

Investigasi Potensi Antiviral Ekstrak Biji Kopi Robusta Temanggung Dalam Menghambat Virus Dengue (DENV)

Rizky Ardian Hartanto Sawal^{1*}, Ayu Ina Solichah¹, Ismi Puspitasari², Felina Daiman¹

Abstract: *Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) is a significant health issue in tropical and subtropical regions. The discovery of new antiviral agents is crucial due to the lack of effective treatment or vaccines. This study aims to explore the potential of Temanggung robusta coffee bean extract as an anti-DENV agent. The coffee beans were extracted through maceration using 96% ethanol, followed by phytochemical screening to identify active compounds such as alkaloids, flavonoids, saponins, and tannins. Anti-DENV activity and Vero cell cytotoxicity tests were conducted to evaluate the extract's effectiveness and safety. Results indicated that robusta coffee extract exhibited anti-DENV activity with an EC₅₀ of 88.51 µg/ml and a Selectivity Index (SI) of 9.82. The antiviral activity is attributed to bioactive compounds like alkaloids, flavonoids, saponins, and tannins that inhibit DENV replication. Although the extract demonstrated cytotoxicity at high concentrations with CC₅₀ of 869.7 µg/ml, it still holds potential as a therapeutic anti-DENV agent with relatively low toxicity risks. This research opens opportunities for developing robusta coffee-based therapies for DENV infection control in the future.*

Keywords: DENV, Vero Cells, Dengue Fever, Robusta Coffee, Temanggung

Abstrak: Demam Berdarah Dengue (DBD) adalah masalah kesehatan serius di negara tropis dan subtropis. Upaya penemuan agen antiviral baru menjadi penting mengingat belum adanya pengobatan atau vaksin yang efektif. Penelitian ini bertujuan mengeksplorasi potensi ekstrak biji kopi robusta Temanggung sebagai agen anti-DENV. Biji kopi diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 96%, kemudian dilakukan skrining fitokimia untuk mengidentifikasi senyawa aktif seperti alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Uji aktivitas anti-DENV dan sitotoksitas sel vero dilakukan untuk menentukan efektivitas dan keamanan ekstrak. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak kopi robusta memiliki aktivitas anti-DENV dengan EC₅₀ sebesar 88,51 µg/ml dan SI sebesar 9,82. Aktivitas antiviral ini diduga berasal dari kemampuan senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin yang menghambat replikasi virus DENV. Meskipun menunjukkan toksitas pada konsentrasi tinggi dengan CC₅₀ sebesar 869,7 µg/ml, ekstrak ini tetap memiliki potensi sebagai agen terapi anti-DENV dengan risiko toksitas yang relatif rendah. Penelitian ini membuka peluang pengembangan terapi berbasis kopi robusta untuk pengendalian infeksi DENV di masa mendatang.

¹ Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Nusaputra, Kota Semarang, Indonesia

² Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Kota Surakarta, Indonesia

Korespondensi:

Rizky Ardian Hartanto Sawal
rizkyardianhartanto@gmail.com

Kata kunci: DENV, Sel Vero, Demam Berdarah, Kopi Robusta, Temanggung

Pendahuluan

Penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan masalah kesehatan global yang serius, terutama di negara-negara tropis dan subtropis. Penyakit ini disebabkan oleh virus Dengue (DENV), yang ditularkan melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus*. Gejala DBD bervariasi dari demam ringan hingga bentuk yang mengancam jiwa seperti syok hemoragik. DENV memiliki genom RNA-sense positif sepanjang 11 kb yang mengkode protein struktural seperti *capsid* (C), *envelope* (E), dan *membrane precursor* (prM), serta beberapa protein non-struktural. Demam berdarah dengue dan sindrom syok dengue dipicu oleh empat serovar DENV (DENV1-4), yang semuanya berpotensi mematikan (1). Setiap tahunnya, jutaan kasus DBD dilaporkan di seluruh dunia, dengan ribuan kematian yang disebabkan oleh komplikasi yang muncul (2). Di Indonesia sendiri, ada tren peningkatan kasus Demam Berdarah Dengue (DBD) selama 50 tahun terakhir. Tingkat kejadian DBD cenderung bersifat siklik, dengan puncak kasus terjadi sekitar setiap 6-8 tahun (3). Meskipun telah ada upaya pengendalian DBD yang dilakukan oleh pemerintah dan lembaga kesehatan, belum ada pengobatan khusus atau vaksin yang efektif untuk DBD. Pengendalian utama masih berfokus pada pemberantasan vektor dan penanganan simptomatis pasien (4). Oleh karena itu, pengembangan strategi terapeutik yang menargetkan virus secara langsung (*direct-acting antiviral*) menjadi urgensi tinggi untuk melengkapi metode pemberantasan vektor dan penanganan simptomatis yang sudah ada. Penelitian ini mengusulkan pendekatan baru melalui pemanfaatan ekstrak biji kopi Robusta Temanggung yang berpotensi menghambat mekanisme replikasi virus DENV melalui kandungan senyawa bioaktifnya.

Di sisi lain, biji kopi Robusta, khususnya yang berasal dari daerah Temanggung, Jawa Tengah, telah terbukti memiliki karakteristik dan kualitas yang unik (5). Secara umum, biji kopi Robusta didominasi oleh kandungan senyawa bioaktif alkaloid (terutama kafein) dan polifenol (seperti asam klorogenat) yang kadarnya lebih tinggi dibandingkan jenis Arabika. Profil fitokimia serupa, yang juga meliputi flavonoid dan tanin,

diprediksi terkandung dalam varietas Temanggung (6). Studi terdahulu menunjukkan bahwa alkaloid mampu menghambat virus DENV melalui penghambatan sintesis dan ekspresi protein virus (1), sementara flavonoid berpotensi menghambat enzim RNA Polimerase (7), dan tanin bekerja dengan memblokir ikatan virus pada reseptor seluler (8). Berdasarkan profil fitokimia tersebut, penelitian ini menghipotesiskan bahwa ekstrak biji kopi Robusta Temanggung memiliki aktivitas antiviral yang signifikan terhadap DENV. Meskipun potensi senyawa tunggalnya telah diketahui, hingga saat ini belum ada studi yang melaporkan aktivitas spesifik dari ekstrak utuh (*crude extract*) kopi Robusta varietas Temanggung dalam menghambat infeksi DENV.

Bahan dan Metode

Bahan

Biji kopi robusta dari daerah Temanggung, etanol 96%, n-Heksan, Butanol, Etil Asetat, Toluen, Aseton, Virus DENV (diperoleh dari Laboratorium Dengue, Institute Of Tropical Disease, Universitas Airlangga), Media Minimum Essential Eagle (MEM), Fetal bovine serum (FBS) 10%, Tripsin-EDTA, Reagen ToxGlo, Reagen deteksi ATP, MTT 10%, DMSO, KLT Silika Gel, Pereaksi Bouchardat, Pereaksi Dragendorff, dan Pereaksi FeCl₃

Metode

Preparasi Ekstrak Biji Kopi Robusta

Biji kopi robusta diambil dari daerah Temanggung dalam kondisi belum disangrai (*green bean*). Biji kopi robusta kemudian dibuat menjadi serbuk dan diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% pada suhu ruangan selama tiga hari sambil sesekali di aduk. Filtrat kemudian diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental dengan menggunakan *rotary evaporator* (9).

Skrining Fitokimia

Ekstrak biji kopi robusta yang sudah kental dilakukan skrining fitokimia dengan metode uji tabung dan KLT. Pengujian dilakukan terhadap beberapa identitas senyawa fitokimia yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin.

Preparasi Virus DENV dan Sel Vero

Virus DENV yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari Laboratorium Dengue, Institute Of Tropical Disease, Universitas Airlangga. Sebelum pengujian, stok virus dipropagasi menggunakan sel Vero. Monolayer sel Vero yang telah konfluen diinokulasi dengan virus DENV dan diinkubasi pada suhu 37°C dengan 5% CO₂. Pengamatan dilakukan setiap hari hingga muncul efek sitopatik (*Cytopathic Effect/CPE*) sekitar 75-80%. Supernatan kultur kemudian diperpanjang dan disentrifugasi untuk memisahkan debris sel. Supernatan bebas sel yang mengandung virus kemudian diperpanjang dan disimpan hingga siap digunakan.

Preparasi sel vero dilakukan dengan cara memelihara dan memperbanyak sel vero dalam Media MEM yang mengandung 10% FBS. Kultur sel vero kemudian diinkubasi pada suhu 37°C dalam 5% CO₂. Lapisan awal sel Vero dipisahkan dengan menggunakan trypsin-EDTA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 5 menit. Kemudian, Media MEM yang mengandung 10% serum FBS, dipipet dengan lembut untuk memecah gumpalan sel, dan dihitung menggunakan *Hemocytometer*. Sel-sel tersebut dipindahkan ke dalam 96-well microplate dengan 1×10⁶ sel/10 mL dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37 °C dalam 5% CO₂. Sel dimonitor setiap hari atau setiap dua hari, hingga densitas sel mencapai >90% (10).

Uji Aktivitas Anti-DENV

Sel Vero dengan konsentrasi 1×10⁶ sel/10 mL ditanam dalam 96-well microplate dan diinkubasi pada suhu 37 °C dalam 5% CO₂ selama minimal empat jam (hingga 24 jam). Sebanyak 100 µL dari virus dengue dengan konsentrasi 4x10⁵ FFU/ml dicampur dengan berbagai konsentrasi ekstrak biji kopi robusta. Setelah 1 jam terpapar dengan ekstrak pada suhu ruang, 100 µL virus yang telah dipapar dengan ekstrak ditambahkan ke sel Vero dalam sumuran masing-masing. Sel diinfeksi selama 1 jam. Setelah 48 jam pasca-infeksi, 100 µL reagen ToxGlo ditambahkan. Kemudian 100 µL reagen deteksi ATP ditambahkan ke setiap sumuran dan ditunggu selama 10 menit sebelum menghitung nilai luminesensi. *Relative Luminescence Unit* (RLU) diukur menggunakan luminometer (11).

Uji Sitotoksitas Sel Vero

Sel Vero ditambahkan ke dalam sumuran 96-well microplate bersama sampel ekstrak dengan variasi konsentrasi dan diinkubasi selama 46 jam. Kemudian, media dibuang dan diganti dengan 150 µL/well MTT 10% menggunakan pipet multikanal dan diinkubasi selama 4 jam pada suhu 37 °C dan 5% CO₂. Selanjutnya, 100 µL/well DMSO 100% ditambahkan untuk melarutkan endapan yang disebabkan oleh reaksi MTT. Setelah itu, absorbansi diukur pada panjang gelombang 560 nm dan 750 nm (11).

Analisis Data

Data yang diperoleh dalam penelitian ini berupa konsentrasi efektif 50% (EC₅₀) dan konsentrasi sitotoksitas 50% (CC₅₀). Setiap pengujian dilakukan dengan tiga kali replikasi teknis (*technical replicates*) dalam setiap pelat uji (triplo). Data kemudian dianalisis dengan regresi linear menggunakan perangkat lunak Microsoft Excel. Selektivitas ekstrak biji kopi robusta dalam menghambat virus dengue dilihat dari nilai *Selectivity Index* (SI) diperoleh menggunakan rumus:

$$SI = \frac{\text{konsentrasi sitotoksitas } 50\% (CC_{50})}{\text{konsentrasi efektif } 50\% (EC_{50})}$$

Hasil dan Diskusi

Hasil

Identifikasi Tanaman, Pengujian Kadar Air, dan Rendemen Ekstrak

Simplisia yang sudah dikumpulkan dilakukan determinasi tanaman untuk memeriksa kebenaran simplisia. Determinasi dilakukan di Laboratorium Jurusan Biologi Universitas Negeri Semarang. Hasil determinasi simplisia menunjukkan bahwa bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kopi robusta (*Coffea canephora*) keluarga dari Rubiaceae (kopi-kopian).

Pengujian kadar air terhadap serbuk kopi robusta dilakukan dengan menggunakan *moisture analyzer* dengan menimbang sebanyak 4 g serbuk dan diperaskan pada suhu 105°C selama 15 menit. Pengujian ini dilakukan sebanyak 3 kali dan dihitung rata-ratanya. Dari hasil pengujian pada Tabel 1 diketahui bahwa kadar air serbuk

kopi robusta adalah 7,94%, yang mana sudah memenuhi syarat serbuk simplisia yaitu <10% (12).

Serbuk kopi robusta kemudian dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Dari 500 gram serbuk diekstraksi dengan etanol 96% dengan metode maserasi, didapatkan ekstrak etanol akar biji kopi robusta Temanggung 51,0215 gram. Rendemen yang diperoleh adalah 10,20% ditunjukkan pada Tabel 2.

Skrining fitokimia

Ekstrak kopi robusta yang sudah didapatkan kemudian dilakukan skrining fitokimia dan uji KLT di Laboratorium Fitokimia Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Nusaputra. Skrining fitokimia yang dilakukan adalah identifikasi Alkaloid (Reagen Bouchardat dan Dragendorff), flavonoid, saponin, dan tanin. Hasil skrining dapat terlihat pada Tabel 3.

Hasil skrining menunjukkan bahwa terdapat alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin pada ekstrak kopi robusta. Pada pengujian alkaloid, terjadi pengendapan karena adanya penggantian ligan dimana atom nitrogen ditimpas oleh ion iodin pada reagen Dragendorff. Reaksi ini kemudian menghasilkan kalium iodida yang memiliki warna khas jingga (13). Hasil positif pada uji bauchardat ditandai dengan terbentuknya endapan coklat kehitaman. Endapan yang terbentuk terjadi karena adanya ikatan kovalen koordinasi antara ion logam K⁺ dengan alkaloid sehingga terbentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Pereaksi bauchardat mengandung kalium iodida dan iod (14). Pada pengujian flavonoid, terbentuk warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol, menandakan adanya senyawa flavonoid akibat terjadinya protonasi flavonoid sehingga terbentuk garam flavonoid (15). Pada pengujian saponin, ada gugus glikosida dari saponin yang membentuk busa permanen menandakan bahwa terjadi reaksi hidrolisa dengan air menjadi glukosa dan komponen lainnya (16). Pada pengujian tanin, terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru tinta pada ekstrak setelah ditambahkan dengan FeCl₃ karena tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe³⁺ (17).

Uji KLT

Ekstrak kemudian dilanjutkan dengan uji identifikasi dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Pengujian KLT dilakukan untuk senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Hasil pengujian dapat dilihat pada Tabel 4. Dari hasil pengujian terlihat bahwa senyawa saponin, tanin, dan alkaloid memiliki nilai R_f yang baik dan sesuai dengan standar.

Uji aktivitas anti-DENV

Ekstrak kopi robusta kemudian dilakukan pengujian aktivitas anti-DENV dan pengujian sitotoksitas sel vero. Hasil pengujian aktivitas anti-DENV dapat terlihat pada tabel 5 dan gambar 1.

Dari hasil pengujian aktivitas anti-DENV menunjukkan bahwa seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak kopi robusta, terjadi penurunan tingkat luminesensi. Ini menunjukkan bahwa ekstrak kopi robusta dapat menghambat replikasi virus DENV, dengan pengaruh yang lebih besar pada konsentrasi yang lebih tinggi (11).

Pada konsentrasi rendah yaitu 1,57 dan 3,13 µg/ml, nilai luminesensi yang tinggi menunjukkan bahwa ekstrak kopi robusta tidak memiliki efek signifikan dalam menghambat replikasi virus. Nilai %Virus Hidup yang tinggi (390,94% dan 282,86%) menunjukkan bahwa virus masih sangat aktif dan replikasi tidak terhambat (11).

Pada konsentrasi menengah yaitu 6,25 dan 100 µg/ml, terjadi penurunan luminesensi yang menunjukkan bahwa penghambatan mulai terjadi. Penurunan %Virus Hidup juga terjadi, namun masih ada proporsi virus yang cukup signifikan. Nilai masih menunjukkan adanya replikasi virus yang cukup sehingga belum cukup kuat untuk menurunkan replikasi virus secara signifikan (11).

Sedangkan pada konsentrasi tinggi yaitu 25-100 µg/ml, terjadi penurunan luminesensi yang drastis, terutama pada konsentrasi 100 µg/ml ($2,34 \times 10^6$). Selain itu, penurunan yang signifikan dalam % virus Hidup pada konsentrasi 100 µg/ml (69,17%) menunjukkan bahwa ekstrak kopi

robusta efektif dalam mengurangi jumlah virus yang masih aktif. Ini menunjukkan bahwa ekstrak kopi robusta memiliki potensi yang tinggi untuk menghambat replikasi virus DENV secara signifikan (11).

Uji sitotoksitas

Hasil pengujian sitotoksitas sel vero dapat terlihat pada tabel 6 dan gambar 2. Pengujian sitotoksitas ekstrak kopi robusta dilakukan untuk menilai dampaknya terhadap viabilitas sel vero pada berbagai konsentrasi (11). Pada konsentrasi 31,25 µg/ml, nilai absorbansi yang terukur adalah 0,242, yang menunjukkan bahwa sel-sel vero dalam perlakuan ini tetap hidup dengan persentase sel hidup mencapai 209,30%. Angka ini menandakan bahwa pada konsentrasi ini, ekstrak kopi robusta memberikan efek yang merangsang viabilitas sel vero. Sebagai perbandingan, pada konsentrasi 62,5 µg/ml, nilai absorbansi adalah 0,225 dengan persentase sel hidup 185,58%. Meskipun terjadi penurunan, sel-sel vero masih menunjukkan viabilitas yang cukup tinggi, mengindikasikan bahwa efek positif dari ekstrak kopi masih berlangsung (11).

Ketika konsentrasi meningkat menjadi 125 µg/ml, absorbansi menurun menjadi 0,206, dan persentase sel vero hidup juga turun menjadi 159,07%. Meskipun terjadi penurunan, sel-sel vero masih menunjukkan viabilitas yang lebih baik dibandingkan kontrol sel, menandakan bahwa ekstrak mulai memberikan efek penghambatan, tetapi belum signifikan. Pada konsentrasi 250 µg/ml, absorbansi kembali menurun menjadi 0,195, dan persentase sel vero hidup menjadi 146,51%. Penurunan ini menunjukkan bahwa efek ekstrak mulai mengurangi viabilitas sel vero, namun tetap di atas 100%, menunjukkan bahwa masih ada aktivitas positif (11).

Dengan peningkatan konsentrasi ke 500 µg/ml, nilai absorbansi tercatat 0,188, dengan persentase sel vero hidup 125,11%. Ini menunjukkan bahwa meskipun masih ada beberapa sel vero yang hidup, efek sitotoksik dari ekstrak mulai terlihat. Pada konsentrasi tertinggi, yaitu 1000 µg/ml, absorbansi menurun drastis menjadi 0,112, dan persentase sel vero hidup menjadi hanya 25,58%. Hasil ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi ini, ekstrak kopi robusta

memiliki efek sitotoksik yang signifikan, mengakibatkan banyak sel vero yang mati (11).

Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak kopi robusta memiliki efek stimulasi pada konsentrasi rendah dan efek sitotoksik pada konsentrasi tinggi. Pada konsentrasi yang lebih rendah, ekstrak kopi mampu merangsang viabilitas sel vero, sedangkan pada konsentrasi yang lebih tinggi, efek sitotoksik mulai muncul (11).

Data dari kedua pengujian menunjukkan pola yang menarik. Pada konsentrasi rendah ekstrak kopi robusta, meskipun viabilitas sel vero tinggi, aktivitas anti-DENV masih relatif rendah. Sebaliknya, saat konsentrasi meningkat, aktivitas anti-DENV meningkat tetapi diikuti dengan penurunan viabilitas sel vero. Hasil dari kedua pengujian menunjukkan bahwa ekstrak kopi robusta memiliki potensi sebagai agen antiviral terhadap DENV, terutama pada konsentrasi tinggi. Namun, terdapat *trade-off* antara efektivitas antiviral dan sitotoksitas. Karena itu diperlukan perhitungan *Selectivity Index* (SI) menggunakan rumus (11):

$$SI = \frac{\text{konsentrasi sitotoksitas } 50\% (\text{CC}_{50})}{\text{konsentrasi efektif } 50\% (\text{EC}_{50})}$$

Dari data didapatkan nilai $\text{CC}_{50} = 869,7 \mu\text{g/ml}$ dan $\text{EC}_{50} = 88,51 \mu\text{g/ml}$. Sehingga, SI dapat dihitung sebagai:

$$SI = \frac{869,7 \mu\text{g/ml}}{88,51 \mu\text{g/ml}} = 9,82$$

Dengan SI sebesar 9,82, ekstrak kopi robusta dapat dikatakan memiliki potensi sebagai agen anti-DENV. Nilai SI yang mendekati 10 menunjukkan bahwa ekstrak ini efektif dalam menghambat pertumbuhan virus dengan risiko toksitas yang relatif rendah terhadap sel vero. Namun, toksitas terhadap sel inang masih harus diperhatikan, terutama jika digunakan dalam konsentrasi yang lebih tinggi dari EC_{50} (11).

Diskusi

Ekstrak kopi robusta mengandung berbagai senyawa bioaktif, termasuk alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Alkaloid dapat mengganggu proses replikasi virus dengan menghambat enzim-

RNA-dependent RNA polymerase yang esensial untuk replikasi virus RNA seperti DENV. Selain itu alkaloid dapat memodulasi respons imun seluler, meningkatkan aktivitas sel imun seperti makrofag dan sel T, yang dapat membantu menghambat infeksi virus dan replikasi virus DENV (19). Flavonoid dapat mencegah virus memasuki sel dengan berikatan pada protein permukaan virus atau reseptor seluler pada sel target, menghalangi proses adsorpsi dan penetrasi. Selain itu flavonoid memiliki kemampuan antioksidan yang tinggi, yang dapat melindungi sel-sel dari stres oksidatif yang disebabkan oleh infeksi DENV dan mendukung sistem kekebalan dalam melawan virus (7).

Saponin dapat merusak lapisan lipid dari virus DENV, yang berpotensi mengakibatkan terganggunya struktur virus dan mengurangi kemampuannya untuk menginfeksi sel. Selain itu saponin dapat merangsang respons imun non-spesifik dengan meningkatkan aktivitas fagositosis dan produksi sitokin pro-inflamasi, yang membantu membersihkan infeksi virus (20).

Tanin dapat berikatan dengan protein pada permukaan virus, sehingga menginaktivasi partikel virus dan mencegahnya menginfeksi sel. Selain itu tanin dapat menghambat berbagai tahap siklus hidup DENV, termasuk penggandaan RNA dan pembentukan protein virus, dengan menginterferensi proses yang diperlukan untuk replikasi virus (21).

Temuan menarik dari penelitian ini adalah profil sitotoksitas ekstrak. Pada konsentrasi rendah hingga menengah (31,25 hingga 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$), ekstrak justru menunjukkan persentase viabilitas sel Vero di atas 100%, yang mengindikasikan adanya efek stimulasi atau proliferasi sel. Efek sitotoksik yang signifikan baru terlihat pada konsentrasi yang sangat tinggi (1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$). Fenomena inilah yang berkontribusi pada tingginya nilai CC_{50} , yang pada akhirnya memberikan nilai SI yang menjanjikan. Namun, *trade-off* antara efektivitas antiviral dan sitotoksitas tetap harus diperhatikan.

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan. Pengujian dilakukan secara *in vitro* menggunakan sel Vero, sehingga efektivitas *in vivo* pada model hewan atau manusia masih memerlukan pembuktian lebih lanjut. Selain itu,

penelitian ini menggunakan ekstrak kasar (*crude extract*), sehingga senyawa spesifik yang paling bertanggung jawab atas aktivitas anti-DENV belum teridentifikasi. Mekanisme kerja yang dipaparkan (penghambatan polimerase, penghambatan *entry*, dll.) masih bersifat dugaan berdasarkan literatur dan belum dikonfirmasi secara eksperimental untuk ekstrak ini. Oleh karena itu, penelitian lanjutan sangat diperlukan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa aktif tunggal (misalnya melalui fraksinasi) yang mungkin memiliki potensi dan nilai SI yang lebih tinggi. Studi *in vivo* dan pengujian terhadap keempat serotipe DENV juga penting untuk memvalidasi temuan ini.

Kesimpulan

Ekstrak kopi robusta yang mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin menunjukkan aktivitas anti-DENV yang cukup baik, dengan EC_{50} sebesar 88,51 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dan SI mendekati 10. Walaupun memiliki toksisitas pada konsentrasi tinggi dengan CC_{50} sebesar 869,7 $\mu\text{g}/\text{ml}$, ekstrak ini masih memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai agen terapi anti-DENV, terutama jika senyawa aktifnya dapat diisolasi lebih lanjut untuk mengurangi efek toksik terhadap sel inang.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kami sampaikan kepada KEMDIKBUD atas dukungan pendanaan, STIFERA atas fasilitas dan dukungan penuh, serta ITD UNAIR atas kolaborasi dan bantuan teknis selama penelitian ini. Bantuan dari berbagai pihak sangat berperan penting dalam terlaksananya penelitian hingga menghasilkan temuan yang berharga.

Konflik Kepentingan

Para penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan terkait dengan penelitian, kepengarangan, dan/atau publikasi artikel ini.

Referensi

1. Faisal S, Badshah SL, Kubra B, Emwas AH, Jaremko M. Alkaloids as potential antivirals. A comprehensive review. Nat Products Bioprospect. 2023;13(1).
2. Guzman MG, Gubler DJ, Izquierdo A, Martinez E, Halstead SB. Dengue infection. Nat Rev Dis

- Prim. 2016;2:1-26.
3. Harapan H, Michie A, Mudatsir M, Sasmono RT, Imrie A. Epidemiology of dengue hemorrhagic fever in Indonesia: Analysis of five decades data from the National Disease Surveillance. *BMC Res Notes.* 2019;12(1):4-9.
 4. Menteri Kesehatan Republik Indonesia. Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor HK.01.07/MENKES/9845/2020 Tentang Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran Tata Laksana Infeksi Dengue Pada Dewasa. Jakarta; 2020.
 5. Purwanto D, Widiyanto W, Ihsaniyati H, Wardani RRIK, Santosa FJ. Development of Temanggung Robusta Coffee: Findings and Evidence from Central Java, Indonesia. *Society.* 2023;11(1):158-72.
 6. Utami NF, N. N, S. M, T. T, S. M. Uji Aktivitas Antioksidan Dari Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora* P.) Berdasarkan Perbedaan Ekologi Dataran Tinggi di Pulau Jawa. *Fitofarmaka J Ilm Farm.* 2018;8(1):67-72.
 7. Renantha RR, Liga AR, Tanugroho CB, Denovian LX, Budiyanto SLAZ, Parikesit AA. Flavonoids as potential inhibitors of dengue virus 2 (DENV2) envelope protein. *J Pharm Pharmacogn Res.* 2022;10(4):660-75.
 8. Loaiza-Cano V, Monsalve-Escudero LM, Filho C da SMB, Martinez-Gutierrez M, de Sousa DP. Antiviral role of phenolic compounds against dengue virus: A review. *Biomolecules.* 2021;11(1):1-28.
 9. Hanani E. Analisis Fitokimia. Egc. 2015.
 10. Fitmawati, Safitri M, Kholidah SN, Emrizal, Roza RM. Mangifera foetida L. (Macang) source of potent antiviral activity of against Dengue Virus serotype 2 (Anti DENV2). *J Phys Conf Ser.* 2021;2049(1).
 11. Sucipto TH, Martak F. Inhibition of dengue virus serotype 2 in Vero cells with [Cu(2,4,5-triphenyl-1H-imidazole)2(H₂O)₂].Cl₂. *Infect Dis Rep.* 2020;12(1).
 12. BPOM. Peraturan BPOM Nomor 32 Tahun 2019 Persyaratan Keamanan dan Mutu Obat
 - Tradisional. 2019.
 13. Zaini M, Shofia V. Skrining Fitokimia Ekstrak Carica Papaya Radix, Piper Ornatum Folium Dan Nephelium Lappaceum Semen Asal Kalimantan Selatan. *J Kaji Ilm Kesehat dan Teknol.* 2020;2(1):15-27.
 14. Sulistyarini I, Sari DA, Wicaksono TA. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*). *J Ilm Cendekia Eksakta.* 2019;56-62.
 15. Fadiyah I, Lestari I, Victory S. Antioxidant Activity Test for Rukam Fruit (*Flacourtie rukam*) Of Maseration Extract. *Stannum J Sains dan Terap Kim.* 15 Oktober 2019;1:14-9.
 16. Syahbanu I, Wibowo MA, Puspa OE. UJI FITOKIMIA DAN TOKSISITAS MINYAK ATSIRI DAUN PALA (*Myristica fragans* Houtt) DARI PULAU LEMUKUTAN. In 2017.
 17. Ermil Abriyani, Indra Mulyawan, Nabila Atqia Shakira, Rendi Haryadi TK. AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA BUNGA TELANG (*Clitoria ternatea* L.) SECARA METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VISIBLE. *J Compr Sci.* 2022;1(8.5.2017):2003-5.
 18. Walid M, Putri DN. Skrining senyawa metabolit sekunder dan total fenol kopi robusta (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) di Daerah Petungkriyono Pekalongan. *Pena J Ilmu Pengetah dan Teknol.* 2023;37(1):1-10.
 19. Sarkar C, Quispe C, Islam MT, Jamaddar S, Akram M, Munior N, et al. Plant-Derived Alkaloids Acting on Dengue Virus and Their Vectors: From Chemistry to Pharmacology. *Future Microbiol.* 1 Januari 2022;17(2):143-55.
 20. Figueiredo GG, Coronel OA, Trabuco AC, Bazán DE, Russo RR, Alvarenga NL, et al. Steroidal saponins from the roots of *solanum sisymbriifolium* lam. (solanaceae) have inhibitory activity against dengue virus and yellow fever virus. *Brazilian J Med Biol Res.* 2021;54(7):1-9.
 21. Lim SYM, Chieng JY, Pan Y. Recent insights on

anti-dengue virus (DENV) medicinal plants: review on in vitro, in vivo and in silico

discoveries. All Life. 2021;14(1):1-33.

Tabel 1. Hasil uji kadar air serbuk biji kopi robusta Temanggung

No.	Bobot Serbuk (g)	Hasil Pengujian (%)	Rata-rata (%)
1	4,00	7,91	
2	4,00	7,97	7,94%
3	4,00	7,95	

Tabel 2. Hasil perhitungan rendemen ekstrak biji kopi robusta Temanggung

Bobot Serbuk (g)	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen (%)
500	51,0215	10,20%

Tabel 3. Hasil uji reaksi warna senyawa fitokimia ekstrak biji kopi robusta Temanggung

Pereaksi	Hasil
Alkaloid Reagen Bouchardat	Endapan coklat (+)
Alkaloid Dragendorff	Endapan merah jingga (+)
Flavonoid	Terbentuk warna kuning (+)
Saponin	Terbentuk buih stabil/permanen (+)
Tanin	Hijau kehitaman (+)

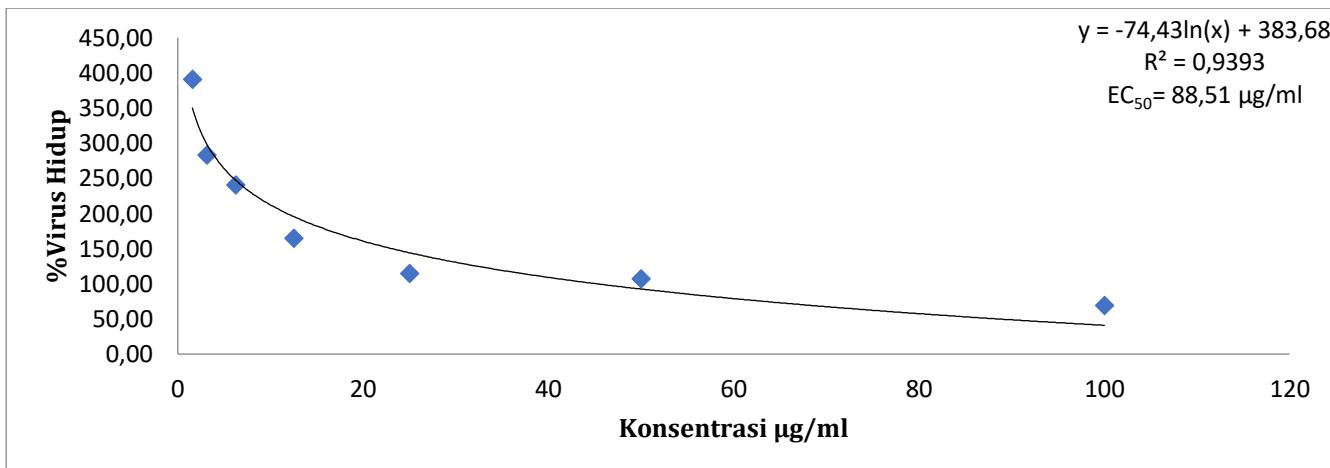
Tabel 4. Hasil uji KLT senyawa fitokimia ekstrak biji kopi robusta Temanggung

Senyawa	Eluen (9)	Rf	Rf Referensi (18)
Alkaloid	N-Heksan : etil asetat (7:3)	0,63	0,62
Flavonoid	Butanol : asam asetat : air (4:1:5)	0,9	0,86
Saponin	Toluen : etil asetat (7:3)	0,775	0,92
Tanin	Toluen : aseton : asam format (6:6:1)	0,625	0,72

Tabel 5. Hasil uji aktivitas anti-DENV ekstrak biji kopi robusta Temanggung

Konsentrasi (μg/ml)	Luminescence			Rataan
	1	2	3	
1,57	1,37x10 ⁷	1,27x10 ⁷	1,32x10 ⁷	1,32x10 ⁷
3,13	9,81x10 ⁶	9,49x10 ⁶	9,38x10 ⁶	9,56x10 ⁶
6,25	8,20x10 ⁶	8,08x10 ⁶	8,10x10 ⁶	8,10x10 ⁶
12,5	5,01x10 ⁶	5,70x10 ⁶	5,96x10 ⁶	5,56x10 ⁶
25	3,88x10 ⁶	3,80x10 ⁶	3,94x10 ⁶	3,87x10 ⁶
50	3,45x10 ⁶	3,48x10 ⁶	3,90x10 ⁶	3,61x10 ⁶

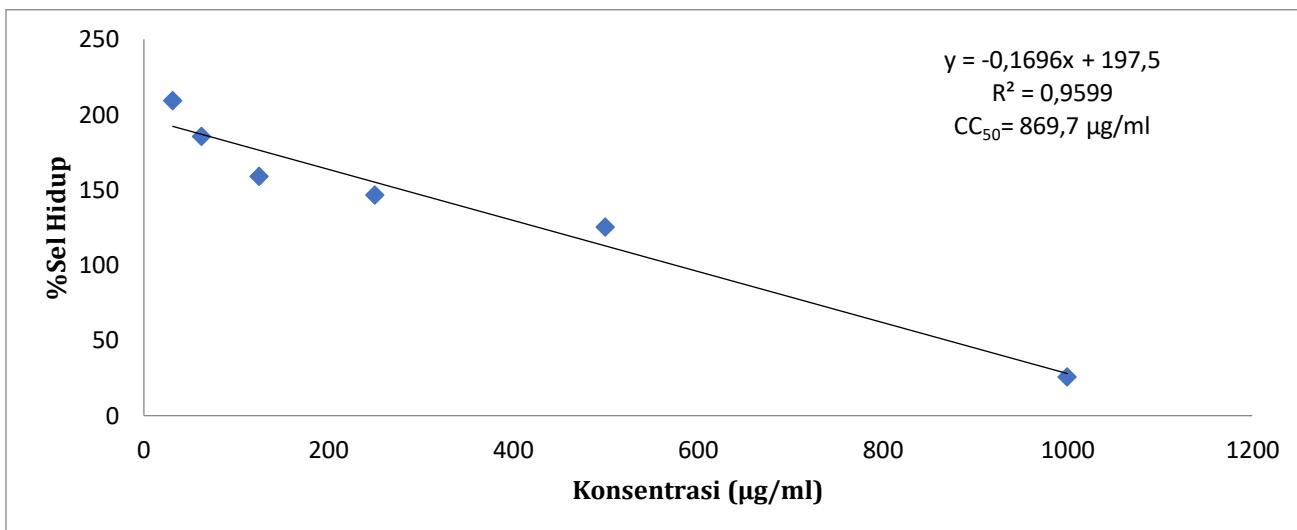
100	$2,41 \times 10^6$	$2,40 \times 10^6$	$2,20 \times 10^6$	$2,34 \times 10^6$
K. DENV + K. Sel	$3,47 \times 10^6$	$3,63 \times 10^6$	$3,04 \times 10^6$	$3,38 \times 10^6$
K. Medium	$1,67 \times 10^3$	$1,28 \times 10^3$	$9,63 \times 10^2$	$1,31 \times 10^3$



Gambar 1. Kurva regresi non-linear penentuan nilai EC_{50} ekstrak biji kopi robusta Temanggung terhadap persentase viabilitas virus Dengue (%Virus Hidup)

Tabel 6. Hasil uji sitotoksitas ekstrak biji kopi robusta Temanggung terhadap sel Vero

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi Perlakuan			Rataan Abs. Perlakuan
	I	II	III	
31,25	0,242	0,242	0,242	0,242
62,5	0,225	0,225	0,225	0,225
125	0,206	0,206	0,206	0,206
250	0,199	0,197	0,195	0,197
500	0,178	0,179	0,188	0,182
1000	0,109	0,11	0,112	0,110
Kontrol Sel	0,165	0,162	0,164	0,164
Kontrol Media	0,092	0,092	0,092	0,092



Gambar 2. Kurva regresi non-linear penentuan nilai CC_{50} ekstrak biji kopi robusta Temanggung terhadap persentase viabilitas sel Vero (%Sel Hidup)