi robusta yang dihasilkan, dilakukan perhitungan rendemen ekstrak (%) menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\frac{\text{Bobot sampel setelah ekstraksi (gram)}}{\text{Bobot awal sampel (gram)}} \times 100\%$$

Rumus III. Rendemen ekstrak

Pengeringan ekstrak menggunakan teknologi *freeze drying*

Sebanyak 30 g ekstrak kental biji kopi robusta dimasukkan kedalam chamber lalu dimasukkan kedalam *freezer* kulkas/lemari es sampai membeku (menjadi es) yang bertujuan untuk mempercepat proses penguapan, jika tidak dilakukan hal ini maka dikhawatirkan sampel akan terhisap oleh alat *freeze dryer*. Hubungkan chamber pada alat *freeze dryer* dengan alat pipa yang sebelumnya telah diatur suhunya hingga -50°C . Alat tersebut akan menyedot solvent yang telah beku (*freeze*) menjadi uap oleh vacuum pump. Prinsip kerja alat ini adalah merubah fase padat/es/*freeze* menjadi fase gas (uap). Ekstrak yang sudah kering ditandai dengan tidak dinginnya wadah yang digunakan apabila disentuh dengan tangan dan nilai vacuum pada alat kurang dari 1 (Pasca Panen, 2015).

Penentuan nilai total fenol

Ditimbang 50 mg ekstrak kemudian dilarutkan sampai 10 ml dengan

metanol:*purified water* (1:1). Dipipet 0,2 ml larutan ekstrak dan tambahkan 15,8 ml *purified water* tambahkan 1 mL Reagen *Folin-Ciocalteu* kocok, diamkan selama 8 menit. Tambahkan 3 ml larutan Na_2CO_3 20% kedalam campuran dan kocok hingga homogen, diamkan larutan selama 2 jam pada suhu kamar. Ukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang serapan maksimum 765 nm yang akan memberikan kompleks biru, kemudian tentukan kadar fenol dalam mg GAE/g.

Penentuan nilai sun protection factor (SPF)

Pengukuran nilai SPF dilakukan dengan cara ditimbang dari masing-masing sampel dalam pelarut etanol 96% dengan konsentrasi tertentu, diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis tiap 5 nm pada rentang panjang gelombang dari 290 nm sampai panjang gelombang diatas 320 nm yang memiliki nilai serapan minimal 0,05. Selanjutnya area di bawah kurva dihitung tiap 5 nm dan jumlah serapan pada panjang gelombang ke-n dan serapan pada panjang gelombang ke- (n-1) dibagi 2 dikali 5 (luas trapesium). Dihitung nilai log SPF dengan cara membagi jumlah seluruh area dibawah kurva dengan selisih panjang gelombang terbesar dan terkecil. Selanjutnya nilai log SPF diubah menjadi SPF (Yuliani, 2010).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil determinasi tumbuhan

Tumbuhan telah di determinasi di “Herbarium Bogoriense”, Bidang Botani Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi–LIPI Cibinong, Jl. Raya Jakarta–Bogor KM. 46 Cibinong Bogor, 16911–Jawa Barat. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tumbuhan yang digunakan dalam penelitian adalah tumbuhan kopi robusta dengan nama latin *Coffea canephora* Pierr A. Froehner – Syn. *Coffea robusta* Lindl.L. dengan suku Rubiaceae.

Hasil rendemen ekstrak

Rendemen merupakan persentase jumlah komponen tertentu yang diekstraksi dari suatu bahan. Biji kopi robusta sebanyak 1,6 kg yang telah dikeringkan diekstrak menggunakan pelarut etanol 96%. Pengeringan bertujuan untuk menghindari proses pembusukan dan memudahkan terjadinya

proses ekstraksi. Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi (perendaman) dan menghasilkan ekstrak kental sebanyak 117 g dengan rendemen ekstrak 7,31%, artinya bahwa dari 117 g ekstrak kental terdapat rendemen ekstrak sebesar 8,5527 g.

Hasil pengolahan ekstrak dengan teknologi freeze drying

Freeze drying merupakan metode pengawetan produk dengan cara dibekukan, lalu dikeringkan (disublimasikan) dengan cara di vakum. Menghasilkan produk yang awalnya berfasa liquid menjadi produk padat tanpa mengandung air (Hakim, 2013). Keunggulan *freeze drying* yaitu dalam mempertahankan mutu hasil pengeringan, diantaranya dapat mempertahankan stabilitas ekstrak (menghindari perubahan aroma, warna, dan unsur organoleptik lain), dapat menghambat aktivitas mikroba serta mencegah terjadinya reaksi kimia dan aktivitas enzim yang dapat merusak kandungan kimia ekstrak (Nofrianti, 2013). Hasil pengolahan ekstrak biji kopi robusta dengan metode *freeze drying* sebanyak 30 g ekstrak kental yang dikeringkan selama 17 jam menghasilkan ekstrak kering sebanyak 11,8907 g.

Penentuan nilai total fenol

Fenol merupakan senyawa dengan gugus -OH yang terikat langsung dengan cincin aromatik (Riswiyanto, 2009; Sarker dan Lutfun, 2009). Fenol sedikit larut dalam air (9 g/100 g air) disebabkan oleh ikatan hidrogen fenol dengan air, tetapi sebagian besar turunan fenol tidak larut dalam air (Riswiyanto, 2009; Sarker SD dan Lutfun Nahar, 2009).

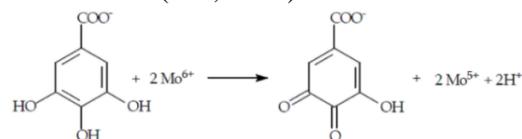
Total fenol dapat ditentukan dengan metode *Folin-Ciocalteu* yang absorbansinya diukur pada panjang gelombang 765 nm (Pourmorad dkk., 2006). Metode ini berdasarkan kekuatan mereduksi dari gugus hidroksil (-OH) fenolik. Prinsip metode *Folin-Ciocalteu* adalah reaksi oksidasi-reduksi dalam suasana basa menggunakan reagen *Folin-Ciocalteu* dan natrium karbonat (Prior, Wu, dan Scaich, 2005).

Reagen *Folin-Ciocalteu* diperoleh dari reaksi natrium tungstat (Na_2WO_4) dan natrium molibdat (Na_2MoO_4) menghasilkan senyawa molibdotungstat ($\text{MoW}_{11}\text{O}_{40}$)⁻⁴ berwarna kuning. Oksidasi senyawa fenolik yang ada dalam senyawa uji oleh molibdotungstat

menghasilkan kompleks berwarna yang akan terukur panjang gelombang 745–765 nm. Saat reaksi, terjadi reduksi ion molibdenum (Mo^{6+}) menjadi Mo^{5+} yang menyebabkan perubahan warna larutan kuning menjadi biru (Prior, Wu, dan Scaich, 2005). Perubahan menjadi warna biru inilah yang digunakan sebagai indikator keberadaan senyawa fenolik pada suatu ekstrak, sehingga semakin tinggi kandungan fenolik dalam suatu ekstrak maka warna biru yang dihasilkan juga semakin pekat (Apsari dan Susanti, 2011).

Salah satu antiradikal alami yaitu asam galat (3,4,5-trihydroxybenzoic acid). Asam galat termasuk dalam senyawa fenolik dan memiliki aktivitas penangkapan radikal yang kuat. Asam galat digunakan sebagai larutan standar karena asam galat merupakan fenol alami golongan asam fenolat yang bersifat stabil, murni, mudah didapat dan harganya lebih murah daripada lainnya (Apsari dan Susanti, 2011; Lee, 2003). Standar asam galat dibuat dengan variasi konsentrasi 200–600 ppm dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 765 nm. Penentuan kandungan total fenol dilakukan dengan cara membuat kurva kalibrasi asam galat yang memiliki berbagai nilai absorbansi dengan nilai korelasi = 0,9803.

Kandungan total fenol pada ekstrak biji kopi robusta dinyatakan sebagai equivalen asam galat atau *Gallic Acid Equivalent* (GAE). GAE merupakan acuan umum untuk mengukur sejumlah senyawa fenolik yang terdapat dalam suatu bahan (Mongkolsilp dkk., 2004). Pada penelitian ini, asam galat direaksikan dengan reagen *Folin-Ciocalteu* menghasilkan larutan berwarna kuning kehijauan, setelah ditambahkan dengan larutan Na_2CO_3 20% baru menghasilkan larutan kompleks berwarna biru. Semakin tinggi konsentrasi asam galat yang digunakan, maka warna biru yang dihasilkan akan semakin pekat. Hal ini sesuai dengan ketentuan, bahwa adanya inti aromatis pada senyawa fenol dapat mereduksi fosfomolibdat fosfotungstat menjadi molibdenum yang berwarna biru (Lee, 2003).



[Sumber: Nunes, 2012]

Gambar 2. Reaksi asam galat dengan reagen *Folin-Ciocalteu*

Hasil pengujian total fenol pada ekstrak etanol biji kopi robusta dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil total fenol ekstrak etanol biji kopi robusta

Konsentrasi	Nilai TPC ± SD (mg GAE/g)	CV (%)
50 mg	850 ± 0,001	0,12

Berdasarkan Tabel 1, nilai total fenol ekstrak biji kopi robusta yang dihasilkan yaitu 850 mg GAE/g ekstrak. Artinya, dalam setiap gram ekstrak setara dengan 850 mg asam galat. Kadar total fenol meningkat dengan menurunnya suhu pengeringan karena fenol tersebut tidak mengalami penguapan yang disebabkan oleh pemanasan (Chu dan Juneja, 1997). Liyana and Shahidi, menyatakan bahwa ada hubungan antara suhu dan senyawa fenolik secara kuadratik, naiknya suhu menyebabkan peningkatan kadar fenolik sampai pada suhu tertentu kemudian menurun seiring dengan peningkatan suhu yang lebih tinggi, hal ini disebabkan oleh dekomposisi senyawa fenolik (Mongkolsilp dkk., 2004).

Analisa Nilai SPF

SPF merupakan ukuran kemampuan tabir surya untuk mencegah kerusakan kulit. Kisaran SPF mulai dari 2 sampai lebih dari 50. Tabir surya dianjurkan dengan paling sedikit adalah SPF 15. SPF 15 akan memblokir 95% dari radiasi UVB. SPF 30 tidak bekerja 2x lipat, namun akan memberikan penambahan perlindungan sebanyak 3% (Nofianty, 2008).

SPF menunjukkan kemampuan tabir surya melindungi kulit. Tabir surya dengan SPF menyatakan lamanya kulit seseorang berada di bawah sinar matahari tanpa mengalami luka bakar, sedangkan angka SPF menyatakan berapa kali daya tahan alami kulit seseorang dilipatgandakan sehingga aman di bawah matahari tanpa terkena luka bakar. Misalnya: SPF 15 artinya, Jika seseorang memiliki daya tahan alami 30 menit (tipe 3) maksudnya adalah ia dapat bertahan 30 menit di bawah sinar matahari dengan tidak mengalami luka bakar, sehingga jika mengoleskan anti-UV SPF 15, maka akan dapat bertahan 15 kali lebih lama, yaitu selama 15 x 30 menit = 450 menit = 7,5 jam (Oviantari dan Parwata, 2007).

Tabel 2. Hasil penentuan nilai SPF

Konsentrasi (ppm)	Nilai SPF ± SD	CV (%)	Tipe proteksi
40	3,31 ± 0,01	0,24	Minimal
50	4,59 ± 0,06	1,28	Sedang
60	5,88 ± 0,03	0,52	Sedang
70	6,97 ± 0,06	0,91	Ekstra
80	8,23 ± 1,06	12,93	Maksimal

Berdasarkan data nilai SPF tersebut, pada konsentrasi tertinggi yaitu 80 ppm ekstrak etanol biji kopi robusta memiliki nilai SPF sebesar 8,23 dan termasuk dalam tipe proteksi maksimal. Hal disebabkan oleh senyawa fenolik khususnya flavonoid yang terdapat pada biji kopi robusta mempunyai potensi sebagai tabir surya karena adanya gugus kromofor (ikatan rangkap terkonjugasi) yang mampu menyerap sinar UV A / UV B sehingga mengurangi intensitasnya pada kulit (Wolf *et al.*, 2001).

KESIMPULAN

Pengeringan ekstrak dengan metode *freeze drying* menghasilkan ekstrak yang lebih stabil dan lebih aman terhadap resiko terjadinya degradasi senyawa dalam ekstrak. Nilai total fenol yang dihasilkan oleh ekstrak etanol biji kopi robusta yaitu sebesar 850 ± 0,001 mg/GAE g ekstrak dengan Nilai SPF tertinggi terdapat pada konsentrasi 80 ppm yaitu 8,23 ± 1,06 dan termasuk dalam tipe proteksi maksimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Ade NM, dkk. (2013). Penentuan nilai Sun Protective Factor (SPF) secara in vitro krim tabir surya ekstrak etanol kulit alpukat. *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2(3): ISSN 2302–2493.
- Apsari, P.D., dan Susanti, H. (2011). Penetapan kadar fenolik total ekstrak metanol kelopak bunga rosella merah (*Hibiscus sabdariffa* L.) dengan variasi tempat tumbuh secara spektrofotometri. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 2(1): 73–80.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (Balitbangkes). (2000). *Inventaris tanaman obat Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan & Kesejahteraan Sosial RI, h 75.

- Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pasca Panen Pertanian. (2015). *Laporan pengujian laboratorium hasil pengeringan ekstrak kental biji kopi robusta (Coffea canephora Pierr A. Froehner) dengan teknologi freeze drying*. Bogor.
- Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro). (2014). *Certificate of Analisis ekstrak kental biji kopi robusta (Coffea canephora Pierr A. Froehner)*. Bogor.
- Chu DC dan LR Juneja., (1997). *General chemical composition of green tea and its infusion. chemistry and applications of green tea*. USA: CRC Press LLC, h 13–21.
- Foodpreview Indonesia. (2013). *Freeze drying teknologi: for better quality & flavour of dried products*. 8 (2): h 53–55, 57.
- Hakim, FF. (2013). *Sistem freeze drying: unit penelitian dan pengembangan vaksin*. Jakarta: PT Bio Farma (Persero), h 2.
- Haryani, F.L, dkk. (2012). *Mengenal lebih dekat alat pengering “freeze dryer”*. Jawa Tengah: Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan Universitas Jenderal Soedirman (UNSOED): h 2–3.
- Hecimovic I, *et al.*,(2011). Comparative study of polyphenols and caffeine in different coffee varieties affected by the degree of roasting. *Food Chemistry*. 129: 3991–1000.
- Lee, K.I. (2003). Cocoa has more phenolic phytochemical and higher antioxidant capacity than teas and red wine, *J. Agric. Food Chem* 51: 7292–7295.
- Mario, *et al.* (2010). Supercritical fluid extraction and stabilization of phenolic compounds from natural sources – review (supercritical extraction and stabilization of phenolic compounds). *The Open Chemical Engineering Journal*. Brazil.
- Mongkolsilp S, dkk. (2004). Radical scavenging activity and total phenolic content of medical plants used in primary health care. *Journal of Pharmacy and Science*. 9 (1): 32–35.
- Nofianty, Tri. (2008). Pengaruh formulasi sediaan losio terhadap efektifitas minyak buah merah sebagai tabir surya dibandingkan terhadap sediaan tabir surya yang mengandung oktinoksat. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia, Jakarta. h 20, 23, 27–30.
- Nofrianti, R. (2013). Metode freeze drying bikin keripik makin crunchy. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 2(1).
- Nunes, X.P., Silva, F.S., Jackson, R.G., da S.A., Julianeli, T.de L., Luciano, A.de A., Lucindo, J.Q.J., and José, M.B.F., (2012). Biological oxidation and antioxidant activity of natural products. *University Federal Sao Fransisco*. Brazil. pp. 1–20.
- Oviantari MV dan Parwata IP. (2007). Optimalisasi produksi semi refined carragenan dari rumput laut eucheuma cottonii dengan variasi teknik pengeringan dan kadar air bahan beku. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Sains dan Humaniora Lembaga Penelitian Undhiksa*, Bali.
- Panggabean, Edy. (2011). *Buku pintar kopi*. (Disunting oleh nofiandi opi). Jakarta: PT AgroMedia Pustaka, h 130.
- Pourmorad F, dkk., (2006). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected iranian medical plants. *African Journal of Biotechnology*, 5(11): 1142–1145.
- Prior, R.L., Wu,X., Scaich, K., (2005). Standarized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in food and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 4290–4302.
- Riswiyanto. (2009) *Kimia organik*. (Rina Astikawati, Gugi Sagara, editor). Jakarta: Erlangga. h 343, 344, 346.
- Sarker Satyajit D dan Lutfun Nahar. (2009). *Kimia untuk mahasiswa farmasi bahan kimia organik, alam dan umum*.

(Diterjemahkan oleh Abdul Rohman).
Jakarta: Pustaka Pelajar. h 183, 185.

- Stanley B Levy MD., (2014). *Drugs & diseases: sunscreen and photoprotection*. Dirk m elston md, editor. Medscape Reference [serial online]. Diambil dari: <http://emedicine.medscape.com/article/1119992overview#aw2aab6b5>. Diakses 5 November 2014. Pukul 13:39 WIB.
- Suhesti, Iin. (2019). Penentuan total fenol dan nilai Sun Protection Factor (SPF) ekstrak etanol biji kopi robusta (*Coffea canephora* Pierr A. Froehner). *Indonusa Conference on Technology and Social Science*, ISBN: 978-623-92318-1-1. 67-74.
- Wolf, R., Wolf, D., Morganti, P., Ruocco, V., (2001). Sunscreen. *Clinics in Dermatology*, 19:252-459.
- Yuliani SH., (2010). Optimasi Kombinasi Campuran Sorbitol, Gliserol dan Propilenglikol dalam Gel Sunscreen Ekstrak Etanol Curcuma Mangga, Fakultas Farmasi Universitas Sanata Darma. *Majalah Farmasi Indonesia*, 21 (2): 83-89.