



**ANALISIS KAFEIN PADA DAUN KOPI ARABIKA (*Coffea arabica*) DAN
ROBUSTA (*Coffea canephora*) MENGGUNAKAN METODE
KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS DENSITOMETRI**

SKRIPSI

Oleh
Syarifatul Laily
NIM 091810301038

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2016**



**ANALISIS KAFEIN PADA DAUN KOPI ARABIKA (*Coffea arabica*) DAN
ROBUSTA (*Coffea canephora*) MENGGUNAKAN METODE
KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS DENSITOMETRI**

SKRIPSI

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

Oleh
Syarifatul Laily
NIM 091810301038

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2016**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT sebagai pencipta umat manusia, alam semesta dan pencipta ilmu pengetahuan,serta Nabi Muhammad SAW sebagai panutan hidupku;
2. Abah dan Mama tercinta yang selalu mencintai, menyayangi, membimbing, menjaga, dan selalu mendoakan setiap langkah yang kutempuh;
3. Suami tercinta Anggy Firmansyah S.E yang selalu memotivasi dan menemani dalam suka duka;
4. Anak tersayang Muhammad Zhafran Syarif Abram yang selalu memberi inspirasi;
5. Seluruh keluarga besar dan teman-teman seperjuangan angkatan 2009 yang telah memberikan semangat dan doa tanpa putus;
6. Almamater Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam 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)¹

“Dan katakanlah, ‘Bekerjalah kamu, maka Allah dan Rasul-Nya, serta orang-orang mukmin akan melihat pekerjaanmu itu...’
(terjemahan Surat *At-Tubah* ayat 105)²

“*Min ‘alamatn nujhi fin nihayati ar ruju’u ilallahi fil bidayati*”
Bagi seorang yang mencari ridho Allah, ada permulaan atau *bidayah* dan ada akhiran atau *nihayah*.³

¹Departemen Agama Republik Indonesia. 1998. *Al Quran dan Terjemahannya*. Semarang: PT Kumudasmoro Grafindo.

²Departemen Agama Republik Indonesia. 1998. *Al Quran dan Terjemahannya*. Semarang: PT Kumudasmoro Grafindo.

³Habiburrahman El Shirazy, 2010. *Bumi Cinta*. Semarang: AUTHOR PUBLISHING (Imprint Basmala Adikarya Legendaris).

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Syarifatul Laily

NIM : 091810301038

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Analisis kafein pada daun kopi arabika dan robusta menggunakan Kromatografi Lapis Tipis densitometri” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang telah 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 apabila jika dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, September 2016

Yang menyatakan,



Syarifatul Laily

NIM 091810301038

SKRIPSI

**ANALISIS KAFEIN PADA DAUN KOPI ARABIKA DAN ROBUSTA
MENGUNAKAN KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS DENSITOMETRI**

Oleh

Syarifatul Laily
NIM 091810301038

Pembimbing

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

Dosen Pembimbing Anggota : Dwi Indarti, S.Si., M.Si.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Analisis kafein pada daun kopi arabika dan robusta dengan KLT densitometri” telah diuji pada:

Hari, tanggal : **JUM'AT 11 NOV 2016**

Tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember

Tim Penguji;

Ketua (DPJ),

Yeni Maulidah Muflihah, S.Si, M.Si
NIP. 198008302006042002

Sekretaris (DPA),

Dwi Indarti, S.Si, M.Si
NIP. 197409012000032004

Penguji I,

Drs. Siswoyo, M.Sc., Ph.D.
NIP. 196605291993031003

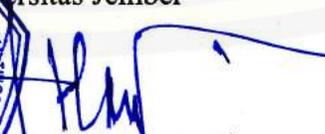
Penguji II,

I Nyoman Adi Winata, S.Si, M.Si.
NIP. 197105011998021002

Mengesahkan

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Jember




Drs. Sujito, Ph.D
NIP. 196102041987111001

RINGKASAN

Analisis Kafein pada Daun Kopi Arabika (*Coffea arabica*) dan Robusta (*Coffea canephora*) menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis Densitometri; Syarifatul Laily; 091810301038; 2016; 44 halaman, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Kafein (1,3,7 trimetil xantine) merupakan alkaloid yang tergolong dalam keluarga *methylxanthine* bersama senyawa *teofilin* dan *teobromin* yang berlaku sebagai perangsang sistem saraf pusat. Sumber kafein diperoleh dari serbuk daun kopi Arabika dan Robusta yang diambil dari PUSLIT KOKA Jember. Variabel yang dianalisis adalah teknik ekstraksi, komposisi eluen, kadar kafein, serta validasi metode.

Isolasi kafein dari daun kopi Arabika dan Robusta pada penelitian ini menggunakan metode ekstraksi maserasi dan sonikasi. Ekstrak yang dihasilkan dipisahkan menggunakan KLT-Densitometri dengan plat silika Gel F₂₄₅ ukuran 4×10 cm dalam bejana berukuran 10×5×13 cm dan eluen etil asetat : metanol (2:1) yang merupakan hasil optimasi. Pengujian kualitatif dilakukan dengan menggunakan metode parry, dengan cara menambahkan reagen parry pada larutan standar dan sampel. Hasil uji kualitatif menunjukkan bahwa sampel yang diuji menggunakan reagen parry positif mengandung kafein.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolasi kafein pada daun kopi Robusta menggunakan ekstraksi sonikasi sebesar 0,019%, dan ekstraksi maserasi sebesar 0,058%. Kadar sampel pada daun kopi Arabika dengan ekstraksi sonikasi sebesar 0,025%, dan ekstraksi maserasi sebesar 0,022%. Validasi metode yang dilakukan memberikan hasil yang linier dengan nilai koefisien korelasinya sebesar 0,9973. Nilai LOD dan LOQ masing-masing adalah 16,11 ng dan 53,73 ng. Hasil uji presisi dinyatakan dalam bentuk SBR, masing-masing konsentrasi 6, 10 dan 16 ppm perhitungan nilai SBR sebesar 6,5%, 3% dan 3% dengan 2/3 CV Horwitz masing-masing sebesar 7,33; 9,6 dan 8,94.

PRAKATA

Segala puji syukur dipanjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat serta hidayah-Nya, sehingga penulisan skripsi yang berjudul “Analisis kafein pada daun kopi arabika dan robusta menggunakan Kromatografi Lapis Tipis densitometer” dapat terselesaikan dengan baik. Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan program sarjana strata satu (S1) pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penulisan skripsi ini banyak mendapatkan bantuan moril maupun materil dari berbagai pihak, sehingga ucapan terima kasih disampaikan dengan tulus kepada:

1. Drs. Sujito, Ph.D, selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
2. Dr. Bambang Piluharto, S.Si., M.Si, selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
3. Tri Mulyono, S.Si., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Akademik;
4. Yeni Maulidah Muflihah, S.Si., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Utama dan DwiIndarti, S.Si., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Anggota;
5. Drs. Siswoyo, M.Sc, Ph.D. selaku Dosen Penguji I dan I Nyoman Adi Winata, S.Si., M.Si. selaku Dosen Penguji II;
6. Bapak ibu dosen yang telah memberikan ilmunya selama ini;
7. Sahabat-sahabat “Skripsweet”, Desy Kartika, hibbatur rahma, Khusnul Khotimah, Yusril Ihza, Riskon Ahmad, dan Juartini.
8. seluruh staf dosen, administrasi, dan teknisi jurusan Kimia;
9. semua pihak yang telah banyak membantu dalam penyelesaian tugas akhir ini.

Segala bentuk kritik dan saran yang bersifat membangun diharapkan dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini dan semoga skripsi ini dapat bermanfaat terhadap perkembangan ilmu pengetahuan, khususnya di bidang kimia.

Jember, September 2016

Penulis

DAFTAR ISI

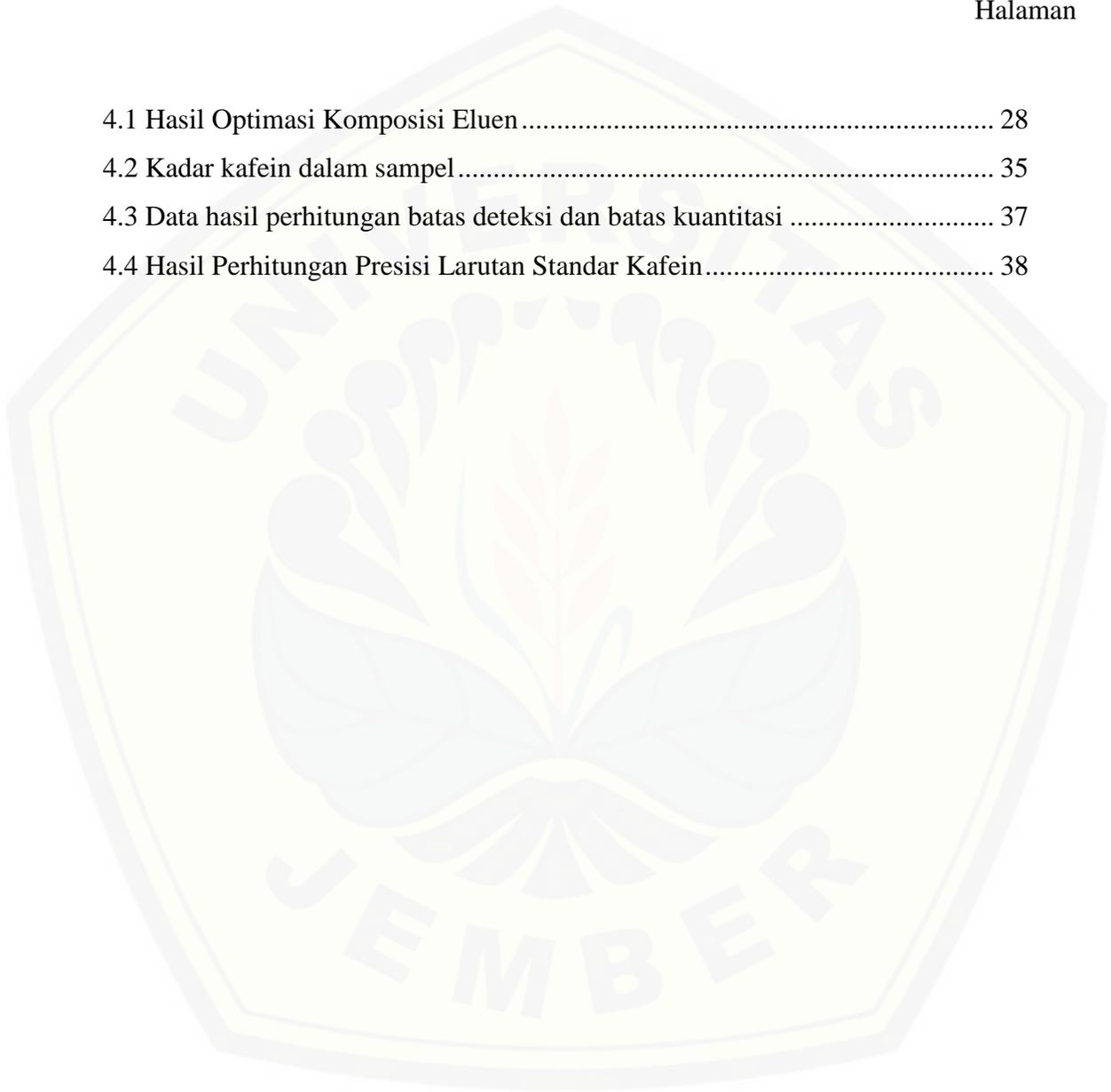
	Halaman
HALAMAN SAMPUL	
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan.....	3
1.5 Manfaat.....	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Kopi	5
2.1.1 Kopi Robusta	6
2.4.2 Kopi Arabika.....	6
2.2 Kafein.....	7
2.3 Ekstraksi	8

2.4 Maserasi	10
2.5 Sonikasi	10
2.6 Kadar Air	11
2.7 Uji Kualitatif Kafein Metode Parry	11
2.8 Kromatografi Lapis Tipis	12
2.9 Densitometri	15
2.10 Validasi Metode.....	16
2.10.1 Linieritas	16
2.10.2 Batas Deteksi (<i>Limit of Detection/ LOD</i>).....	17
2.10.3 Batas Kuantitasi (<i>Limit of Quantitation/ LOQ</i>)	17
2.10.4 Keseksamaan (<i>Precision</i>)	18
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	20
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	20
3.2 Alat dan Bahan.....	20
3.2.1 Alat.....	20
3.2.2 Bahan	20
3.3 Diagram Alir Penelitian	21
3.4 Prosedur Kerja.....	22
3.4.1 Preparasi Sampel.....	22
3.4.2 Ekstraksi Sampel.....	22
3.4.2.1 Maserasi.....	22
3.4.3.2 Sonikasi	22
3.4.3 Pembuatan Larutan Standar	23
3.4.4 Penentuan Kadar Air.....	23
3.4.5 Uji Kualitatif Kafein Metode Parry	23
3.4.6 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (<i>Scanning</i>).....	23
3.4.7 Optimasi Komposisi Eluen.....	24
3.4.8 Pembuatan Kurva Kalibrasi.....	24
3.4.9 Pemisahan Kafein dari Ekstrak Daun Kopi.....	24

3.4.10 Validasi Metode.....	25
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	28
4.1 Kondisi Eluen Optimum.....	28
4.2 Isolasi Kafein dari Daun Kopi Arabika dan Robusta.....	29
4.2.1 Kadar Air Serbuk daun Kopi Arabika dan Robusta	29
4.2.2 Ekstraksi Maserasi dan Sonikasi.....	30
4.3 Uji Kualitatif.....	31
4.4 Pemisahan dengan KLT-Densitometri.....	32
4.4.1 Panjang gelombang maksimum.....	32
4.4.2 Kurva Kalibrasi.....	33
4.5 Kadar Kafein dalam Sampel.....	34
4.6 Validasi Metode.....	35
4.6.1 Linieritas.....	36
4.6.2 Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ).....	37
4.6.3 Keseksamaan (<i>precision</i>).....	37
BAB 5. PENUTUP.....	39
5.1 Kesimpulan.....	39
5.2 Saran.....	39
DAFTAR PUSTAKA.....	40
LAMPIRAN.....	43

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Hasil Optimasi Komposisi Eluen.....	28
4.2 Kadar kafein dalam sampel.....	35
4.3 Data hasil perhitungan batas deteksi dan batas kuantitasi	37
4.4 Hasil Perhitungan Presisi Larutan Standar Kafein.....	38



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Tanaman Kopi.....	5
2.2 Struktur Kafein.....	8
3.1 Diagram Alir Penelitian	21
4.1 Uji Kualitatif Kafein	28
4.2 Kurva Panjang Gelombang Maksimum	32
4.3 Kurva kalibrasi	33

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

A. Perhitungan Pembuatan Larutan.....	44
A.1 Pembuatan Larutan Standar Kafein.....	44
A.1.1 Pembuatan Larutan Standar Kafein 1000 ppm.....	44
A.1.2 Pembuatan Larutan Standar Kafein 100 ppm	44
A.1.3 Pembuatan Larutan Standar Kafein 20 ppm	44
A.1.4 Pembuatan Larutan Standar Kafein 18 ppm	44
A.1.5 Pembuatan Larutan Standar Kafein 16 ppm	44
A.1.6 Pembuatan Larutan Standar Kafein 14 ppm	45
A.1.7 Pembuatan Larutan Standar Kafein 12 ppm	45
A.1.8 Pembuatan Larutan Standar Kafein 10 ppm	45
A.1.9 Pembuatan Larutan Standar Kafein 8 ppm	45
A.1.10 Pembuatan Larutan Standar Kafein 6 ppm	45
A.1.11 Pembuatan Larutan Standar Kafein 4 ppm	45
A.1.12 Pembuatan Larutan Standar Kafein 2 ppm	45
B. Perhitungan Kadar Air	46
B.1 Perhitungan kadar air daun kopi Robusta.....	46
B.2 Perhitungan kadar air daun kopi Arabika	46
C. Data Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (<i>Scanning</i>).....	47
D. Data Optimasi Komposisi Eluen	49
D.1 Data perhitungan perbandingan Etil asetat : Metanol (2:1).....	48
D.2 Data perhitungan perbandingan Etil asetat : Metanol (3:1).....	50
D.3 Data perhitungan perbandingan Etil asetat : Metanol (4:1).....	52
E. Data Validasi Metode.....	54
E.1 Data Linieritas.....	54

E.2 Data LOD dan LOQ.....	58
E.3 Data Keseksamaan (<i>Precision</i>).....	59
F. Kadar kafein dalam daun kopi.....	66
F.1 Data perhitungan kopi robusta.....	66
F.2 Data perhitungan kopi Arabika.....	71
G. Dokumentasi.....	78
G.1 KLT Kurva Kalibrasi.....	78
G.2 KLT Optimasi komposisi Eluen.....	78
G.3 KLT Uji Presisi.....	79
G.4 Uji Kualitatif Metode Parry.....	79

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kopi merupakan salah satu hasil komoditi perkebunan yang memiliki nilai ekonomis yang cukup tinggi di antara tanaman perkebunan lainnya dan berperan penting sebagai sumber devisa Negara, dengan produksi terbesar adalah kopi robusta (80%) dan Arabika (20%). Kabupaten Jember merupakan satu wilayah penghasil kopi, dengan tanaman utama dari jenis kopi robusta (Rahardjo, 2012).

Tanaman kopi mempunyai daun yang tumbuh pada batang, cabang dan ranting-ranting yang tersusun berdampingan. Daun yang tumbuh pada batang atau cabang-cabang tumbuhnya tegak lurus, susunan pasangan daun itu berselang-seling pada ruas-ruas berikutnya. Daun yang tumbuh pada ranting-ranting dan cabang-cabang mendatar, pasangan daun itu terletak pada bidang yang sama, tidak berselang-seling (AAK, 1988).

Daun kopi mengandung senyawa kimia alkaloida berupa xantine yaitu 1,3 dimetil xantine (Theophilin); 3,7 dimetil xantine (Theobromin); 1,3,7 trimetil xantine (kafein); Flavonoida yang terdiri dari kamferol, quersetin dan sirisetin, golongan polifenol berupa senyawa tanin terdiri dari katekhin dan eternya dengan asam galat seperti katekhin, katekhin-galat, epikatekhin, epikatekhin galat, epigalokatekhin, epigalokatekhin galat dan lain-lain. (Armita, 1980). Kafein (1,3,7 trimetil xantine) ialah alkaloid yang tergolong dalam keluarga *methylxanthine* bersama senyawa *tefilin* dan *teobromin*, berlaku sebagai perangsang sistem saraf pusat (Ware, 1995).

Teknik ekstraksi yang dapat digunakan untuk mengisolasi kafein senyawa aktif dari bahan alam, di antaranya ekstraksi maserasi, sonikasi, soxhlet, refluks, dan distilasi. Metode ekstraksi seperti maserasi membutuhkan waktu yang tidak terlalu lama, sehingga menjadi lebih efisien. Ekstraksi sonikasi juga relative efisien karena memanfaatkan gelombang ultrasonik. Efektivitas ekstraksi sangat bergantung pada kondisi-kondisi percobaan yang digunakan seperti waktu ekstraksi, sampel-pelarut, dan jenis pelarut (Oktavia, 2011). Oleh karena itu perlu dilakukan optimisasi untuk

mendapatkan hasil yang lebih baik. Pengaruh perbedaan metode ekstraksi, dan optimasi pelarut, terhadap kadar kafein diamati pada penelitian ini.

Metode penentuan kadar kafein yang sudah dilakukan antara lain dengan metode spektrofotometri UV- Vis (Daniel, 2008), KLT-Densitometri (Spiller, 1998), dan kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) (Mukmin dkk, 2006). Annina (2012) melakukan analisis kadar kafein yang terkandung dalam teh kemasan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis, hasil penelitian sebagian besar kadar kafein lebih tinggi jika dianalisis menggunakan Spektrofotometri UV-Vis dibanding dengan KCKT. Levent (2001) juga menganalisis kafein menggunakan metode HPLC dan melaporkan bahwa metode ini terbukti linear, reproduktif, spesifik, dan sensitif. Metode KLT densitometri juga pernah dilakukan oleh Putri dan Latunra (2013) untuk menentukan kadar kafein dan polifenol pada biji kopi arabika dengan diperoleh kadar kafein rata-rata sebesar 1,7% dan kadar polifenol rata-rata sebesar 0,2%.

Densitometri merupakan metode analisis instrumental yang didasarkan pada interaksi radiasi elektromagnetik dengan analit yang merupakan bercak pada Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Densitometri dimaksudkan untuk analisis kuantitatif analit dengan kadar kecil, yang sebelumnya dilakukan pemisahan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) (Rohman, 2009). Keunggulan densitometri yaitu diutamakan untuk analisis kuantitatif analit-analit dengan kadar yang sangat kecil yang merupakan hasil pemisahan dengan KLT. Penentuan kadar analit yang dikorelasikan dengan area noda pada KLT akan lebih terjamin ketelitiannya dibanding metode KCKT (Kromatografi Cair kinerja Tinggi) atau KGC (Kromatografi Gas Cair), sebab area noda kromatogram diukur pada posisi lurus atau "Zig-zag" menyeluruh.

Berdasarkan hal tersebut di atas, penulis melakukan penentuan kadar kafein dari daun kopi Arabika dan Robusta dengan dua metode ekstraksi yaitu maserasi dan sonikasi, dan melakukan validasi metode yang digunakan meliputi uji linieritas, uji presisi, batas deteksi dan batas kuantitasi, Rohman (2009). Uji validitas adalah suatu langkah pengujian yang dilakukan terhadap isi (*content*) dari suatu instrumen, dengan

tujuan untuk mengukur ketepatan instrumen yang digunakan dalam suatu penelitian (Sugiyono, 2006). Tujuan Uji validitas yang lebih luas adalah untuk mengetahui sejauh mana ketepatan dan kecermatan suatu instrumen pengukuran dalam melakukan fungsi ukurnya, agar data yang diperoleh bisa relevan/sesuai dengan tujuan diadakannya pengukuran tersebut.

1.2 Perumusan Masalah

Permasalahan yang akan dikaji dalam penelitian ini berdasarkan uraian latar belakang di atas, yaitu:

1. Metode ekstraksi manakah yang lebih baik untuk mengisolasi kafein dari daun kopi arabika dan robusta?
2. Bagaimana komposisi eluen yang baik untuk pemisahan kafein?
3. Berapa kadar kafein dalam daun kopi arabika dan robusta jika dianalisis menggunakan metode KLT densitometri?

1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah yang diterapkan dalam penelitian ini antara lain:

1. Daun Kopi Arabika dan Robusta didapatkan dari perkebunan Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Jenggawah kabupaten Jember.
2. Metode ekstraksi yang digunakan adalah Maserasi dan Sonikasi.
3. Jenis eluen yang digunakan campuran kloroform : metanol dan etil asetat : metanol.

1.4 Tujuan Penelitian

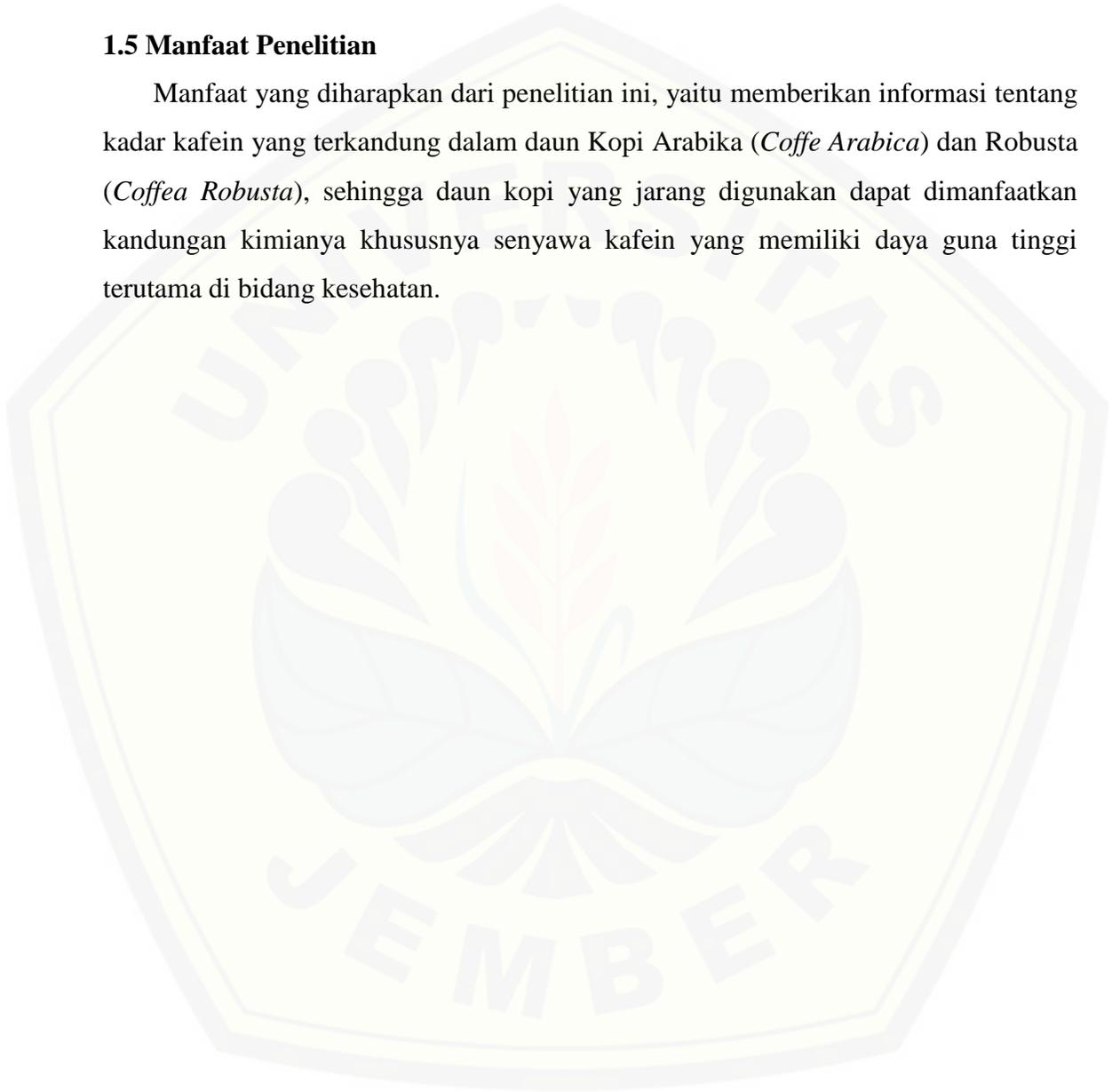
Tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini berdasarkan permasalahan yang akan dikaji, yaitu:

1. Mengetahui metode ekstraksi yang baik untuk isolasi kafein dalam daun kopi.
2. Mengetahui komposisi eluen yang optimum untuk pemisahan kafein dalam daun kopi.

3. Mengetahui kadar kafein dalam daun kopi arabika dan robusta jika dianalisis menggunakan metode KLT densitometri.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini, yaitu memberikan informasi tentang kadar kafein yang terkandung dalam daun Kopi Arabika (*Coffe Arabica*) dan Robusta (*Coffea Robusta*), sehingga daun kopi yang jarang digunakan dapat dimanfaatkan kandungan kimianya khususnya senyawa kafein yang memiliki daya guna tinggi terutama di bidang kesehatan.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kopi

Adapun klasifikasi tanaman kopi (*Coffea* sp.) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisio	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Rubiales
Famili	: Rubiaceae
Genus	: <i>Coffea</i>
Spesies	: <i>Coffea</i> sp.

(Hasbi, 2009).



Gambar 2.1 Tanaman kopi (Hasbi, 2009)

Kopi (*Coffea* sp.) adalah spesies tanaman berbentuk pohon. Tanaman ini tumbuh tegak, bercabang dan bila dibiarkan akan mencapai tinggi 12 m. Tanaman kopi ditunjukkan pada Gambar 2.1. Tanaman kopi memiliki beberapa jenis cabang yaitu cabang reproduksi, cabang primer, cabang sekunder, cabang kipas, cabang pecut, cabang balik, dan cabang air. Daun tanaman kopi berbentuk bulat telur dengan

ujung tegak meruncing. Daun tumbuh berhadapan pada batang, cabang dan ranting-rantingnya. Berdasarkan jenisnya kopi dibagi menjadi beberapa jenis diantaranya adalah kopi Arabika, Robusta (Najiyati dan Danarti, 1997).

2.1.1 Kopi Robusta

Kopi Robusta merupakan keturunan beberapa spesies kopi, terutama *Coffea canephora*. Kopi Robusta berasal dari Kongo dan masuk ke Indonesia pada tahun 1900. Beberapa varietas yang termasuk kopi Robusta antara lain Quillou, Uganda, dan Chanepora (Najiyati dan Danarti, 1997).

Tanaman kopi Robusta biasa tumbuh hingga mencapai ketinggian ± 12 m. Kopi Robusta dalam pasar dunia menyumbang hingga 20%, yakni kedudukan tertinggi kedua setelah Kopi Arabika. Tanaman kopi jenis Robusta dapat tumbuh optimal pada iklim panas dan dataran yang letaknya ± 1.100 m dari permukaan laut (Harding, 2009).

Kopi Robusta digolongkan lebih rendah mutu cita rasanya dibandingkan dengan cita rasa kopi Arabika. Hampir seluruh produksi kopi Robusta di seluruh dunia dihasilkan secara kering dan untuk mendapatkan rasa lugas tidak boleh mengandung rasa-rasa asam dari hasil fermentasi. Kopi Robusta memiliki kelebihan yaitu kekentalan lebih dan warna yang kuat (Siswoputranto, 1992).

2.1.2 Kopi Arabika

Kopi Arabika merupakan jenis kopi tertua yang dikenal dan dibudidayakan di dunia dengan varietas-varietasnya. Kopi Arabika tumbuh pada iklim subtropik dengan bulan-bulan kering untuk pembungaannya. Di Indonesia tanaman kopi Arabika cocok dikembangkan di daerah-daerah dengan ketinggian antara 800-1500 m di atas permukaan laut dan dengan suhu rata-rata 15-24°C (Sihombing, 2011).

Pada suhu 25°C kegiatan fotosintesis tumbuhannya akan menurun dan akan berpengaruh langsung pada hasil kebun. Mengingat belum banyak jenis kopi Arabika

yang tahan akan penyakit karat daun, dianjurkan penanaman kopi Arabika tidak berada di daerah-daerah di bawah ketinggian 800 m dpl (Sihombing, 2011).

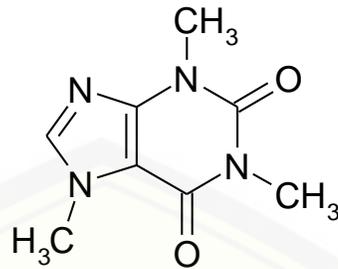
Kopi Arabika adalah kopi yang paling baik mutu cita rasanya, tanda-tandanya adalah biji picak dan daun hijau tua dan berombak-ombak. Jenis-jenis kopi yang termasuk dalam golongan Arabika adalah abesinia, pasumah, marago dan congensis (Najiyati dan Danarti, 1997).

2.2 Kafein

Kafein adalah sejenis senyawa alkaloid yang termasuk golongan metilxanthine (1,3,7-trimethylxantine). Kristal kafein dalam air berupa jarum-jarum bercahaya. Bila tidak mengandung air, kafein meleleh pada suhu 234°C-239°C dan menyublim pada suhu yang lebih rendah. Kafein mudah larut dalam air panas dan kloroform, tetapi sedikit larut dalam air dingin dan alkohol. Kafein bersifat basa lemah dan hanya dapat membentuk garam dengan basa kuat (Abraham, 2010).

Secara ilmiah, efek langsung dari kafein terhadap kesehatan sebetulnya tidak ada, tetapi yang ada adalah efek tak langsungnya seperti menstimulasi pernafasan dan jantung, serta memberikan efek samping berupa rasa gelisah (neuroses), tidak dapat tidur (insomnia), dan denyut jantung tak beraturan (*tachycardia*). Banyak senyawa nitrogen dalam tumbuhan mengandung atom nitrogen basa dan karena itu dapat diekstrak dari dalam bahan tumbuhan itu dengan asam encer. Senyawa ini disebut alkaloid yang artinya mirip alkali. Setelah ekstraksi, alkaloid bebas dapat diperoleh dengan pengolahan lanjutan dengan basa dalam air. Struktur dari kafein dapat ditunjukkan pada Gambar 2.2.

Kadar kafein yang terdapat pada kopi Robusta sedikit lebih tinggi dibanding kopi Arabika. Sebaliknya jenis Arabika lebih banyak mengandung zat gula dan minyak atsiri. Dinegara-negara konsumen ramuan minuman kopi ini biasanya dihidangkan dalam bentuk hasil *blending* kopi Robusta dan Arabika (Spillane, 1990).



Gambar 2. 2 Struktur Kafein (Khopkar, 2010)

Adapun sifat-sifat fisika kafein yaitu, Wujud : bubuk putih tidak berbau, berat molekul : 194.19 g/mol, densitas : 1.23 g/cm³, solid. Titik leleh : 227–228°C (anhydrous) 234–235°C (monohydrate) Titik didih : 178°C *subl.* Kelarutan dalam air : 2.17 g/100 ml (25°C), 18.0 g/100 ml (80°C), dan 67.0 g/100 ml (100°C). Keasaman : -0,13 – 1,22 pKa dan Momen dipole : 3.64 D (Mumin *et al.*, 2006).

Kafein berfungsi sebagai unsur rasa dan unsur aroma (Bhara, 2009). Mekanisme kafein di dalam tubuh, kafein masuk ke dalam tubuh melalui sistem oral yang kemudian diabsorpsi. Jalur masuknya kafein dalam tubuh, yaitu : kafein → kerongkongan (esofagus) → lambung (gaster) → usus halus (duodenum/jejunum) → kafein hancur menjadi molekul kecil dan menembus dinding usus halus → sirkulasi Sistemik (Ridwansyah, 2002).

Kafein diabsorpsi cepat pada saluran cerna dan kadar puncak dalam darah yang dicapai selama 30-45 menit. Waktu paruh kafein selama 3,5-5 jam. Kafein mempunyai efek diuretik. Kafein dapat mengurangi penyerapan kembali kalsium di dalam ginjal, sehingga kalsium keluar lewat urin (Sutanto dan Sutanto, 2005).

2.3 Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu metode pemisahan yang melibatkan perpindahan suatu zat dari lapisan yang satu ke lapisan zat yang kedua. Jika kedua lapisan adalah cairan yang tidak saling bercampur, metode ini dikenal sebagai ekstraksi cair-cair. Dalam ekstraksi cair-cair, suatu senyawa terpartisi di antara dua pelarut. Keberhasilan

pemisahan tergantung pada perbedaan kelarutan senyawa dalam kedua pelarut. Umumnya senyawa yang diekstraksi tidak larut atau sedikit larut dalam pelarut yang satu tetapi sangat larut dalam pelarut yang lain. Ekstraksi berlangsung dalam corong pisah, dan dilakukan beberapa kali. Biasanya air digunakan sebagai salah satu pelarut dari dua pelarut dalam ekstraksi cair-cair karena kebanyakan pelarut organik tidak bercampur dengan air, dan air melarutkan senyawa ionik dan senyawa yang sangat polar. Pada tiap-tiap pelarut ini ditemukan kriteria penting, yaitu kelarutan relatif dalam air, air dan satu dari pelarut-pelarut ini membentuk dua lapisan yang terpisah. Proses ekstraksi air dengan senyawa organik, lapisan air dinyatakan sebagai lapisan berair dan pelarut organik disebut lapisan organik. Sebagai kelanjutan untuk kriteria tidak saling bercampur terhadap lapisan berair dengan lapisan organik, senyawa-senyawa yang akan diekstraksi harus dipisahkan dari lapisan dalam mana dia terkonsentrasi. Pelarut organik yang umum dipilih adalah mempunyai titik didih yang jauh lebih rendah daripada titik didih senyawa yang diekstraksi, biasanya dipilih pelarut yang harganya murah dan senyawa yang tidak beracun dan titik didihnya lebih rendah dari 100°C (Pavia, 1995).

Teknik ekstraksi, tiga metode dasar pada ekstraksi cair adalah: ekstraksi bertahap (*batch*), ekstraksi kontinyu, dan ekstraksi *counter current*. Ekstraksi bertahap merupakan cara yang paling sederhana. Caranya cukup dengan menambahkan pelarut pengekstraksi yang tidak bercampur dengan pelarut semula kemudian dilakukan pengocokan sehingga terjadi kesetimbangan konsentrasi zat yang akan diekstraksi pada kedua lapisan. Setelah ini tercapai, lapisan didiamkan dan dipisahkan. Metode ini sering digunakan untuk pemisahan analitik. Kesempurnaan ekstraksi akan tergantung pada banyaknya ekstraksi yang dilakukan. Hasil yang baik diperoleh jika jumlah ekstraksi yang dilakukan berulang kali dengan jumlah pelarut sedikit-sedikit. Ekstraksi bertahap baik digunakan jika perbandingan distribusi besar. Pelarut yang digunakan bergantung pada senyawa yang akan diekstraksi yang dalam hal ini adalah kafein. Pelarut organik yang digunakan dalam proses ekstraksi adalah diklorometana karena kafein lebih larut dalam diklorometana daripada air. Kelarutan

kafein dalam diklorometana yaitu 140 mg/ml sedangkan kelarutan dalam air yaitu 22 mg/ml. Alat yang biasa digunakan pada ekstraksi bertahap adalah corong pemisah (Day, 2002).

2.4 Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar) Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan (Sidik dan Mudahar, 2000).

Metode ekstraksi maserasi umum digunakan untuk mengekstrak sampel yang relatif tidak tahan terhadap panas. Metode ini dilakukan hanya dengan merendam sampel dalam suatu pelarut dengan jangka waktu tertentu, biasanya dilakukan selama 24 jam tanpa menggunakan pemanas. Kelebihan metode ini diantaranya sederhana dan bisa menghindari kerusakan komponen senyawa. Kelemahan metode ini ditinjau dari segi waktu dan penggunaan pelarut yang tidak efektif dan efisien karena jumlah pelarut yang digunakan relatif banyak dan membutuhkan waktu yang lebih lama (Meloan, 1999).

2.5 Sonikasi

Sonikasi adalah suatu cara penerapan energi ultra suara untuk memisahkan partikel-partikel yang menempel dalam sampel yang akan disonikasi. Ultra suara yang digunakan dalam sonikasi merupakan tekanan suara siklik dengan frekuensi yang lebih besar dari pada batas teratas pendengaran manusia. Sonikasi dapat digunakan untuk mempercepat pemisahan partikel dalam sampel, dengan cara memecah interaksi antarmolekul. Sonikasi juga dapat berfungsi untuk menghilangkan gas-gas terlarut dari cairan sampel dengan cara mensonikasi cairan tersebut dalam keadaan vakum. Sonikasi dapat diterapkan dalam berbagai bidang, misalnya dalam bidang biologi, sonikasi digunakan untuk mengganggu dan menonaktifkan materi-materi biologi. Selain itu, dapat diaplikasikan dalam bidang nanoteknologi, yang

bertujuan untuk menyebarkan nanopartikel dalam cairan. Sonikasi juga dapat diartikan sebagai suatu mekanisme yang digunakan dalam pembersihan ultrasonik, untuk menghilangkan partikel-partikel pengotor (Indra, 2008).

Sonikasi memanfaatkan gelombang ultrasonik dengan frekuensi 42 kHz yang dapat mempercepat waktu kontak antara sampel dan pelarut meskipun pada suhu ruang. Hal ini menyebabkan proses perpindahan massa senyawa bioaktif dari dalam sel tanaman ke pelarut menjadi lebih cepat. Sonikasi mengandalkan energi gelombang yang menyebabkan proses kavitasi, yaitu proses pembentukan gelembung-gelembung kecil akibat adanya transmisi gelombang ultrasonik untuk membantu difusi pelarut ke dalam dinding sel tanaman (Ashley *et al.* 2001).

2.6. Kadar air

Kadar air adalah presentase kandungan air suatu bahan yang dapat dinyatakan berdasarkan berat basah (*wet basis*) atau berdasarkan berat kering (*dry basis*). Kadar air berat basah mempunyai batas maksimum teoritis sebesar 100 persen, sedangkan kadar air berdasarkan berat kering dapat lebih dari 100 persen (Syarief dan Hadid, 1993)

Kadar air merupakan banyaknya air yang terkandung dalam bahan yang dinyatakan dalam persen. Kadar air juga salah satu karakteristik yang sangat penting pada bahan pangan, karena air dapat mempengaruhi penampakan, tekstur, dan cita rasa pada bahan pangan. Kadar air tinggi dalam bahan pangan ikut menentukan kesegaran dan daya awet bahan pangan tersebut, kadar air yang tinggi mengakibatkan mudahnya bakteri, kapang, dan khamir untuk berkembang biak, sehingga akan terjadi perubahan pada bahan pangan (Winarno, 1997)

2.7 Uji kualitatif Kafein Metode Parry

Analisis kualitatif merupakan analisis untuk melakukan identifikasi elemen, spesies, dan/atau senyawa-senyawa yang ada di dalam sampel. Dengan kata lain,

analisis kualitatif berkaitan dengan cara untuk mengetahui ada atau tidaknya suatu analit yang dituju dalam suatu sampel (Gandjar, 2007).

Analisis kualitatif merupakan suatu proses dalam mendeteksi keberadaan suatu unsur kimia dalam cuplikan yang tidak di ketahui. Analisis kualitatif merupakan suatu cara yang paling efektif untuk mempelajari kimia dan unsur-unsur serta ion-ionnya dalam larutan. Dalam metode analisis kualitatif, kita menggunakan beberapa pereaksi, di antaranya pereaksi golongan dan pereaksi spesifik. Analisis kualitatif dapat digunakan untuk menganalisis reaksi-reaksi khusus senyawa yang mengandung senyawa C, H, N, dan O (Miessler, 1991).

2.8 Kromatografi Lapis Tipis (*Thin Layer Chromatography/ TLC*)

Metode pemisahan kromatografi didasarkan pada perbedaan distribusi molekul- molekul komponen di antara dua fasa (fasa gerak dan fasa diam) yang kepolarannya berbeda. Keberhasilan pemisahan kromatografi bergantung pada daya interaksi komponen-komponen campuran dengan fasa diam dan fasa gerak (Hendayana, 2006).

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan salah satu analisis kualitatif dan semi kuantitatif yang menggunakan prinsip dasar pada kromatografi yaitu pemisahan campuran berdasarkan perbedaan adsorpsi dan distribusi senyawa pada dua fase yang berbeda yaitu fase diam dan fase gerak. Empat macam adsorben (fase diam) yang umum dipakai ialah silika gel (asam silikat), alumina (aluminium oksida), kieselguhr (*diatomous earth*), dan selulosa. Silika gel merupakan adsorben yang banyak dipakai dan masing-masing terdiri dari beberapa jenis yang mempunyai nama dagang macam-macam. Adsorben sebagai fase diam yang sering digunakan dalam analisis insektisida organofosfat adalah plat KLT silika gel F₂₅₄ (IAEA, 2005).

Kelarutan senyawa dalam pelarut bergantung pada bagaimana besar interaksi antara molekul-molekul senyawa dengan pelarut. Bagaimana senyawa melekat pada fase diam, misalnya gel silika. Hal ini tergantung pada bagaimana besar interaksi antara senyawa dengan gel silika. Kromatografi lapis tipis menggunakan plat tipis

yang dilapisi dengan adsorben seperti silika gel, aluminium oksida (alumina) maupun selulosa. Adsorben tersebut berperan sebagai fasa diam, sedangkan fasa gerak yang digunakan dalam KLT sering disebut dengan eluen. Pemilihan eluen didasarkan pada polaritas senyawa dan biasanya merupakan campuran beberapa cairan yang berbeda polaritasnya, sehingga didapatkan perbandingan tertentu. Eluen KLT dipilih dengan cara trial and error. Kepolaran eluen sangat berpengaruh terhadap Rf (faktor retensi) yang diperoleh (Gandjar,2007).

Fase gerak (eluen) digunakan pelarut tunggal maupun campuran beberapa pelarut organik atau anorganik yang bersifat baik polar maupun non-polar. Pemilihan fase gerak baik tunggal maupun campuran, sangat dipengaruhi oleh macam dan polaritas zat kimia yang dipisahkan. Komposisi pelarut pengembang (fase gerak) campuran umumnya memakai perbandingan volume (v/v). Pengembangan adalah suatu proses pemisahan analit dari sampel berdasarkan pengaruh pergerakan eluen yang merambat pada fase diam karena adanya gaya kapilaritas. Proses pengembangan lebih baik bila ruangan pengembang tersebut telah jenuh dengan uap sistem pelarut. Hal ini dapat segera tercapai dengan meletakkan kertas filter pada dinding ruangan dengan dasar kertas tersebut tercelup pada sistem pelarutnya. Pengembangan dilakukan dalam ruangan tertutup dan diakhiri setelah ujung pelarut pada plat telah mencapai kira-kira $\frac{3}{4}$ tinggi adsorben. Plat KLT kemudian diambil dan dikeringkan, sebaiknya dengan menggunakan aliran gas (Stahl, 1985).

Nilai Rf sangat karakteristik untuk senyawa tertentu pada eluen tertentu. Hal tersebut dapat digunakan untuk mengidentifikasi adanya perbedaan senyawa dalam sampel. Senyawa yang mempunyai Rf lebih besar berarti mempunyai kepolaran yang rendah, begitu juga sebaliknya. Hal tersebut dikarenakan fasa diam bersifat polar. Senyawa yang lebih polar akan tertahan kuat pada fasa diam, sehingga menghasilkan nilai Rf yang rendah. Rf KLT yang bagus berkisar antara 0,2 - 0,8. Jika Rf terlalu tinggi, yang harus dilakukan adalah mengurangi kepolaran eluen, dan sebaliknya (Gandjar,2007).

Kromatogram pada kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan noda- noda yang terpisah dan tampak setelah dilakukan visualisasi secara fisika atau kimia. Noda kromatogram tiap-tiap komponen yang terpisah secara visualisasi tampak sebagai noda yang bulat apabila terjadi pemisahan dengan baik. Konsentrasi terlalu tinggi dapat menyebabkan terjadinya kromatogram yang tidak bulat (berekor). Penyebab pengekoran yang lain adalah ketidakjenuhan *chamber* KLT, ketidaktepatan pemilihan fase gerak terhadap fase diam, dan macam sampel yang dianalisis (Mulja dan Suharman, 1995).

Kromatografi lapis tipis dapat digunakan untuk menganalisis senyawa-senyawa organik dalam jumlah kecil (misalnya menentukan jumlah kumpulan dalam campuran), dan juga untuk mengidentifikasi komponen penyusun campuran melalui perbandingan dengan senyawa yang diketahui strukturnya. Penggunaan umum KLT adalah untuk menentukan banyak komponen dalam campuran, identifikasi senyawa, memantau berjalannya suatu reaksi, dan menentukan efektivitas pemurnian (Gandjar, 2007). Analisis kualitatif pada KLT ditentukan dengan membandingkan nilai R_f (*Retardation Factor*) sampel dengan nilai R_f senyawa acuan standard untuk kondisi kromatografi yang sama dan plat yang sama (Mulja dan Suharman, 1995). Definisi faktor retardasi (R_f) sebagai berikut:

$$R_f = \frac{\text{Jarak migrasi komponen}}{\text{Jarak migrasi fase gerak}}$$

Analisis kuantitatif dengan kromatografi lapis tipis dapat dilakukan dengan dua cara. Pertama, bercak diukur langsung pada lempeng dengan menggunakan ukuran luas atau dengan teknik densitometri. Kedua, mengerok bercak lalu menetapkan kadar senyawa yang terdapat dalam bercak tersebut dengan metode analisis yang lain, misalkan dengan metode spektrofotometri. Cara pertama tidak terjadi kesalahan yang disebabkan oleh pemindahan bercak atau kesalahan ekstraksi, sementara pada cara kedua sangat mungkin terjadi kesalahan karena pengambilan atau karena ekstraksi. Analisis kuantitatif dari suatu senyawa yang telah dipisahkan dengan KLT biasanya

dilakukan dengan densitometri langsung pada lempeng KLT (atau secara *in situ*) (Mulja dan Surahman, 1995).

2.9 Densitometri

Densitometri adalah metode analisis instrumental berdasarkan interaksi radiasi elektromagnetik dengan analit yang merupakan noda pada KLT. Radiasi elektromagnetik yang mengenai plat KLT akan diadsorpsi oleh analit, ditransmisi, atau diemisikan berupa fluoresensi dan fosforesensi (Sherma dan Fried, 2003). Densitometri lebih diutamakan untuk analisis kuantitatif analit-analit dengan kadar yang sangat kecil yang perlu dilakukan pemisahan terlebih dahulu (Mulja dan Suharman, 1995).

Densitometer dapat bekerja secara serapan atau fluoresensi. Kebanyakan densitometer mempunyai sumber cahaya monokromator (rentang panjang gelombang 190 s/d 800 nm) untuk memilih panjang gelombang yang cocok, sistem untuk memfokuskan sinar pada lempeng, pengganda foton, dan rekorder (Rohman, 2007). *Output* detektor dikonversikan menjadi signal dan diamplifikasi. Sebagai tambahan untuk *scanning* instrumen densitometer dilengkapi dengan digital konverter, dan data akan diproses secara digitalisasi oleh komputer. Analisis dapat bekerja dengan densitometri pada jangkauan panjang gelombang 190 s/d 800 nm. Terjadinya penyimpangan *baseline* yang disebabkan oleh variasi ketebalan dan ketidakseragaman lapisan pada densitometer sangat kecil dan level signalnya relatif tinggi. Analisis kuantitatif dari suatu senyawa yang telah dipisahkan dengan TLC biasanya dilakukan dengan densitometer langsung pada lempeng TLC (atau secara *in situ*) (Camag, 1999).

Cara kerja densitometri adalah pada cara pantulan, yang diukur adalah sinar yang dipantulkan, yang dapat menggunakan sinar tampak maupun ultraviolet. Sementara itu, cara transmisi dilakukan dengan menyinari bercak dari satu sisi dan mengukur sinar yang diteruskan pada sisi lain. Gangguan utama pada sistem serapan adalah fluktuasi latar belakang (*background*) yang dapat dikurangi dengan

beberapa cara, misalnya dengan menggunakan alat berkas ganda, sistem transmisi dan pantulan secara bersamaan, atau dengan sistem 2 panjang gelombang. Kurva baku dibuat untuk setiap lempeng dan kadar senyawa dihitung seperti pada metode instrumental yang lain. Presisi penetapan termasuk penotolan cuplikan, pengembangan kromatogram, dan pengukuran adalah 2-5%. Sistem fluoresensi biasanya lebih disenangi jika senyawa itu dapat dibuat berfluoresensi. Batas deteksi sistem ini lebih rendah dan kelinieran respon dan selektifitasnya lebih tinggi. Gangguan fluktuasi latar belakang juga lebih rendah. Bercak yang diukur dengan sistem fluoresensi, serapan ultraviolet, atau sinar tampak dapat ditetapkan lebih teliti daripada bercak yang disemprot dengan pereaksi warna. Faktor keseragaman pada penyemprotan merupakan hal yang sangat menentukan (Gandjar dan Rohman, 2007).

2.10 Validasi Metode

Validasi metode analisis adalah suatu proses penilaian terhadap metode analisis tertentu berdasarkan percobaan laboratorium untuk membuktikan bahwa metode tersebut memenuhi persyaratan untuk digunakan (Harmita, 2004). Data validasi mencakup pemaparan karakteristik metode yang dipakai, faktor-faktor yang mempengaruhi karakteristik tersebut dan membuktikan bahwa metode yang digunakan sesuai dengan tujuan yang dikehendaki.

2.10.1 Linearitas

Linearitas adalah kemampuan metode analisis yang memberikan respon yang secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel (Harmita, 2004). *Linear range* merupakan daerah (*range*) konsentrasi di mana sinyal yang dihasilkan memberikan respon berupa kurva kalibrasi linear yang berbanding lurus dengan konsentrasi analit (Basset *et al.*, 1989). Linearitas menggunakan minimal lima deret konsentrasi larutan standard untuk dijadikan kurva. Kemiringan (*slope*) dan intersep juga dicantumkan

dalam kurva (ICH, 2006). Secara sistematis linearitas ditunjukkan dengan persamaan garis sebagai berikut :

$$y = bx + a$$

Di mana :

b = *slope* kurva kalibrasi

a = intersep atau perpotongan sumbu y (Calcut & Boddy, 1989).

Syarat kelinearan garis yaitu jika nilai b (*slope*) = 0 atau mendekati 0 dan nilai koefisien korelasi (r) = +1 atau -1 bergantung pada arah garis. Nilai koefisien korelasi dapat dicari melalui pembuatan kurva kalibrasi menggunakan perangkat lunak komputer. Nilai a menunjukkan kepekaan analisis terutama instrumen yang digunakan (Harmita, 2004).

2.10.2 Batas Deteksi (*Limit of Detection/ LOD*)

Batas deteksi adalah jumlah terkecil analit yang masih dapat dideteksi memberikan respon dibandingkan blanko. Semakin kecil konsentrasi yang dideteksi, semakin baik karakteristik biosensor yang digunakan (Miller dan Miller, 1991). Batas deteksi merupakan parameter uji batas yang dapat dihitung secara statistik melalui garis regresi linear dari kurva kalibrasi dengan rumus :

$$LOD = \frac{3 \frac{Sy}{x}}{b}$$

Di mana :

b = *slope* kurva kalibrasi

$\frac{Sy}{x}$ = simpangan baku blanko (Harmita, 2004).

2.10.3 Batas Kuantitasi (*Limit of Quantitation/ LOQ*)

Batas kuantitasi merupakan parameter pada analisis renik dan diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat

dan seksama (Harmita, 2004). Batas kuantitasi dapat dihitung secara statistik melalui garis regresi linear dari kurva kalibrasi dengan rumus :

$$LOQ = \frac{10 \frac{Sy}{x}}{b}$$

Di mana :

b = *slope* kurva kalibrasi

$\frac{Sy}{x}$ = simpangan baku blanko (Harmita, 2004).

2.10.4 Keseksamaan (*Precision*)

Keseksamaan/presisi biasanya dinyatakan sebagai simpangan baku relatif dari jumlah sampel yang berbeda signifikan secara statistik (Rohman, 2007). Keseksamaan diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien variasi). Keseksamaan dapat dinyatakan sebagai keterulangan (*repeatability*) atau reproduibilitas (*reproducibility*) (Harmita, 2004). Keseksamaan dapat dihitung dengan cara sebagai berikut:

1. Simpangan Baku (SD)

$$SD = \sqrt{\frac{(\sum (x_i - \bar{x})^2)}{n - 1}}$$

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

Di mana :

$x_i = x_1, x_2, \dots, x_n$ hasil pengujian

\bar{x} = nilai rata-rata

n = jumlah pengukuran (sampel)

2. Simpangan Baku Relatif (SBR)

$$SBR = \frac{SD}{x} \times 100\% \text{ (Harmita, 2004).}$$

Suatu nilai ketelitian dinyatakan dalam *Relative Standar Deviation* (% RSD). Besarnya RSD menyatakan tingkat ketelitian analisis, semakin kecil % RSD yang dihasilkan maka semakin tinggi tingkat ketelitiannya. Uji presisi dilakukan untuk mengetahui kedekatan atau kesesuaian antara hasil uji yang satu dengan yang lainnya pada serangkaian pengujian. Presisi hasil pengukuran digambarkan dalam bentuk persentase *Relative Standar Deviation* (%RSD) (Riyanto, 2014).



BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan bulan Desember 2014 sampai bulan Januari 2016. Persiapan sampel dilakukan di Laboratorium Tanah Pusat Penelitian Kopi dan Kakao (PUSLIT KOKA) Jenggawah.

Analisis menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember. *Densitometric Scanning* dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

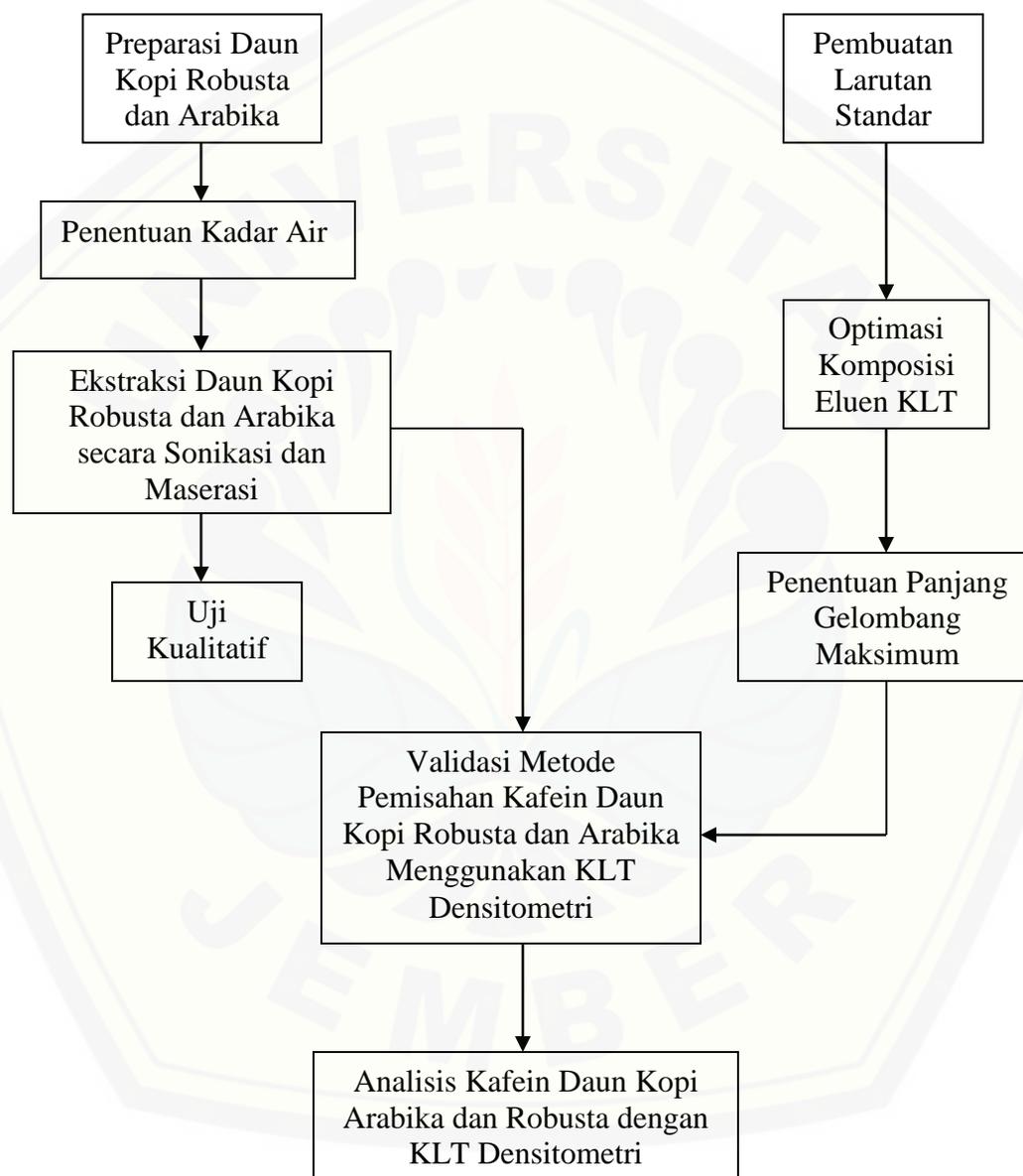
Alat yang dipergunakan dalam penelitian ini terdiri atas: mesin giling daun. Ayakan berukuran 100 mesh, pipet tetes, pipet Mohr 1 mL, pipet Mohr 5 mL, pipet Mohr 10 mL, pipet mikro (20 μ L), gelas ukur 50 mL, labu ukur 10 mL, dan 100 mL, Erlenmeyer 50 mL dan 100 mL, gelas piala 50 mL dan 100 mL, pengaduk kaca, corong gelas, botol gelas kecil, bejana (*chamber*) ukuran 10 \times 5 \times 15 cm, neraca analitik merk pioner, dan *densitometric-scanner*.

3.2.2 Bahan

Bahan yang dipergunakan dalam penelitian ini terdiri atas: daun kopi Arabika dan Robusta usia muda diperoleh dari PUSLIT KOKA, standar kafein (Merck), metanol p.a (Merck), kloroform p.a (Merck), akuades, tisu, kertas saring, aluminium *foil*, plastik, dan plat KLT silika gel F₂₅₄ (Merck).

3.3 Diagram Alir

Tahapan penelitian yang akan dilakukan secara umum digambarkan pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Diagram alir penelitian

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Preparasi Sampel

Daun kopi Arabika dan Robusta dipetik pada usia muda berumur ± 7 hari, selanjutnya dikeringkan selama 4 hari pada suhu kamar. Daun yang telah kering digiling halus hingga lolos ayakan 100 mesh. Daun halus ditimbang masing-masing ditimbang 1 gram dilakukan secara triplo. Sampel daun kopi Arabika diberi kode Sa₁, Sa₂, dan Sa₃. Sedangkan untuk kopi Robusta Sr₁, Sr₂, dan Sr₃ untuk digunakan pada analisis selanjutnya.

3.4.2 Ekstraksi Sampel

3.4.2.1 Maserasi

Sebanyak 1 gram daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) dan daun kopi Arabika (*Coffea arabica*) yang sudah dihaluskan masing-masing ditempatkan dalam beaker glass 100 mL kemudian ditambahkan 50 mL kloroform p.a dan ditutup dengan aluminium foil. Selanjutnya campuran tersebut didiamkan selama 24 jam. Setelah 24 jam, larutan disaring dengan kertas saring Whatman PTFE 0,45 μm . Ekstraksi maserasi dilakukan secara triplo (Firmansyah, Tanpa Tahun).

3.4.2.2 Sonikasi

Sebanyak 1 gram daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) dan daun kopi Arabika (*Coffea arabica*) yang sudah dihaluskan masing-masing ditempatkan dalam beaker glass 100 mL dan ditambahkan 50 mL kloroform p.a kemudian ditutup dengan aluminium foil lalu dimasukkan dalam sonikator selama 15 menit. Selanjutnya didiamkan selama 30 menit dan disaring dengan kertas Whatman PTFE 0,45 μm . Ekstraksi sonikasi dilakukan secara triplo (Klen dan Vodopivec, 2012).

3.4.3 Pembuatan Larutan Standar

Sebanyak 0,025 gram standart kafein dilarutkan dalam labu ukur 25 mL dan diencerkan dengan kloroform sampai tanda batas.

Larutan induk 1000 ppm diambil 2,5 mL, dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL diencerkan dengan metanol hingga garis tanda dan dihomogenkan. Larutan standar kafein 100 ppm diambil 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5; 4; 4,5; dan 5 mL secara berturut-turut dan masing-masing dimasukkan dalam labu ukur 25 mL dan diencerkan dengan kloroform sampai tanda batas untuk memperoleh variasi konsentrasi larutan standar yang diinginkan berturut-turut yaitu 2; 4; 6; 8; 10; 12; 14; 16; 18; 20 ppm.

3.4.4 Penentuan kadar air

Sampel serbuk daun kopi arabika dan robusta masing-masing sebanyak 1 gram dikeringkan di dalam oven bersuhu 105 °C sampai bobot konstan. Setelah itu didinginkan dalam desikator dan ditimbang (AOAC, 1995)

3.4.5 Uji kualitatif Kafein Metode Parry

Larutan standar kafein 20 ppm dan masing-masing ekstrak sampel daun kopi arabika dan robusta ditambahkan reagen parry. Larutan berwarna biru tua/hijau menyatakan terdapat kafein (Depkes, 1995).

3.4.6 Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum (*Scanning*)

Larutan standar kafein dengan konsentrasi berbeda yaitu 5 ppm, 10 ppm dan 20 ppm dipipet dimasukkan dalam kuvet dan dilakukan *scanning* pada rentang panjang gelombang 200 - 300 nm.

3.4.7 Optimasi Komposisi Eluen

Larutan standar kafein 100 ppm ditotolkan sebanyak 20 µL pada plat KLT silika gel F₂₅₄ yang sudah diaktivasi dengan ukuran lebar 3 cm dan paanjang 10 cm,

menggunakan pipet mikro dengan jarak 1 cm dari bawah plat, jarak masing-masing titik adalah 1 cm. Plat KLT dielusi menggunakan campuran kloroform : metanol dengan perbandingan volume 2:1; 3:1; 9:1 dan campuran etil asetat : metanol dengan perbandingan volume 2:1; 3:1; dan 4:1 dalam bejana (*chamber*). Eluen didiamkan hingga berjalan melewati tanda batas 1 cm dari atas panjang plat. Plat diangkat dan diangin-anginkan. Plat disinari menggunakan sinar UV dan Densitometer untuk melihat spot yang dihasilkan. Noda hasil pengukuran diukur nilai Rfnya (*Retention Factor*), dipilih komposisi eluen dengan nilai Rf 0,20-0,80, dan standart deviasi paling kecil.

3.4.8 Pembuatan Kurva Kalibrasi

Larutan standar kafein dengan konsentrasi 2 ppm; 4 ppm; 6 ppm; 8 ppm; 10 ppm; 12 ppm; 14 ppm; 16 ppm; 18 ppm; dan 20 ppm dibaca absorbansinya menggunakan densitometer pada rentang panjang gelombang maksimum. Hasil absorbansi kemudian dibuat kurva kalibrasi hubungan antara luas area (AU) vs massa (ng) dengan persamaan garis linier $y = mx + C$. Koefisien y pada persamaan garis menyatakan nilai luas area (AU), sedangkan koefisien x menyatakan besarnya massa (ng).

3.4.9 Pemisahan Kafein dari Ekstrak Daun Kopi Arabika dan Robusta

Larutan standar kafein 20 ppm dan semua sampel masing-masing ditotolkan sebanyak 20 μ L, pada plat KLT silika gel F₂₅₄ yang sudah diaktivasi menggunakan pipet mikro dengan jarak 1 cm dari bawah plat, 1 cm dari samping kanan dan kiri plat, dan jarak masing - masing titik adalah 1 cm. Plat KLT dielusi menggunakan kloroform : metanol dengan perbandingan volume optimum hasil optimasi dalam bejana (*chamber*) dengan ukuran yang sama. Eluen didiamkan hingga berjalan sampai tanda batas. Plat diangkat dan diangin-anginkan. *Densitometric scanning* dilakukan pada panjang gelombang maksimum. Analisis diulang sebanyak tiga kali (triplo) untuk setiap sampel.

3.4.10 Validasi Metode

1. Linearitas

Larutan standar Kafein dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, dan 20 ppm dipersiapkan. Masing-masing diuji menggunakan KLT – densitometri dengan eluen campuran kloroform : metanol yang sudah dioptimalkan pada panjang gelombang maksimal yang telah diukur. Hasil pengukuran yaitu luas area (AU) dan volume larutan standar (mg) dimasukkan (plot) ke dalam sebuah kurva kalibrasi dengan persamaan $y = bx + a$.

Di mana:

a = intersep atau perpotongan sumbu y

b = slope kurva kalibrasi (Harmita, 2004)

2. Batas Deteksi (*Limit of Detection/ LOD*) dan Batas Kuantitasi (*Limit of Quantitation/ LOQ*)

Larutan blanko diukur sebanyak 6 kali, kemudian dihitung simpangan baku hasil blanko. LOD dan LOQ dengan metode statistik dari hasil kurva kalibrasi yang didapat dari pengukuran linearitas. Rumus untuk perhitungannya adalah sebagai berikut :

$$LOD = \frac{3 \frac{Sy}{x}}{b} \quad LOQ = \frac{10 \frac{Sy}{x}}{b}$$

Di mana:

b = *slope* kurva kalibrasi

$\frac{Sy}{x}$ = simpangan baku blanko

$$Sy = \sqrt{\frac{\sum (y_1 - \hat{y}_1)^2}{N - 2}}$$

$$\hat{y}_1 = a + bx$$

N = jumlah pengukuran (sampel)

Kurva kalibrasi linear, diasumsikan bahwa respon instrumen y berhubungan linier dengan konsentrasi x standar untuk rentang yang terbatas konsentrasi. Hal ini dapat dinyatakan dalam persamaan $y = bx + a$ (Harmita, 2004)

3. Keseksamaan (*precision*)

Larutan standart kafein sebanyak 20 μL dengan konsentrasi 6, 10, dan 16 ppm ditotolkan sebanyak 3 kali, masing-masing dengan jarak 1 cm pada pada lempeng KLT silika gel. Selanjutnya dielusi dengan eluen campuran kloroform : methanol yang telah dioptimalkan. Area kafein pada panjang gelombang maksimum yang telah diukur menggunakan densitometer diamati. Pengulangan dilakukan 3 kali untuk masing-masing konsentrasi larutan kafein. Keseksamaan diukur sebagai simpangan baku dan simpangan baku relatif (koefisien variasi) dengan rumus sebagai berikut :

1. Simpangan Baku (SD)

$$SD = \sqrt{\frac{(\sum (x_i - \bar{x})^2)}{n - 1}}$$

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

Di mana:

$x_i = x_1, x_2, \dots, x_n$ hasil pengujian

\bar{x} = nilai rata-rata

n = jumlah pengukuran (sampel)

2. Simpangan Baku Relatif (SBR) Simpangan Baku Relatif (SBR)

Persen simpangan baku relatif (% SBR) ditentukan untuk melihat hasil uji presisi.

$$SBR = \frac{SD}{x} \times 100\%$$

Di mana :

- SD = ialah simpangan baku
x = kadar zat rata-rata
SBR = simpangan baku relatif (Harmita, 2004)

Kriteria %SBR berdasarkan standar AOAC (1993) adalah sangat teliti (%SBR < 1), teliti (%SBR = 1-2), sedang: (%SBR = 2-5), dan tidak teliti (%SBR > 5).

3. Coefficient Variance Horwitz (*CV Horwitz*)

Hubungan antara koefisien rata-rata variasi (CV), dinyatakan sebagai kekuatan 2, dengan konsentrasi rata-rata yang diukur, dinyatakan sebagai pangkat 10,

$$\text{RSD\% Horwitz} = 2^{(1 - 0.5 \log C)}$$

Di mana C, adalah konsentrasi analit dinyatakan sebagai fraksi massa berdimensi (pembilang dan penyebut memiliki satuan yang sama); dan RSD adalah koefisien variasi CV dalam kondisi reproducibility (Riyanto, 2014).

3.4.11 Perhitungan Kadar Kafein dalam Sampel

Data luas area dari pada densitogram yang diperoleh dihitung menggunakan persamaan regresi linier. Hasil yang diperoleh dapat digunakan untuk menghitung massa dalam sampel, konsentrasi kafein, dan massa kafein yang didapatkan, kemudian dihitung kadar kafein dalam bentuk persen dengan rumus :

$$\% \text{ Kadar Kafein} = \frac{\text{Massa Kafein dalam Ekstrak}}{\text{massa sampel}} \times 100\%$$

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Komposisi Eluen Optimum

Tujuan dari penentuan komposisi eluen optimum adalah untuk mendapatkan perbandingan komposisi volume eluen terbaik agar diperoleh hasil pemisahan yang maksimal. Perbandingan komposisi sangat mempengaruhi hasil pemisahan. Sifat kafein yang nonpolar akan lebih cenderung berinteraksi dengan fasa gerak nonpolar, oleh karena itu perbandingan komposisi eluen yang dipilih menggunakan komposisi eluen nonpolar lebih besar yaitu dimana komposisi kloroform dan etil asetat lebih besar, sedangkan komposisi metanol tetap kecil. Komposisi fasa gerak yang lebih besar akan berinteraksi dengan senyawa kafein, sehingga proses pemisahan senyawa kafein pada KLT akan lebih mudah dengan tampak pada bentuk spot pada plat.

Penentuan komposisi eluen optimum dengan cara noda diukur nilai R_f nya (*Retention Factor*), dipilih komposisi eluen dengan nilai R_f 0,20-0,80, dan standart deviasi paling kecil. Perhitungan optimasi komposisi eluen disajikan dalam lampiran C.1.

Tabel 4.1 Hasil optimasi komposisi eluen

Komposisi eluen	R_f	SD	SBR
Kloroform : metanol (3:1)	Tidak terpisah	-	-
Kloroform : metanol (4:1)	Tidak terpisah	-	-
Kloroform : metanol (9:1)	Tidak terpisah	-	-
Etil asetat : metanol (2:1)	0,62	0,017	2,7 %
Etil asetat : metanol (3:1)	0,97	0,001	1 %
Etil asetat : metanol (4:1)	0,88	0.001	1,1 %

Tabel 4.1 menunjukkan hasil optimasi komposisi eluen, campuran antara kloroform : metanol tidak terpisah. Hal ini dikarenakan analit lebih non polar berinteraksi kurang kuat dengan kutub silikas gel dan berinteraksi lebih kuat dengan fasa gerak, sehingga bergerak lebih tinggi pada plat dan tidak menghasilkan spot.

Eluen campuran etil asetat : metanol dengan perbandingan 2 : 1 nilai Rf rata –rata yang diperoleh 0,62, nilai standar deviasi 0.017, dan nilai SBR 2,5%. Etil asetat : metanol dengan perbandingan 3 : 1 nilai Rf rata – rata yang diperoleh 0,97, nilai standar deviasi 0.001, dan nilai SBR 1 %. Etil asetat : metanol dengan perbandingan 4 : 1 nilai Rf rata –rata yang diperoleh 0,88, nilai standar deviasi 0.01, dan nilai SBR 1,1%. Nilai Rf yang dieproleh dari campuran etil asetat : metanol seharusnya semakin besar volume etil asetat nilai Rf yang dihasilkan semakin kecil, karena semakin besar volume etil asetat maka semakin non polar. Hasil eluen optimim yang dipilih adalah campuran etil asetat : metanol 2:1, alasan pemilihan campuran fasa gerak ini dengan diperolehnya nilai Rf terkecil pada campuran etil asetat : metanol yaitu 0,62 dengan nilai SD 0,017 dan nilai SBR 2,5 %, selain itu dihasilkan pemisahan puncak lebih jelas pada gambar densitogram, serta sesuai dengan literatur berdasarkan standar AOAC (1993) yang menjelaskan bahwa apabila % SBR nilainya 1-2 masuk dalam kategori teliti.

4.2 Isolasi Kafein dari Daun Kopi Arabika dan Robusta

4.2.1 Kadar Air Serbuk daun Kopi Arabika dan Robusta

Kadar air merupakan salah satu sifat fisik dari bahan yang menunjukkan banyaknya air yang terkandung di dalam bahan. Penentuan kadar air ini menggunakan prinsip cara kering, yaitu dengan mengeringkan atau menguapkan air pada sampel sehingga diperoleh serbuk kering bebas air. Suhu oven yang digunakan adalah 105⁰C, selama 2 jam. Perhitungan penetapan kadar air disajikan pada lampiran B.1 dan B.2.

Kadar air pada sampel serbuk daun kopi robusta diperoleh sebesar 89%, sedangkan pada sampel serbuk daun kopi arabika sebesar 90%. Artinya, kandungan air yang terdapat pada sampel serbuk daun kopi arabika dan robusta masih cukup tinggi, karena sampel serbuk daun kopi dapat mengikat air secara kuat sulit melepaskan airnya meskipun sudah dipanaskan. Kandungan air pada sampel yang cukup tinggi menunjukkan bahwa serbuk daun kopi Arabika dan Robusta tidak dapat

disimpan dalam waktu yang relatif lama. Kadar air yang terkandung dalam suatu bahan lebih dari 10% maka kestabilan optimum bahan akan tidak tercapai dan pertumbuhan mikrob tidak dapat dikurangi.

4.2.2 Ekstrak Maserasi dan Sonikasi

Daun kopi yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan daun kopi yang masih muda, merujuk pada penelitian yang dilakukan oleh Sinaga (2013) yaitu penelitian penentuan kadar kafein pada daun kopi Arabika dan Robusta berdasarkan umur daun kopi dengan metode spektrofotometri UV-Vis menunjukkan hasil bahwa kandungan kafein pada daun kopi yang muda mengandung lebih banyak kafein. Pemilihan kloroform sebagai pelarut karena sifat kloroform non polar yang dapat mengikat kafein yang bersifat non polar juga, sehingga kafein dapat terpisah. Selain itu, pemilihan pelarut kloroform didasarkan pada literatur yaitu kafein larut dalam kloroform sebesar 13,0% dan 18,2% (Spiller, 1998).

Proses isolasi kafein pada ekstraksi secara maserasi yaitu pelarut akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel. Isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh pelarut dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel, sedangkan isolasi kafein pada ekstraksi secara sonikasi yaitu menggunakan getaran ultrasonik > 20000 Hz dengan prinsip meningkatkan permibelitas dinding sel, menimbulkan gelembung spontan (*cavitation*) sebagai stres dinamik serta menimbulkan fraksi interfase, sehingga dengan adanya getaran tersebut senyawa dapat terpisah.

Hasil yang diperoleh untuk sampel daun kopi robusta dengan ekstraksi maserasi yaitu berupa larutan berwarna coklat tua bening, sedangkan untuk sampel daun kopi arabika diperoleh larutan berwarna hijau tua bening. Hasil ekstraksi sonikasi yang diperoleh untuk sampel daun kopi robusta berupa larutan berwarna coklat tua bening, sedangkan untuk sampel daun kopi arabika diperoleh larutan berwarna hijau tua bening. Hasil filtrat masing-masing ekstrak yang dihasilkan

menunjukkan bahwa semakin banyak senyawa yang diikat, warna filtrat pun semakin pekat.

4.3 Uji Kualitatif Kafein Menggunakan Metode Parry

Analisis kualitatif merupakan suatu proses dalam mengidentifikasi keberadaan suatu senyawa kimia dalam suatu larutan atau sampel yang tidak diketahui.

Hasil yang didapatkan dalam penelitian ini sesuai dengan literatur yaitu jika ditambahkan reagen parry larutan berwarna biru tua atau hijau menyatakan terdapat kafein (DepKes, 1995). Reagen Parry dibuat dengan cara melarutkan Cobalt Klorida (CoCl_2) dengan metanol (CH_3OH) kemudian ditambahkan Amonium Hidroksida (NH_4OH). Hasil uji kualitatif dapat dilihat pada gambar 4.1.



Gambar 4.1. Uji Kualitatif

Gambar 4.1 menunjukkan bahwa 2 sampel yang diuji menggunakan reagen parry menghasilkan warna hijau tidak terlalu pekat sedangkan larutan standar kafein berwarna biru bening. Konsentrasi larutan standar kafein dan sampel masing-masing adalah 20 ppm. Perbedaan warna ini disebabkan karena pada larutan standar kafein hanya mengandung kafein, sedangkan pada sampel terdapat senyawa lain selain kafein. Hal tersebut tetap menunjukkan adanya kafein dalam sampel dan larutan standar, karena sesuai pada literatur (DepKes, 1995) bahwa jika larutan mengandung

kafein berwarna biru tua atau hijau, sehingga pada pengujian ini semua sampel positif mengandung kafein.

4.4 Pemisahan dengan KLT- Densitometri

4.4.1 Panjang Gelombang Maksimum

Pemilihan panjang gelombang maksimum sangat menentukan dalam penelitian, karena pada panjang gelombang maksimum memiliki kepekaan maksimal dan pada panjang gelombang maksimum tersebut perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi larutan adalah yang paling besar. Daerah sekitar panjang gelombang maksimal bentuk kurva absorbansi linier, sehingga memenuhi hukum lambert-beer jika dilakukan pengukuran ulang akan menghasilkan hasil yang cukup konstan.



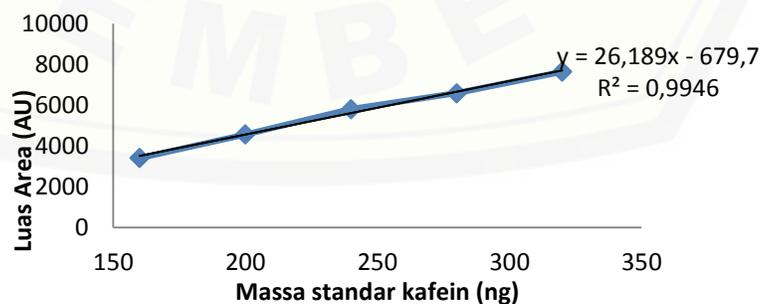
Gambar 4.2 Kurva panjang gelombang maksimum

Gambar 4.2 menunjukkan panjang gelombang maksimum larutan standar kafein dengan masing – masing konsentrasi 5 ppm, 10 ppm dan 20 ppm. Scanning dilakukan pada rentang panjang gelombang 200-300 nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Pemilihan rentang panjang gelombang 200-300 nm karena panjang gelombang maksimum kafein memiliki serapan cahaya di daerah ultraviolet pada 200-300 nm. Panjang gelombang maksimum yang diperoleh dari hasil scanning adalah 276 nm, artinya panjang gelombang larutan standart kafein memiliki serapan

maksimum pada panjang gelombang 276 nm. Bentuk struktur molekul kafein memiliki ikatan rangkap dua, di mana bagian tersebut dapat bertanggung jawab menyerap cahaya yang disebut dengan kromofor. Semakin panjang ikatan rangkap dua atau rangkap tiga terkonjugasi di dalam molekul, molekul tersebut akan lebih mudah menyerap cahaya (Cairns, 2008). Selain itu, Gugus fungsi seperti, $-O$, $-NH_2$ dan $-OCH_3$ yang disebut dengan gugus aoksokrom yang memberikan transisi $n \rightarrow \pi^*$. Gugus aoksokrom adalah gugus yang tidak dapat menyerap radiasi ultraviolet-sinar tampak, tetapi apabila gugus ini terikat pada gugus kromofor mengakibatkan pergeseran panjang gelombang ke arah yang lebih besar atau pergeseran batokromik.

4.4.2 Kurva Kalibrasi

Panjang gelombang maksimum yang diperoleh selanjtnya digunakan untuk pengukuran kurva kalibrasi. Tujuan kalibrasi adalah untuk mencapai ketertelusuran pengukuran. Gambar 4.3 menunjukkan bahwa kurva kalibrasi menghasilkan garis linier dengan 5 titik. Pembuatan kurva kalibrasi yang diawali dengan pembuatan larutan standart kafein 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm, 14 ppm, 16 ppm, 18 ppm dan 20 ppm dengan massa masing-masing 40 ng, 80 ng, 120 ng, 160 ng, 200 ng, 240 ng, 280 ng, 320 ng, 360 ng, dan 400 ng. Masing-masing larutan standart ditotolkan pada plat KLT silika gel F₂₅₄ sebanyak 20 μ L dan dielusi dengan eluen optimal yaitu campuran etil asetat : metanol (2:1) sampai tanda batas, kemudian dianalisis menggunakan densitometer.



Gambar 4.3 Kurva Kalibrasi

Berdasarkan hasil perhitungan statistik regresi linear diperoleh persamaan garis kurva kalibrasi $y = 26,18x - 679,7$ di mana x adalah massa kafein dan y adalah luas area yang diperoleh dari densitometri. Gambar kurva kalibrasi dari 10 titik yang diuji hanya diambil daerah tengah sebanyak 5 titik, karena pada 5 titik tersebut yang menghasilkan garis linier, selain itu pada daerah yang menghasilkan garis linier tersebut merupakan daerah uji. Gambar kurva kalibrasi dapat dilihat pada gambar 4.3. Kurva kalibrasi standart kafein memberikan persamaan garis $y = 26.18x - 679.7$. Persamaan regresi liniernya menunjukkan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,994, hasil yang diperoleh menunjukkan perbandingan antara luas area (AU) dengan Massa analit (ng) berbanding lurus. Koefisien determinasi merupakan rasio dari variasi yang ditunjukkan terhadap variasi keseluruhan. Nilai rasio ini selalu tidak negatif sehingga ditandai dengan R^2 . Nilai koefisien korelasi (r) yang diperoleh sebesar 0,9973. Koefisien korelasi merupakan nilai yang menunjukkan kuat tidaknya hubungan linier antar dua variabel, nilai r yang mendekati -1 atau +1 menunjukkan hubungan yang kuat antara dua variabel. Diperolehnya garis lurus pada kurva kalibrasi, artinya hukum Lambert- Beer terpenuhi.

4.5 Kadar Kafein dalam sampel

Hasil analisis kafein pada masing-masing sampel diperoleh hasil yang berbeda-beda dapat dilihat pada tabel 4.2. Kadar kafein rata-rata pada daun kopi robusta dengan ekstraksi sonikasi sebesar 0,019%. Kadar kafein pada daun kopi arabika dengan ekstraksi sonikasi sebesar 0,025%. Hasil ekstraksi sonikasi sampel daun kopi robusta dan arabika dapat dilihat bahwa kadar kafein lebih besar terkandung pada sampel daun kopi arabika. Hasil analisis kafein pada sampel daun kopi robusta dengan ekstraksi maserasi sebesar 0,058%, sedangkan sampel arabika dengan ekstraksi maserasi sebesar 0,022%. Hasil ekstraksi maserasi didapat kadar kafein lebih besar pada sampel daun kopi robusta. Keempat hasil masing-masing ekstraksi tidak jauh berbeda, sehingga tidak dapat ditentukan metode ekstraksi yang paling baik digunakan dalam penelitian ini.

Tabel 4.2 Kadar kafein dalam sampel

sampel daun kopi	Ekstraksi Sonikasi	Ekstraksi maserasi
Arabika	0,025%	0,022%
Robusta	0,019%	0,058%

Tabel 4.2 menunjukkan bahwa Kadar kafein pada sampel daun kopi arabika baik dengan menggunakan ekstraksi sonikasi maupun maserasi hasilnya tidak jauh berbeda, sedangkan kadar sampel pada daun kopi robusta memiliki hasil selisihnya cukup jauh. Hal ini disebabkan oleh luas area yang diperoleh dari data densitometer. Hasil dari literatur (Sinaga, 2013) kadar kafein pada sampel daun kopi arabika sebesar 0.6659, sedangkan pada daun kopi Robusta didapatkan kadar kafein 0.6921% dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Ekstraksi yang paling baik antara sonikasi dan maserasi dalam penelitian ini tidak dapat ditarik kesimpulan, karena hasil yang diperoleh tidak menunjukkan hasil ekstraksi yang paling dominan. Hasil ekstraksi sonikasi penelitian ini pada sampel daun kopi robusta lebih kecil dari hasil ekstraksi maserasi. Hal ini dikarenakan proses ekstraksi sonikasi yang dilakukan kurang optimum dari segi waktu lamanya ekstraksi dan suhu pada sonikator, karena waktu sonikasi juga dapat mempengaruhi hasil ekstraksi. Semakin lama waktu yang digunakan dalam proses sonikasi, rendemen ekstraksi juga akan semakin meningkat, karena proses perpindahan komponen dari dalam sel kepelarut (difusi) akan lebih sering terjadi.

4.6 Validitas Metode

Validasi metode analisis bertujuan untuk memastikan dan mengkonfirmasi bahwa metode analisis tersebut sudah sesuai untuk peruntukannya. Validasi biasanya digunakan untuk metode analisa yang barudibuat dan dikembangkan. Validasi metode sangat diperlukan karena beberapa alasan yaitu validasi metode merupakan elemen penting dari kontrol kualitas, validasi membantu memberikan jaminan bahwa

pengukuran akan dapat diandalkan. Dalam beberapa bidang, validasi metode adalah persyaratan peraturan (Riyanto, 2014). Validasi metode analisis KLT-Densitometri pada analisis kadar kafein sangat perlu dilakukan untuk memastikan bahwa metode tersebut dapat diterapkan sebagai metode analisis kadar kafein dalam daun kopi arabika dan robusta. Parameter validasi metode analisis yang digunakan dalam penelitian ini antara lain adalah linieritas, LOD (*limit of detection*), LOQ (*Limit of Quantitation*), keseksamaan (*precision*), dan kecermatan (*accuracy*).

4.6.1 Linieritas

Linieritas adalah kemampuan suatu metode analisis untuk mendapatkan hasil yang proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel pada kisaran yang ada (Wenclawiak, 2004). Linieritas metode dapat menggambarkan ketelitian pengerjaan analisis suatu metode yang ditunjukkan oleh nilai koefisien determinasi sebesar R^2 0,997 (Chan, 2004). Uji linearitas bertujuan untuk mengetahui apakah dua variabel mempunyai hubungan yang linear atau tidak secara signifikan. Grafik kurva kalibrasi daerah linier dapat dilihat pada gambar 4.3.

Penentuan kurva kalibrasi menggunakan 10 larutan standar dengan konsentrasi yang berbeda. Analisis menggunakan TLC *Scanner* dilakukan untuk memperoleh area standar kafein, dimana TLC *Scanner* berfungsi untuk mengukur tingkat intensitas warna yang terdapat pada plat KLT, sehingga massa analit dapat diukur. Data yang diperoleh kemudian diplotkan dalam kurva kalibrasi dengan massa kafein (ng) sebagai sumbu x dan area yang didapat pada analisis menggunakan TLC pada densitogram kafein (AU) sebagai sumbu y.

Parameter hubungan kelinieran yang digunakanyaitu koefisien korelasi (r) dan pada analisis regresi linier $y = bx + a$ (b adalah slope, a adalah intersep, x adalah konsentrasi analit dan y adalah respon instrumen). Koefisien determinasi adalah rasio dari variasi yang dijelaskan terhadap variasi keseluruhan. Nilai rasio ini selalu tidak negatif sehingga ditandai dengan R^2 , nilai R^2 yang diperoleh 0,994. Koefisien korelasi adalah suatu ukuran hubungan linier antara dua set data dan ditandai dengan r .

Hubungan linier yang ideal dicapai jika nilai $a = 0$ dan $r = +1$ atau -1 merupakan hubungan yang sempurna. Tanda $+$ dan $-$ bergantung pada arah garis. Tanda positif ($+$) menunjukkan korelasi positif yang ditandai dengan arah garis yang miring ke kanan, sedangkan tanda negatif ($-$) menunjukkan korelasi negatif yang ditandai dengan arah garis yang miring ke kiri. Berdasarkan Gambar 4.3 dapat diketahui bahwa hasil uji linieritas kafein menunjukkan adanya hubungan linier antara kadar kafein dengan area yang terbaca pada densitometer dengan nilai korelasi 0,9973 hasil ini dapat dikatakan memenuhi syarat linieritas.

4.6.2 Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ)

Batas deteksi adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blangko. Batas deteksi merupakan parameter uji batas. Batas kuantitasi merupakan parameter pada analisis renik dan diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama (Riyanto, 2014). Penentuan batas deteksi dan batas kuantitasi menggunakan analisis data persamaan kurva kalibrasi daerah linier. Metode yang digunakan adalah metode penggunaan simpangan baku dari respon berdasarkan kemiringan kurva kalibrasi (Harmita, 2004). Hasil uji linieritas, data yang digunakan adalah *slope* persamaan regresi yang dihasilkan. Cara perhitungan dan pengolahan data telah disajikan dalam lampiran D.1 sedangkan nilai batas deteksi dan batas kuantitasi dari metode analisis KLT- Densitometri dapat dilihat pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Data hasil perhitungan batas deteksi dan batas kuantitasi

Parameter	Dalam ng	Dalam ppm
Batas Deteksi	16,11	0,8055
Batas Kuantitasi	53,73	2,6865

Tabel 4.3 menunjukkan bahwa dari hasil yang diperoleh nilai limit deteksi pada penentuan kadar kafein dalam daun kopi dengan KLT-Densitometri sebesar

16,11 ng. Nilai ini menunjukkan jumlah analit terkecil yang masih dapat terukur oleh densitometer, karena batas terendah kurva kalibrasi daerah linier dan massa kafein dalam sampel daun kopi adalah 160 ng, sehingga kadar kafein dengan densitometri masih dapat terbaca dengan limit 16,11 ng. Hasil limit kuantitasi yang diperoleh adalah sebesar 53,73 ng. Nilai ini merupakan konsentrasi analit terendah terkuantitasi yang menunjukkan kuantitas terkecil dari analit yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama.

4.6.3 Keseksamaan (*precision*)

Presisi adalah ukuran kedekatan hasil analisis diperoleh dari serangkaian pengukuran ulangan dari ukuran yang sama. Hal ini mencerminkan kesalahan acak yang terjadi dalam sebuah metode. Presisi biasanya diukur sebagai koefisien variasi atau deviasi standar relatif dari hasil analisis yang diperoleh dari independen disiapkan standar kontrol kualitas. Presisi tergantung konsentrasi dan harus diukur pada konsentrasi yang berbeda dalam rentang kerja, biasanya di bawah, pertengahan dan bagian atas (Riyanto, 2014).

Uji presisi dalam penelitian ini dilakukan untuk menilai konsistensi hasil pemeriksaan dengan menilai kedekatan hasil beberapa pengukuran pada bahan uji yang sama. Hasil analisis yang diperoleh dengan cara melakukan 6 kali pengukuran pada larutan standart kafein dengan konsentrasi dan pada kondisi yang sama. Ketelitian diukur dengan menghitung simpangan baku relatif (SBR) dari enam kali pengukuran ulang. Masing-masing 6 replikasi larutan standart kafein yaitu 6 ppm, 10 ppm dan 16 ppm. Data area hasil pengukuran digunakan untuk menghitung nilai dari simpangan baku dan simpangan baku relatif dengan rumus yang telah terlampir pada lampiran E.3. Hasil perhitungan simpangan baku dan simpangan baku relatif dapat dilihat pada tabel 4.4.

Tabel 4.4 Hasil Perhitungan Presisi Larutan Standar Kafein

Konsentrasi	Simpangan Deviasi	Simpangan Baku Relatif	% Horwitz
6 ppm	1771,103	6,5%	7,33 %
10 ppm	167,3453	3%	9,6%
16 ppm	70331,12	3%	8,94%

Tabel 4.4 merupakan data uji presisi larutan standar kafein dengan 3 variasi konsentrasi standar. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh nilai %SBR untuk uji presisi 6 ppm 6,5%, 10 ppm 3%, dan 16 ppm 3%. Nilai tersebut memenuhi persyaratan AOAC = $2/3$ CV masing-masing adalah 7,33%, 9,6%, dan 8,94%. Presisi suatu metode dikatakan memenuhi syarat jika nilai %SBR lebih kecil dari $2/3$ CV. Hal ini menginformasikan bahwa sistem operasional alat dan analisis memiliki nilai presisi yang baik terhadap metode dengan respon yang relative konsisten, sehingga hasil pengukuran memiliki nilai presisi yang memenuhi persyaratan.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang didapatkan dari keseluruhan penelitian ini sebagai berikut :

1. Hasil isolasi kafein menggunakan ekstraksi sonikasi dan maserasi tidak berbeda jauh, sehingga tidak bisa ditentukan metode ekstraksi paling baik.
2. Komposisi eluen yang menghasilkan pemisahan paling baik dari penelitian ini adalah campuran komposisi eluen antara etil asetat : metanol dengan perbandingan 2 : 1 dengan R_f rata-rata $\pm 0,6$.
3. Kadar sampel pada daun kopi robusta dengan ekstraksi sonikasi rata-rata sebesar 0,019%, sedangkan dengan ekstraksi maserasi rata-rata sebesar 0,058%. Kadar sampel pada daun kopi arabika dengan ekstraksi sonikasi rata-rata sebesar 0,025%, sedangkan dengan ekstraksi maserasi rata-rata sebesar 0,022%.
4. Validasi metode yang digunakan memberikan hasil yang linier dengan nilai koefisien korelasinya sebesar 0,9973. Nilai LOD dan LOQ masing-masing adalah 16,11 ng dan 53,73 ng. Uji presisi masing-masing konsentrasi 6, 10 dan 16 ppm diperoleh nilai SBR sebesar 6,5%, 3% dan 3% .

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, maka saran yang dapat disampaikan dalam penelitian ini adalah perlunya dikembangkan analisis kafein menggunakan metode KLT- Densitometri ini dengan menambah validasi metode seperti ketahanan dan ketangguhan metode uji dan estimasi ketidakpastian pengukuran.

DAFTAR PUSTAKA

- AAK. 1988. *Budidaya Tanaman Kopi*. Yogyakarta : Kanisius.
- Abraham. 2010. *Penuntun Praktikum Kimia Organik II*. Kendari : UNHALU
- AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis of The Association of Analytical Chemists*. Washington D.C.
- Armita, 1980 . “*Penentuan kadar kofeina pada pucuk, daun tua dan ranting tanaman (the camellia Sanensis Linn)*”. skripsi. Padang : Universitas Andalas.
- Ashley, Andrews, Cavazosa & Demange. 2001. Ultrasonic extraction as a sample preparation technique for elemental analysis by atomic spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. Vol. 16 (6): 1147-1153.
- Bhara L. A. Makna., 2009. “*Pengaruh Pemberian Kopi Dosis Bertingkat Per Oral 30 Hari terhadap Gambaran Histology Hepar Tikus Wistar*”. Skripsi. Semarang : UNDIP. Hal. 15-17.
- Camag. 1999. *Welcome to the CAMAG Wincats tutorial: Wincats planar chromatography*. Switzerland: CAMAG.
- Cairns, D. 2008. *Essential of Pharmaceutical Chemistry*. Third edition. London: Pharmaceutical Press.
- Cattrall, R.W. 1997. *Chemical Sensors*. New York : Oxford University Press.
- Day, R. A. dan Underwood, A. L. 2002. *Analisis Kimia Kuantitatif*. Jakarta: Erlangga.
- Depkes RI. 1987. *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Jakarta : Depkes RI
- Depkes RI. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Jakarta : Depkes RI
- Firmansyah, A. P., Sjam, S., dan Dewi, V. S. Tanpa Tahun. “*Ekstrak Biji Kopi sebagai Atraktan Imago Penggerak Buah Kakao (Cocopomorpha cramerella Snellen)*”. Tidak Diterbitkan. Tesis. Makasar. Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin.
- Gandjar, I.G. dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar

- Hajiyaty, S. 1999. *Kopi budidaya dan Prenanganan Lepas Panen*. Penerbit : PT. Swadaya . Bogor.
- Hamirta. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya, *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Vol. 1(3): 117 – 135.
- Harding, P. 2009. Coffee [Coffee Arabica L. (Arabica coffee); Coffea canephora Pierre ex Froehner (Robusta coffee); Coffea liberica Bull ex Hiern. (Liberica coffee); Coffea excelsa Chev. (Excelsa coffee)]. *PNG Coffee Research Institute*. Vol. 7(1) :1-9
- Hasbi, H. 2009. <http://budidayatanamantahunan.blogspot.com/2009/12/budidaya-kopi.html>. diakses tanggal 20 Mei 2014.
- Hendayana, S. 2006, *Kimia Pemisahan Metode Kromatografi dan Elektrolisis Modern*. Bandung: PT. Remaja Rosdakarya
- Klen, T. J., and Vodopivec, B. M. 2012. Optimization of Olive Oil Phenol Extraction Conditions using a High-power probe Ultrasonication. *Food Chemistry*. Vol. 134 (4): 2481-2488.
- Khopkar, S. M. 2010. *Konsep Dasar Kimia Analisis*. Jakarta: UI Press.
- Kusmardiyani, S. dan A. Nawawi. 1992. *Kimia Bahan Alam*. Jakarta: Universitas Bidang Ilmu Hayati.
- Meloan, CE. 1999. *Chemical Separation*. New York: J Willey
- Miessler, G. L., and Tarr, D. A. 1991. *Inorganic Chemistry*. Prentice-Hall Inc. London
- Miller, J.C. dan Miller, J.N. 1991. *Statistika untuk Kimia Analitik*. Diterjemahkan oleh Suroso. Bandung: ITB
- Mulja, M dan Surahman. 1995. *Analisis instrumental*. Surabaya: Airlangga University Perss.
- Mumin A, Kazi F A, Zainal A, Zakir H. 2006. Determination and Characterization of Caffeine in Tea, Coffee, and Soft Drink by Solid Phase Extraction and High Performance Liquid Chromatography (SPE – HPLC). *Malaysian Journal of Chemistry*, Vol. 8(1): 45-51.
- Najiyati, S. dan Danarti, 1997. *Budidaya Kopi dan Pengolahan Pasca Panen*. Jakarta : Penebar Swadaya.

- Nawrot, P., S. Jordan, J. Eastwood, J. Rothstein, A. Hugenholtz, and M. Feeley. 2001. Effects of Caffeine on Human Health. *Food Additives and Contaminants*. Vol. 20 (1) : 1-30.
- Oktavia J. D. 2011. *Pengoptimuman Ekstraksi Flavonoid Daun Salam (Syzygium polyanthum) dan Analisis Sidik Jari Dengan Kromatografi Lapis Tipis*. Skripsi. Tidak dipublikasikan. FMIPA Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Pavia, D. L., Lampman, G., M., dan Kriz, G. S. 1995. *Organic Laboratory Techniques, 2nd Edition*. Tokyo: Saunders College Publishing.
- Putri, W. dan Lantura, A. L. 2013. *Kandungan Kafein dan Polifenol Pada Biji Kopi Arabika (Coffea Arabica L.) dari Kabupaten Enrekang*. *Jurnal Alam dan Lingkungan*. FMIPA Universitas Hasanuddin. Makasar. Vol. 4 (7) :1-7
- Rahardjo, Pudji. 2012. *Panduan Budidaya dan Pengolahan Kopi Arabika dan Robusta*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Ratna, S. 2010. *Pemisahan seyawa organik*. Bandung : ITB press.
- Ridwansyah. 2003. “*Pengolahan Kopi*”. *Skripsi*. Fakultas Pertanian UNSU. Medan
- Riyanto. 2014. *Validasi & Verifikasi Metode Uji: Sesuai dengan ISO/IEC 17025 Laboratorium Pengujian dan Kalibrasi*. Yogyakarta: Deepublish
- Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar.
- Rohman, A. 2009. *Kromatografi untuk Analisis Obat*. Yogyakarta : Graha Ilmu
- Sidik & H. Mudahar. 2000. *Ekstraksi Tumbuhan Obat, Metode dan Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Mutu Produksinya*. Jakarta: UNTAG.
- Sihombing, TP. 2011. *Kopi Arabika(Coffea arabica)*. Bogor : IPB press.
- Siswoputranto, P.S., 1992. *Kopi Internasional dan Indonesia*. Kanisius, Yogyakarta.
- Sherma, J.dan Fried, B. 2003. *Handbook of Thin Layer Chromatography*. New York : Marcel Dekker.
- Spillane, James J. 1990. *Komoditi Kopi dan Peranannya Dalam Perekonomian Indonesia*. Yogyakarta : Kanisius.
- Stahl, E.1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*, Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung : ITB.

Sutanto, L. dan Sutanto, D. B. 2005. *Menopause wanita dan gizi*. Jakarta : Fakultas Kedokteran UI.

Syarief, R. dan Hadid. 1993. *Teknologi Penyimpanan Pangan*. Jakarta : Arcan.

Utami, Nurul. 2008. "*Identifikasi Senyawa Alkohol dan Heksana Daun*". *Skripsi*. Lampung : FMIPA Universitas Lampung

Velickovic, D.T. Nikolova, M.T., Ivancheva, S.V., Stojanovic, J.B. & Veljkovic, V.B. 2007. Extraction of flavonoids from garden (*Salvia officinalis* L.) and glutinous (*Salvia glutinosa* L.) sage by ultrasonic and classical maceration. *J. Serb. Chem. Soc.* Vol 72 (1): 73-80.

Ware, Krista. 1995. *Caffeine and Pregnancy Outcome*. University Of California Los Angeles.

Winarno, F.G. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta : Gramedia Pustaka Utama.

LAMPIRAN A. PERHITUNGAN DAN PROSEDUR PEMBUATAN LARUTAN STANDAR KAFEIN

A.1. Pembuatan Larutan Standar Kafein

A.1.1 Pembuatan Larutan Standar Kafein 1000 ppm

$$ppm = \frac{50mg}{0,05L} = 1000 \frac{mg}{L} = 1000 ppm$$

Standar kafein ditimbang tepat 50 mg dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL dan ditambahkan Kloroform p.a sampai tanda batas.

A.1.2 Pembuatan Larutan Standar Kafein 100 ppm

Larutan standar kafein 1000 ppm dipipet menggunakan pipet mohr 5 mL sebanyak 2.5 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dan ditambahkan Kloroform p.a sampai tanda batas.

A.1.3 Pembuatan Larutan Standar Kafein 20 ppm

Larutan standar kafein 100 ppm dipipet menggunakan pipet mohr 10 mL sebanyak 2 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan Kloroform p.a sampai tanda batas.

A.1.4 Pembuatan Larutan Standar Kafein 18 ppm

Larutan standar kafein 100 ppm dipipet menggunakan pipet mohr 10 mL sebanyak 1,8 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan Kloroform p.a sampai tanda batas.

A.1.5 Pembuatan Larutan Standar Kafein 16 ppm

Larutan standar kafein 100 ppm dipipet menggunakan pipet mohr 10 mL sebanyak 1,6 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan Kloroform p.a sampai tanda batas.

A.1.6 Pembuatan Larutan Standar Kafein 14 ppm

Larutan standar kafein 100 ppm dipipet menggunakan pipet mohr 10 mL sebanyak 1,4 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan Kloroform p.a sampai tanda batas.

A.1.7 Pembuatan Larutan Standar Kafein 12 ppm

Larutan standar kafein 100 ppm dipipet menggunakan pipet mohr 10 mL sebanyak 1,2 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan Kloroform p.a sampai tanda batas.

A.1.8 Pembuatan Larutan Standar Kafein 10 ppm

Larutan standar kafein 100 ppm dipipet menggunakan pipet mohr 10 mL sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan Kloroform p.a sampai tanda batas.

A.1.9 Pembuatan Larutan Standar Kafein 8 ppm

Larutan standar kafein 100 ppm dipipet menggunakan pipet mohr 10 mL sebanyak 0,8 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan Kloroform p.a sampai tanda batas.

A.1.10 Pembuatan Larutan Standar Kafein 6 ppm

Larutan standar kafein 100 ppm dipipet menggunakan pipet mohr 10 mL sebanyak 0,6 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan Kloroform p.a sampai tanda batas.

A.1.11 Pembuatan Larutan Standar Kafein 4 ppm

Larutan standar kafein 100 ppm dipipet menggunakan pipet mohr 10 mL sebanyak 0,4 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan Kloroform p.a sampai tanda batas.

A.1.12 Pembuatan Larutan Standar Kafein 2 ppm

Larutan standar kafein 100 ppm dipipet menggunakan pipet mohr 10 mL sebanyak 0,2 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan Kloroform p.a sampai tanda batas.

LAMPIRAN B. PERHITUNGAN KADAR AIR**B.1. Perhitungan kadar air sampel daun kopi Robusta**

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{(\text{berat awal} - \text{berat akhir})}{\text{berat awal}} \times 100\%$$

$$\text{Kadar air rata-rata (\%)} = \frac{\sum \text{kadar air}}{\text{jumlah data}}$$

Berat Awal (gram)	Berat akhir (gram)	Kadar air (%)	
1,004	0,133	86,7	
1,000	0,094	90,6	
1,001	0,080	92,0	
Kadar air rata-rata		89%	SD = 11,70

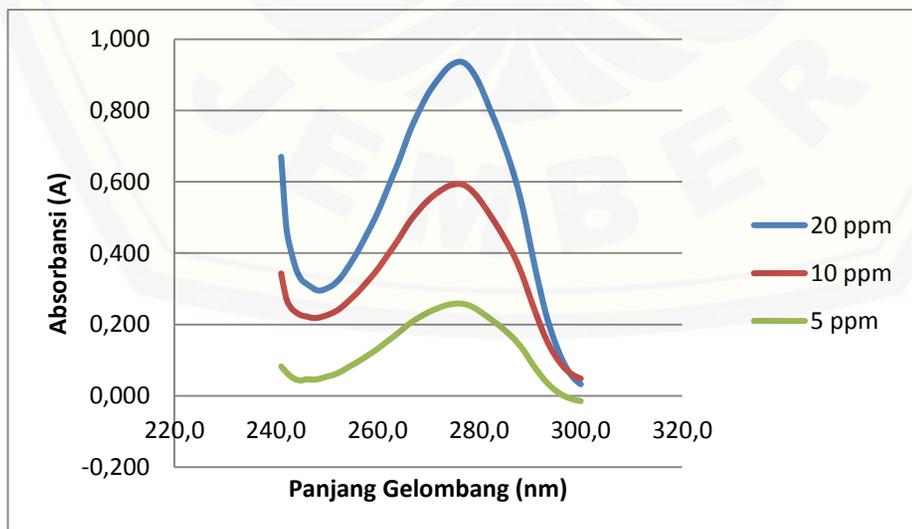
B.2. Perhitungan kadar air sampel daun kopi Arabika

Berat Awal (gram)	Berat akhir (gram)	Kadar air (%)	
1,009	0,109	89,0	
1,005	0,101	89,0	
1,003	0,102	92,0	
Kadar air rata-rata		90%	SD = 11,61

**LAMPIRAN C. DATA PENENTUAN PANJANG GELOMBANG
MAKSIMUM**

λ (nm)	20 ppm	10 ppm	5 ppm
300.0	0.033	0.048	-0.015
299.0	0.044	0.054	-0.012
298.0	0.061	0.063	-0.008
297.0	0.083	0.075	-0.003
296.0	0.112	0.091	0.005
295.0	0.148	0.112	0.015
294.0	0.189	0.136	0.027
293.0	0.238	0.165	0.042
292.0	0.297	0.200	0.060
291.0	0.360	0.237	0.079
290.0	0.429	0.277	0.100
289.0	0.499	0.318	0.122
288.0	0.561	0.356	0.141
287.0	0.613	0.388	0.158
286.0	0.658	0.416	0.172
285.0	0.700	0.441	0.185
284.0	0.739	0.465	0.196
283.0	0.775	0.488	0.207
282.0	0.808	0.510	0.218
281.0	0.843	0.531	0.228
280.0	0.876	0.552	0.238
279.0	0.902	0.569	0.247
278.0	0.922	0.582	0.254
277.0	0.934	0.591	0.258
276.0	0.937	0.594	0.259
275.0	0.932	0.593	0.258
274.0	0.923	0.589	0.256
273.0	0.908	0.581	0.252
272.0	0.889	0.572	0.247
271.0	0.870	0.561	0.241
270.0	0.849	0.549	0.235
269.0	0.823	0.535	0.227
268.0	0.794	0.519	0.219
267.0	0.764	0.502	0.210
266.0	0.729	0.482	0.199

265.0	0.690	0.459	0.188
264.0	0.652	0.436	0.176
263.0	0.617	0.415	0.165
262.0	0.582	0.395	0.154
261.0	0.547	0.375	0.143
260.0	0.514	0.355	0.132
259.0	0.484	0.337	0.122
258.0	0.457	0.321	0.113
257.0	0.429	0.305	0.103
256.0	0.403	0.289	0.094
255.0	0.379	0.275	0.086
254.0	0.357	0.262	0.078
253.0	0.337	0.249	0.070
252.0	0.321	0.239	0.063
251.0	0.309	0.232	0.057
250.0	0.302	0.226	0.054
249.0	0.296	0.221	0.049
248.0	0.296	0.218	0.046
247.0	0.305	0.219	0.045
246.0	0.314	0.222	0.046
245.0	0.326	0.225	0.043
244.0	0.353	0.233	0.045
243.0	0.403	0.246	0.053
242.0	0.474	0.273	0.066
241.0	0.671	0.343	0.082



LAMPIRAN D. DATA OPTIMASI KOMPOSISI ELUEN

D.1. Data perhitungan perbandingan Etil asetat : Metanol (2:1)

Pengulangan	Rf	SBR
I	0.63	
II	0.64	2,7 %
III	0.61	

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum 0.0006}{3 - 1}}$$

$$SD = \sqrt{0.0003}$$

$$SD = 0.017$$

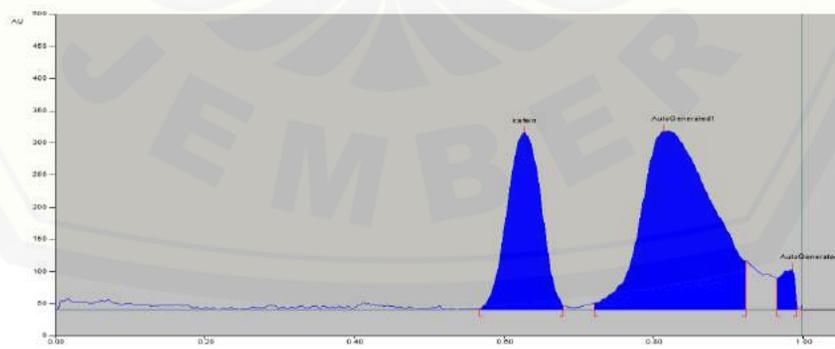
$$SBR = \frac{SD}{x} \times 100\%$$

$$SBR = \frac{0.017}{0.62} \times 100\%$$

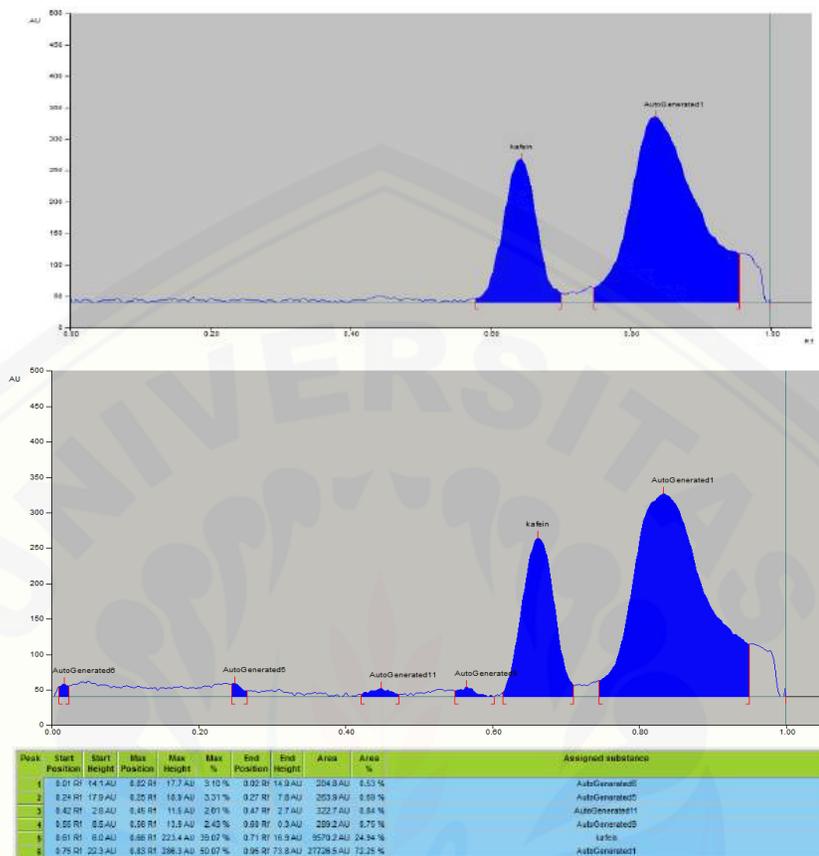
$$= 0.0274 \times 100\%$$

$$= 2,7 \%$$

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.57 Rf	1.9 AU	0.63 Rf	275.2 AU	44.69 %	0.68 Rf	5.9 AU	12288.2 AU	31.14 %	kafen
2	0.72 Rf	10.2 AU	0.81 Rf	277.8 AU	45.12 %	0.92 Rf	75.8 AU	25934.4 AU	65.73 %	AutoGenerated1
3	0.97 Rf	49.0 AU	0.99 Rf	62.8 AU	10.19 %	0.99 Rf	7.1 AU	1235.9 AU	3.13 %	AutoGenerated3



Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.58 Rf	6.3 AU	0.64 Rf	227.8 AU	43.53 %	0.70 Rf	14.5 AU	10613.0 AU	27.84 %	kafen
2	0.75 Rf	23.0 AU	0.84 Rf	295.6 AU	56.47 %	0.96 Rf	77.5 AU	27510.7 AU	72.16 %	AutoGenerated1



D.2. Data perhitungan perbandingan Etil asetat : Metanol (3:1)

Pengulangan	Rf	SBR
I	0.98	
II	0.96	1%
III	0.97	

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum 0.0002}{3 - 1}}$$

$$SD = \sqrt{0.0001}$$

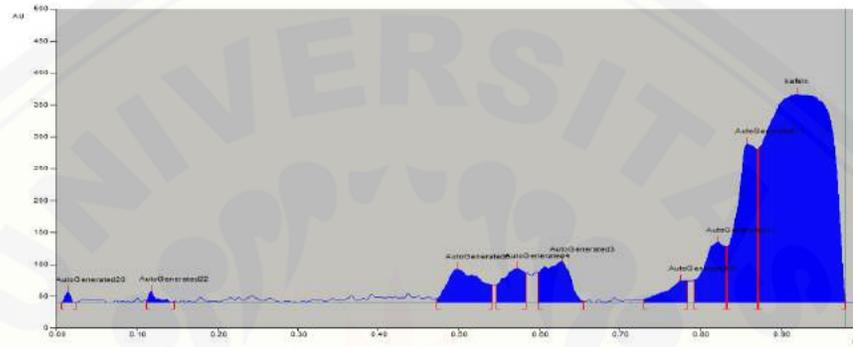
$$SD = 0.01$$

$$SBR = \frac{SD}{x} \times 100\%$$

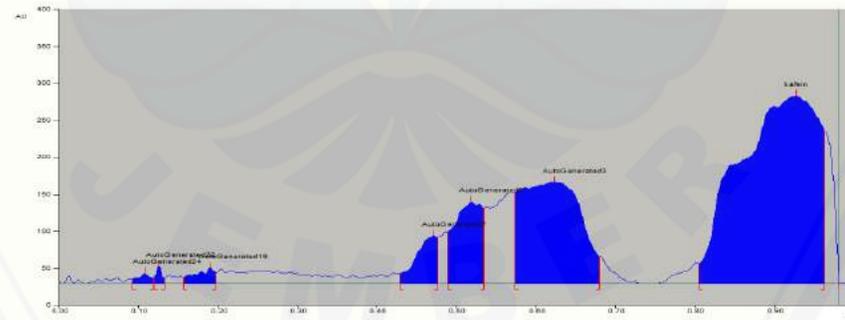
$$SBR = \frac{0.01}{0.97} \times 100\%$$

$$= 1\%$$

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.01 Rf	0.2 AU	0.01 Rf	16.3 AU	1.80 %	0.03 Rf	0.7 AU	102.3 AU	0.26 %	AutoGenerated20
2	0.11 Rf	4.4 AU	0.12 Rf	17.6 AU	1.94 %	0.15 Rf	2.1 AU	169.4 AU	0.43 %	AutoGenerated22
3	0.47 Rf	6.3 AU	0.50 Rf	52.5 AU	5.79 %	0.54 Rf	27.8 AU	1992.5 AU	5.11 %	AutoGenerated6
4	0.55 Rf	27.5 AU	0.57 Rf	63.9 AU	5.94 %	0.58 Rf	45.8 AU	1361.7 AU	3.49 %	AutoGenerated4
5	0.60 Rf	46.7 AU	0.63 Rf	63.9 AU	7.04 %	0.66 Rf	2.4 AU	1978.1 AU	5.07 %	AutoGenerated3
6	0.73 Rf	4.7 AU	0.78 Rf	34.6 AU	3.81 %	0.79 Rf	33.9 AU	871.7 AU	2.24 %	AutoGenerated10
7	0.79 Rf	34.9 AU	0.82 Rf	93.9 AU	10.35 %	0.83 Rf	87.8 AU	2339.8 AU	6.00 %	AutoGenerated11
8	0.83 Rf	88.0 AU	0.86 Rf	248.7 AU	27.40 %	0.87 Rf	41.0 AU	5750.7 AU	14.75 %	AutoGenerated12
9	0.87 Rf	241.6 AU	0.92 Rf	328.2 AU	35.94 %	0.98 Rf	10.7 AU	24415.7 AU	62.63 %	kafein



Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.09 Rf	5.3 AU	0.11 Rf	13.6 AU	2.19 %	0.12 Rf	7.1 AU	204.5 AU	0.52 %	AutoGenerated24
2	0.12 Rf	7.9 AU	0.13 Rf	23.1 AU	3.71 %	0.13 Rf	6.8 AU	154.3 AU	0.39 %	AutoGenerated22
3	0.16 Rf	7.9 AU	0.19 Rf	20.9 AU	3.36 %	0.20 Rf	15.1 AU	467.9 AU	1.19 %	AutoGenerated19
4	0.43 Rf	13.4 AU	0.47 Rf	64.1 AU	10.30 %	0.48 Rf	62.3 AU	1567.5 AU	3.99 %	AutoGenerated7
5	0.49 Rf	89.2 AU	0.52 Rf	110.8 AU	17.81 %	0.54 Rf	01.8 AU	3635.0 AU	9.24 %	AutoGenerated8
6	0.57 Rf	122.2 AU	0.62 Rf	136.6 AU	21.96 %	0.68 Rf	36.4 AU	9736.4 AU	24.76 %	AutoGenerated3
7	0.81 Rf	26.6 AU	0.93 Rf	252.9 AU	40.66 %	0.96 Rf	06.1 AU	23564.5 AU	59.91 %	kafein



Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.01 Rf	5.3 AU	0.01 Rf	20.0 AU	3.05 %	0.02 Rf	1.2 AU	91.4 AU	0.36 %	AutoGenerated20
2	0.11 Rf	3.4 AU	0.13 Rf	17.3 AU	2.64 %	0.14 Rf	7.0 AU	185.1 AU	0.69 %	AutoGenerated22
3	0.48 Rf	14.9 AU	0.45 Rf	25.1 AU	3.84 %	0.46 Rf	19.4 AU	368.6 AU	1.11 %	AutoGenerated28
4	0.50 Rf	36.7 AU	0.51 Rf	52.4 AU	8.22 %	0.54 Rf	69.0 AU	1011.9 AU	5.59 %	AutoGenerated8
5	0.54 Rf	66.2 AU	0.56 Rf	70.9 AU	10.77 %	0.57 Rf	88.9 AU	1337.7 AU	4.13 %	AutoGenerated5
6	0.57 Rf	69.1 AU	0.60 Rf	108.9 AU	16.61 %	0.62 Rf	83.3 AU	3367.4 AU	10.39 %	AutoGenerated27
7	0.62 Rf	107.9 AU	0.66 Rf	129.2 AU	19.72 %	0.72 Rf	12.6 AU	7078.6 AU	21.93 %	AutoGenerated3
8	0.81 Rf	6.5 AU	0.91 Rf	221.7 AU	33.04 %	0.97 Rf	05.5 AU	10154.9 AU	50.30 %	kafein



D.3. Data perhitungan perbandingan Etil asetat : Metanol (4:1)

Pengulangan	Rf	SBR
I	0.88	
II	0.87	1,1 %
III	0.89	

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

$$SBR = \frac{0.01}{0.88} \times 100\%$$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum 0.0002}{3 - 1}}$$

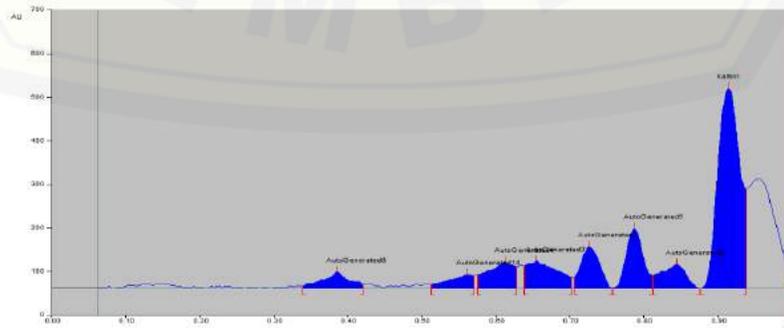
$$= 0.011 \times 100\%$$

$$SD = \sqrt{0.0001}$$

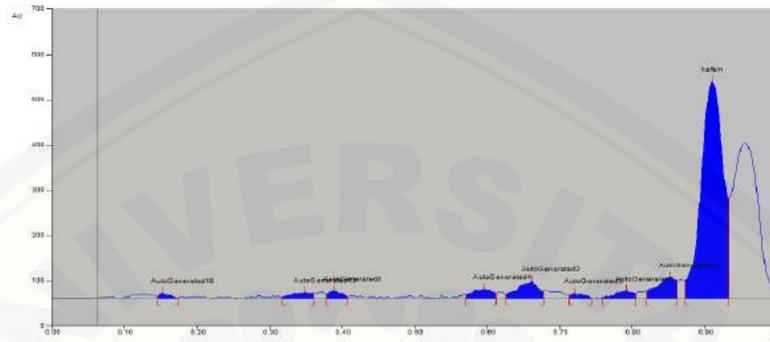
$$= 1,1\%$$

$$SD = 0.01$$

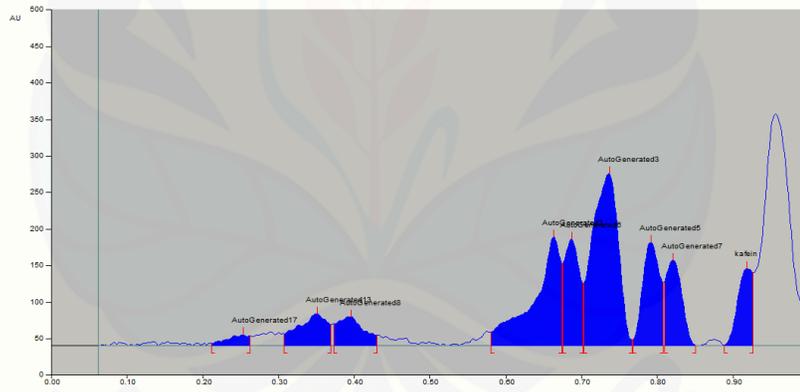
Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.34	0.6	0.39	37.6	4.03 %	0.42	10.7	1265.2	4.92 %	AutoGenerated01
2	0.51	9.0	0.56	32.1	3.42 %	0.57	29.0	596.5	3.78 %	AutoGenerated14
3	0.68	31.7	0.61	89.8	9.47 %	0.83	51.6	2634.6	7.72 %	AutoGenerated04
4	0.64	52.5	0.66	61.7	6.67 %	0.70	25.8	2475.6	9.40 %	AutoGenerated02
5	0.71	24.9	0.73	95.0	10.11 %	0.76	0.7	2248.4	8.84 %	AutoGenerated03
6	0.76	1.2	0.78	137.6	14.66 %	0.81	29.7	2687.3	11.00 %	AutoGenerated05
7	0.81	30.0	0.84	54.6	5.82 %	0.88	0.0	1729.3	6.56 %	AutoGenerated05
8	0.86	0.5	0.82	409.6	43.03 %	0.94	27.6	12006.4	46.05 %	laktin



Peak Position	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.15	4.0	0.15	12.3	1.00%	0.17	2.0	168.8	0.02%	AutoGenerated10
2	0.35	3.9	0.35	13.3	1.03%	0.36	11.4	351.3	2.02%	AutoGenerated11
3	0.26	15.0	0.26	16.5	2.53%	0.41	4.0	291.9	1.68%	AutoGenerated12
4	0.57	5.9	0.68	20.1	3.08%	0.81	11.9	528.3	3.04%	AutoGenerated14
5	0.83	18.3	0.88	37.3	5.72%	0.85	14.8	963.8	5.72%	AutoGenerated15
6	0.71	7.3	0.72	12.9	1.03%	0.75	0.0	196.8	1.14%	AutoGenerated16
7	0.76	2.3	0.78	19.2	2.49%	0.81	11.2	302.8	2.28%	AutoGenerated17
8	0.82	15.0	0.85	49.2	7.07%	0.88	49.8	1163.3	6.78%	AutoGenerated18
9	0.67	48.7	0.91	478.8	73.37%	0.93	19.9	13308.7	76.57%	kafes



Peak Position	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.21	2.7	0.25	10.9	1.51%	0.28	12.0	394.6	1.55%	AutoGenerated17
2	0.31	15.8	0.35	43.8	4.42%	0.37	28.8	1540.1	0.09%	AutoGenerated13
3	0.37	29.4	0.40	39.7	4.01%	0.43	14.1	1206.1	5.18%	AutoGenerated18
4	0.50	18.7	0.60	148.1	15.03%	0.68	12.0	4005.9	19.29%	AutoGenerated16
5	0.65	13.0	0.69	165.0	14.68%	0.75	86.2	2679.8	10.54%	AutoGenerated15
6	0.75	64.0	0.74	329.8	23.73%	0.77	8.1	1428.9	29.21%	AutoGenerated14
7	0.77	8.1	0.79	141.3	14.21%	0.81	80.0	2854.3	11.02%	AutoGenerated12
8	0.81	86.0	0.82	117.1	11.09%	0.85	0.2	2297.0	9.03%	AutoGenerated17
9	0.98	0.8	0.92	105.3	19.61%	0.93	50.1	1827.3	7.58%	kafes



LAMPIRAN E. DATA VALIDASI METODE

E.1 Data Linieritas

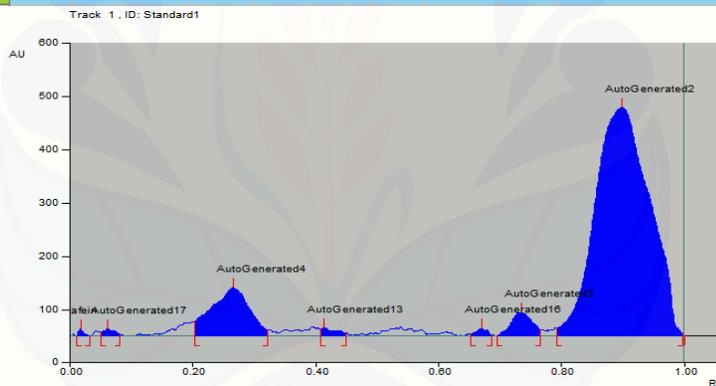
Hasil Pemindaian dengan *TLC Scanner* Daerah Linier

Rf	Massa (ng)	Area(AU)
0.65	160	3412.6
0.65	200	4572.3
0.63	240	5811.2
0.65	280	6591.8
0.65	320	7640.7

Data Pemindaian dengan *TLC Scanner* Penentuan Daerah Linier

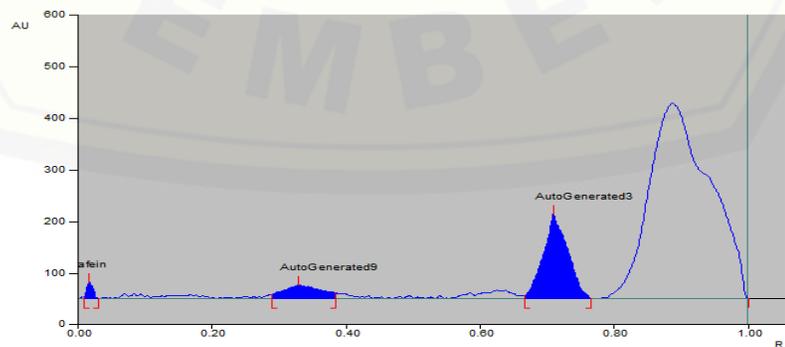
Track 1, ID: Standard1

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
6	0.70 Rf	0.6 AU	0.74 Rf	43.8 AU	7.07 %	0.77 Rf	10.5 AU	1490.3 AU	3.28 %	AutoGenerated3



Track 2, ID: Standard2

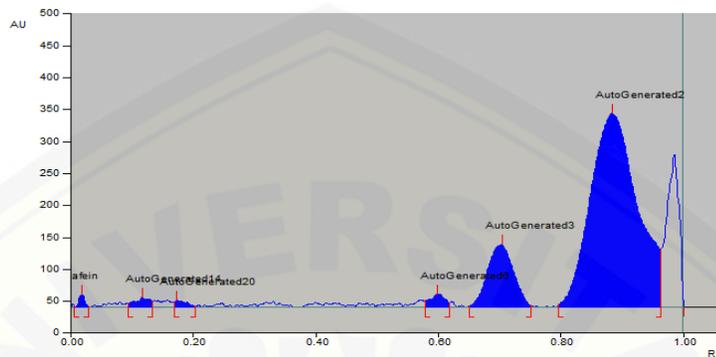
Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
3	0.67 Rf	5.7 AU	0.71 Rf	163.3 AU	73.88 %	0.77 Rf	0.1 AU	5835.2 AU	76.94 %	AutoGenerated3



Track 3, ID: Standard3

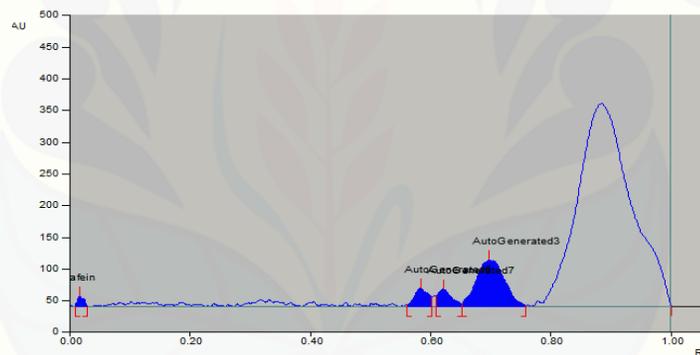
Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
5	0.65 Rf	1.8 AU	0.70 Rf	98.4 AU	21.08 %	0.75 Rf	2.5 AU	4082.1 AU	14.53 %	AutoGenerated3

Track 3, ID: Standard3



Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
4	0.65 Rf	5.0 AU	0.70 Rf	73.7 AU	50.10 %	0.76 Rf	1.5 AU	3412.6 AU	69.72 %	AutoGenerated3

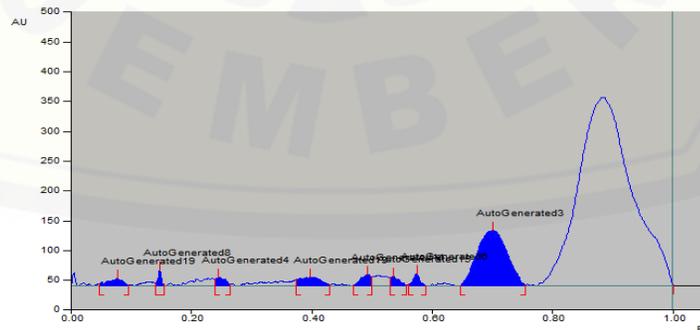
Track 4, ID: Standard4



Track 5, ID: Standard5

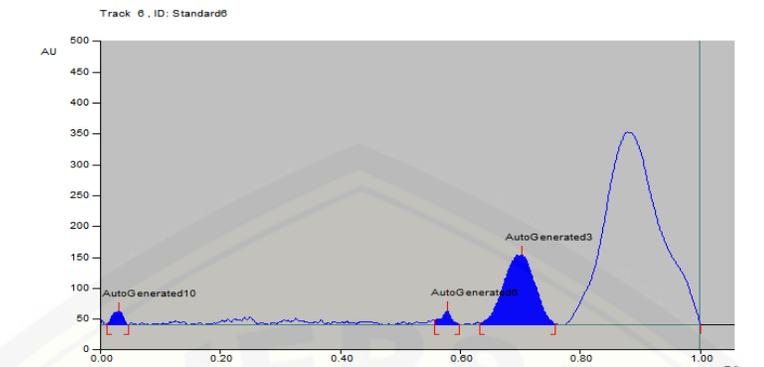
Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
8	0.65 Rf	0.4 AU	0.70 Rf	92.9 AU	43.36 %	0.76 Rf	1.8 AU	4572.3 AU	70.46 %	AutoGenerated3

Track 5, ID: Standard5



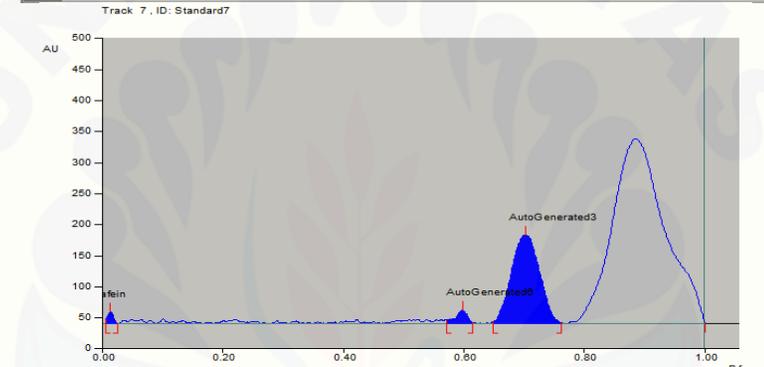
Track 6, ID: Standard6

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
3	0.63 Rf	3.0 AU	0.70 Rf	113.6 AU	71.96 %	0.76 Rf	1.1 AU	5811.2 AU	88.45 %	AutoGenerated3



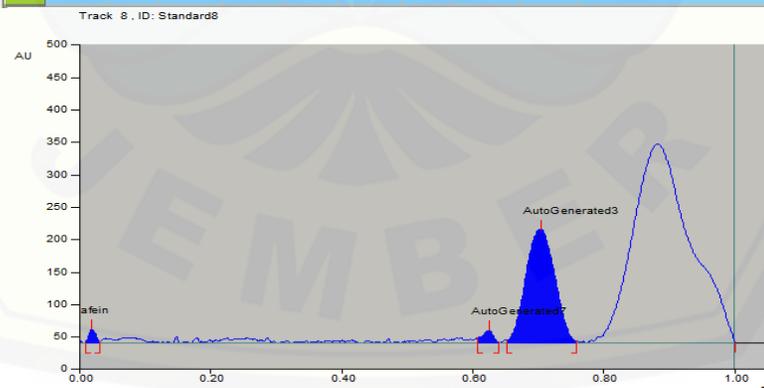
Track 7, ID: Standard7

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
3	0.65 Rf	3.9 AU	0.70 Rf	142.9 AU	78.18 %	0.76 Rf	1.0 AU	6591.8 AU	91.68 %	AutoGenerated3



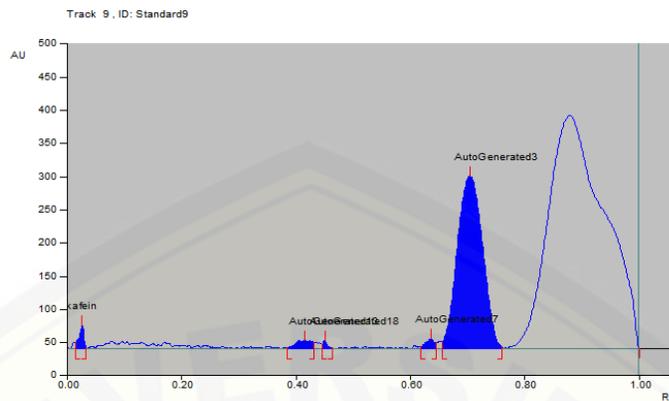
Track 8, ID: Standard8

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
3	0.65 Rf	3.8 AU	0.70 Rf	175.7 AU	80.88 %	0.76 Rf	2.5 AU	7640.7 AU	93.28 %	AutoGenerated3



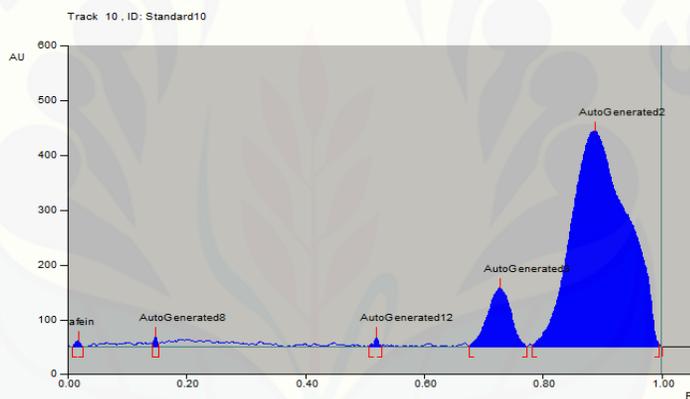
Track 9, ID: Standard9

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
5	0.66 Rf	10.5 AU	0.70 Rf	260.7 AU	77.57 %	0.76 Rf	2.5 AU	11349.5 AU	92.04 %	AutoGenerated3

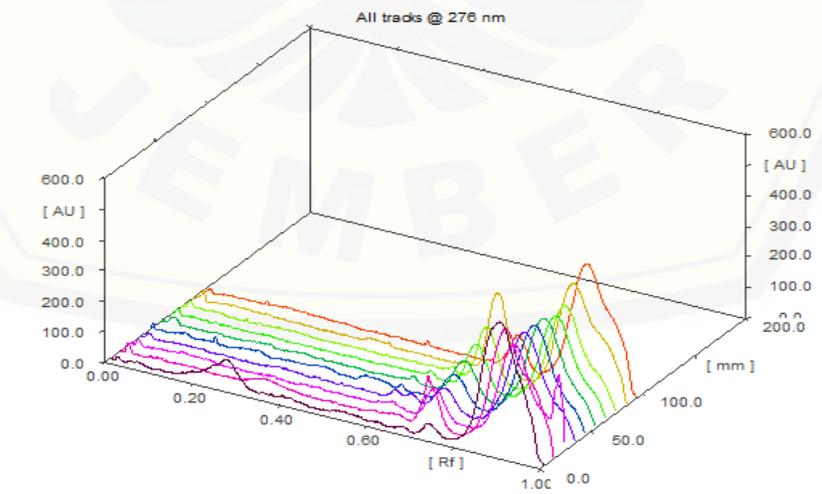


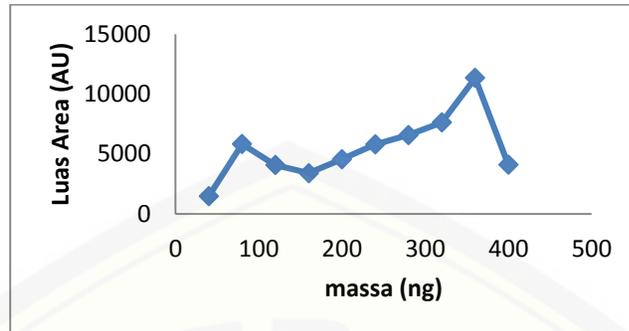
Track 10, ID: Standard10

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
4	0.68 Rf	1.5 AU	0.73 Rf	107.4 AU	19.47 %	0.77 Rf	0.6 AU	4113.3 AU	10.02 %	AutoGenerated3



Densitogram Kurva Kalibrasi Daerah Linier





E.2 LOD dan LOQ

No	Volume Penotolan (μL)	Massa Analit (ng)	Area (Y_i)	Y_i^*	$(Y_i^* - Y_i)$
1	20	160	3412,6	3509,1	9312,25
2	20	200	4572,3	4556,3	256
3	20	240	5811,2	5603,5	43056,25
4	20	280	6591,8	6650,7	3469,21
5	20	320	7640,7	7697,9	3271,84
				Jumlah	59365,55

Keterangan:

Massa analit (ng) = Konsentrasi analit standart $\frac{\text{ng}}{\mu\text{L}} \times \text{Volume penotolan } (\mu\text{L})$

Y_i^* = luas area dari perhitungan persamaan kurva kalibrasi

Y_i^* didapatkan dari persamaan regresi, misalnya untuk konsentrasi analit (x) = 1000 ng

Maka :

$$y = 26,18x - 679,7$$

$$y = 26,18(160) - 679,7$$

$$y = 3509,1$$

$S \frac{y}{x}$ = Variasi variabel respon (y), didapat dari data-data yang dekat garis regresi

$$S \frac{y}{x} = \sqrt{\frac{\sum(Y - Y^*)^2}{N - 2}}$$

$$S \frac{y}{x} = \sqrt{\frac{59365,55}{3}}$$

$$S \frac{y}{x} = \sqrt{19788,516}$$

$$S \frac{y}{x} = 140,671$$

$$LOD = \frac{3S_y}{b} = \frac{3 \times 140,671}{26.18}$$

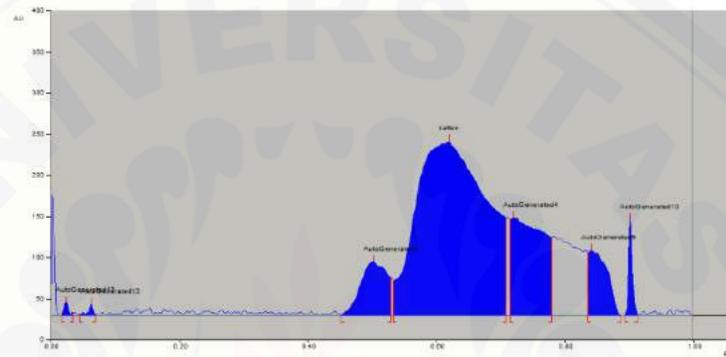
$$LOD = 16,11 \text{ ng}$$

$$LOQ = \frac{10S_y}{b} = \frac{10 \times 140,671}{26.18}$$

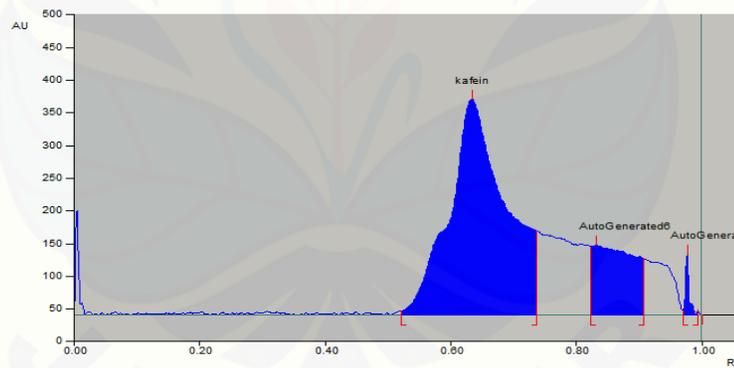
$$LOQ = 53,73 \text{ ng}$$

E.3 Keseksamaan (Precision)

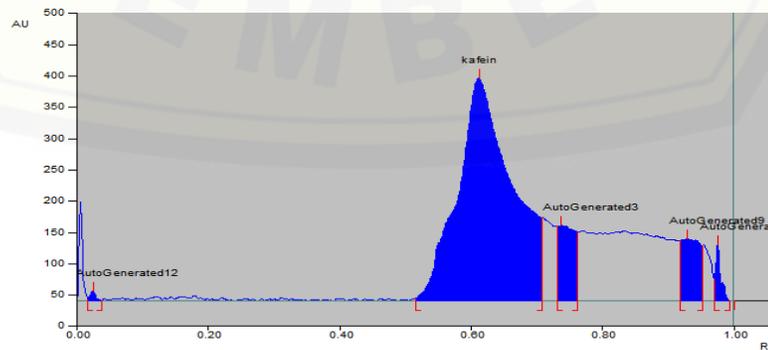
✚ Data Scanning dengan TLC Scanner Larutan Standar Kafein 6 ppm (n=6)

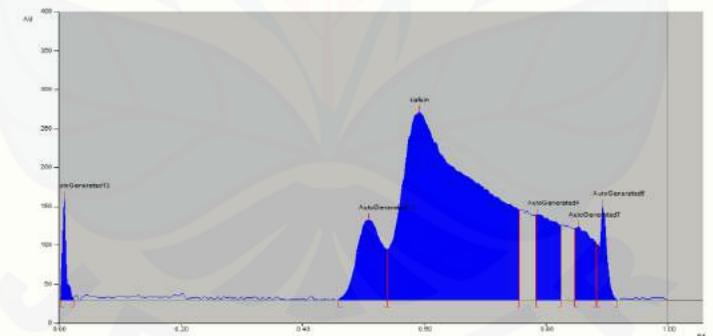
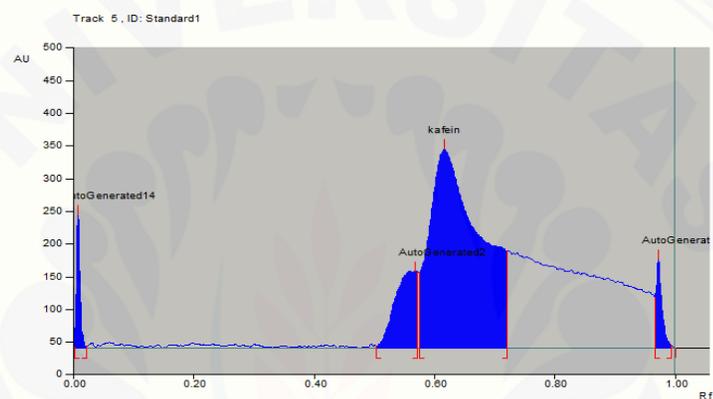
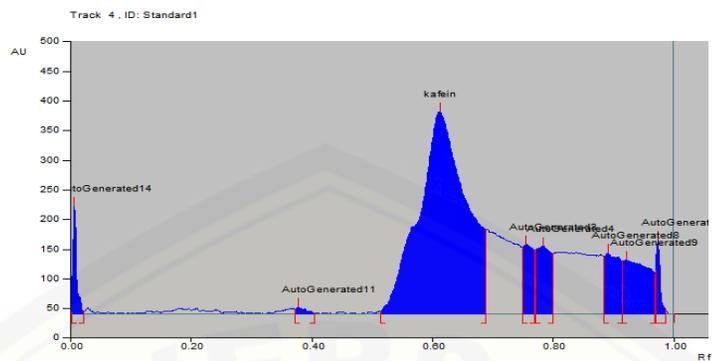


Track 2 , ID: Standard1



Track 3 , ID: Standard1





Hasil Perhitungan Keseksamaan (*Precision*) Larutan Stadar 6 ppm

Konsentrasi Kafein (ppm)	Area (x)	$x - \bar{x}$
6	28132.1	1027.767
6	29013.0	1891.1
6	28837.6	1715.7
6	26247.3	-874.6
6	25219.1	-1902.8
6	25282.8	-1839.1

$$\bar{x} = \frac{162632}{6} = 27105.33$$

$$SBR = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\%$$

$$SBR = \frac{1771.103}{27105.33} \times 100\%$$

$$SBR = 6.5\%$$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

$$SD = \sqrt{\frac{15684037}{5}}$$

$$SD = \sqrt{3136807.4}$$

$$SD = 1771.103$$

Persamaan Horwitch

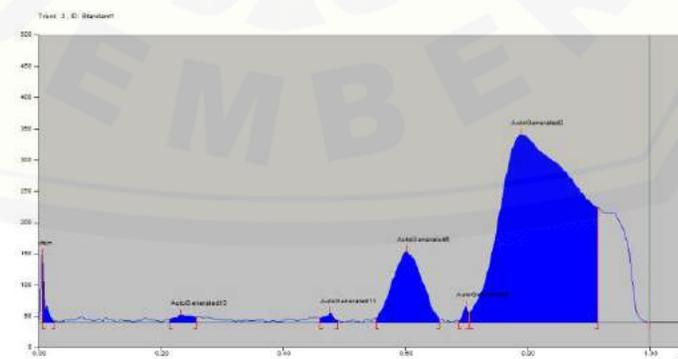
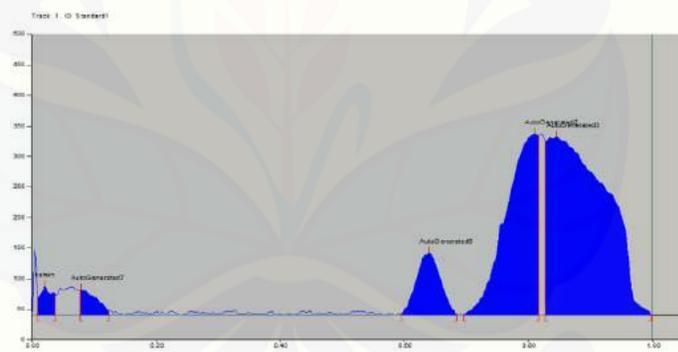
$$CV(\%) = 2^{1-0.5 \log C}$$

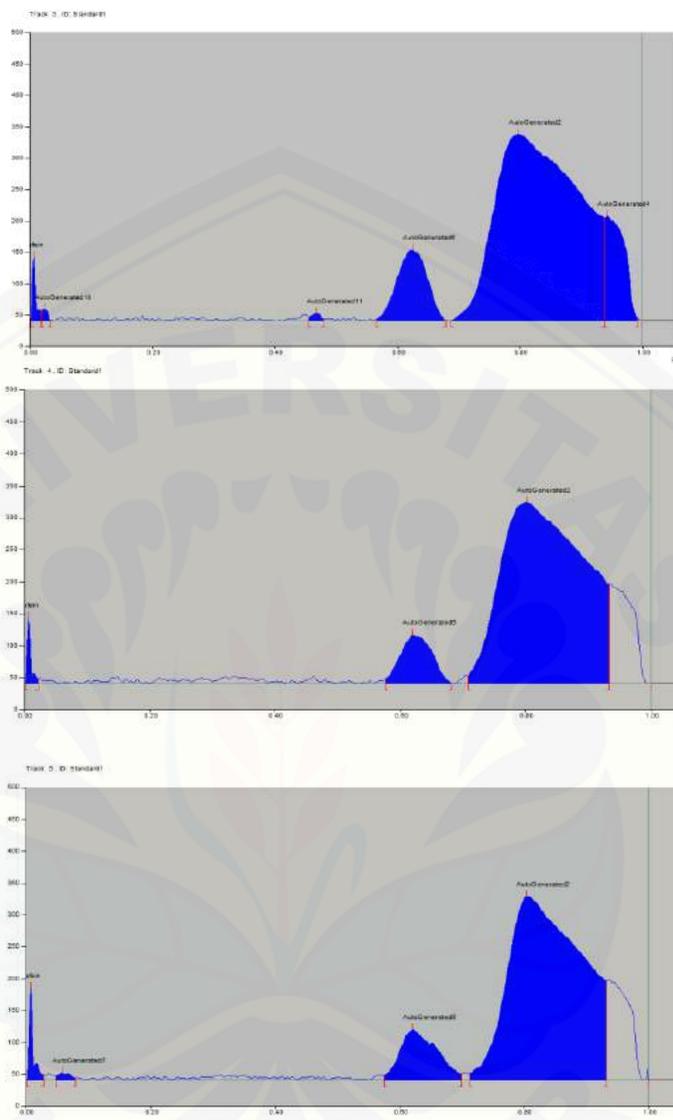
$$CV(\%) = 2^{1-0.5 \log(6 \times 10^{-6})}$$

$$CV(\%) = 12.2176\%$$

$$\frac{2}{3} CV = 8.085\%$$

✚ Data Scanning dengan TLCScanner Larutan Standar Kafein 10 ppm (n=6)





✚ Hasil Perhitungan Keseksamaan (*Precision*) Larutan Stadar 10 ppm

Konsentrasi Kafein (ppm)	Area (x)	$x - \bar{x}$
10	5598.5	186.36667
10	5351.4	-60.733333
10	5564.8	152.66667
10	5138.4	-273.73333
10	5450.8	38.666667
10	5368.9	-43.233333

$$\bar{x} = \frac{32472.8}{6} = 5412.1333$$

$$SBR = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\%$$

$$SBR = \frac{167.3453644}{5412.1333} \times 100\%$$

$$SBR = 3\%$$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

$$SD = \sqrt{\frac{140022.35}{5}}$$

$$SD = \sqrt{28004.471}$$

$$SD = 167.3453644$$

Persamaan Horwitch

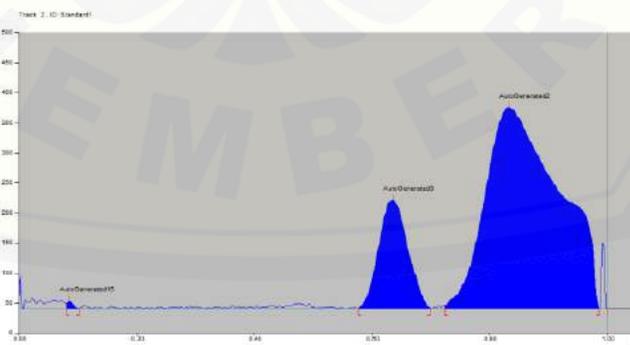
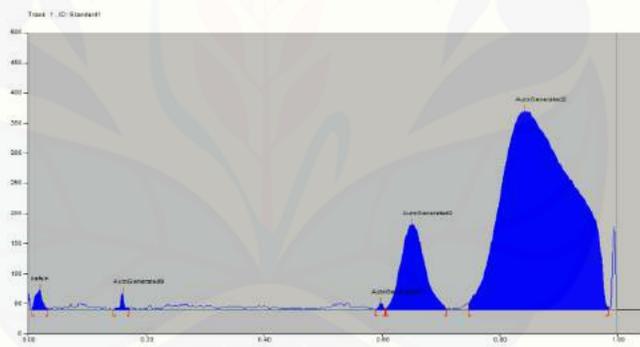
$$CV(\%) = 2^{1-0.5 \log C}$$

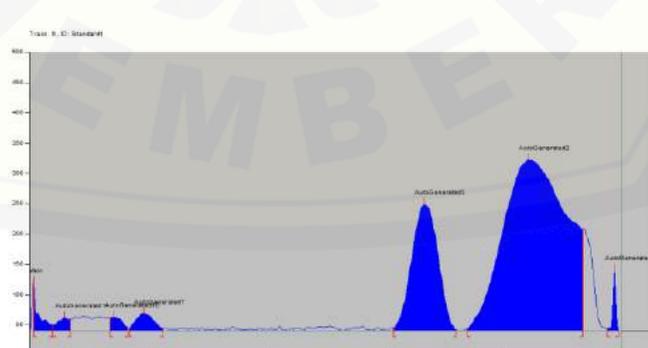
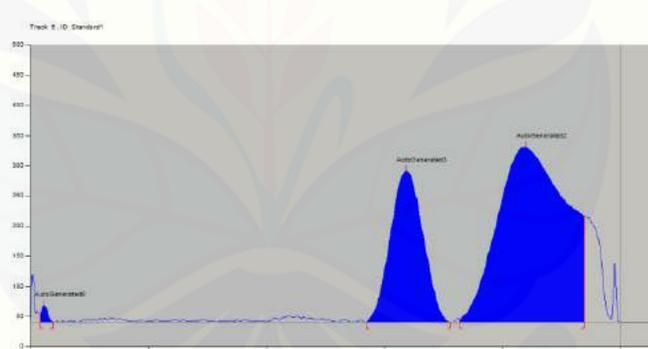
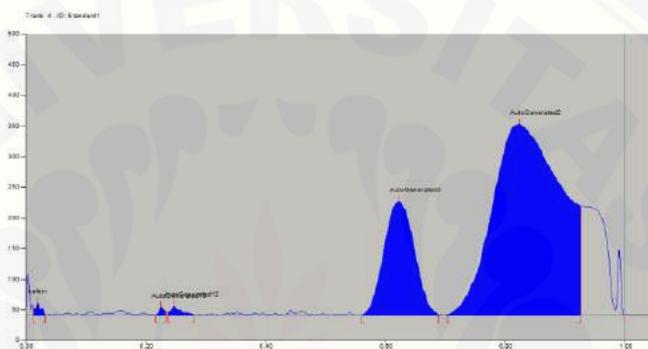
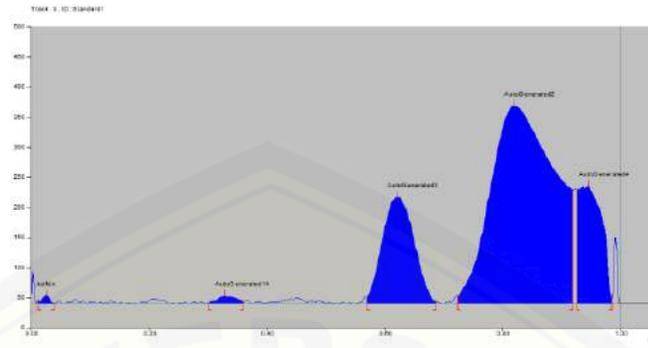
$$CV(\%) = 2^{1-0.5 \log(10 \times 10^{-6})}$$

$$CV(\%) = 16\%$$

$$\frac{2}{3} CV = 9,6\%$$

✚ Data Scanning dengan TLC Scanneer Larutan Standar Kafein 16 ppm (n=6)





✚ Hasil Perhitungan Keseksamaan (*Precision*) Larutan Stadar 16 ppm

Konsentrasi Kafein (ppm)	Area (x)	x - \bar{x}
16	9570.2	347.6667
16	8791.5	-431.033
16	9328.4	105.8667
16	9256.2	33.66667
16	9319.1	96.56667
16	9069.8	-152.733

$$\bar{x} = \frac{55335.2}{6} = 9222.533$$

$$SBR = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\%$$

$$SBR = \frac{265.2002}{9222.533} \times 100\%$$

$$SBR = 3\%$$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

$$SD = \sqrt{\frac{351655.6333}{5}}$$

$$SD = \sqrt{70331.12667}$$

$$SD = 265.2002$$

Persamaan Horwitch

$$CV(\%) = 2^{1-0.5 \log C}$$

$$CV(\%) = 2^{1-0.5 \log(16 \times 10^{-6})}$$

$$CV(\%) = 14,9068\%$$

$$\frac{2}{3} CV = 8,94\%$$

LAMPIRAN F. KADAR KAFEIN DALAM DAUN KOPI

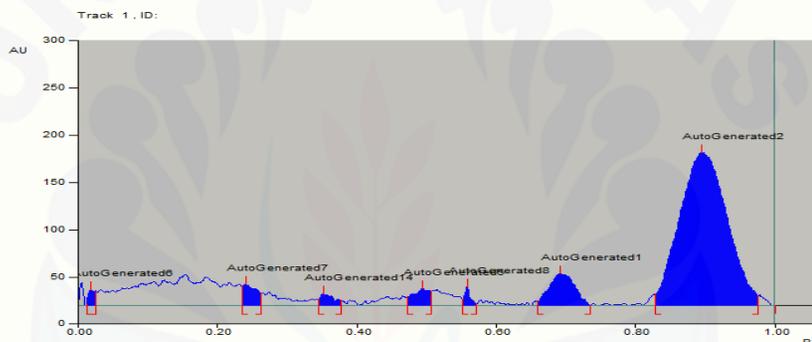
F.1. Data perhitungan kopi robusta

F.1.1 Sonikasi

- a. Data densitogram dan perhitungan kadar sample daun kopi robusta (Sr) Pengulangan I

Track 1, ID:

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.01 Rf	0.8 AU	0.02 Rf	16.9 AU	5.96 %	0.03 Rf	15.2 AU	173.9 AU	1.29 %	AutoGenerated6
2	0.24 Rf	20.2 AU	0.24 Rf	22.0 AU	7.78 %	0.26 Rf	12.6 AU	442.2 AU	3.28 %	AutoGenerated7
3	0.34 Rf	6.5 AU	0.35 Rf	11.9 AU	4.20 %	0.38 Rf	5.6 AU	237.5 AU	1.76 %	AutoGenerated14
4	0.47 Rf	9.0 AU	0.49 Rf	17.9 AU	6.32 %	0.51 Rf	15.0 AU	421.1 AU	3.12 %	AutoGenerated5
5	0.55 Rf	6.9 AU	0.56 Rf	19.1 AU	6.74 %	0.57 Rf	1.9 AU	155.3 AU	1.15 %	AutoGenerated8
6	0.66 Rf	4.4 AU	0.69 Rf	33.5 AU	11.84 %	0.74 Rf	0.4 AU	1219.6 AU	9.04 %	AutoGenerated1
7	0.83 Rf	11.8 AU	0.89 Rf	161.8 AU	57.15 %	0.98 Rf	9.9 AU	10837.3 AU	80.35 %	AutoGenerated2



- **Massa sampel dalam 0,5 mL**

$$AU = 1219,6$$

$$1219,6 = 26.18x - 679,7$$

$$1899,3 = 26.18x$$

$$x = 72,54 \text{ ng}$$

- **Kosentrasi kafein**

$$72,54 \text{ ng} \times 50 = 3627 \text{ ng}$$

- **Massa kafein yang di dapatkan (m_a)**

$$\text{dalam } 0,5 \text{ mL} = 3627 \text{ ng} \times \frac{500 \mu\text{L}}{20 \mu\text{L}}$$

$$= 90675 \text{ ng}$$

- **Kadar kafein**

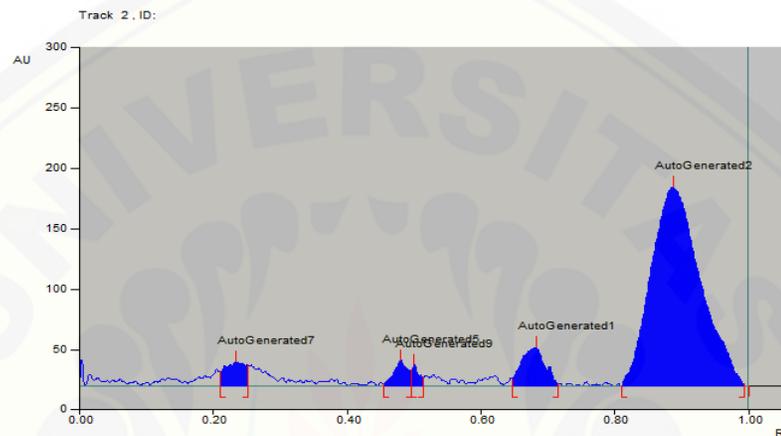
$$\frac{\text{massa kafein dalam ekstrak}}{\text{massa sampel}} = \frac{90675 \text{ ng}}{0,5 \text{ g}} = \frac{0.090675 \text{ mg}}{0.0005 \text{ kg}} = 181,35 \text{ mg/kg}$$

- **Kadar kafein (%)**

$$\frac{\text{massa kafein dalam ekstrak}}{\text{massa sampel}} = \frac{0.090675 \text{ mg}}{500 \text{ mg}} \times 100\% = 0,018135\%$$

b. Data densitogram dan perhitungan kadar sample daun kopi robusta (Sr) Pengulangan II

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.21 Rf	11.9 AU	0.23 Rf	20.5 AU	7.97 %	0.25 Rf	17.5 AU	619.8 AU	4.34 %	AutoGenerated7
2	0.45 Rf	2.0 AU	0.48 Rf	21.8 AU	8.49 %	0.50 Rf	12.5 AU	437.5 AU	3.06 %	AutoGenerated5
3	0.50 Rf	13.1 AU	0.50 Rf	17.6 AU	6.85 %	0.51 Rf	7.2 AU	184.6 AU	1.29 %	AutoGenerated9
4	0.65 Rf	6.0 AU	0.68 Rf	32.1 AU	12.51 %	0.72 Rf	1.9 AU	1107.7 AU	7.75 %	AutoGenerated1
5	0.81 Rf	0.3 AU	0.89 Rf	164.9 AU	64.18 %	0.99 Rf	1.8 AU	11946.3 AU	83.57 %	AutoGenerated2



- **Massa sampel dalam 0,5 mL**

$$AU = 1107.7$$

$$1107.7 = 26.18x - 679.7$$

$$1787.4 = 26.18x$$

$$x = 68,27 \text{ ng}$$

- **Kosentrasi kafein**

$$68,27 \text{ ng} \times 50 = 3413,5 \text{ ng}$$

- **Massa kafein yang di dapatkan (m_a)**

$$\text{dalam } 0,5 \text{ mL} = 4313,5 \text{ ng} \times \frac{500 \mu\text{L}}{20 \mu\text{L}}$$

$$= 85337,5 \text{ ng}$$

- **Kadar kafein**

$$\frac{\text{massa kafein dalam ekstrak}}{\text{massa sampel}} = \frac{85337,5 \text{ ng}}{0,5 \text{ g}} = \frac{0.0853375 \text{ mg}}{0.0005 \text{ kg}} = 170,675 \text{ mg/kg}$$

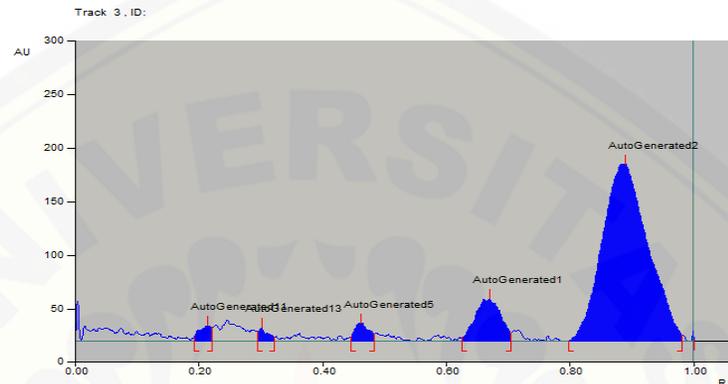
- **Kadar kafein (%)**

$$\frac{\text{massa kafein dalam ekstrak}}{\text{massa sampel}} = \frac{0.0853375 \text{ mg}}{500 \text{ mg}} \times 100\% = 0,0170675\%$$

b. Data densitogram dan perhitungan kadar sample daun kopi robusta (Sr) Pengulangan III

Track 3, ID:

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.19 Rf	2.8 AU	0.21 Rf	14.5 AU	5.80 %	0.22 Rf	12.7 AU	283.4 AU	1.96 %	AutoGenerated11
2	0.30 Rf	9.2 AU	0.30 Rf	12.6 AU	5.07 %	0.32 Rf	3.9 AU	185.3 AU	1.28 %	AutoGenerated13
3	0.44 Rf	3.8 AU	0.46 Rf	16.9 AU	6.79 %	0.48 Rf	6.8 AU	385.1 AU	2.66 %	AutoGenerated5
4	0.63 Rf	3.9 AU	0.67 Rf	39.9 AU	16.00 %	0.70 Rf	7.5 AU	1606.0 AU	11.09 %	AutoGenerated1
5	0.80 Rf	0.4 AU	0.89 Rf	165.4 AU	66.34 %	0.98 Rf	6.0 AU	12020.1 AU	83.01 %	AutoGenerated2



- **Massa sampel dalam 0,5 mL**

$$AU = 1606.0$$

$$1606.0 = 26.18x - 679.7$$

$$2285.7 = 26.18x$$

$$x = 87,30 \text{ ng}$$

- **Kosentrasi kafein**

$$87,30 \text{ ng} \times 50 = 4365 \text{ ng}$$

- **Massa kafein yang di dapatkan (m_a)**

$$\begin{aligned} \text{dalam } 0,5 \text{ mL} &= 4365 \text{ ng} \times \frac{500 \mu\text{L}}{20 \mu\text{L}} \\ &= 109125 \text{ ng} \end{aligned}$$

- **Kadar kafein**

$$\frac{\text{massa kafein dalam ekstrak}}{\text{massa sampel}} = \frac{109125 \text{ ng}}{0,5 \text{ g}} = \frac{0,109125 \text{ mg}}{0.0005 \text{ kg}} = 218,25 \text{ mg/kg}$$

- **Kadar kafein (%)**

$$\frac{\text{massa kafein dalam ekstrak}}{\text{massa sampel}} = \frac{0.109125 \text{ mg}}{500 \text{ mg}} \times 100\% = 0,021825\%$$

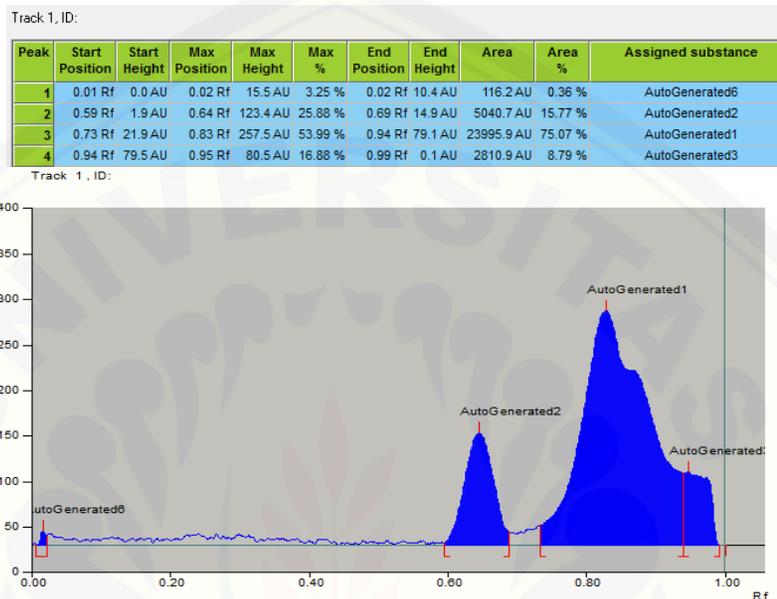
- **Kadar kafein rata-rata (%)**

$$\frac{0,018135\% + 0,017057\% + 0,021825\%}{3} = 0,019\%$$

F.1.2 Maserasi

- a. Data densitogram dan perhitungan kadar sample daun kopi Robusta (Sr)
Pengulangan I

Volume Sr yang ditambahkan 0,5 mL = 500 μ L



- **Massa sampel dalam 0,5 mL**

$$AU = 5040.7$$

$$5040.7 = 26.18x - 679.7$$

$$5720.4 = 26.18x$$

$$x = 218,502 \text{ ng}$$

- **Kosentrasi kafein**

$$218,502 \text{ ng} \times 50 = 10925,13 \text{ ng}$$

- **Massa kafein yang di dapatkan (m_a)**

$$\text{dalam } 0,5 \text{ mL} = 10925,13 \text{ ng} \times \frac{500 \mu\text{L}}{20 \mu\text{L}}$$

$$= 273128,25 \text{ ng}$$

- **Kadar kafein**

$$\frac{\text{massa kafein dalam ekstrak}}{\text{massa sampel}} = \frac{273128,25 \text{ ng}}{0,5 \text{ g}} = \frac{0,273128 \text{ mg}}{0.0005 \text{ kg}} = 546,256 \text{ mg/kg}$$

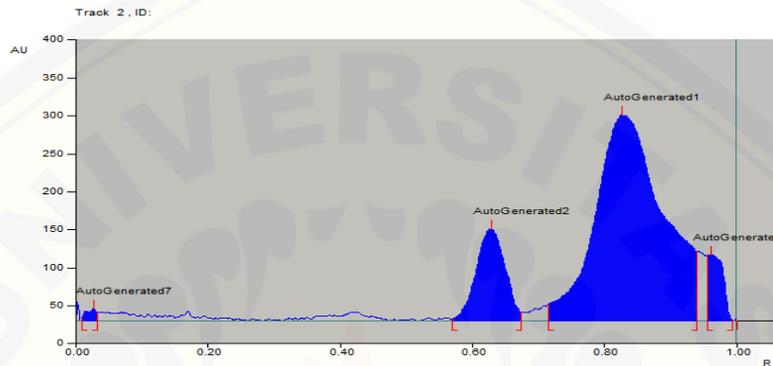
- **Kadar kafein (%)**

$$\frac{\text{massa kafein dalam ekstrak}}{\text{massa sampel}} = \frac{0,273128 \text{ mg}}{500 \text{ mg}} \times 100\% = 0,0546256\%$$

- b. Data densitogram dan perhitungan kadar sample daun kopi Robusta (Sr)
Pengulangan II

Track 2, ID:

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.01 Rf	2.3 AU	0.03 Rf	15.7 AU	3.17 %	0.03 Rf	10.9 AU	250.0 AU	0.72 %	AutoGenerated7
2	0.57 Rf	2.4 AU	0.63 Rf	121.0 AU	24.46 %	0.67 Rf	10.9 AU	5244.2 AU	15.14 %	AutoGenerated2
3	0.72 Rf	22.2 AU	0.83 Rf	271.1 AU	54.82 %	0.94 Rf	91.5 AU	27183.4 AU	78.50 %	AutoGenerated1
4	0.96 Rf	86.2 AU	0.96 Rf	86.8 AU	17.56 %	0.99 Rf	1.9 AU	1951.9 AU	5.64 %	AutoGenerated3



- **Massa sampel dalam 0,5 mL**

$$AU = 5244.2$$

$$5244.2 = 26.18x - 679.7$$

$$5923.9 = 26.18x$$

$$x = 226,275 \text{ ng}$$

- **Kosentrasi kafein**

$$226,275 \text{ ng} \times 50 = 11313,75 \text{ ng}$$

- **Massa kafein yang di dapatkan (ma)**

$$\text{dalam } 0,5 \text{ mL} = 11313 \text{ ng} \times \frac{500 \mu\text{L}}{20 \mu\text{L}}$$

$$= 282843,75 \text{ ng}$$

- **Kadar kafein**

$$\frac{\text{massa kafein dalam ekstrak}}{\text{massa sampel}} = \frac{282843,75 \text{ ng}}{0,5 \text{ g}} = \frac{0,28284375 \text{ mg}}{0.0005 \text{ kg}} = 565,6875 \text{ mg/kg}$$

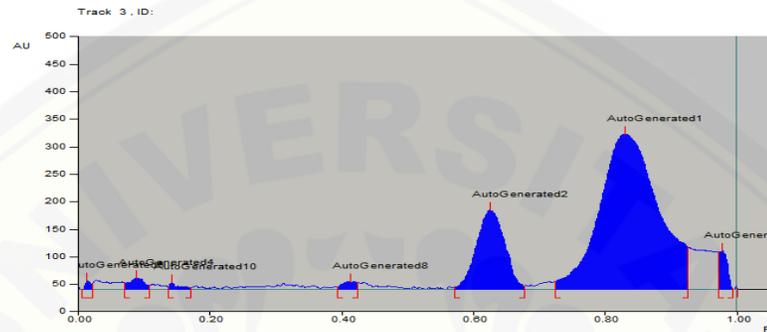
- **Kadar kafein (%)**

$$\frac{\text{massa kafein dalam ekstrak}}{\text{massa sampel}} = \frac{0,28284375 \text{ mg}}{500 \text{ mg}} \times 100\% = 0,05656874\%$$

- c. Data densitogram dan perhitungan kadar sample daun kopi Robusta (Sr)
Pengulangan III

Track 3, ID:

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.01 Rf	0.0 AU	0.01 Rf	15.0 AU	2.68 %	0.02 Rf	9.7 AU	127.4 AU	0.39 %	AutoGenerated6
2	0.07 Rf	10.8 AU	0.09 Rf	20.7 AU	3.71 %	0.11 Rf	7.3 AU	469.0 AU	1.44 %	AutoGenerated4
3	0.14 Rf	5.2 AU	0.14 Rf	13.1 AU	2.35 %	0.17 Rf	2.4 AU	174.2 AU	0.53 %	AutoGenerated10
4	0.39 Rf	4.9 AU	0.41 Rf	14.1 AU	2.52 %	0.42 Rf	11.7 AU	302.6 AU	0.93 %	AutoGenerated8
5	0.57 Rf	4.0 AU	0.62 Rf	143.8 AU	25.78 %	0.68 Rf	6.2 AU	6044.6 AU	18.51 %	AutoGenerated2
6	0.72 Rf	13.7 AU	0.83 Rf	282.2 AU	50.57 %	0.93 Rf	77.2 AU	24625.3 AU	75.41 %	AutoGenerated1
7	0.97 Rf	67.7 AU	0.98 Rf	69.3 AU	12.41 %	0.99 Rf	1.7 AU	910.1 AU	2.79 %	AutoGenerated3



- **Massa sampel dalam 0,5 mL**

$$AU = 6044.6$$

$$6044.6 = 26.18x - 679.7$$

$$6724.3 = 26.18x$$

$$x = 256,848 \text{ ng}$$

- **Kosentrasi kafein**

$$256,848 \text{ ng} \times 50 = 12842,4 \text{ ng}$$

- **Massa kafein yang di dapatkan (ma)**

$$\text{dalam } 0,5 \text{ mL} = 12842,4 \text{ ng} \times \frac{500 \mu\text{L}}{20 \mu\text{L}}$$

$$= 321060 \text{ ng}$$

- **Kadar kafein**

$$\frac{\text{massa kafein dalam ekstrak}}{\text{massa sampel}} = \frac{321060 \text{ ng}}{0,5 \text{ g}} = \frac{0,32106 \text{ mg}}{0.0005 \text{ kg}} = 642,12 \text{ mg/kg}$$

- **Kadar kafein (%)**

$$\frac{\text{massa kafein dalam ekstrak}}{\text{massa sampel}} = \frac{0,32106 \text{ mg}}{500 \text{ mg}} \times 100\% = 0,064212\%$$

- **Kadar Kafein rata-rata(%)**

$$\frac{0,0546256\% + 0,0565687\% + 0,064212\%}{3} = 0,058\%$$

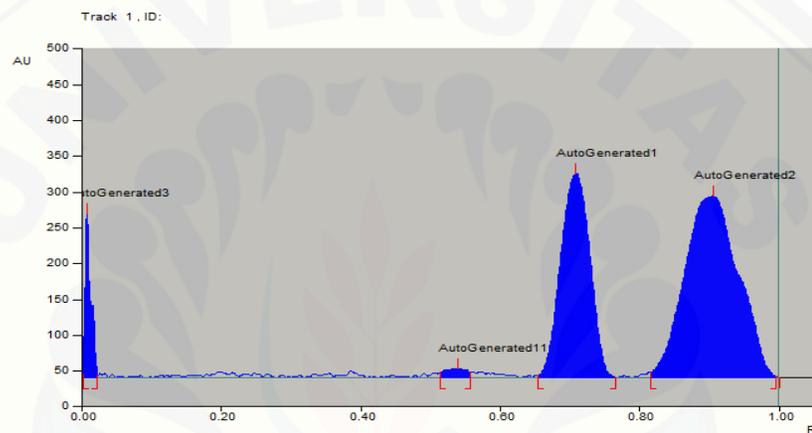
F.2. Data perhitungan kopi Arabika

F.2.1 Sonikasi

- a. Data densitogram dan perhitungan kadar sample daun kopi Arabika (Sa) Pengulangan I

Track 1, ID:

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.00 Rf	5.2 AU	0.01 Rf	229.3 AU	29.35 %	0.02 Rf	3.3 AU	1837.4 AU	5.49 %	AutoGenerated3
2	0.51 Rf	7.2 AU	0.54 Rf	12.9 AU	1.65 %	0.56 Rf	7.0 AU	402.3 AU	1.20 %	AutoGenerated11
3	0.65 Rf	3.5 AU	0.71 Rf	285.2 AU	36.52 %	0.77 Rf	0.6 AU	11803.1 AU	35.28 %	AutoGenerated1
4	0.82 Rf	8.0 AU	0.90 Rf	253.7 AU	32.48 %	1.00 Rf	1.7 AU	19408.9 AU	58.02 %	AutoGenerated2



Massa sampel dalam 0,5 mL

$$AU = 11803.1$$

$$11803.1 = 26.18x - 679.7$$

$$12482.8 = 26.18x$$

$$x = 476,80 \text{ ng}$$

- **Kosentrasi kafein**

$$476,80 \text{ ng} \times 10 = 4768,0 \text{ ng}$$

- **Massa kafein yang di dapatkan (m_a)**

$$\text{dalam } 0,5 \text{ mL} = 4768,0 \text{ ng} \times \frac{500 \mu\text{L}}{20 \mu\text{L}}$$

$$= 119200 \text{ ng}$$

- **Kadar kafein**

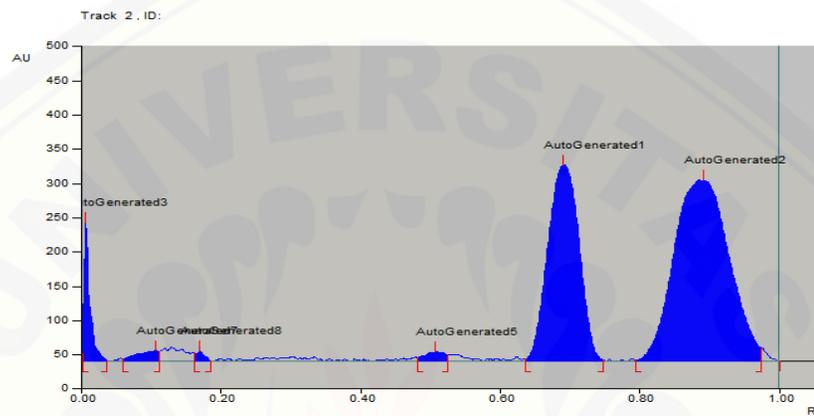
$$\frac{\text{massa kafein dalam ekstrak}}{\text{massa sampel}} = \frac{119200 \text{ ng}}{0,5 \text{ g}} = \frac{0,1192 \text{ mg}}{0,0005 \text{ kg}} = 238,4 \text{ mg/kg}$$

- **Kadar kafein (%)**

$$\frac{\text{massa kafein dalam ekstrak}}{\text{massa sampel}} = \frac{0,1192 \text{ mg}}{500 \text{ mg}} \times 100\% = 0,02384\%$$

b. Data densitogram dan perhitungan kadar sample daun kopi arabika (Sa) Pengulangan II

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.00 Rf	10.2 AU	0.01 Rf	203.1 AU	25.43 %	0.04 Rf	0.5 AU	1592.6 AU	4.45 %	AutoGenerated3
2	0.06 Rf	3.0 AU	0.11 Rf	15.7 AU	1.96 %	0.11 Rf	14.5 AU	468.9 AU	1.31 %	AutoGenerated7
3	0.16 Rf	11.8 AU	0.17 Rf	15.1 AU	1.89 %	0.19 Rf	0.1 AU	176.1 AU	0.49 %	AutoGenerated8
4	0.48 Rf	5.3 AU	0.51 Rf	13.8 AU	1.73 %	0.52 Rf	9.2 AU	398.3 AU	1.11 %	AutoGenerated5
5	0.64 Rf	2.9 AU	0.69 Rf	286.7 AU	35.91 %	0.75 Rf	1.8 AU	12592.3 AU	35.19 %	AutoGenerated1
6	0.79 Rf	1.2 AU	0.89 Rf	264.1 AU	33.08 %	0.97 Rf	19.2 AU	20553.0 AU	57.44 %	AutoGenerated2



- **Massa sampel dalam 0,5 mL**

$$\begin{aligned}
 &AU = 12592.3 \\
 &12592.3 = 26.18x - 679.7 \\
 &13272 = 26.18x \\
 &x = 506,951 \text{ ng}
 \end{aligned}$$

- **Kosentrasi kafein**

$$506,951 \text{ ng} \times 10 = 5069,51 \text{ ng}$$

- **Massa kafein yang di dapatkan (m_a)**

$$\begin{aligned}
 &\text{dalam } 0,5 \text{ mL} = 4768,0 \text{ ng} \times \frac{500 \mu\text{L}}{20 \mu\text{L}} \\
 &= 126737,75 \text{ ng}
 \end{aligned}$$

- **Kadar kafein**

$$\frac{\text{massa kafein dalam ekstrak}}{\text{massa sampel}} = \frac{126737,75 \text{ ng}}{0,5 \text{ g}} = \frac{0,126737 \text{ mg}}{0.0005 \text{ kg}} = 253,4755 \text{ mg/kg}$$

- **Kadar kafein (%)**

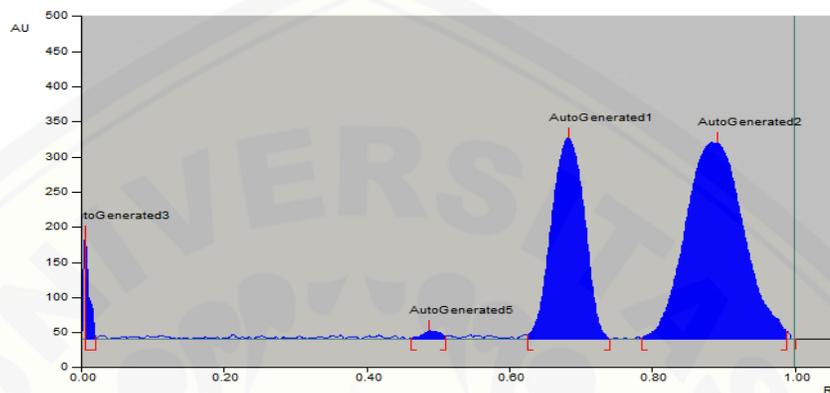
$$\frac{\text{massa kafein dalam ekstrak}}{\text{massa sampel}} = \frac{0,126737 \text{ mg}}{500 \text{ mg}} \times 100\% = 0,0253474\%$$

c. Data densitogram dan perhitungan kadar sample daun kopi arabika (Sa) Pengulangan III

Track 3, ID:

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.01 Rf	147.5 AU	0.01 Rf	147.5 AU	20.34 %	0.02 Rf	2.6 AU	723.9 AU	1.99 %	AutoGenerated3
2	0.46 Rf	1.9 AU	0.49 Rf	12.1 AU	1.66 %	0.51 Rf	5.1 AU	302.2 AU	0.83 %	AutoGenerated5
3	0.63 Rf	6.3 AU	0.68 Rf	286.0 AU	39.42 %	0.74 Rf	0.1 AU	12903.7 AU	35.52 %	AutoGenerated1
4	0.78 Rf	1.5 AU	0.89 Rf	279.8 AU	38.57 %	0.99 Rf	11.6 AU	22398.9 AU	61.66 %	AutoGenerated2

Track 3, ID:



- **Massa sampel dalam 0,5 mL**

$$\begin{aligned} \text{AU} &= 12903.7 \\ 12903.7 &= 26.18x - 679.7 \\ 13583.4 &= 26.18x \\ x &= 518,846 \text{ ng} \end{aligned}$$

- **Kosentrasi kafein**

$$518,846 \text{ ng} \times 10 = 5188,46 \text{ ng}$$

- **Massa kafein yang di dapatkan (m_a)**

$$\begin{aligned} \text{dalam } 0,5 \text{ mL} &= 5188,46 \text{ ng} \times \frac{500 \mu\text{L}}{20 \mu\text{L}} \\ &= 129711,5 \text{ ng} \end{aligned}$$

- **Kadar kafein**

$$\frac{\text{massa kafein dalam ekstrak}}{\text{massa sampel}} = \frac{129711,5 \text{ ng}}{0,5 \text{ g}} = \frac{0,1297115 \text{ mg}}{0.0005 \text{ kg}} = 259,423 \text{ mg/kg}$$

- **Kadar kafein (%)**

$$\frac{\text{massa kafein dalam ekstrak}}{\text{massa sampel}} = \frac{0,1297115 \text{ mg}}{500 \text{ mg}} \times 100\% = 0,025942\%$$

- **Kadar kafein rata-rata (%)**

$$\frac{0,02384\% + 0,0253474\% + 0,025942\%}{3} = 0,025\%$$

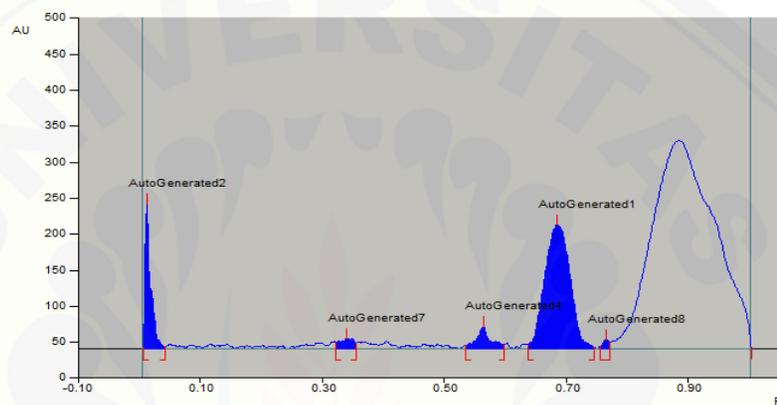
F.2.2 Maserasi

- a. Data densitogram dan perhitungan kadar sample daun kopi Arabika (Sa) Pengulangan I

Track 1, ID:

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.00 Rf	1.0 AU	0.01 Rf	201.6 AU	46.54 %	0.04 Rf	3.2 AU	1792.8 AU	17.77 %	AutoGenerated2
2	0.32 Rf	9.6 AU	0.34 Rf	14.6 AU	3.37 %	0.35 Rf	8.3 AU	338.6 AU	3.36 %	AutoGenerated7
3	0.53 Rf	4.7 AU	0.56 Rf	31.5 AU	7.28 %	0.59 Rf	5.6 AU	700.7 AU	6.95 %	AutoGenerated4
4	0.63 Rf	5.4 AU	0.68 Rf	172.5 AU	39.84 %	0.74 Rf	1.6 AU	7123.4 AU	70.61 %	AutoGenerated1
5	0.75 Rf	3.0 AU	0.76 Rf	12.9 AU	2.97 %	0.77 Rf	8.8 AU	132.7 AU	1.32 %	AutoGenerated8

Track 1, ID:



- **Massa sampel dalam 0,5 mL**

$$AU = 7123.4$$

$$7123.4 = 26.18x - 679.7$$

$$7803.1 = 26.18x$$

$$x = 298,055 \text{ ng}$$

- **Kosentrasi kafein**

$$298,055 \text{ ng} \times 10 = 2980,55 \text{ ng}$$

- **Massa kafein yang di dapatkan (m_a)**

$$\text{dalam } 0,5 \text{ mL} = 2980,55 \text{ ng} \times \frac{500 \mu\text{L}}{20 \mu\text{L}}$$

$$= 74513,75 \text{ ng}$$

- **Kadar kafein**

$$\frac{\text{massa kafein dalam ekstrak}}{\text{massa sampel}} = \frac{74513,75 \text{ ng}}{0,5 \text{ g}} = \frac{0,07451375 \text{ mg}}{0.0005 \text{ kg}} = 149,0275 \text{ mg/kg}$$

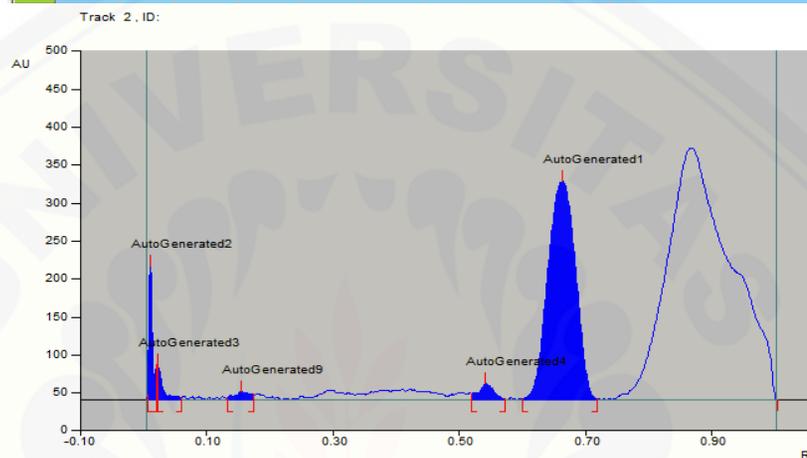
- **Kadar kafein (%)**

$$\frac{\text{massa kafein dalam ekstrak}}{\text{massa sampel}} = \frac{0,07451375 \text{ mg}}{500 \text{ mg}} \times 100\% = 0,01490275\%$$

- b. Data densitogram dan perhitungan kadar sample daun kopi Arabika (Sa) Pengulangan II

Track 2, ID:

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.00 Rf	6.5 AU	0.01 Rf	176.4 AU	32.37 %	0.02 Rf	46.6 AU	1026.8 AU	6.97 %	AutoGenerated2
2	0.02 Rf	47.0 AU	0.02 Rf	47.0 AU	8.63 %	0.05 Rf	2.4 AU	399.0 AU	2.71 %	AutoGenerated3
3	0.13 Rf	1.2 AU	0.15 Rf	11.4 AU	2.09 %	0.17 Rf	7.0 AU	268.1 AU	1.82 %	AutoGenerated9
4	0.52 Rf	7.8 AU	0.54 Rf	21.5 AU	3.95 %	0.57 Rf	0.8 AU	512.5 AU	3.48 %	AutoGenerated4
5	0.60 Rf	0.8 AU	0.66 Rf	288.5 AU	52.96 %	0.71 Rf	1.5 AU	12524.5 AU	85.02 %	AutoGenerated1



- **Massa sampel dalam 0,5 mL**

$$\begin{aligned} \text{AU} &= 12524.5 \\ 12524.5 &= 26.18x - 679.7 \\ 13204.2 &= 26.18x \\ x &= 504,362 \text{ ng} \end{aligned}$$

- **Kosentrasi kafein**

$$504,362 \text{ ng} \times 10 = 5043,62 \text{ ng}$$

- **Massa kafein yang di dapatkan (ma)**

$$\text{dalam } 0,5 \text{ mL} = 5043,62 \text{ ng} \times \frac{500 \mu\text{L}}{20 \mu\text{L}}$$

$$= 126090,5 \text{ ng}$$

- **Kadar kafein**

$$\frac{\text{massa kafein dalam ekstrak}}{\text{massa sampel}} = \frac{126090,62 \text{ ng}}{0,5 \text{ g}} = \frac{0,1260905 \text{ mg}}{0.0005 \text{ kg}} = 252,181 \text{ mg/kg}$$

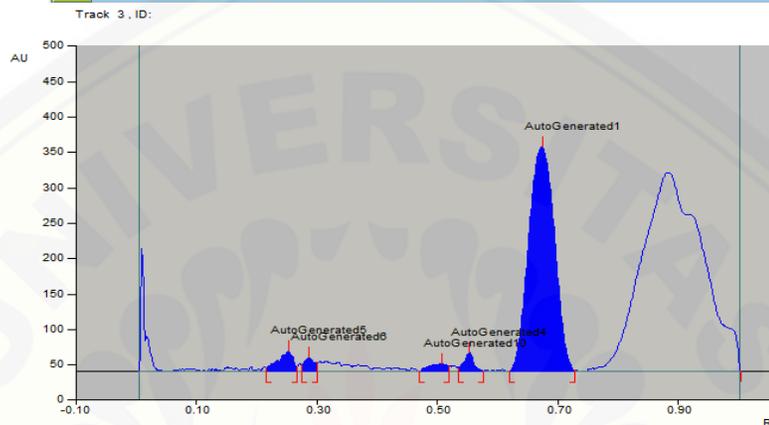
- **Kadar kafein (%)**

$$\frac{\text{massa kafein dalam ekstrak}}{\text{massa sampel}} = \frac{0,1260905 \text{ mg}}{500 \text{ mg}} \times 100\% = 0,0252181\%$$

c. Data densitogram dan perhitungan kadar sample daun kopi Arabika (Sa) Pengulangan III

Track 3, ID:

Peak	Start Position	Start Height	Max Position	Max Height	Max %	End Position	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.21 Rf	4.7 AU	0.25 Rf	29.0 AU	7.18 %	0.26 Rf	6.4 AU	719.7 AU	4.68 %	AutoGenerated5
2	0.27 Rf	9.1 AU	0.28 Rf	20.0 AU	4.95 %	0.30 Rf	11.8 AU	338.6 AU	2.20 %	AutoGenerated6
3	0.47 Rf	0.1 AU	0.50 Rf	11.4 AU	2.82 %	0.52 Rf	7.7 AU	333.4 AU	2.17 %	AutoGenerated10
4	0.53 Rf	5.1 AU	0.55 Rf	26.4 AU	6.55 %	0.57 Rf	0.6 AU	427.1 AU	2.78 %	AutoGenerated4
5	0.62 Rf	0.2 AU	0.67 Rf	316.7 AU	78.50 %	0.72 Rf	1.5 AU	13550.2 AU	88.17 %	AutoGenerated1



- **Massa sampel dalam 0,5 mL**

$$AU = 13550.2$$

$$13550.2 = 26.18x - 679.7$$

$$14229.2 = 26.18x$$

$$x = 543,540 \text{ ng}$$

- **Kosentrasi kafein**

$$543,540 \text{ ng} \times 10 = 5435,40 \text{ ng}$$

- **Massa kafein yang di dapatkan (m_a)**

$$\text{dalam } 0,5 \text{ mL} = 5435,40 \text{ ng} \times \frac{500 \mu\text{L}}{20 \mu\text{L}}$$

$$= 135885 \text{ ng}$$

- **Kadar kafein**

$$\frac{\text{massa kafein dalam ekstrak}}{\text{massa sampel}} = \frac{135885 \text{ ng}}{0,5 \text{ g}} = \frac{0,135885 \text{ mg}}{0.0005 \text{ kg}} = 271,77 \text{ mg/kg}$$

- **Kadar kafein (%)**

$$\frac{\text{massa kafein dalam ekstrak}}{\text{massa sampel}} = \frac{0,135885 \text{ mg}}{500 \text{ mg}} \times 100\% = 0,027177\%$$

- **Kadar kafein rata-rata (%)**

$$\frac{0,01490275\% + 0,025181\% + 0,027177\%}{3} = 0,022\%$$

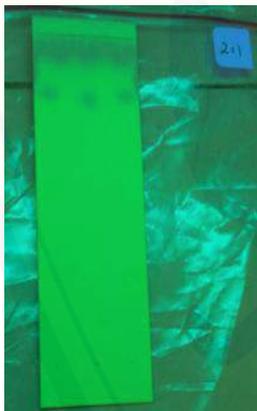
LAMPIRAN G. DOKUMENTASI

G.1. KLT Kurva Kalibrasi

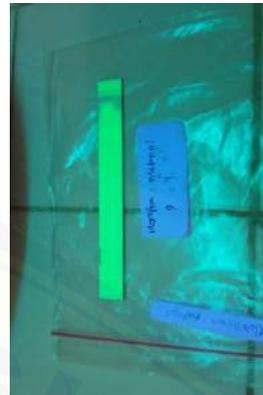
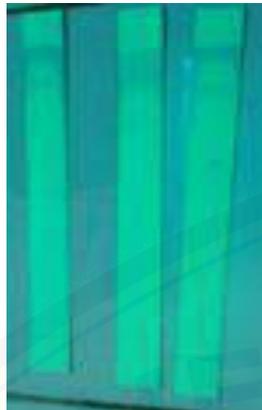


G.2 KLT Optimasi komposisi Eluen

Etil Asetat : Metanol



Kloroform : Metanol



G.3 KLT Uji Presisi



6 ppm



10 ppm



16 ppm

G.4 Uji Kualitatif Metode Parry



Larutan Standar Kafein



Sampel Daun Kopi

