



**ANALISIS ASAM SITRAT DAN ASAM OKSALAT DALAM BIJI KOPI
ROBUSTA (*Coffea canephora*) MENGGUNAKAN
HPLC C-18 FASE TERBALIK**

SKRIPSI

Oleh:

Ayustisia Defrita Fatmawati Pratiwi

NIM 091810301019

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER**

2014



**ANALISIS ASAM SITRAT DAN ASAM OKSALAT DALAM BIJI KOPI
ROBUSTA (*Coffea canephora*) MENGGUNAKAN
HPLC C-18 FASE TERBALIK**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Kimia (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Sains

Oleh:

Ayustisia Defrita Fatmawati Pratiwi

NIM 091810301019

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER**

2014

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT, puji syukur atas segala rahmat dan hidayah-Nya
2. Ibunda Arik Rahayu, Ayahanda Zainul Fuadi dan adik Bagus Akbar Affebriansyah
3. guru-guru mulai TK hingga SMA serta dosen-dosen atas segala ilmu dan bimbingannya
4. Almamater Jurusan Kimia FMIPA Universitas Jember

MOTTO

Allah akan meninggikan orang - orang yang beriman di antara kamu dan orang –orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat.
(terjemahan Surat *Al-Mujadalah* ayat 11)*)

* Departemen Agama Republik Indonesia. 2010. *Al Qur'anul Karim : Terjemahan dan Tafsir per Kata*. Bandung: Sygma Publishing.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Ayustisia Defrita Fatmawati Pratiwi

NIM : 091810301019

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Analisis Asam Sitrat dan Asam Oksalat dalam Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) menggunakan HPLC C-18 Fase Terbalik” adalah benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 14 Mei 2014

Yang menyatakan,

Ayustisia D.F.P.
NIM. 091810301019

SKRIPSI

**ANALISIS ASAM SITRAT DAN ASAM OKSALAT DALAM BIJI KOPI
ROBUSTA (*Coffea canephora*) MENGGUNAKAN
HPLC C-18 FASE TERBALIK**

Oleh:

Ayustisia Defrita Fatmawati Pratiwi

NIM 091810301019

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : Yeni Maulidah Muflihah, S.Si., M.Si.

Dosen Pembimbing Anggota : Ika Oktavianawati, S.Si., M.Sc.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Analisis Asam Sitrat dan Asam Oksalat dalam Biji Kopi Robusta (Coffea canephora) menggunakan HPLC C-18 Fase Terbalik” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember pada:

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Tim Penguji:

Ketua (DPU),

Sekretaris (DPA),

Yeni Maulidah Muflihah, S.Si., M.Si

Ika Oktavianawati, S.Si., M.Sc

NIP. 198008302006042002

NIP. 198010012003122001

Anggota Tim Penguji

Anggota I,

Anggota II,

Drs. Zulfikar, Ph.D

Asnawati, S.Si., M.Si

NIP. 196310121987021001

NIP. 196808141999032001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Matematika Alam,

Universitas Jember

Prof. Drs. Kusno, DEA., Ph.D

NIP.196101081986021001

RINGKASAN

Analisis Asam Sitrat Dan Asam Oksalat Dalam Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Menggunakan HPLC C-18 Fase Terbalik; Ayustisia Defrita Fatmawati Pratiwi, 091810301019; 2009; 55 halaman; Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Kopi Robusta merupakan tanaman yang tahan hama dan mudah pemeliharaannya. Biji kopi Robusta dapat diolah menjadi minuman seduh yang digemari banyak orang karena memiliki aroma dan cita rasa yang khas. Cita rasa kopi ini dapat dinilai dari tingkat kepekatan rasa seduhan kopi, aroma dan keasaman. Sensasi rasa asam dari kopi dihasilkan dari kandungan asam organik (asam karboksilat) dalam biji kopi diantaranya asam sitrat sebagai pembentuk cita rasa *acidity* dan asam oksalat sebagai pembentuk cita rasa *sour*. Pemisahan kedua asam tersebut dapat dilakukan dengan menggunakan berbagai metode, salah satunya adalah kromatografi. Teknik kromatografi terkait pemisahan asam organik dalam kopi yang telah banyak dilakukan adalah *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) fase terbalik.

Penelitian ini bertujuan untuk (i) mengetahui ekstraksi asam organik dari sampel biji kopi; (ii) mengetahui kondisi pemisahan optimum untuk pemisahan asam oksalat dan asam sitrat menggunakan HPLC fase terbalik; (iii) mengetahui karakteristik linearitas, sensitivitas, resolusi, dan limit deteksi dalam pemisahan asam oksalat dan asam sitrat menggunakan HPLC fase terbalik; (iv) mengetahui asam sitrat dan asam oksalat dalam ekstrak kopi dapat dipisahkan menggunakan HPLC fase terbalik; (v) mengetahui kadar asam sitrat dan asam oksalat dalam ekstrak biji kopi yang dipisahkan menggunakan HPLC fase terbalik.

Metode ekstraksi biji kopi dilakukan dengan dua cara yaitu metode sonikasi dan metode maserasi dengan pelarut metanol. Kondisi pemisahan optimum dilakukan

dengan mengoptimasi beberapa parameter, diantaranya komposisi fase gerak, pH larutan buffer dan laju alir. Hasil optimasi yang diperoleh, selanjutnya digunakan untuk analisis pemisahan asam sitrat dan asam oksalat dengan HPLC menggunakan detektor UV dan kolom C-18 μ -bondapak.

Kondisi pemisahan optimum yang diperoleh dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: panjang gelombang 210 nm, komposisi fase gerak metanol : air = 5 : 95 (v/v), larutan buffer fosfat pH 3,5 dan laju alir 0,4 mL/menit. Karakteristik pemisahan dalam mendeteksi asam sitrat dan asam oksalat didapatkan linieritas untuk asam sitrat sebesar 0,98 dan untuk asam oksalat sebesar 0,976, sensitivitas asam sitrat sebesar 32429 tiap 1 ppm dan asam oksalat 4876 tiap 1 ppm, limit deteksi pengukuran untuk asam sitrat 1,57 ppm dan 22,2 ppm untuk asam oksalat, dan keberulangan asam sitrat sebesar 1,7% dan 1,3% untuk asam oksalat.

Asam sitrat dan asam oksalat dalam ekstrak biji kopi robusta dapat dipisahkan menggunakan HPLC fase terbalik dengan perolehan kadar asam sitrat dan asam oksalat pada serbuk biji kopi mentah (*green*) secara sonikasi adalah 0,63%, 2,0% dan kadar asam oksalat pada serbuk biji kopi sangrai sebesar 1,2%. Kadar asam sitrat dan asam oksalat pada serbuk biji kopi mentah (*green*) secara maserasi adalah 0,59%, 1,7% dan kadar asam oksalat pada serbuk biji kopi sangrai sebesar 0,9%.

PRAKATA

Alhamdulillah, segala puji hanya bagi Allah atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga dapat terselesaikannya skripsi dengan judul “Analisis Asam Sitrat dan Asam Oksalat dalam Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) menggunakan HPLC C-18 Fase Terbalik”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Pada kesempatan ini kami ingin menyampaikan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini diantaranya:

1. Prof. Drs. Kusno, DEA., Ph.D selaku Dekan FMIPA Universitas Jember;
2. Dr. Bambang Piluharto, S.Si., M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia;
3. Ibu Yeni Maulidah Muflihah, S.Si., M.Si selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dosen Pembimbing Akademik, Ibu Ika Oktavianawati, S.Si., M.Sc selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
4. Bapak Drs. Zulfikar, Ph.D selaku Dosen Penguji I dan Ibu Asnawati, S.Si., M.Si selaku Dosen Penguji II yang telah banyak memberikan kritik dan saran dalam penulisan skripsi;
5. seluruh karyawan dan teknisi Laboratorium Analitik Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuam Alam dan Laboratorium Kimia di Fakultas Farmasi, Universitas Jember;
6. seluruh staf dosen pengajar di Jurusan Kimia FMIPA Universitas Jember;
7. Ibunda Arik Rahayu, Ayahanda Zainul Fuadi dan Adik Bagus Akbar Affebriansyah yang telah memberikan segala dukungan, motivasi, dan doa yang tiada henti;

8. Irwoko Febrian Suryanto, S.Pd yang telah memberikan waktu, semangat, saran dan kebersamaannya selama ini;
9. rekan kerja penelitian Antin Martasari yang telah membantu dalam penyelesaian penelitian, memberikan semangat, motivasi dan masukan sehingga penelitian dapat terselesaikan dengan baik;
10. teman-temanku Rega, Ferisa, Antin, Rosa, Sakin, Nazmah, Miranti, Iis, Firoh, Ida, Lia, Nirka, Rista, Leli, Anniesa, Yusril, Huda, Hasan, Hisyam dan teman angkatan 2009 atas waktu, dorongan, pikiran, nasihat, saran, dan kebersamaan yang selalu ada;
11. adik, kakak dan teman-teman Kos 71 yang telah memberikan dukungan dan motivasi;
12. semua pihak yang tidak dapat kami sebutkan satu per satu.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi sehingga kritik dan saran dari semua pihak sangat dibutuhkan demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini berguna bagi penulis maupun pihak lain yang memanfaatkan. Amin.

Jember, Mei 2014

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA.....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan.....	3
1.4 Manfaat.....	4
1.5 Batasan Masalah	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Kopi Robusta	5
2.2 Asam Sitrat.....	7
2.3 Asam Oksalat	8
2.4 Ekstraksi	8
2.4.1 Maserasi	8

2.4.2 Sonikasi.....	9
2.5 High performance liquid chromatography (HPLC)	9
2.5.1 Fase gerak	11
2.5.2 Pompa	13
2.5.3 Injektor	14
2.5.4 Kolom	15
2.5.5 Detektor	16
2.5.6 Pencatat Sinyal.....	17
2.6 Kromatografi Reverse-Phase.....	17
2.6.1 Kolom <i>Reverse-Phase</i>	18
2.7 Karakteristik Pemisahan Asam Organik	19
2.7.1 Waktu Retensi.....	19
2.7.2 Analisis Kuantitatif.....	20
1. Linieritas.....	20
2. Limit Deteksi	21
3. Sensitivitas.....	21
4. Keberulangan.....	22
5. Uji Perolehan Kembali	22
BAB 3. METODE PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	23
3.2 Alat dan Bahan.....	23
3.2.1 Alat.....	23
3.2.2 Bahan	23
3.3 Diagram Alir	24
3.4 Prosedur Kerja	25
3.4.1 Preparasi Sampel.....	25
3.4.2 Ekstraksi Sampel.....	25
1. Sonikasi	25
2. Maserasi.....	25

3.4.3 Pembuatan Larutan Standar	26
1. Asam Sitrat	26
a. Larutan Induk.....	26
b. Deret Larutan Standar Asam Sitrat.....	26
2. Asam Oksalat	26
a. Larutan Induk.....	26
b. Variasi Konsentrasi Larutan Induk	26
3.4.4 Pembuatan Larutan Buffer	27
3.4.5 Pembuatan Fase Gerak.....	27
3.5 Optimasi Pemisahan menggunakan HPLC.....	28
3.5.1 Komposisi Fase Gerak	28
3.5.2 pH Larutan Buffer.....	28
3.5.3 Laju Alir.....	28
3.6 Analisa Ekstrak Kopi Robusta dalam HPLC	29
3.7 Karakteristik Pemisahan Asam Sitrat dan Asam Oksalat	29
3.7.1 Linieritas	29
3.7.2 Sensitivitas	30
3.7.3 Limit Deteksi	30
3.7.4 Keberulangan	30
3.7.5 Uji Perolehan Kembali.....	31
3.8 Analisis Data HPLC.....	31
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Optimasi Kondisi Pemisahan Asam Sitrat dan Asam	
Oksalat pada HPLC.....	32
4.1.1 Panjang Gelombang Optimum.....	32
4.1.2 Komposisi Fase Gerak Optimum.....	33
4.1.3 pH Larutan Buffer Optimum	36
4.1.4 Laju Alir Optimum	38
4.1.5 Pemisahan Campuran Larutan Standar Asam Sitrat dan	

Asam Oksalat	40
4.2 Karakteristik Pemisahan Asam Oksalat dan Asam Sitrat dalam Sampel	42
4.2.1 Linieritas	42
4.2.2 Sensitivitas	43
4.2.3 Limit Deteksi	44
4.2.4 Keberulangan	44
4.2.5 Uji Perolehan Kembali.....	44
4.3 Analisis Asam Sitrat dan Asam Oksalat dalam Kopi RobustaMentah (green) san Sangrai menggunakan HPLC Fase Terbalik.....	45
BAB 5. PENUTUP	
5.1 Kesimpulan.....	51
5.2 Saran	52
DAFTAR PUSTAKA	53
LAMPIRAN.....	56

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Komposisi Kimia Kopi Robusta (% bobot kering)	6
2.2 Asam-asam Karboksilat (Alifatik) pada Biji Kopi Robusta (% bobot kering)	7
2.3 Polaritas Beberapa Pelarut.....	12
2.4 Buffer yang Umumnya Digunakan dalam HPLC	13
3.1 Pembuatan Buffer Fosfat.....	27
3.2 Komposisi Fase Gerak yang digunakan	27
4.1 Data Waktu Retensi Asam Sitrat dan Asam Oksalat pada berbagai Konsentrasi Metanol	35
4.2 Data Waktu Retensi Asam Sitrat dan Asam Oksalat pada berbagai pH Larutan Buffer	37
4.3 Data Waktu Retensi Asam Sitrat dan Asam Oksalat pada berbagai Laju Alir	39
4.4 Hasil Uji Perolehan Kembali Asam Sitrat dan Asam Oksalat	45
4.5 Kadar Asam Sitrat dan Asam Oksalat secara Sonikasi dan Maserasi	49

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Struktur Asam Sitrat	7
2.2 Struktur Asam Oksalat	8
2.3 Susunan Alat HPLC	10
2.4 Katup Injeksi	15
2.5 Reaksi Silanisasi.....	19
2.6 Profil Kromatogram HPLC	20
3.1 Diagram Alir Penelitian.....	24
4.1 Struktur Fase Diam Non Polar (<i>Reversed Phased</i>)	34
4.2 Hubungan antara Konsentrasi Metanol dengan Selisih Waktu Retensi.....	36
4.3 Hubungan antara pH Larutan dengan Selisih Waktu Retensi	37
4.4 Hubungan antara Laju Alir dengan Selisih Waktu Retensi.....	39
4.5 Kromatogram Campuran Asam Sitrat dan Asam Oksalat pada Kondisi Optimum	41
4.6 Kromatogram (a) Asam Sitrat, (b) Asam Oksalat dan (c) metanol pada komposisi fase gerak 5 : 95 (v/v) (metanol : air), pH buffer fosfat 3,5, laju alir 0,4 mL/menit dan panjang gelombang 210 nm ..	42
4.7 Kurva Kalibrasi (a) Asam Sitrat dan (b) Asam Oksalat.....	43
4.8 Hasil Ekstraksi Sonikasi (a) Mentah (<i>green</i>), (b) Sangrai dan Hasil Ekstraksi Maserasi (c) Mentah (<i>green</i>), (d) Sangrai	47
4.9 Kromatogram Serbuk Biji Kopi Hasil Ekstraksi Sonikasi (a) Mentah (<i>green</i>), (b) Sangrai dan Hasil Ekstraksi Maserasi (c) Mentah (<i>green</i>), (d) Sangrai	48

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Prosedur Preparasi Bahan dan Reagen.....	56
A1. Pembuatan Larutan Standar Asam Sitrat dan Asam Oksalat	56
A2. Pembuatan Buffer Fosfat.....	57
B. Kromatogram <i>Scanning</i> Panjang Gelombang.....	59
B1. Panjang Gelombang 210 nm	59
B2. Panjang Gelombang 215 nm	59
B3. Panjang Gelombang 220 nm	59
C. Kromatogram dan Data Optimasi Komposisi Eluen.....	60
C1. Asam Sitrat	60
a. Komposisi Metanol : Aquabides = 5 : 95.....	60
b. Komposisi Metanol : Aquabides = 10 : 90.....	60
c. Komposisi Metanol : Aquabides = 15 : 85.....	61
d. Komposisi Metanol : Aquabides = 20 : 80.....	61
C2. Asam Oksalat.....	62
a. Komposisi Metanol : Aquabides = 5 : 95.....	62
b. Komposisi Metanol : Aquabides = 10 : 90.....	62
c. Komposisi Metanol : Aquabides = 15 : 85.....	63
d. Komposisi Metanol : Aquabides = 20 : 80.....	63
D. Kromatogram dan Data Optimasi pH Buffer	64
D1. Asam Sitrat.....	64
a. pH 2,5.....	64
b. pH 3.....	64
c. pH 3,5.....	65
d. pH 4.....	65

D2. Asam Oksalat	66
a. pH 2,5	66
b. pH 3	66
c. pH 3,5	67
d. pH 4	67
E. Kromatogram dan Data Optimasi Laju Alir.....	68
E1. Asam Sitrat	68
a. Laju Alir 0,4 mL/menit	68
b. Laju Alir 0,6 mL/menit	68
c. Laju Alir 0,8 mL/menit	69
d. Laju Alir 1,0 mL/menit	69
e. Laju Alir 1,2 mL/menit	70
E2. Asam Oksalat	71
a. Laju Alir 0,4 mL/menit	71
b. Laju Alir 0,6 mL/menit	71
c. Laju Alir 0,8 mL/menit	72
d. Laju Alir 1,0 mL/menit	72
e. Laju Alir 1,2 mL/menit	73
F. Data Kondisi Optimum	74
F1. Kondisi Optimum Komposisi Eluen.....	74
F2. Kondisi Optimum pH Larutan Buffer.....	74
F3. Kondisi Optimum Laju Alir.....	74
G. Kromatogram dan Data Optimasi Asam Sitrat, Asam Oksalat dan Campuran dalam Kondisi Pemisahan Optimum.....	75
G1. Asam Sitrat (Komposisi Metanol 5%, pH Buffer Fosfat 3,5, Laju Alir 0,4 mL/menit, Panjang Gelombang 210 nm	75
G2. Asam Sitrat (Komposisi Metanol 5%, pH Buffer Fosfat 3,5, Laju Alir 0,4 mL/menit, Panjang Gelombang 210 nm	75
G3. Campuran Asam Sitrat dan Asam Oksalat (Komposisi Metanol	

5%, pH Buffer Fosfat 3,5, Laju Alir 0,4 mL/menit, Panjang Gelombang 210 nm	76
H. Kromatogram dan Waktu Retensi Metanol.....	77
I. Kromatogram Serbuk Biji Kopi Robusta dengan Ekstraksi Sonikasi	78
I1. Kromatogram Serbuk kopi Robusta Mentah (<i>Green</i>).....	78
I2. Kromatogram Serbuk biji Kopi Robusta Sangrai	79
J. Kromatogram Serbuk Biji Kopi Robusta dengan Ekstraksi Maserasi	80
J1. Kromatogram Serbuk Kopi Robusta Mentah (<i>Green</i>)	80
J2. Kromatogram Serbuk Kopi Robusta Sangrai	81
K. Perhitungan Kadar Asam Sitrat dan Asam Oksalat pada Serbuk Biji Kopi Robusta Mentah (<i>Green</i>) dengan Ekstraksi Sonikasi	82
a. Asam Sitrat.....	82
b. Asam Oksalat	82
L. Perhitungan Kadar Asam Sitrat dan Asam Oksalat pada Serbuk Biji Kopi Robusta Mentah (<i>Green</i>) dengan Ekstraksi Maserasi.....	84
a. Asam Sitrat.....	84
b. Asam Oksalat	84
M. Perhitungan Limit Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi	86
a. Asam Sitrat.....	86
b. Asam Oksalat	87
N. Data Hasil Keberulangan	88
a. Asam Oksalat	88
b. Asam Sitrat.....	89
O. Perhitungan Uji Perolehan Kembali Asam Sitrat dan Asam Oksalat Pada Serbuk Biji Kopi Robusta Mentah (<i>Green</i>) dengan Ekstraksi Sonikasi.....	90
a. Asam Sitrat.....	90
b. Asam Oksalat	90