Catatan Penelitian

Antioksidan dan Kadar Fenol Berbagai Ekstrak Daun Kopi (*Coffea sp.*): Potensi Aplikasi Bahan Alami untuk Fortifikasi Pangan

Antioxidant Activity and Phenolic Content of Coffee Leaves (*Coffea sp.*) Extract: Potential Application as Natural Substance for Food Fortification

Devi Yuniar Pristiana, Siti Susanti*, Nurwantoro

Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang

*Korespondensi dengan penulis (drh.santi5678@yahoo.co.id)

Artikel ini dikirim pada tanggal 22 Oktober 2016 dan dinyatakan diterima tanggal 12 April 2017. Artikel ini juga dipublikasi secara online melalui www.jatp.ift.or.id. Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang diperbanyak untuk tujuan komersial.

Diproduksi oleh Indonesian Food Technologists © 2017

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan kadar fenol yang terkandung dalam berbagai jenis ekstrak daun kopi (*Coffea sp.*) dari 3 spesies yang berbeda, serta mengetahui korelasi antara kadar fenol terhadap aktivitas antioksidan. Rancangan penelitian adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 kriteria sampel, masing-masing kriteria diulang 3 kali. Parameter yang diamati adalah aktivitas antioksidan, kadar fenol, dan korelasi antara kadar fenol terhadap aktivitas antioksidan. Hasil penelitian menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan aktivitas antioksidan dan kadar fenol ekstrak daun kopi yang berbeda spesies dan umurnya. Terdapat perbedaan signifikan kadar fenol ekstrak daun kopi yang berbeda spesies dan umurnya. Kadar fenol tertinggi pada ekstrak daun tua kopi Liberika yaitu $77,42 \pm 3,87$ mg eq. as. galat/g ekstrak dan terendah pada ekstrak daun muda kopi Liberika yaitu $12,31$ mg eq. as. galat/g ekstrak. Kadar fenol ekstrak daun kopi berkorelasi dengan aktivitas antioksidannya. Daun tua kopi Liberika berpotensi diaplikasikan sebagai bahan alami untuk fortifikasi pangan yang dapat menciptakan inovasi produk pangan yang kaya antioksidan.

Kata kunci: aktivitas antioksidan, kadar fenol, ekstrak daun kopi

Abstract

*This study aimed to determine the antioxidant status, include antioxidant activity and phenolic content contained in various types of coffee leaves extract (*Coffea sp.*) from three different species, as well as the correlation between phenolic content and antioxidant activity. The study based on Completely Randomized Design (CRD) with 6 criteria of samples, each criteria was repeated 3 times. Parameters measured were antioxidant activity, phenolic content, and correlation of phenolic content into antioxidant activity. The results showed no significantly differences in antioxidant activity of coffee leaves extract, but phenolic content had significant differences. The highest phenolic content in old leaves extract of Liberica Coffee was 77.42 ± 3.87 mg eq. gallic acid/g extract and the lowest phenolic content in young leaves extract of Liberica coffee was 12.31 mg eq. gallic acid/g extract. Phenolic content of coffee leaves extract correlated with antioxidant activity. Old leaves of Liberica coffee may be potentially applied as a natural substance for food fortification to create an innovative food products which contained high antioxidants.*

Keywords : *antioxidant activity, phenolic content, coffee leaves extract*

Pendahuluan

Konsumsi produk pangan fungsional telah menjadi tren konsumsi masyarakat dunia karena tidak hanya menawarkan rasa dan penampilan yang menarik, namun juga memberikan nutrisi lebih yang baik bagi tubuh. Pangan fungsional merupakan pangan yang dapat memberikan manfaat bagi kesehatan karena kandungan komponen aktifnya, diluar manfaat yang berasal dari zat gizi yang terkandung didalamnya.

Salah satu contoh pangan fungsional adalah pangan yang mengandung antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa kimia yang memiliki kemampuan untuk memberikan hidrogen radikal untuk memadamkan oksigen radikal, sehingga tercapai keseimbangan oksidan-antioksidan, yang dapat mengatur fungsi sistem imun dalam menjaga integritas fungsi lipida membran, protein seluler, asam nukleat serta mengatur ekspresi gen, yang dapat mencegah timbulnya kanker.

Antioksidan alami adalah antioksidan yang berasal dari hasil ekstraksi bahan alam pada tumbuhan. Senyawa antioksidan alami meliputi

betakaroten, likopen, asam askorbat (vitamin C), tokoferol (vitamin E) dan zat lainnya. Tanaman kopi merupakan salah satu tanaman yang mengandung antioksidan tinggi. Biji kopi mengandung senyawa polifenol, diantaranya adalah asam kafeat, asam klorogenat, asam feurat, asam sinapat, dan asam koumarat. Kandungan kimia terbesar biji kopi sebagai antioksidan adalah asam klorogenat yang dipercaya dapat mengobati epilepsi, hiperaktivitas dan masalah tidur. Di Indonesia, terdapat dua jenis kopi yang dikenal masyarakat, yaitu kopi Arabika dan Robusta. Kedua jenis kopi tersebut mengandung senyawa aktif tinggi seperti asam quinolinat, asam pirogalat, asam tanat, trigonelin, asam nikotinat, dan terutama kafein (Ciptaningsih, 2012).

Selama ini pemanfaatan tanaman kopi secara komersial hanya terfokus pada pengolahan biji kopi sebagai minuman seduh maupun bahan tambahan makanan. Daun kopi merupakan salah satu bagian dari tanaman kopi yang dianggap limbah dan belum banyak dimanfaatkan sebagai produk pangan maupun sebagai bahan campuran alami untuk fortifikasi pangan. Di

daerah Sumatera, daun kopi dimanfaatkan sebagai minuman seduh yang disebut dengan “Aia Kawa” karena dipercaya mengandung alkaloida, kafein, saponin, flavonoid, dan polifenol yang dapat mencegah berbagai penyakit karsinogenik. Fortifikasi adalah penambahan suatu bahan ke dalam suatu produk pangan yang diharapkan dapat meningkatkan mutu dari produk tersebut (Corputty dan Rochima, 2015). Sampai saat ini, belum terdapat sumber pasti yang menjelaskan perbedaan aktivitas antioksidan dan kadar fenol yang terkandung pada ekstrak daun muda dan daun tua kopi Arabika (*Coffea arabica*), Robusta (*Coffea canephora*), dan Liberika (*Coffea liberica*), serta korelasi kadar fenol terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun kopi tersebut sebagai bahan alami untuk fortifikasi pangan.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan kadar fenol yang terkandung dalam ekstrak daun muda dan daun tua kopi Arabika (*Coffea arabica*), Robusta (*Coffea canephora*), dan Liberika (*Coffea liberica*), serta mencari korelasi kadar fenol terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun kopi tersebut. Manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat memunculkan database baru mengenai status antioksidan daun kopi yang dapat memberikan landasan ilmiah bagi pengembangan penelitian-penelitian berikutnya tentang aplikasi daun kopi di bidang teknologi pangan sebagai bahan alami fortifikasi produk pangan kaya antioksidan.

Materi dan Metode

Materi

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun muda (umur < 3 bulan) dan daun tua (umur > 3 bulan) kopi Arabika (*Coffea Arabica*), Robusta (*Coffea canephora*), dan Liberika (*Coffea liberica*) segar, air, metanol 70% (teknis), metanol p.a, 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), reagen folinciocalteus fenol, larutan NaCO₃ 35%, aquades, asam galat, dan asam askorbat. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah wadah besar, kain hitam, terpal, tampah, blender, grinder, ayakan, saringan, penguap putar vakum (*vacuum rotatory evaporator*), tabung reaksi, gelas beaker, oven, timbangan analitik, corong kaca, kertas saring, cawan porselen, penjepit, desikator, vortex, sentrifuge, botol vial, tube sentrifugasi, mikro pipet 1000µl, mikropipet 20-200 µl, pipet tetes, inkubator, spektrofotometer UV-Vis Shimadzu UV-1201, pipet 10 ml, labu Erlenmeyer 1000 ml, dan tube erlenmeyer.

Metode

Penelitian dilakukan pada bulan Januari - Mei 2016. Penelitian meliputi proses pembuatan ekstrak daun kopi dan analisis eksperimental. Analisis eksperimental meliputi analisis aktivitas antioksidan (spektrofotometer UV-Vis), dan analisis kadar fenol (spektrofotometer UV-Vis).

Proses Pembuatan Ekstrak Daun Kopi (*Coffea sp.*)

Pembuatan ekstrak daun kopi terdiri dari beberapa tahap, yaitu pemetikan daun, pengeringan daun, pembuatan simplisia, proses maserasi, dan penguapan ekstrak. Tahap pertama yaitu pemetikan daun yaitu daun muda kopi Arabika, daun tua kopi

Arabika, daun muda kopi Robusta, daun tua kopi Robusta, daun muda kopi Liberika, dan daun tua kopi Liberika, yang kemudian dicuci bersih. Tahap kedua yaitu pengeringan daun dengan cara di angin-anginkan diatas terpal pada suhu ruang (20-25°C) selama ± 1 minggu kemudian dikeringkan dengan menggunakan *cabinet drier* pada suhu 40-45°C selama 4 jam. Tahap ketiga yaitu pembuatan simplisia dengan cara menghaluskan daun kering dengan menggunakan blender dan grinder yang kemudian di ayak menggunakan ayakan. Tahap ke empat yaitu proses maserasi dengan mencampurkan 40 gram simplisia dengan 200 ml pelarut metanol 70% (teknis) dengan cara digojog setiap 2 jam sekali selama 24 jam. Tahap kelima yaitu penguapan pelarut dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C hingga pelarut menguap sempurna yang ditandai dengan wujud ekstrak yang kental. Ekstrak kental disimpan di dalam botol vial yang ditutup rapat dengan menggunakan alumunium foil dan disimpan pada refrigerator untuk kemudian dianalisis.

Analisis Aktivitas Antioksidan

Analisis aktivitas antioksidan mengacu pada metode yang dilakukan oleh Khotimah (2014) yaitu menggunakan metode penangkapan radikal bebas 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH). Larutan standar dengan konsentrasi 0, 5, 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm dibuat dari campuran 1 mg asam askorbat dan metanol p.a 10 ml yang telah divortex. Larutan DPPH 0,16 mM dalam 10 metanol dibuat dengan menambahkan 10 ml metanol p.a dengan 0,0006 gram bubuk DPPH. Kemudian sampel sebanyak 0,05 gram ditambahkan 5 ml metanol p.a dan disentrifugasi 6000 rpm selama 5 menit. Supernatan yang terbentuk diambil sebanyak 0,5 ml dan ditambahkan 1 ml larutan DPPH, divorteks dan diinkubasi ditempat gelap dan tertutup selama 30 menit. Setelah itu, larutan sampel di ukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm. Kurva standar dibuat dengan mengganti sampel dengan asam askorbat yang telah dibuat dalam beberapa konsentrasi sebelumnya. Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam mg eq. as. askorbat/g ekstrak atau *Ascorbic Acid Equivalent Antiokxidant Capacity* (AEAC) ekstrak yang didapatkan dengan mengalikan konsentrasi ekstrak terukur pada spektrofotometer (mg/L) dengan volume larutan ekstrak (ml) dan dibagi dengan berat sampelnya (g).

Analisis Kadar Fenol

Analisis kadar fenol mengacu pada metode yang dilakukan oleh Jayasri dan Mathew (2009) dengan metode *Folin-ciocalteu*. Prinsip metode ini adalah oksidasi senyawa fenol dalam suasana basa oleh pereaksi *Folin-Ciocalteu* yang menghasilkan larutan berwarna biru. Larutan standar dengan konsentrasi 300, 400, 500, 600, 700, dan 800 ppm dibuat dari campuran 1 mg asam galat dengan 5 ml metanol p.a yang telah divorteks. Larutan induk sampel dibuat dengan menambahkan 200 mg sampel dengan 20 ml metanol p.a dan divorteks. Larutan sampel yang akan diuji di buat sesuai dengan pengenceran, yakni 1 ml (10x), 0,4 ml (25x), dan 0,2 ml (50x), kemudian

ditambahkan aquades, 1,5 ml Na_2CO_3 35%, dan 0,5 ml reagen *Folin-Ciocalteu* 50%, divorteks, dan diinkubasi selama 30 menit diruangan tertutup. Setelah itu diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 756 nm. Kurva standar dibuat dengan mengganti sampel dengan berbagai konsentrasi larutan standar yang sudah dibuat sebelumnya. Kadar fenol dinyatakan dalam mg eq. as.galat/g ekstrak dengan mengalikan konsentrasi terukur (mg/L) dengan volume sampel (ml) dan faktor pengali lalu membaginya dengan berat sampelnya (g).

Analisis Statistik

Untuk mengetahui adanya pengaruh dari spesies dan umur daun kopi yang berbeda, data yang dihasilkan di analisis ANOVA (*Analysis of Variance*), dan apabila hasilnya signifikan pada taraf uji 5 % maka dilakukan uji lanjut Duncan *Multiple Range Test* (DMRT) untuk mengetahui adanya perbedaan sebagai hasil dari perlakuan. Data kadar fenol dilakukan analisis korelasi Pearson untuk mengetahui apakah ada keterkaitan terhadap aktivitas antioksidan.

Hasil dan Pembahasan

Hasil Analisis Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kopi

Analisis hasil uji statistik aktivitas antioksidan ditunjukkan pada Figur 1 memperlihatkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) pada aktivitas antioksidan ekstrak daun muda dan daun tua kopi Arabika (*Coffea arabica*), Robusta (*Coffea Canephora*), dan Liberika (*Coffea liberica*).

Antioksidan memiliki berbagai macam fungsi seperti, menghambat oksidasi lipid, serta mencegah kerusakan, perubahan, dan degradasi bahan organik dalam bahan pangan. Penambahan antioksidan pada produk pangan dengan cara fortifikasi telah lazim dilakukan, karena umumnya tidak mengubah rasa dari produk itu sendiri. Luthfianto *et al.* (2013) membuktikan bahwa penambahan level ekstrak jagung manis pada susu pasteurisasi meningkatkan kadar betakaroten dan tidak mempengaruhi tingkat kesukaan panelis terhadap susu pasteurisasi juga membuktikan bahwa produk yoghurt yang terfortifikasi ekstrak buah mengkudu disukai oleh panelis. Antioksidan adalah suatu zat yang memiliki kemampuan untuk menstabilkan, menonaktifkan, dan menangkal radikal bebas di dalam tubuh. Daun kopi mengandung senyawa-senyawa antioksidan seperti, flavonoid, alkaloid, saponin, kafein, dan polifenol yang bermanfaat sebagai anti-inflamasi (anti peradangan) dan anti-kanker yang berpotensi sebagai bahan alami untuk fortifikasi produk pangan yang bermanfaat bagi tubuh sebagai sumber antioksidan.

Hasil Analisis Kadar Fenol Ekstrak Daun Kopi

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh hasil analisis kadar fenol ekstrak daun kopi (*Coffea sp.*) yang berbeda spesies dan umurnya. Kadar fenol ekstrak daun tua kopi Liberika > daun tua kopi Robusta > daun tua Arabika > daun muda Arabika > daun muda Robusta > daun muda Liberika yang ditunjukkan pada Figur 2. Kadar fenol tertinggi terdapat pada ekstrak daun tua kopi Liberika

yaitu 77,42 mg eq. as.galat/g ekstrak dan kadar fenol terendah terdapat pada ekstrak daun muda kopi Liberika yaitu 12,31 mg eq. as.galat/g ekstrak. Kadar fenol daun tua dari ketiga jenis kopi tersebut lebih tinggi dibandingkan daun mudanya.

Figur 1. Grafik aktivitas antioksidan ekstrak daun muda dan tua dari 3 spesies tanaman kopi. Data ditampilkan sebagai nilai rata-rata dari aktivitas antioksidan ± standar deviasi dari 3 ulangan per analisis (n=3).

Figur 2. Grafik kadar fenol ekstrak daun muda dan tua dari 3 spesies tanaman kopi. Data ditampilkan sebagai nilai rata-rata dari kadar fenol ± standar deviasi dari 3 ulangan per analisis (n=3). Superskrip yang berbeda pada diagram batang menunjukkan adanya perbedaan signifikan di antara masing-masing jenis daun kopi ($p < 0,05$).

Hasil uji statistik diperoleh bahwa terdapat perbedaan nyata ($p < 0,05$) antara kadar fenol ekstrak daun muda dan daun tua kopi jenis Arabika, Robusta, dan Liberika. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kandungan kadar fenol ekstrak daun kopi tidak berbeda jauh dengan kandungan kadar fenol biji kopi yaitu sebesar 37-55 mg/g, bahkan pada daun tua kopi Liberika, kandungan kadar fenolnya lebih tinggi dibandingkan dengan biji kopi (Martinez dan Eduardo, 2004). Tingginya kandungan kadar fenol pada daun kopi disebabkan oleh pada bagian sitoplasma daun paling banyak terjadi proses biosintesis senyawa fenolik (Hernawan dan Setiawan, 2003). Menurut Pagiling (2014), pada bagian daun kopi sering terkena serangan jamur, bakteri, dan virus, maka untuk mengatasi hal tersebut, tanaman memproduksi senyawa fenol sebagai pertahanan. Tingginya kadar

fenol pada daun tua kopi Liberika disebabkan oleh tingginya kemampuan spesies tersebut dalam menghambat infeksi penyakit dibandingkan daun kopi jenis Arabika dan Robusta (Harni *et al.*, 2015).

Daun tua kopi Robusta memiliki kadar fenol yang lebih tinggi dari daun tua kopi Arabika (Bhara, 2009). Daun tua kopi memiliki kandungan kadar fenol yang lebih tinggi dari daun muda, karena daun tua memiliki sensitifitas pertahanan yang lebih tinggi terhadap serangan hama, sehingga produksi senyawa fenolik pada daun tua lebih tinggi dibandingkan pada daun muda sebagai pertahanan terhadap stress oksidatif, yaitu keadaan dimana terganggunya keseimbangan antara pro-oksidan dan antioksidan akibat meningkatnya produksi oksigen atau menurunnya kadar antioksidan (Marques, 2011).

Korelasi Kadar Fenol Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kopi

Berdasarkan hasil analisis statistik korelasi kadar fenol terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun muda dan daun tua kopi (*Coffea sp.*) dengan spesies dan umur yang berbeda, diperoleh hasil signifikan ($p < 0,05$) yang berarti 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*). Nilai R kadar fenol terhadap aktivitas antioksidan sebesar 0,99; yang berarti bahwa hubungan antara kandungan fenolik total (mg equivalen as.galat/g ekstrak) total terhadap aktivitas antioksidan (mg equivalen as. askorbat/gram ekstrak) mempunyai korelasi yang sangat kuat karena nilai R mendekati 1. Hasil analisis regresi menunjukkan nilai R^2 sebesar 99% yang berarti bahwa aktivitas antioksidan pada ekstrak daun muda dan daun tua kopi Arabika (*Coffea arabica*), kopi Robusta (*Coffea canephora*), dan kopi Liberika (*Coffea liberica*) pada penelitian ini 99% dipengaruhi oleh kadar fenol, sementara 1% nya dipengaruhi oleh faktor lain. Kandungan senyawa fenolik pada sampel tinggi, maka aktivitas antioksidannya juga tinggi. Hal tersebut disebabkan karena senyawa polifenol merupakan komponen antioksidan terbesar dalam suatu bahan yang berasal dari tanaman (Djapiala *et al.*, 2013). Senyawa fenol seperti asam fenolat memberikan efek bioaktif pada senyawa antioksidan (Handayani *et al.*, 2016).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian aktivitas antioksidan dan kadar fenol berbagai ekstrak daun kopi (*Coffea sp.*), dapat disimpulkan bahwa aktivitas antioksidan dan kadar fenol tertinggi terdapat pada ekstrak daun kopi Liberika tua. Kadar fenol daun kopi berkorelasi terhadap aktivitas antioksidannya. Dengan demikian, daun tua kopi Liberika berpotensi sebagai sumber antioksidan yang dapat diaplikasikan sebagai bahan alami untuk fortifikasi pangan, sehingga dapat menciptakan inovasi baru produk pangan yang kaya antioksidan.

Daftar Pustaka

- Bhara, M. L.A. 2009. Pengaruh Pemberian Kopi Dosis Bertingkat Per Oral 30 Hari terhadap Gambaran Histologi Hepar Tikus Wistar. Laporan Akhir Karya Tulis Ilmiah. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Ciptaningsih, E. 2012. Uji Aktivitas Antioksidan dan Karakteristik Fitokimia pada Kopi Luwak Arabika dan Pengaruhnya terhadap Tekanan Darah Tikus Normal dan Tikus Hipertensi. Tesis. Fakultas Matematika dan Pengetahuan Alam. Universitas Indonesia, Depok.
- Corputty, L. D., Rochima, E. 2015. Pengaruh fortifikasi iodium asal rumput laut (*Gracillaria sp.*) terhadap karakteristik tortilla chips. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Padjajaran, Bandung.
- Djapiala, F. Y., Lita, Montolalu, A. D. Y., Mentang, F. 2013. Kandungan Total Fenol dalam Rumput Laut (*Caulerpa racemosa*) yang Berpotensi sebagai Antioksidan. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Sam Ratulangi, Manado.
- Handayani, H., Sriherfyna, F. H., Yuniarta. 2016. Ekstraksi antioksidan daun sirih metode ultrasonic bath (kajian rasio bahan : pelarut dan lama ekstraksi). Jurnal Pangan dan Agroindustri, 4 (1), 262-272.
- Harni, R., Taufiq, E., Martono, B. 2015. Ketahanan pohon induk kopi liberika terhadap penyakit karat daun (*Hemileia vastatrix B. et Br.*) di Kepulauan Meranti. Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar, 2 (1), 35-42.
- Hernawan, D. E., Setiawan, A.D. 2003. Ellagitannin: Biosintesis, Isolasi, dan Aktivitas Biologi. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Surakarta.
- Jayasri, M. A. L., Mathew, R.A. 2009. A report on the antioxidant activity of leaves and rhizomes of *Costus pictus D. Don*. Journal of Integrative Biology. 5 (1), 20-26.
- Khotimah, K. 2014. Karakteristik kimia kopi kawa dari berbagai umur helai daun kopi yang diproses dengan metode berbeda. Jurnal Teknologi Pertanian, 9 (1), 40-48.
- Luthfianto, A. K., Santosa, R. S. S., Setyawardani, T. 2013. Pengaruh penambahan level ekstrak jagung manis (*Zea mays saccharata*) pada pembuatan susu pasteurisasi terhadap kadar beta karoten dan kesukaan. Jurnal Ilmiah Peternakan, 1 (2), 634-638.
- Marques, L. M. C. 2011. Natural Antioxidants Extraction and Their Incorporation into Model Pharmaceutical Systems. Disertasi. Faculdade de Ciencias e Tecnologia. Universidade Nova de Lisboa.
- Martinez, S., Eduardo. 2004. Coffee consumption and risk for type 2 diabetes mellitus. Annual Internal Medicine, 140, 1-8.
- Pagiling, N. 2014. Penentuan Kadar Polifenol dan Kafein dari Daun dan Kulit Buah Kopi Arabika (*Coffea arabica. L*) Asal Tana Toraja. Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Hasanuddin, Makassar.