



**PENENTUAN KADAR KAFEIN PADA SAMPEL TEH DI
PASARAN MENGGUNAKAN METODE NIR-KEMOMETRIK**

SKRIPSI

Oleh:

Diana Hanifiyah Sutipno

NIM 152210101012

BAGIAN KIMIA FARMASI

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS JEMBER

2019



**PENENTUAN KADAR KAFEIN PADA SAMPEL TEH DI
PASARAN MENGGUNAKAN METODE NIR-KEMOMETRIK**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Farmasi
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh:

Diana Hanifiyah Sutipno

NIM 152210101012

BAGIAN KIMIA FARMASI

FAKULTAS FARMASI

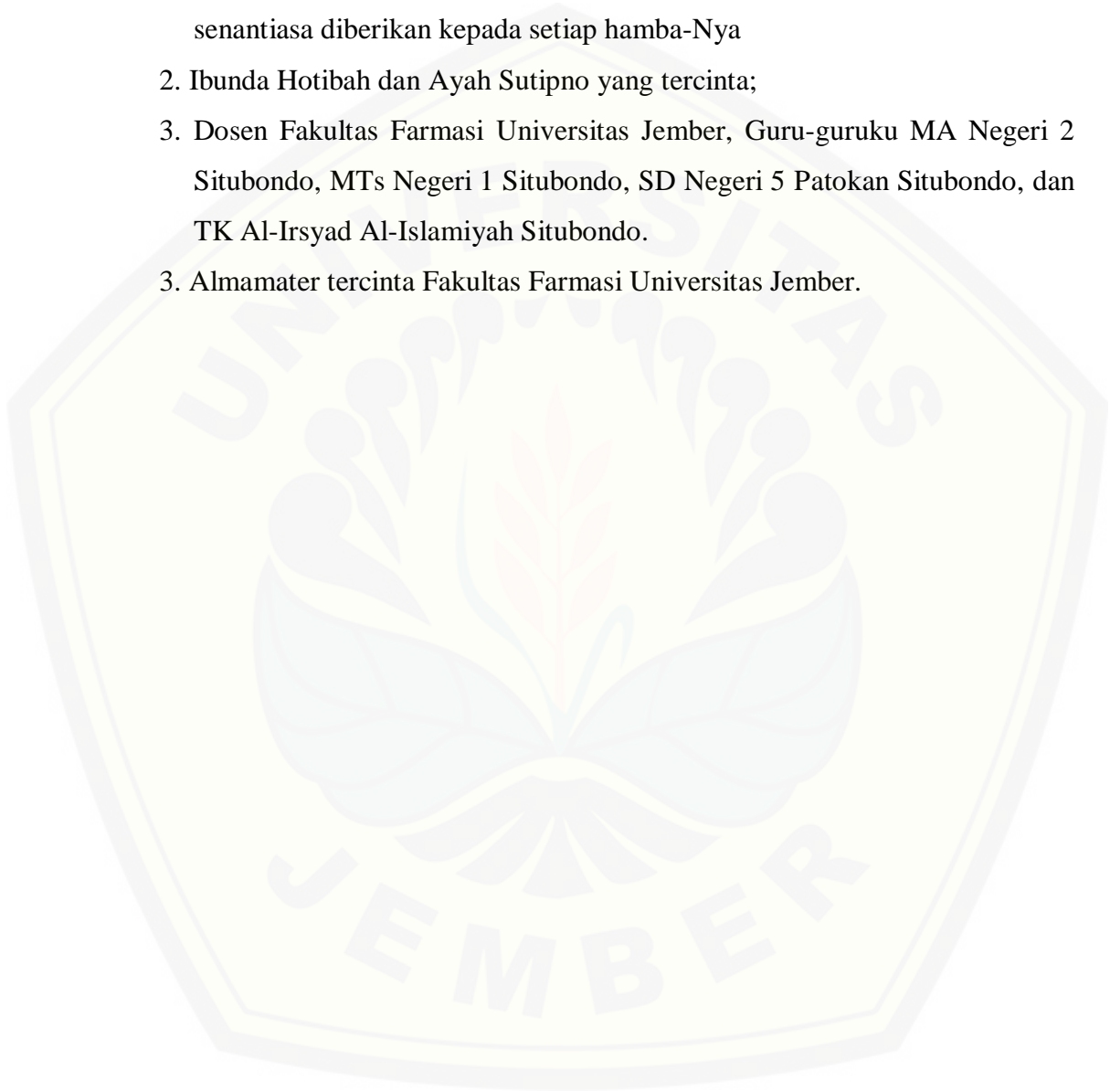
UNIVERSITAS JEMBER

2019

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT atas petunjuk, hidayah, serta limpahan rahmat-Nya yang senantiasa diberikan kepada setiap hamba-Nya
2. Ibunda Hotibah dan Ayah Sutipno yang tercinta;
3. Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember, Guru-guruku MA Negeri 2 Situbondo, MTs Negeri 1 Situbondo, SD Negeri 5 Patokan Situbondo, dan TK Al-Irsyad Al-Islamiyah Situbondo.
3. Almamater tercinta Fakultas Farmasi Universitas Jember.



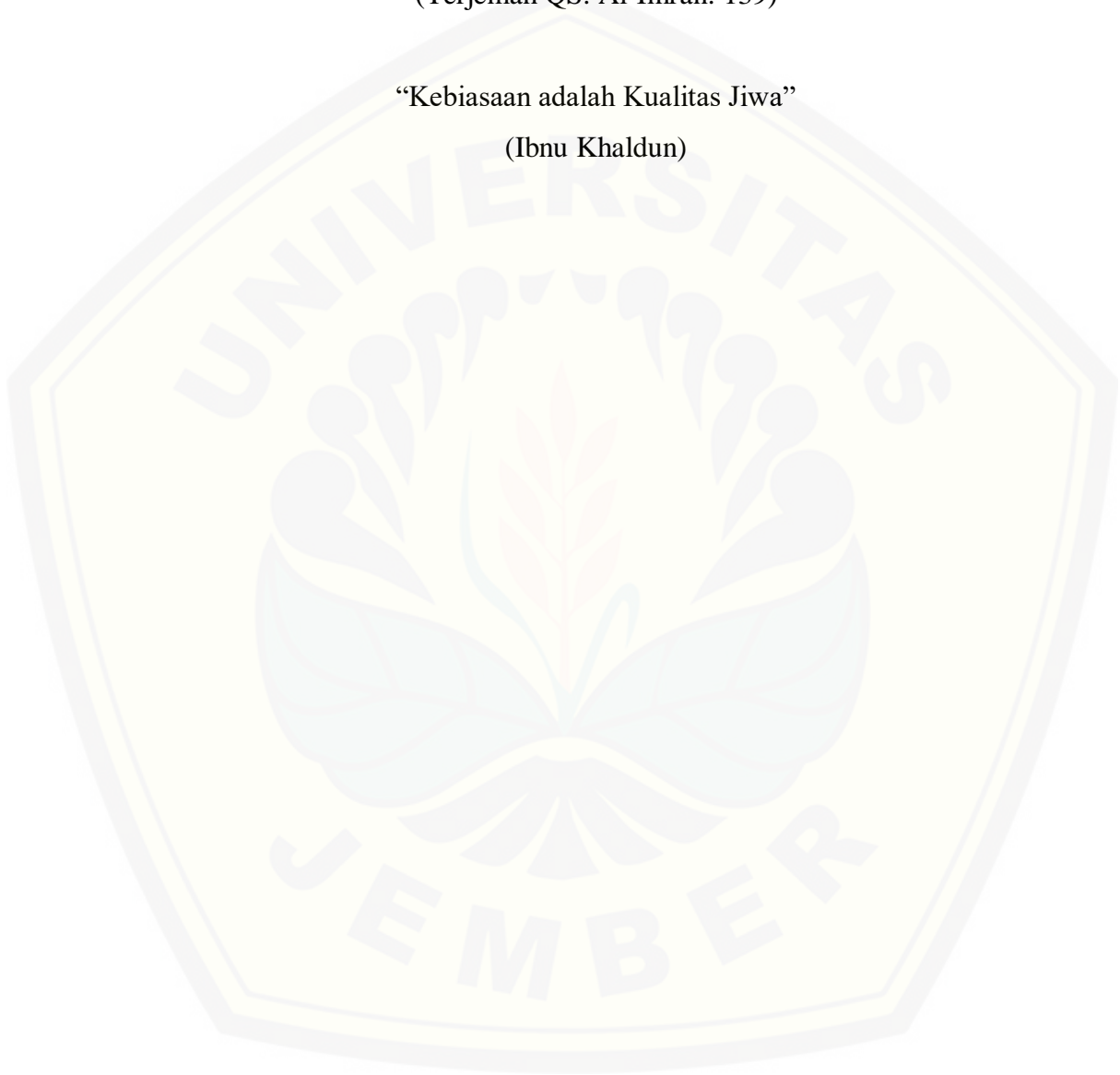
MOTO

“Janganlah Kamu Bersikap Lemah dan Janganlah Pula Kamu Bersedih Hati,
Padahal Kamulah Orang-orang yang Paling Tinggi Derajatnya Jika Kamu
Beriman”

(Terjemah QS. Al-Imran: 139)

“Kebiasaan adalah Kualitas Jiwa”

(Ibnu Khaldun)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Diana Hanifiyah Sutipno

NIM : 152210101012

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul "Penentuan Kadar Kafein Pada Sampel Teh di Pasaran Menggunakan Metode NIR-Kemometrik" adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, 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 mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 18 Juli 2019

Yang menyatakan,

Diana Hanifiyah Sutipno

152210101012

SKRIPSI

**PENENTUAN KADAR KAFEIN PADA SAMPEL TEH DI PASARAN
MENGUNAKAN METODE NIR-KEMOMETRIK**

Oleh:

Diana Hanifiyah Sutipno

NIM 152210101012

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Lesty Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt.

Dosen Pembimbing Anggota : Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc., Apt.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul "Penentuan Kadar Kafein Pada Sampel Teh di Pasaran Menggunakan Metode NIR-Kemometrik" karya Diana Hanifiyah Sutipno telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : 18 Juli 2019

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt.

NIP.197604142002122001

Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc., Apt.

NIP.198504282009121004

Tim Penguji

Dosen Penguji I

Dosen Penguji II

Nia Kristiningrum, S.Farm., Apt., M.Farm.

NIP.198204062006042001

Prof. Drs. Bambang K., M.Sc., Ph.D.

NIP. 196902011994031002

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt.

NIP. 197604142002122001

RINGKASAN

Penentuan Kadar Kafein Pada Sampel Teh di Pasaran Menggunakan Metode NIR-Kemometrik: Diana Hanifiyah Sutipno: 152210101012; 2019; 85 Halaman; Fakultas Farmasi, Universitas Jember

Teh adalah tanaman yang bagian daun dan pucuknya digunakan untuk membuat minuman. Pada dasarnya terdapat empat jenis teh utama yaitu teh hitam, teh hijau, teh oolong, dan teh putih. Keempat jenis teh tersebut dibedakan berdasarkan proses fermentasinya. Teh hitam melalui proses fermentasi, teh hijau tanpa melalui proses fermentasi, teh oolong melalui proses fermentasi sebagian (semifermentasi), sedangkan teh putih diambil dari pucuk daun teh termuda yang langsung diupkan dan dikeringkan tanpa proses fermentasi terlebih dahulu.

Salah satu senyawa utama dalam teh yang dapat memberikan efek kesegaran adalah kafein. Batas maksimum mengkonsumsi kafein menurut keputusan BPOM adalah sebesar 150 mg/hari yang terbagi paling sedikit menjadi tiga dosis. Apabila kafein dikonsumsi dalam jumlah yang tepat maka efeknya dalam meningkatkan kesegaran tubuh akan diperoleh secara langsung, namun sebaliknya jika berlebihan justru dapat membahayakan tubuh seperti percepatan denyut jantung, cemas, bahkan insomnia. Berdasarkan efek samping jika dikonsumsi berlebihan, maka penting untuk dilakukan penentuan kadar kafein dari produk-produk teh yang beredar di pasaran.

Pada penelitian ini penentuan kadar kafein dilakukan menggunakan metode NIR-Kemometrik. Spektroskopi NIR banyak digunakan di dunia analisis pangan karena bersifat non destruktif dan efisien dalam penggunaannya, tetapi spektrum yang dihasilkannya cukup kompleks sehingga dibutuhkan teknik yang dapat memecahkan permasalahan tersebut yang dikenal dengan istilah kemometrik. Tujuan dilakukan penentuan kadar kafein pada sampel teh yaitu untuk mengetahui apakah metode NIR-Kemometrik dapat digunakan untuk menentukan kandungan kafein teh serta apakah terdapat perbedaan yang signifikan antara kadar kafein yang didapat dari metode KLT-Densitometri dibandingkan hasil prediksi NIR.

Kadar kafein pada sampel teh ditentukan menggunakan metode KLT-Densitometri sebagai metode pembanding, kemudian sampel-sampel tersebut *discan* menggunakan Spektroskopi NIR untuk mendapatkan data spektrum. Model kalibrasi dibentuk dengan menggunakan kemometrik (PLS, PCR, dan SVR) kemudian dipilih model yang memiliki kriteria terbaik. Model kalibrasi yang terpilih kemudian divalidasi menggunakan metode validasi jenis *Leave One Out Cross Validation* dan *2-Fold Cross validation*.

Berdasarkan hasil penelitian maka model kalibrasi terbaik yang didapatkan adalah jenis PLS dengan nilai R^2 sebesar 0,9579185 dan RMSE sebesar 0,0698975. Model tersebut divalidasi dengan metode *Leave One Out Cross Validation* dengan cara mengeluarkan sampel BD, JWG, XNO, dan SM secara bergantian, kemudian menggunakan data yang tersisa sebagai *training set*, sedangkan validasi jenis *2-Fold Cross validation* dilakukan dengan menggunakan empat sampel *test set* untuk memvalidasi model. Hasil dari kedua validasi memenuhi parameter R^2 (korelasi) $> 0,91$ serta nilai RMSE (penyimpangan) yang kecil.

Penerapan model PLS dilakukan pada tiga sampel nyata. Uji normalitas sebelumnya dibutuhkan untuk melihat distribusi data, dan hasilnya menunjukkan bahwa nilai nilai probabilitas $>0,05$ maka data yang akan dianalisis telah terdistribusi secara normal, kemudian dapat dilanjutkan Uji T Dua Sampel Berpasangan. Hasil analisis menunjukkan bahwa nilai signifiikasi yang dihasilkan sebesar 0,122 ($>0,05$) sehingga H_0 diterima yang berarti tidak ada perbedaan yang signifikan antara kadar kafein hasil KLT-Densitometri dengan hasil prediksi NIR.



PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Penentuan Kadar Kafein Pada Sampel Teh di Pasaran Menggunakan Metode NIR-Kemometrik”. Skripsi ini disusun guna memenuhi tugas akhir dan salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan Strata Satu (S1) Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini tidak akan dapat terselesaikan dengan baik tanpa bantuan ataupun sumbangan pikiran dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Allah SWT, atas izin-Nya penulis dapat menyelesaikan tugas akhir untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi;
2. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember atas kesempatan yang telah diberikan untuk membantu saya menyelesaikan tugas akhir;
3. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt. selaku Dosen Pembimbing Utama serta Bapak Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang senantiasa meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatiannya dalam membantu penulisan skripsi;
4. Ibu Nia Kristiningrum, S.Farm., Apt., M.Farm. selaku Dosen Penguji I dan Prof. Drs. Bambang K., M.Sc., Ph.D. selaku Dosen Penguji II yang telah memberikan kritik, saran, waktu, dan perhatiannya dalam penulisan skripsi;
5. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan masukan, perhatian, dan bimbingan selama saya menempuh studi;
6. Seluruh dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberi ilmu, berbagi pengalaman dan motivasi untuk penulis selama masa perkuliahan, staf dan karyawan atas segala bantuan yang diberikan selama penulis menjadi mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Jember;

7. Ibunda Hotibah, Ayah Sutipno, Adik Qintharina Mufidah, Adik Farisa Mahira Mauludia atas segala kasih sayang serta pengorbanan yang senantiasa dicurahkan kepada saya;
8. Keluarga besar LIBITUM Angkatan 2015 atas rasa persaudaraan, kekeluargaan, serta kebersamaan selama ini;
9. Ibu Wayan beserta Mbak Hany selaku teknisi Laboratorium Kimia Farmasi Universitas Jember yang telah banyak membantu saya selama penelitian;
10. Ibu Widhi dan Mbak Parka selaku teknisi Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Jember yang telah membantu saya selama penelitian;
11. Pejuang skripsi di Bagian Kimia Farmasi (Mita Seft, Aissa, Enggar, Arini, Ulfa, Nuri, Daniel, Bayu, Asrin, Among, Juju, Ita, Nimas, Resta, Lanjar, Tinton, Gayuh, dkk) yang saling *support* dan telah banyak membantu;
12. Grup “15 Mengejar Target” (Luchi, Husniya, Rizqi, Habibah, Lidya, Najihah, Aisyah) yang selalu ada saat suka maupun duka;
13. Teman-teman santri PPM Al-Husna Jember serta seluruh generasi penghuni kamar L8 yang silih berganti seiring berjalannya waktu;
14. Teman-teman sekaligus keluarga saya di UKKI Asy-Syifa’;
15. Nama-nama yang tidak dapat tertulis satu persatu yang telah memberikan dukungan kepada saya selama ini.

Hanya doa yang dapat penulis ucapkan semoga segala kebaikan ataupun doa yang telah diberikan kepada penulis mendapat balasan dari Allah SWT. Sebagai manusia biasa, penyusunan dan penulisan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharap atas kritik dan saran dari berbagai pihak demi menjadi lebih baiknya skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat yang sebesar-besarnya bagi perkembangan ilmu pengetahuan di masa mendatang.

Jember, 18 Juli 2019

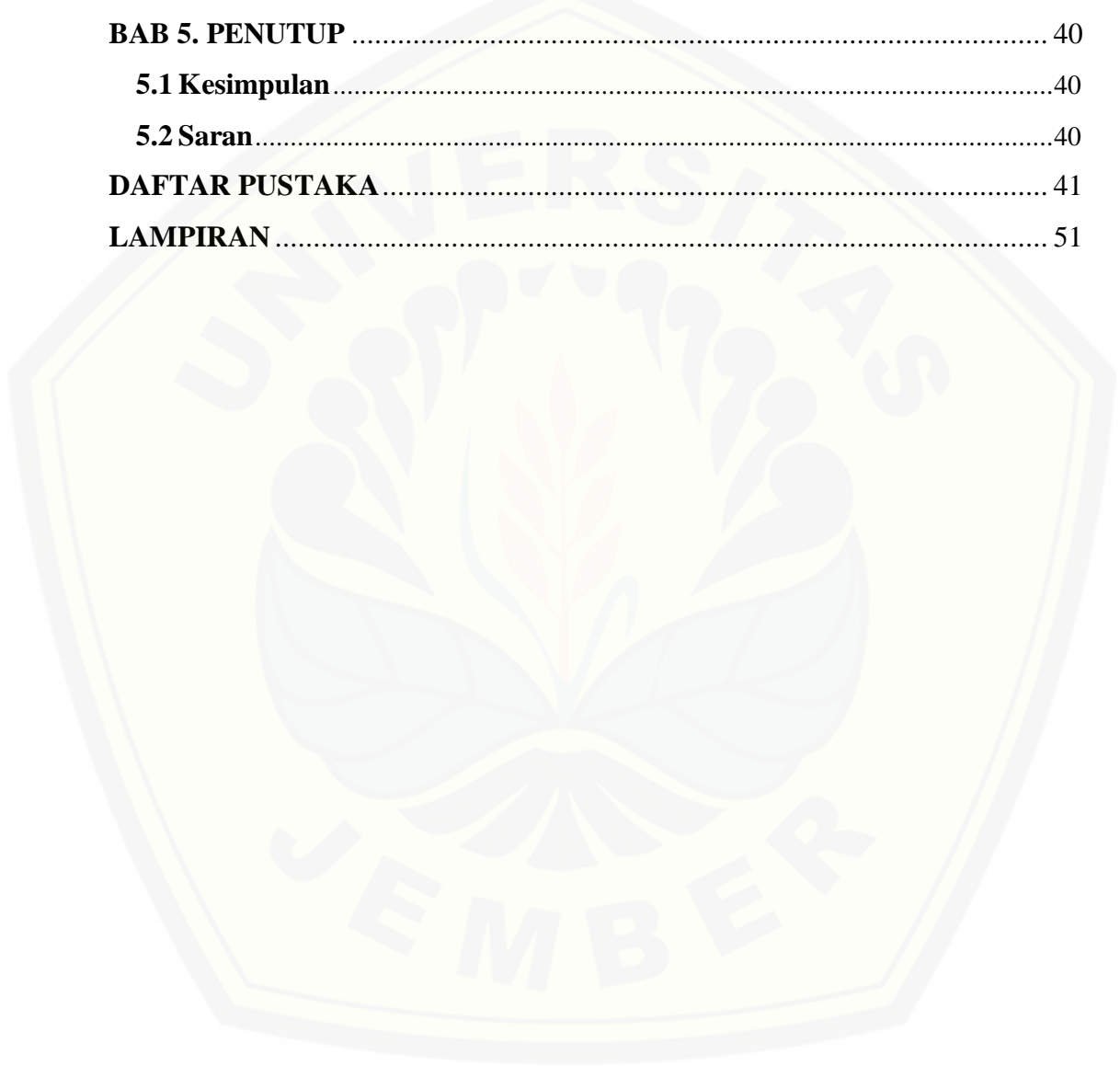
Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL.....	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iii
MOTO.....	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
RINGKASAN.....	viii
PRAKATA.....	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.5 Batasan Penelitian.....	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Tinjauan Tanaman Teh (<i>Camellia sinensis</i>).....	5
2.1.1 Teh Hitam (<i>Black Tea</i>).....	6
2.1.2 Teh Hijau (<i>Green Tea</i>).....	6
2.1.3 Teh Oolong (<i>Oolong Tea</i>).....	6
2.1.4 Teh Putih (<i>White Tea</i>).....	7
2.1.5 Klasifikasi dan Deskriptif <i>Camellia sinensis</i>	7
2.1.6 Manfaat <i>Camellia sinensis</i>	9
2.1.7 Kandungan <i>Camellia sinensis</i>	11

2.2 Kafein	14
2.2.1 Manfaat Kafein	14
2.2.2 Metode Analisis Penentuan Kadar Kafein	15
2.3 Spektroskopi NIR (Near-Infrared)	16
2.4 Analisis Kemometrik	17
2.4.1 Deskripsi Singkat Kemometrik	17
2.4.2 Model Analisis Multivariat	17
2.5 Validasi Silang	20
2.5.1 <i>Leave-One-Out Cross Validation</i> (LOOCV)	21
2.5.2 <i>K-Fold-Cross Validation</i>	21
2.5.3 <i>2-Fold-Cross Validation</i> (2FCV)	21
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	22
3.1 Jenis Penelitian	22
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	22
3.3 Rancangan Penelitian	22
3.4 Alat dan Bahan Penelitian	23
3.4.1 Alat Penelitian	23
3.4.2 Bahan Penelitian	23
3.5 Alur Penelitian	24
3.6 Prosedur Penelitian	25
3.6.1 Pengumpulan Sampel	25
3.6.2 Pembentukan <i>Training set</i>	25
3.6.3 Pembentukan <i>Test set</i>	25
3.6.4 <i>Scanning</i> Sampel Teh dengan NIR	25
3.6.5 Penentuan Kadar Kafein Menggunakan Metode KLT-Densitometri	26
3.6.6 Pembentukan Model Kalibrasi	27
3.6.7 Validasi Model Klasifikasi Kemometrik	28
3.6.8 Aplikasi Pada Sampel Nyata	28
3.6.9 Analisis Data	28
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	29

4.1 Pengumpulan dan Preparasi Sampel Teh (<i>Camellia sinensis</i>)	29
4.2 Penetapan Kadar Kafein	30
4.3 Pembentukan Model Kalibrasi	34
4.4 Validasi Model Kalibrasi	37
4.5 Penerapan Model Terpilih Pada Sampel Nyata	38
BAB 5. PENUTUP	40
5.1 Kesimpulan	40
5.2 Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	51



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Perbandingan nilai ic_{50} teh hitam teh hijau serta standar akarbosa ..	10
Tabel 2.2 Persentase kandungan mikronutrien dari berbagai jenis teh.....	13
Tabel 3.1 Daftar sampel (merek) teh yang digunakan.....	23
Tabel 4.1 Sampel teh yang digunakan dalam penelitian.....	30
Tabel 4.2 Hasil penetapan kadar <i>training set</i> dan <i>test set</i>	33
Tabel 4.3 Hasil kalibrasi sampel <i>training set</i>	35
Tabel 4.4 Hasil LOOCV sampel training set	37
Tabel 4.5 Hasil kadar kafein sampel nyata	39

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 <i>Camellia sinensis</i>	8
Gambar 2.2 Struktur senyawa katekin (Astutiningsih dkk., 2014)	11
Gambar 2.3 Struktur kimia teaflavin (Yassin dkk., 2015).....	12
Gambar 2.4 Struktur kimia kafein.....	15
Gambar 2.5 Instrumentasi NIR (Reich, 2005)	17
Gambar 4.1 Kurva kalibrasi standar kafein	31
Gambar 4.2 Model PLS (a), PCR (b) dan SVR (c) sampel <i>training set</i>	36
Gambar 4.3 Hasil 2-FCV	38

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
LAMPIRAN A. Alat dan Bahan yang Digunakan	51
LAMPIRAN B. Spektrum.....	52
LAMPIRAN C. Identitas Sampel.....	53
LAMPIRAN D. Pembuatan Larutan pada Penetapan Kadar Kafein	54
LAMPIRAN E. Pembuatan Eluen Kloroform : Metanol (9,5:0,5)	57
LAMPIRAN F. Hasil Penentuan Kadar Kafein dengan KLT-Densitometri	57
LAMPIRAN G. Hasil Analisis dengan Metode Kemometrik.....	61
LAMPIRAN H. Hasil Uji T Dua Sampel Berpasangan.....	64
LAMPIRAN I. Tabel Identitas Kemurnian Spektra Sampel dan Standar Kafein .	66

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Teh adalah tanaman yang bagian daun dan pucuknya digunakan untuk membuat minuman. Tanaman teh dapat tumbuh dengan baik di daerah yang mempunyai iklim sejuk. Indonesia yang sebagian daerahnya merupakan pegunungan membuatnya sesuai untuk menjadi tempat pertumbuhan tanaman teh. Pada dasarnya terdapat empat jenis teh utama yaitu teh hitam, teh hijau, teh oolong, dan teh putih. Keempat jenis teh tersebut dibedakan berdasarkan proses fermentasinya. Teh hitam melalui proses fermentasi, teh hijau tanpa melalui proses fermentasi, teh oolong melalui proses fermentasi sebagian (semifermentasi), sedangkan teh putih diambil dari pucuk daun teh termuda yang langsung diuapkan dan dikeringkan tanpa proses fermentasi terlebih dahulu (Hirthe, 2007).

Teh yang saat ini beredar di pasaran tersedia dalam bentuk yang bermacam-macam, ada yang berupa teh instan, teh celup, teh seduh, teh yang dipres, bahkan ada pula yang dikemas dalam bentuk teh stik. Teh instan ada yang berbentuk bubuk maupun teh siap minum. Teh bubuk merupakan teh yang dicampur dengan susu atau perasa seperti vanila, madu, dan buah-buahan. Adapun teh seduh adalah daun teh kering yang telah melewati beberapa proses tertentu dan dikemas dalam kaleng atau wadah dari plastik maupun kertas. Teh celup dibungkus dalam sebuah kantong kecil yang terbuat dari bahan kertas. Pada masa ini masyarakat cenderung mengkonsumsi bentuk teh celup yang tergolong lebih praktis daripada teh seduh karena tidak perlu disaring. Teh yang dipres disebut juga dengan teh “Pur-Erh”, yang dalam pembuatannya dilakukan proses *pressing*. Teh ini dijual dalam bentuk padat dan diambil sedikit demi sedikit ketika ingin diminum, teh tersebut dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama daripada daun teh biasa. Teh stik dikemas dalam lembaran aluminium tipis yang dilubangi sebagai penyaringnya (Vito, tanpa tahun).

Konsumsi teh dapat memberikan manfaat yang secara umum yaitu mengurangi kelelahan, meningkatkan daya tahan fisik dan kewaspadaan mental,

serta berperan dalam proses *recovery* tubuh. Masyarakat mengonsumsi teh untuk tujuan kesehatan dan kecantikan. Salah satu jenis teh yaitu teh hijau yang berperan sebagai penurun berat badan dan penghambat penuaan dini (Sudaryat dkk., 2015). Senyawa utama yang terkandung dalam teh salah satunya adalah kafein. Kafein termasuk salah satu senyawa dari golongan alkaloid turunan xantin yang termetilasi. Batas maksimum mengonsumsi kafein menurut keputusan BPOM adalah sebesar 150 mg/hari yang terbagi paling sedikit menjadi tiga dosis (tanpa tahun). Apabila kafein dikonsumsi dalam jumlah yang tepat maka efeknya dalam meningkatkan kesegaran tubuh akan diperoleh secara langsung, namun sebaliknya jika berlebihan justru dapat memicu percepatan detak jantung, perasaan gugup, cemas bahkan insomnia, sehingga perlu perhatian khusus apabila dikonsumsi oleh orang yang toleransi tubuhnya terhadap kafein masih tergolong kurang, seperti anak-anak dan remaja serta wanita hamil (Heckman dkk., 2010). Berdasarkan efek samping jika dikonsumsi berlebihan, maka penting untuk dilakukan penentuan kadar kafein dari produk-produk teh yang beredar di pasaran.

Terdapat beberapa metode penentuan kandungan kafein yang pernah digunakan yaitu Spektrofotometri UV-Vis (Belay dkk., 2008; Hasanah dkk., 2016; Navarra dkk., 2017), Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) (Bae dkk., 2015; Cunha dkk., 2015; Jiang dkk., 2015; Artanti dkk., 2016; Pokhrel dkk., 2016), dan KLT-Densitometri (Pavlik, 1973; Ford dkk., 2005; Trianto, 2009; Torres Y Torres dkk., 2015). Metode-metode yang telah digunakan tersebut mempunyai beberapa kelemahan yaitu membutuhkan pelarut dan pereaksi tertentu, sehingga para peneliti saat ini dihadapkan pada tantangan untuk dapat mengolah data serta menganalisis hasilnya dengan menggunakan metode analisis yang cepat sekaligus terpercaya. Salah satu metode yang berpotensi untuk digunakan adalah Spektroskopi NIR, karena preparasi sampel dari metode Spektroskopi NIR lebih mudah yaitu tanpa menggunakan tambahan pelarut ataupun pereaksi lain (Rohman dkk., 2011; Shafirany dkk., 2018).

Pada penelitian Kumaravelu dan Gopal (2015) disebutkan bahwa saat ini perkembangan Spektroskopi NIR (*Near-Infrared*) sangat penting dalam dunia teknologi pangan, karena selain bersifat non destruktif ia juga dapat menentukan

kandungan kimia maupun sifat fisika-kimia dari suatu produk makanan. Spektrum yang dihasilkan oleh Spektroskopi NIR cukup kompleks sehingga sulit untuk ditafsirkan. Berdasarkan permasalahan tersebut, maka untuk mengatasinya diperlukan suatu metode yang disebut dengan kemometrik. Salah satu penerapan metode Spektroskopi NIR dalam penentuan kadar senyawa diantaranya yaitu alkaloid yang terdapat pada daun tanaman (Aini, 2016).

Kemometrik adalah sebuah metode pendekatan berbasis statistik dan matematik untuk mencari hubungan antara data spektra dan parameter kimia dari suatu zat yang sulit diukur secara langsung. Kemometrik dan perangkat lunak analisis memungkinkan untuk mengambil lebih banyak informasi dari spektrum kompleks sehingga dapat mengefisiensi pemrosesan data kualitatif maupun kuantitatif (Lavine, 2000; Roggo dkk., 2007). Analisis kemometrik untuk spektrum inframerah berupa metode statistik multivariat. Kombinasi antara metode Spektroskopi NIR dan kemometrik telah terbukti mampu memprediksi suatu zat aktif, membedakan jenis sampel yang berbeda secara cepat dan akurat, serta memastikan kualitas dan keaslian suatu zat (Shafirany dkk., 2018).

Berdasarkan latar belakang yang telah disebutkan maka penting untuk dilakukan penentuan kadar kafein pada sampel teh hitam, teh hijau, teh oolong, dan teh putih yang beredar di pasaran menggunakan metode NIR-Kemometrik. Kandungan kafein yang diperoleh dari analisis menggunakan metode NIR tersebut selanjutnya akan dilakukan uji banding terhadap kadar kafein dari hasil analisis menggunakan KLT-Densitometri. KLT-Densitometri dipilih karena selain jarang dilakukan metode ini juga dapat memisahkan suatu campuran zat (Wulandari, 2011).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka rumusan masalah yang dihasilkan adalah:

1. Apakah metode NIR-Kemometrik dapat menentukan kadar kafein dalam sampel teh yang beredar di pasaran?
2. Apakah kadar kafein dalam sampel teh yang beredar di pasaran yang dianalisis menggunakan metode NIR-Kemometrik dan KLT-Densitometri terdapat perbedaan yang signifikan?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah tersebut maka tujuan penelitian yang akan dilakukan adalah:

1. Mengetahui apakah metode NIR-Kemometrik dapat menentukan kadar kafein dalam sampel teh yang beredar di pasaran.
2. Mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan antara kadar kafein dalam sampel teh yang beredar di pasaran yang dianalisis menggunakan metode NIR-Kemometrik dan KLT-Densitometri.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian yang akan dilakukan adalah:

1. Memberikan informasi mengenai identifikasi kadar kafein dalam sampel teh yang beredar di pasaran menggunakan metode NIR-Kemometrik.
2. Memberikan informasi kepada masyarakat mengenai kadar kafein yang terdapat dalam sampel teh yang beredar di pasaran.

1.5 Batasan Penelitian

Batasan penelitian ini meliputi sampel teh seduh asli dari beberapa merek teh yang tersebar di supermarket dan pasar tradisional di Kabupaten Jember.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tanaman Teh (*Camellia sinensis*)

Camellia sinensis merupakan salah satu spesies tanaman yang berasal dari famili Theaceae. Bangsa Cina telah memanfaatkan spesies tersebut sebagai minuman sejak 2737 SM, sedangkan Jepang baru menanamnya pada tahun ke-8 M. Tanaman teh mulai tersebar ke seluruh dunia ketika para pedagang Belanda secara berturut-turut membawanya ke daerah Eropa, Amerika, dan Afrika. Di Indonesia sejarah perkembangan teh dimulai pada tahun 1684 ketika orang Jerman yang bernama Andreas Cleyer membawa biji teh dan menanamnya sebagai tanaman hias di Jakarta. Teh tersebut juga ditanam di Kebun Raya Bogor yang mampu menghasilkan teh kering dalam jumlah yang besar dan diekspor ke Amsterdam untuk pertama kalinya. Setelah merdeka Indonesia mengambil alih perkebunan teh milik penjajah dan segera melakukan rehabilitasi. Untuk memperkenalkan produk tehnya kepada konsumen, Indonesia bergabung menjadi anggota organisasi teh internasional seperti *United States Tea Council* (Amerika Serikat), *United Tea Council* (Inggris), dan *International Tea Promotion* di Geneva. Usaha tersebut mampu menunjang perkembangan komoditi teh yang dibuktikan dengan banyaknya daerah pemasaran baru di luar negeri (Setyamidjaja, 2000).

Bagian teh yang umumnya digunakan untuk membuat minuman adalah daun dan ranting yang masih muda (Mondal dkk., 2004). Daun *Camellia sinensis* yang telah dipanen pada umumnya melibatkan empat proses dasar untuk menjadi produk teh serbuk yaitu pelayuan, penggulungan, fermentasi (tergantung jenis teh yang akan diproduksi), dan pengeringan (Aftab dkk., 2015). Jenis produk teh serbuk yang umum ditemukan di pasaran adalah teh hitam, teh hijau, teh oolong, dan teh putih. Teh hitam menempati posisi produksi teh tertinggi yaitu mencapai 78%, sedangkan teh hijau hanya sekitar 20%, dan sisanya merupakan persentase gabungan hasil produksi dari teh oolong dan teh putih. Teh-teh tersebut dibedakan berdasarkan cara memproses daun teh setelah dipanen, khususnya ada tidaknya fermentasi pada proses pengolahannya.

2.1.1 Teh Hitam (Black Tea)

Jenis teh ini diproduksi dengan mengusahakan agar polifenol pada pucuk daun dapat terfermentasi sempurna. Proses fermentasi tidak dilakukan oleh mikroba, melainkan dikatalisis oleh enzim polifenol oksidase yang terkandung dalam daun teh. Pada umumnya fermentasi dilakukan selama 2 jam. Selama proses fermentasi polifenol katekin akan teroksidasi menjadi tearubigin serta warna daun menjadi lebih gelap dengan rasa pahit yang berkurang. Daun teh setelah dipanen dilayukan selama sekitar 16-18 jam, kemudian digulung dan digiling menggunakan mesin. Proses penggulungan menyebabkan minyak esensial keluar yang ditandai dengan adanya aroma khas. Pengeringan dilakukan dengan tujuan menurunkan kadar air hingga 4-6%. (Ardheniati, 2008).

Teh hitam disebut sebagai teh terfermentasi sempurna karena hampir seluruh tanin mengalami kondensasi menjadi teaflavin dan tearubigin. Teaflavin bertanggungjawab terhadap kesegaran dan kecerahan, sedangkan tearubigin mempengaruhi warna dan kekentalan dari produk teh serbuk (Lelita dkk., 2009).

2.1.2 Teh Hijau (*Green Tea*)

Teh hijau sangat populer di Cina dan Jepang serta merupakan jenis teh yang paling sedikit mengalami proses pengolahan setelah teh putih (Rohdiana, 2015). Teh ini sering disebut sebagai *unfermented teas* karena tanpa melalui proses fermentasi. Daun teh hijau dapat dipanaskan atau dilayukan menggunakan metode panas matahari langsung atau mesin penguap untuk menginaktivasi enzim polifenol oksidase. Proses pelayuan menggunakan panas matahari hanya dapat dilakukan di daerah yang kering, Indonesia dan asia tenggara tidak sesuai untuk menerapkan metode tersebut karena mempunyai iklim yang lembab. Daun teh kemudian digulung dan dikeringkan di atas panas api sampai daun benar-benar kering (Namita dkk., 2012).

2.1.3 Teh Oolong (*Oolong Tea*)

Teh oolong mempunyai warna dan rasa di antara teh hitam dan teh hijau (T.R. Dias dkk., 2013). Kandungan katekin sekitar 8-20% dari berat kering teh

(Shukla, 2007). Daun teh dibiarkan layu menggunakan sinar matahari sambil digulung secara halus menggunakan mesin atau tangan untuk memfermentasi sebagian polifenol. Apabila proses tersebut sudah dirasa cukup untuk melalui semi fermentasi, maka dilakukan pengeringan. Teh oolong mempunyai bentuk yang khas yaitu berupa gumpalan daun yang terpilin (Rohdiana, 2015).

2.1.4 Teh Putih (*White Tea*)

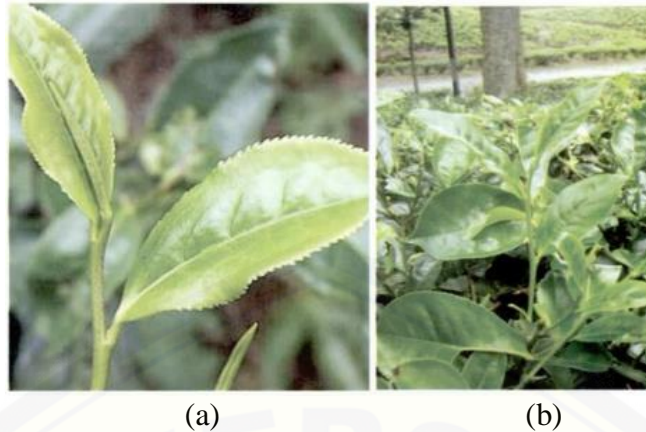
Proses yang terjadi pada teh putih hanya pelayuan dan pengeringan (Rohdiana, 2015). Daun teh melewati proses yang cukup rumit yaitu dibiarkan layu secara alami di ruangan terbuka yang harus diatur suhu dan kelembabannya, sehingga hal inilah yang menjadi salah satu penyebab produksi *white tea* sangat terbatas daripada jenis teh yang lainnya. Apabila telah melewati proses pelayuan, daun teh dikeringkan sesegera mungkin untuk menghilangkan kadar air di dalam daun serta mencegah oksidasi sehingga menghasilkan rasa yang lebih ringan dan lembut (Rusak dkk., 2008). Teh putih berasal dari daun teh yang sangat muda atau daun kuncup yang permukannya dilapisi bulu-bulu halus. Teh ini dipanen setahun sekali di awal musim semi (T.R. Dias dkk., 2013).

2.1.5 Klasifikasi dan Deskriptif *Camellia sinensis*

Klasifikasi tanaman teh menurut Effendi dkk (2010) sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Sub Divisio	: Angiospermae
Class	: Dicotyledoneae
Ordo	: Guttiferales
Famili	: Theaceae
Genus	: <i>Camellia</i>
Spesies	: <i>Camellia sinensis</i> L.
Variasi	: <i>sinensis</i> dan <i>assamica</i>

Kedua varietas tanaman teh (*Camellia sinensis* L.) tersebut dapat dilihat pada Gambar 2.1 berikut.



Gambar 2.1 (a) *Camellia sinensis* var. *assamica*. (b) *Camellia sinensis* var. *sinensis*.
(Sumber: Soraya, 2007)

Camellia sinensis adalah tanaman subtropis yang dapat tumbuh di daerah dataran tinggi. Butuh iklim dan tanah yang sesuai agar tanaman ini dapat tumbuh dengan baik, seperti suhu dengan kisaran 13–15°C, serta pada ketinggian 200–2300 m di atas permukaan air laut (Effendi dkk., 2010). Tanaman teh dapat tumbuh secara alami setinggi 15 m, namun tinggi 60-100 cm telah dianggap cukup untuk memanen daunnya (Mukhopadhyay dkk., 2016). Bunganya berwarna putih dan kuning dengan diameter 2,5-4 cm, ada yang tumbuh secara tunggal maupun berpasangan di bagian *axilar*. Buahnya sendiri berwarna hijau yang di dalamnya terdapat dua sampai tiga biji buah. Tanaman teh hanya dapat berbuah sekitar lima hingga enam tahun setelah penanaman. Daun muda yang baru dipanen berwarna hijau terang dengan rambut putih halus di sisi bawah daun, sedangkan daun yang lebih tua berwarna hijau gelap. Pada umumnya bagian tanaman yang diambil untuk memproduksi teh adalah pucuk atau tunas beserta 2 hingga 3 daun yang terletak di bawahnya (Namita dkk., 2012).

Terdapat dua varietas teh yang utama, varietas *assamica* berasal dari Assam sebagai daerah penghasil teh terbesar di India bagian utara yang mempunyai bentuk daun besar dan ujung meruncing. Varietas *assamica* dapat tumbuh dengan baik di daerah iklim tropis dan lembab seperti di Indonesia. Adapun varietas berdaun kecil dan berujung tumpul tergolong sebagai varietas *sinensis* yang hidup di daerah pegunungan sejuk di Cina, Tibet (Soraya, 2007). Di Indonesia paling

banyak ditanam varietas *assamica* karena sesuai dengan kondisi untuk pertumbuhannya, walaupun beberapa perkebunan juga menanam varietas *sinensis* yang telah disilang agar bisa tumbuh di iklim tropis (Somantri dan Tanti, 2013).

2.1.6 Manfaat *Camellia sinensis*

Masyarakat yang belum dapat menjangkau pelayanan kesehatan formal menggunakan teh yang sudah dikemas untuk mengatasi diare dan meningkatkan daya tahan tubuh (Aszar, 2014). Secara tradisional masyarakat Tiongkok dan India telah menggunakan *green tea* sebagai stimulan, diuretik, dan astringen sejak berabad-abad yang lalu. Jenis teh tersebut juga telah lama digunakan untuk menghentikan keluarnya darah dari daerah yang luka, memperbaiki kesehatan jantung, mengatasi *flatulent* (perut terasa kembung), meregulasi glukosa darah, kesehatan organ pencernaan, dan bahkan dapat memperbaiki perkembangan mental (Winarno dan Kristiono, 2016).

Setianingtyas dkk (2018) memaparkan bahwa teh hitam mampu menurunkan akumulasi plak pada anak yang dibuktikan dengan tidak adanya perbedaan yang signifikan antara berkumur dengan menggunakan fluor maupun dengan teh hitam. Hal tersebut menjadikan teh hitam sebagai bahan alami yang mampu mencegah karies gigi. Menurut penelitian Sudaryat dkk (2015) teh hitam juga berfungsi sebagai antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 97,00 $\mu\text{g/ml}$ yang tergolong antioksidan sedang.

Ekstrak etanol teh oolong dengan konsentrasi 100 ppm mampu menurunkan kadar glukosa yang cukup tinggi yaitu sebesar 72,27% karena pada ekstrak seluruh mineral ikut terlarut sehingga glukosa dapat turun secara optimal (Suprijono dkk., 2018). Penelitian yang dilakukan oleh Holidah dkk (2018) juga menunjukkan bahwa dua jenis teh yang lain yaitu teh hitam dan teh hijau dengan menggunakan metode inhibisi enzim α -glukosidase secara *in vitro* dapat digunakan sebagai antidiabetes, dimana teh hijau mempunyai aktivitas antidiabetes yang lebih tinggi daripada teh hitam. Tabel 2.1 berikut adalah nilai IC_{50} dari kedua jenis teh tersebut.

Tabel 2.1 Perbandingan nilai ic_{50} antara teh hitam dan teh hijau serta standar akarbose

Sampel	IC ₅₀ (µg/ml)
Teh Hitam	54,86
Teh Hijau	44,79
Akarbose	7.111,11

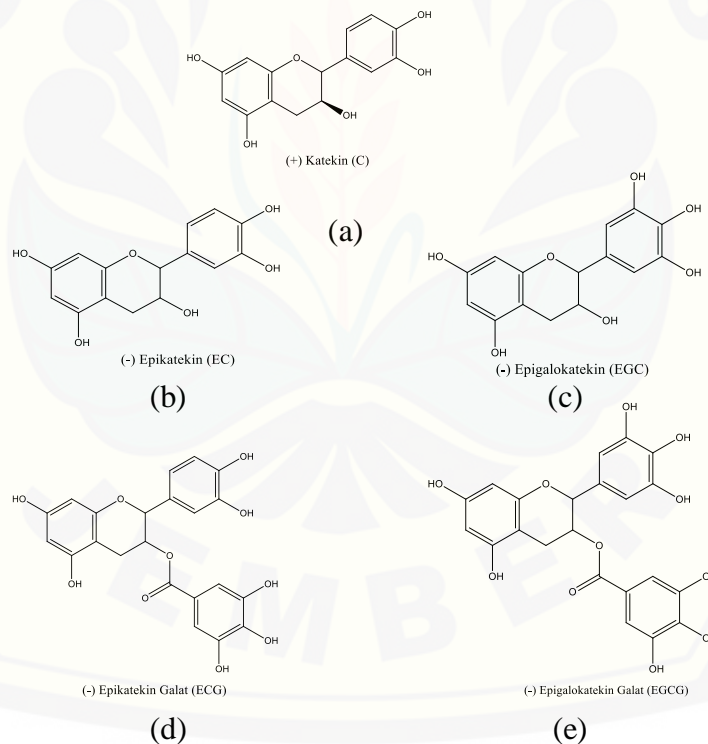
(Sumber: Holidah dkk., 2018)

Bukti bahwa teh hijau dapat mencegah beberapa penyakit kanker seperti saluran pencernaan, paru-paru, payudara, prostat, hati, dan saluran kemih masih kurang akan tetapi masyarakat tetap dapat mengkonsumsinya selama tidak melebihi batas dosis sehari-hari (Boehm dkk., 2016). Teh hijau juga dapat dimanfaatkan untuk antiparkinson karena jumlah dopamin menjadi lebih terjaga (Choi dkk., 2002). Suda dan Kato (1989) menyatakan bahwa dengan meminum tiga cangkir teh hijau perhari maka dapat menurunkan resiko terkena strok sebanyak 21%. Mulyono dan Jembise (2018) juga telah berhasil menemukan bahwa kandungan kafein dalam teh berpotensi untuk meningkatkan jumlah asam urat yang diekskresikan oleh tubuh, sehingga kadar asam urat dalam darah menjadi berkurang. Kafein tersebut berperan sebagai inhibitor kompetitif yang bersaing dengan xantin di dalam tubuh untuk bereaksi dengan xantin oksidase (biokatalisator dalam pembentukan asam urat) sehingga pembentukan asam urat menurun (Rohdiana, 2015). Teh hijau dalam bidang kecantikan dapat digunakan sebagai *antiaging* dan penurun berat badan karena selain bersifat antioksidan, juga mampu mengurangi *intake* makanan seseorang (Kao dkk., 2000; Sudaryat dkk., 2015).

Teh putih juga berkhasiat sebagai antioksidan pada beberapa organ yang berbeda seperti hati (Alves dkk., 2015), paru-paru (Koutelidakis dkk., 2009), otak (Nunes dkk., 2015), dan organ reproduksi (R. Dias dkk., 2013). Potensi teh putih sebagai antidiabetes telah dilaporkan oleh Tenore dkk. (2013) bahwa ekstraknya sebesar 0,5 g yang dilarutkan dalam 20 mL air panas mampu menurunkan kadar glukosa dan kolesterol secara *in vitro* yang lebih baik daripada ekstrak teh hijau maupun teh hitam.

2.1.7 Kandungan *Camellia sinensis*

Daun teh mengandung lebih dari sekitar 700 zat kimia, diantaranya adalah flavonoid, asam amino, vitamin (C, E, dan K), kafein, dan polisakarida yang masing-masing penting untuk kesehatan manusia. Kandungan vitamin C dari teh sebanding dengan lemon (Mondal dkk., 2004). Komponen paling utama dari teh yaitu terdiri dari katekin, teaflavin, dan tearubigin. Katekin merupakan salah satu dari senyawa polifenol yang disebut flavonoid dan termasuk subkelas flavanol. Katekin utama yang terdapat pada daun teh adalah epikatekin, epikatekin galat, epigalokatekin, dan epigalokatekin galat yang kesemuanya menyusun sekitar 25% dari daun teh kering. Pada teh hijau terdapat 30-40% katekin, jumlah ini cukup tinggi karena teh hijau hanya melewati sedikit proses untuk menjadi sebuah produk teh. Gambar 2.2 berikut menunjukkan struktur kimia dari beberapa jenis katekin.



(a) Katekin; (b) Epikatekin; (c) Epigalokatekin; (d) Epikatekin Galat; (e) Epigalokatekin Galat

Gambar 2.2 Struktur senyawa katekin (Astutiningsih dkk., 2014)

Pada teh hitam dan teh oolong proses fermentasi atau lebih tepat disebut oksimatis (oksidasi enzimatis) merangsang enzim polifenol oksidase sehingga katekin dikonversi menjadi teaflavin dan tearubigin, yang keduanya memberi warna merah dan bersifat sebagai astringen. Tearubigin dari teh hitam berkisar antara 10-20%. Teh oolong mengalami proses oksimatis lebih sedikit daripada teh hitam sehingga konsentrasi teaflavin lebih tinggi sedangkan tearubigin lebih rendah daripada teh hitam (Novotny dan Baer, 2013). Struktur kimia teaflavin dapat dilihat pada Gambar 2.3. Adapun istilah tearubigin awalnya digunakan untuk merujuk pada sebuah gugus berwarna dari produk senyawa oksidasi fenolik pada teh. Belum ada literatur yang jelas mengenai struktur kimia tearubigin, akan tetapi ia diketahui sebagai senyawa yang larut air dan bersifat asam (Engelhardt, 2010).



Gambar 2.3 Struktur kimia teaflavin (Yassin dkk., 2015)

Teh juga mengandung sejumlah besar mikronutrien yang diperlukan untuk kesehatan tubuh. Defisiensi mikronutrien merupakan salah satu permasalahan penting pada negara-negara berkembang karena pola makan sumber nabati yang kurang teratur. Karak dkk., (2017) telah melakukan penelitian kandungan mineral terhadap berbagai jenis teh dan hasilnya yaitu tiap jenis teh mengandung B (Boron); Co (Kobalt); Cu (Tembaga), Fe (Besi), Mn (Mangan), Mo (Molibdenum), dan Zn (Zinc). Berdasarkan pernyataan tersebut maka mengkonsumsi tiga cangkir teh tiap hari tidak menghasilkan efek samping berbahaya dan dianjurkan untuk mencukupi kebutuhan mikronutrien tubuh. Persentase masing-masing mikronutrien yang terdapat di dalam tanaman teh dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Persentase kandungan mikronutrien dari berbagai jenis teh

Mikronutrien	Kandungan (%b/b)
B	1,0-88,9
Co	10-60
Cu	2,0-97,8
Fe	67,8-89,9
Mn	71,0-87,4
Mo	13,3-34
Zn	34,9-83

(Sumber: Karak dkk., 2017)

Konsumsi teh saat ini sering dikaitkan dengan dihasilkannya efek antioksidan, antimikroba, antihiperglikemik, antidiabetes, antiinflamasi, dan sebagai pelindung saraf. Efek tersebut disebabkan oleh beberapa kandungan senyawa bioaktif seperti kafein, teobromin, dan alkaloid khususnya pada sistem saraf pusat sehingga dapat meminimalisir angka kejadian bunuh diri (Lucas dkk., 2014), penyakit Parkinson (Xu dkk., 2017), serta dapat menurunkan konsumsi rokok dan alkohol (Evans dkk., 2006).

Katekin dan kafein merupakan dua senyawa utama yang menyumbang peran penting pada kualitas rasa, warna, dan aroma teh (Effendi dkk., 2010). Secara normal daun teh kering mengandung sekitar 20-50 miligram kafein dalam 1 gram daun kering dan 24-50 miligram kafein dalam setiap 150 mililiter teh seduh (Dixit dkk., 2006). Adapun kandungan kafein teh jika diekstraksi menggunakan kloroform berkisar antara 0,69% (kandungan kafein terendah terdapat pada teh hitam) dan 1,33% (kandungan kafein tertinggi terdapat pada teh putih) (Komes dkk., 2009).

Walaupun demikian, komposisi kimia teh tetap bergantung pada faktor-faktor penting seperti spesies teh, waktu pemanenan, umur daun saat dipanen, iklim, komposisi geokimia tanah tempat tumbuh, metode budidaya, pencemaran lingkungan, dan kondisi pengeringan. Faktor lain yang berpengaruh terhadap jumlah kafein yaitu waktu pemanenan seperti penelitian yang telah dilakukan oleh Aftab dkk., (2015). Pada penelitian tersebut menunjukkan bahwa kandungan kafein daun teh segar yang dipanen pada Bulan Agustus lebih tinggi daripada Bulan Juli karena perbedaan kelembaban dan curah hujan.

2.2 Kafein

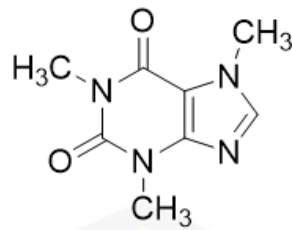
Kafein berasal dari bahasa Jerman *kaffe* dan bahasa Perancis *caf'e* yang sama-sama memiliki arti kopi yang merupakan tempat atau tanaman pertama kali ditemukannya zat tersebut (De Monte dan Gori, 2011). Kafein (1,3,7-*trimethylxanthine*) adalah senyawa non volatil dengan rasa pahit dan merupakan alkaloid purin yang secara alami ditemukan pada biji kopi, daun teh, biji kakao, kola, dan beri, namun kopi dan teh adalah dua sumber utamanya. Kafein dapat larut dalam air dan etanol pada suhu kamar (Zulli dkk., 2016). Suatu penelitian yang bertujuan menentukan kadar kafein pada *Camellia sinensis* telah dilakukan oleh Francis dan Roberts (1999) dan hasilnya menunjukkan bahwa rentang kadar kafein dari teh hitam (1,2-4,6%), teh hijau (1,0-2,4%), dan teh instan (4,0-5,0%).

2.2.1 Manfaat Kafein

Senyawa ini termasuk bahan makanan aktif yang paling banyak dikonsumsi di seluruh dunia. Kandungan kafein dalam satu jenis tanaman belum tentu sama, hal ini disebabkan karena adanya perbedaan dalam kondisi lingkungan saat tumbuh maupun metode pembuatan minuman teh (Heckman dkk., 2010). Senyawa kafein dapat meningkatkan transmisi dopamin dan astilkolin di otak, sehingga menghambat reseptor adenosin (A1 dan A2) yang menyebabkan peningkatan fungsi kognitif tubuh salah satunya yaitu efek stimulan (Einöther dan Giesbrecht, 2013).

Kafein di dalam tubuh diabsorpsi melalui saluran *gastro intestinal* dan didistribusikan ke seluruh cairan tubuh dengan laju absorpsi yang berbeda pada tiap individu. Konsentrasi plasma puncak dicapai kira-kira sekitar 30 sampai 120 menit (Lu dkk., 2004). Senyawa ini di metabolisme di hati dan dapat dieliminasi dari tubuh setelah sekitar rata-rata pada jam ke 4 sampai ke 5 setelah *intake* secara oral (Nurminen dkk., 1999).

Konsumsi kafein kurang dari 400 mg perhari pada manusia dewasa sehat masih tergolong aman (Ferré, 2016). Kafein yang juga mempunyai nama lain *Trimetil santin* mempunyai struktur heterosiklik dengan adanya atom nitrogen serta bersifat basa dengan nilai pH lebih dari 7 (Rahayu dan Rahayu, 2009). Struktur kimia senyawa kafein dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Struktur kimia kafein

2.2.2 Metode Analisis Penentuan Kadar Kafein

Metode yang pernah digunakan untuk menentukan kadar kafein yaitu Spektrofotometri UV-Vis. Prinsip kerjanya yaitu penyerapan energi radiasi oleh larutan, sehingga energi yang diserap menunjukkan jumlah zat dalam larutan tersebut (Triyati, 1985). Adapun kondisi analisis yang digunakan adalah sebagai berikut: pelarut berupa etanol 70% sebanyak 100 mL; penimbangan sampel sebesar 2 g; dan panjang gelombang 272 nm (Navarra dkk., 2017). Metode lain yang digunakan yaitu kromatografi yang didasarkan pada prinsip pemisahan campuran pada sampel berdasarkan perbedaan interaksi sampel antara fase diam dan fase gerak (Rubiyanto, 2017). Pokhrel dkk., (2016) menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) untuk menentukan kandungan kafein pada teh dengan menggunakan KCKT fase terbalik ODS; fase diam berupa C-18 dengan ukuran pori 5 μ ; diameter internal 4,6 mm dengan panjang 150 mm; laju alir 1 mL/menit; suhu kolom 40°C; panjang gelombang 275 nm; fase gerak metanol dan air (40:60); dan volume injeksi sampel 10 μ L.

Adapun kondisi analisis optimum untuk menentukan kadar kafein pada sampel teh celup menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menurut Trianto (2009) yaitu pelarut berupa metanol dengan volume 25 mL; lama ekstraksi 24 jam; fase gerak yang digunakan berupa kloroform dan metanol (9,6:0,4); fase diam silica gel 60 F₂₅₄; panjang gelombang 277 nm; dan penimbangan sampel sebesar 1 g. Dari beberapa metode tersebut KLT merupakan metode yang paling sesuai untuk memisahkan suatu senyawa secara selektif (Wulandari, 2011).

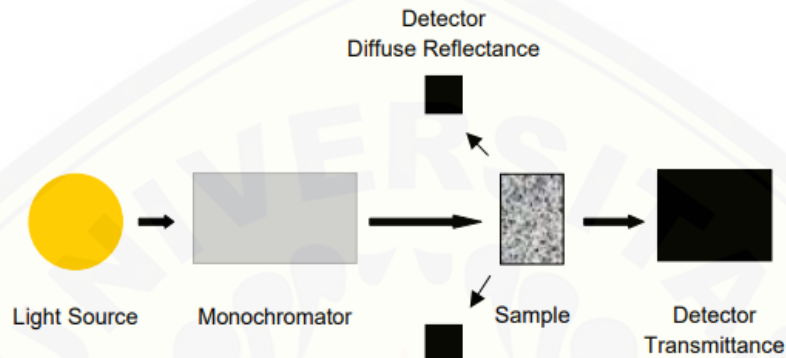
2.3 Spektroskopi NIR (*Near-Infrared*)

Spektroskopi adalah ilmu yang mempelajari materi beserta komponen dan interaksi antara keduanya. Panjang gelombang NIR spektroskopi berkisar antara 780-2800 nm atau setara dengan jumlah gelombang 12800 cm sampai 4000 cm (Schwanninger dkk., 2011). Daerah panjang gelombang NIR dapat dibagi menjadi tiga, yaitu daerah I (800 – 1200 nm; 12500 – 8500 cm⁻¹), daerah II (1200 – 1800 nm; 8500 – 5500 cm⁻¹) dan daerah III (1800 – 2500 nm; 5500 – 4000 cm⁻¹). Daerah I mempunyai transparansi yang tinggi, daerah II merupakan tempat yang dapat mengamati gugus C, O, dan N, sedangkan daerah III mempunyai permeabilitas yang sangat rendah (Ozaki, 2012). Ketika molekul suatu materi menyerap radiasi gelombang inframerah, maka ia akan bervibrasi sehingga pita absorpsinya akan naik sesuai dengan gugus fungsi yang ada (Hapsara dkk., 2012).

Prinsip kerja dari NIR yaitu apabila suatu sampel dikenai radiasi, maka ia akan menyerap, meneruskan, ataupun memantulkan kembali radiasi tersebut. Jumlah keseluruhan energi radiasi dari suatu sampel sebanding dengan jumlah energi yang diserap, diteruskan, dan dipantulkan. Jika energi yang dipantulkan telah terukur, maka pengaturan energi yang diteruskan dapat dilakukan agar mencapai nilai nol sehingga energi penyerapannya dapat dihitung (William dan K, 1990; Osborne dkk., 1993). Komponen lain dari suatu zat yang akan dianalisis juga dapat menyerap energi yang bersifat *noise*, sehingga dibutuhkan suatu regresi linier pada data tersebut (Amin, 2011).

Pada perkembangannya spektroskopi NIR banyak digunakan sebagai teknik analisis non destruktif untuk menentukan bahan kimia dan sifat fisik dari produk makanan. Keuntungan menggunakan NIR yaitu dapat menganalisis sampel dalam bentuk halus maupun utuh (bersifat non destruktif), membutuhkan waktu analisis yang relatif singkat, biaya murah, preparasi sampel tidak rumit, ramah lingkungan, mudah ditransfer, tanpa menggunakan bahan kimia dan dengan suatu spektrum tunggal dapat memprediksi sifat fisika-kimia dari suatu sampel (Buchi, 2005). Instrumentasi NIR umumnya terdiri dari suatu sumber cahaya, monokromator, sampel kompartemen, dan detektor. Sumber radiasi berasal dari suatu padatan lembam yang dihubungkan dengan listrik untuk menghasilkan panas.

Monokromator merupakan alat yang berfungsi untuk mendispersikan sinar dari polikromatik menjadi monokromatik. Sampel yang dianalisis dapat berupa padatan maupun cairan. Detektor ialah alat untuk mengubah sinyal radiasi infra merah menjadi listrik (Reich, 2005). Gambaran dari instrumentasi NIR dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Instrumentasi NIR (Reich, 2005)

2.4 Analisis Kemometrik

2.4.1 Deskripsi Singkat Kemometrik

Kemometrik merupakan suatu metode yang dapat memproses data kualitatif maupun kuantitatif dari beberapa instrumen dengan kualitas buruk, resolusi rendah, sinyal yang sangat kompleks, dan tingkat *noise* yang tinggi. Pada umumnya kemometrik digunakan untuk menunjukkan suatu hubungan statistik antara data spektrum suatu sampel dengan data yang telah diketahui sehingga memungkinkan untuk membentuk suatu model multivariat (Esbensen dkk., 2004).

2.4.2 Model Analisis Multivariat

Analisis multivariat adalah jenis analisis dengan memanfaatkan variabel yang berjumlah sangat banyak sehingga dapat mendeskripsikan suatu sistem untuk dapat diterapkan pada masalah analisis kimia kompleks (Varmuza, 2001). Model analisis multivariat dapat berupa kalibrasi dan klasifikasi. Kalibrasi

digunakan untuk menganalisis data kuantitatif misalnya analisis senyawa dalam campuran, yaitu menggunakan metode multivariat jenis PLS (*Partial Least Square*), PCR (*Principal Component Regression*), dan SVR (*Support Vector Regression*). Adapun klasifikasi adalah bagian dari kemometrik yang dapat memprediksi suatu kelas (kualitatif) berdasarkan data eksperimen yang ada, metode dari analisis kualitatif tersebut terdiri atas LDA (*Linear Discriminant Analysis*), SIMCA (*Soft Independent Modelling of Class Analogy*), dan PARAFAC (*Parallel Factor Analysis*) (Cocchi dkk., 2018). Pada metode-metode tersebut membutuhkan sekelompok sampel yang terbagi menjadi *training set* dan *test set* untuk dapat menghasilkan suatu model. *Training set* adalah sampel yang telah diketahui pengkategorian dan digunakan untuk membentuk model, sedangkan *test set* adalah sampel yang diketahui pengkategorian tetapi digunakan untuk mengevaluasi reliabilitas model yang dibentuk oleh *training set* (Berrueta dkk., 2007).

2.4.3 Analisis Kualitatif dan Kuantitatif

Terdapat beberapa metode analisis kualitatif dan kuantitatif yang telah digunakan untuk meneliti banyaknya senyawa atau menganalisis kemurnian dari suatu sampel. Salah satu metode analisis kualitatif dan kuantitatif yang biasa digunakan masing-masing adalah LDA (*Linear Discriminant Analysis*) dan PLS (*Partial Least Square*) khususnya sesuai untuk sampel-sampel yang mempunyai panjang gelombang tidak berbeda signifikan. LDA mampu membedakan berbagai sampel dengan mengelompokkan sampel yang mirip satu sama lain, sedangkan PLS merupakan model kalibrasi untuk menunjukkan nilai regresi. Model-model tersebut telah diterapkan oleh Inayah, A (2018) pada sampel yang sama untuk meneliti kuantifikasi lemak babi dalam campuran minyak nabati (PLS), serta mengelompokkan campuran minyak babi dan minyak nabati (LDA)

a. PLS (*Partial Least Square*)

PLS merupakan metode analisis jenis regresi dengan cara menghitung algoritma pangkat minimum untuk menghubungkan dua matriks yakni data spektra dan nilai referensi. Metode tersebut sering digunakan dalam teknik spektroskopi untuk menerjemahkan informasi spektra yang saling tumpang tindih, dan adanya

noise yang dihasilkan dari instrumen. Prinsip kerja model ini yaitu variabel independen yang mencakup sebagian besar variasi disebut *latent factors*, sedangkan pada variabel dependen disebut *latent respons*. *Latent factors* digunakan untuk memprediksi *latent respons* yang kemudian diaplikasikan ke seluruh dependen variabel. Pada PLS dilakukan modifikasi hubungan antara set variabel yang diamati dengan sejumlah kecil variabel yang diketahui dengan memasukkan regresi, teknik pengurangan dimensi, dan alat pemodelan (Singh dkk., 2013).

b. PCR (*Principal Component Regression*)

PCR menggunakan metode analisis faktor dimana spektra yang digunakan dalam kalibrasi adalah yang tidak menghasilkan kolinearitas (Rohman dkk., 2014). Keuntungan dari PCR yaitu apabila terdapat suatu komponen yang tidak diketahui, maka secara otomatis dibentuk sebagai komponen utama jika konsentrasinya bervariasi dari kalibrasi sampel yang berbeda (Shafirany dkk., 2018). Prinsip kerja PCR yaitu mentransformasi variabel independen yang berkorelasi menjadi variabel independen baru yang ortogonal dan tidak berkorelasi, hal tersebut bertujuan untuk menyederhanakan variabel yang diamati dengan cara mereduksi dimensinya (Gaspersz V, 1995).

c. SVR (*Support Vector Regression*)

Metode SVR dapat meminimalisir kesalahan general untuk mencapai kinerja yang optimal dengan cara meminimalkan batas atas dari *generalization error* (Mubarok, 2016), metode ini didasarkan pada perhitungan regresi linear dengan pemetaan input data nonlinear (Basak dkk., 2012).

d. PCA (*Principal Component Analysis*)

PCA merupakan metode kemometrik multivariat yang umum digunakan dan dapat mengidentifikasi pola, persamaan dalam data yang dianalisis. Metode ini bertujuan menyederhanakan peubah dengan cara mengurangi dimensi data yang terdiri dari sejumlah besar variabel yang saling berkaitan. Hal ini dilakukan dengan cara mentransformasikan variabel asli yang diukur menjadi variabel tak berkorelasi baru yang disebut komponen utama (Jolliffe, 2002; Shafirany dkk., 2018).

e. LDA (*Linear Discriminant Analysis*)

LDA didasarkan pada penentuan fungsi diskriminan linier, yang memaksimalkan rasio varian antar kelas dan meminimalkan rasio varian dalam kelas. Dalam LDA kelas mengikuti distribusi normal multivariat dan dipisahkan secara linier. LDA dapat disebut sebagai PCA karena sama-sama menggunakan prinsip reduksi. PCA mempertahankan struktur maksimal di antara data dalam dimensi yang lebih rendah, sedangkan LDA bertujuan untuk mencapai pemisahan maksimum di antara kelas yang ada (Berrueta dkk., 2007).

f. SIMCA (*Soft Independent Modelling of Class Analogy*)

Metode ini berdasarkan metode PCA dengan cara menentukan sampel yang tidak diketahui ke dalam suatu kategori analisis yang diterapkan (Shafirany dkk., 2018). Dalam SIMCA, setiap kategori dimodelkan menggunakan PCA, dan dapat dijelaskan oleh sejumlah komponen utama yang berbeda. Jumlah komponen utama untuk setiap kelas *training set* ditentukan oleh validasi silang. Dengan cara ini, sejumlah komponen utama dipertahankan untuk menghitung sebagian besar variasi dalam masing-masing kelas, sambil memastikan rasio *signal-to-noise* yang tinggi dengan tidak memasukkan komponen utama di dalam suatu kelas (Berrueta dkk., 2007).

g. PARAFAC (*Parallel Factor Analysis*)

Metode dekomposisi untuk membentuk model data tiga arah atau lebih yang dimaksudkan untuk data yang memiliki profil variabel kongruen dalam setiap kategori. Metode ini mengandung prinsip bahwa dua matriks data dengan variabel yang sama harus mengandung komponen yang sama (Singh dkk., 2013).

2.5 Validasi Silang

Validasi silang (*cross validation*) adalah teknik untuk mendapatkan suatu kurva regresi terbaik yang dilakukan untuk menetapkan apakah sistem kinerja dari sebuah model dapat diterima atau tidak terutama dalam hal akurasi (Makmur dkk., 2013).

2.5.1 *Leave-One-Out Cross Validation (LOOCV)*

Metode ini bertujuan untuk menguji suatu model melalui reduksi satu data dari sampel yang ada untuk digunakan sebagai *test set* atau data validasi, sedangkan data yang lain digunakan sebagai *training set* untuk mengoptimalkan parameter.

Proses ini dilakukan secara berulang pada tiap sampel yang sekaligus digunakan sebagai data validasi (Makmur dkk., 2013).

2.5.2 *K-Fold-Cross Validation*

Pada umumnya digunakan untuk memperbaiki problem dari penggunaan *hold-out* yang merupakan salah satu jenis teknik validasi paling sederhana dimana penyebaran sampel *training set* dan *test set* seringkali tidak merata sehingga hasil yang didapatkan tidak sesuai (Caffrey, 2013). Teknik ini bekerja dengan cara membagi data dalam jumlah yang hampir sama pada sampel *training* maupun *testing*. Setiap pengulangan ke- k , maka data secara otomatis dianggap sebagai *testing*, sedangkan yang lainnya masuk dalam golongan sampel *training* (Pradhani, 2016). Proses validasi silang yang terjadi sebanyak k kali lipat beserta k -subsampelnya digunakan sebagai satu kali validasi, kemudian didapat rata-rata untuk menghasilkan data tunggal (Pradhani, 2016).

2.5.3 *2-Fold-Cross Validation (2FCV)*

Sebuah teknik validasi silang *K-Fold-Cross Validation* yang sederhana. Semua sampel asli dilakukan pembagian menjadi 2 subsampel. Dari 2 subsampel tersebut, sebuah subsampel dipertahankan untuk menguji sebuah model (*test set*), dan subsampel yang lain digunakan sebagai *training set*. Bagian *test set* digunakan untuk memvalidasi model yang telah ada tersebut.

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian *true experimental laboratories* yang bertujuan untuk mengetahui kadar kafein dalam sampel teh yang beredar di pasaran daerah Jember menggunakan metode analisis NIR-kemometrik.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan mulai bulan Desember 2018 hingga Juni 2019 yang bertempat di Laboratorium Kimia Fakultas Farmasi Universitas Jember. *Scanning* Densitometri dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember.

3.3 Rancangan Penelitian

Prosedur pertama penelitian dimulai dengan pengumpulan 20 sampel teh yang terdiri dari berbagai macam jenis teh di pasaran daerah Jember. Sampel-sampel tersebut dipreparasi untuk menentukan kandungan kafein menggunakan metode KLT-Densitometri dan didiamkan terlebih dahulu selama 24 jam di lemari pendingin untuk memperoleh kandungan kafein yang optimal dari sampel teh.

Model kalibrasi sampel teh ditentukan menggunakan metode NIR-Kemometrik. Sampel *training set* dibuat dan dilakukan *scanning* untuk mendapatkan spektrumnya. Pola spektrum hasil NIR yang dikombinasikan dengan analisis kemometrik PLS, PCR, dan SVR digunakan untuk menganalisis model kalibrasi. Model yang telah dibentuk dievaluasi dengan validasi silang metode *Leave-One-Out-Cross Validation* (LOOCV) dan *2-Fold-Cross Validation* (2FCV). Prosedur selanjutnya adalah penggunaan model yang terbentuk tersebut untuk menetapkan kadar kafein pada sampel teh yang beredar di pasaran Jember serta dilakukan perbandingan dengan data kandungan kafein menggunakan metode KLT-Densitometri.

3.4 Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan di dalam penelitian ini terdiri dari spektroskopi NIR (*Brimrose Luminar 3070*), perangkat lunak *Brimrose*, perangkat lunak *The Unscrambler X 10.2 (Camo)*, Densitometer *CAMAG*, neraca analitik, ultrasonikator, lemari pendingin, pengayak nomor 60, *chamber*, pipet mikro kapiler, pinset, labu ukur, vial, corong, erlenmeyer, gelas ukur, *ball filler*, pipet ukur, pipet volume, penggaris, pensil, dan alat-alat gelas.

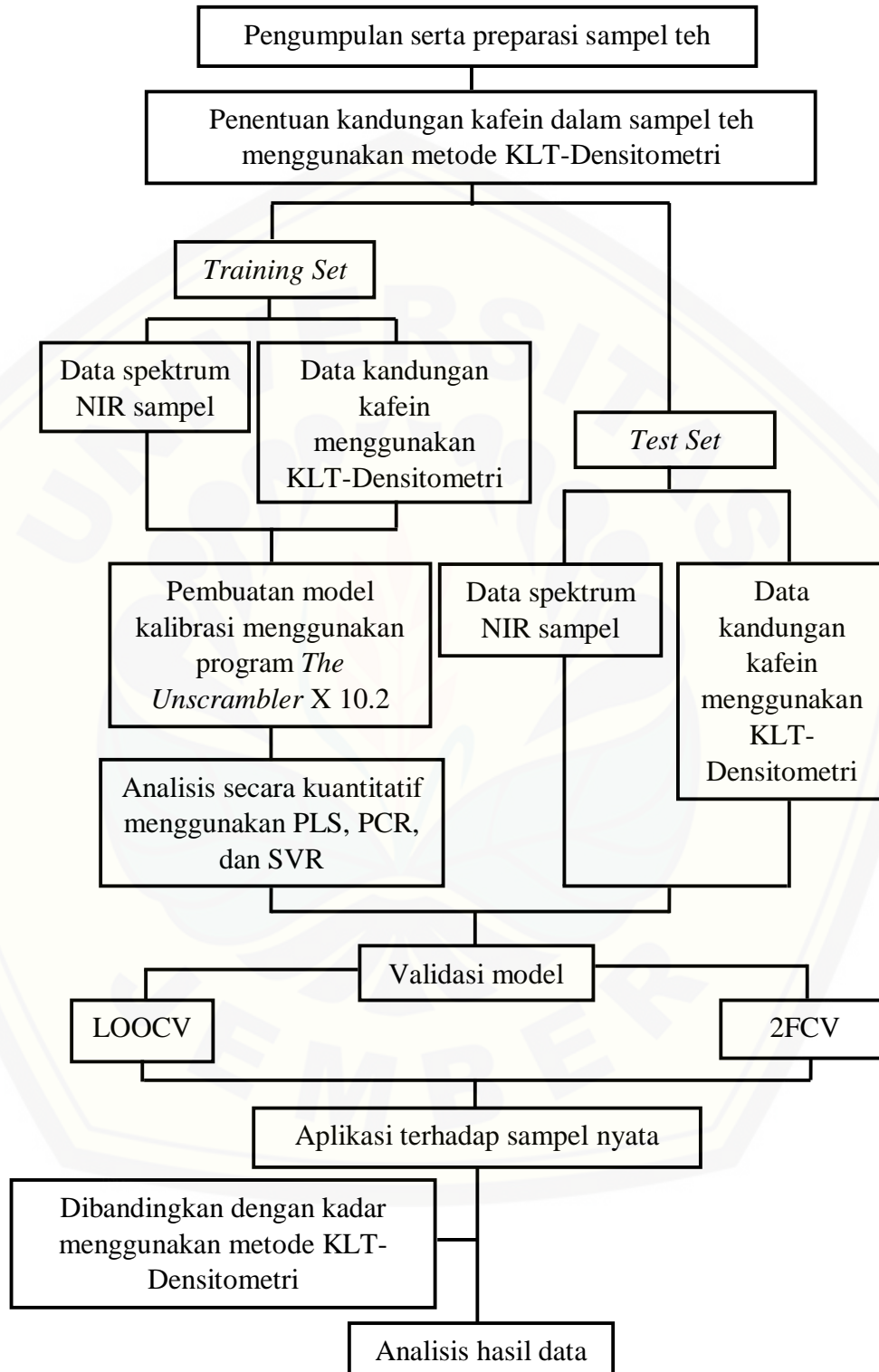
3.4.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan di dalam penelitian ini terdiri dari 20 sampel teh seperti yang ditunjukkan dalam Tabel 3.1, standar kafein, metanol, kloroform, kertas saring, dan lempeng Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

Tabel 3.1 Daftar sampel (merek) teh yang digunakan

No.	Sampel (Merek) Teh	Kode	Jenis Teh
1.	Poci	PC	Teh Hitam
2.	Sariwangi	SR	Teh Hitam
3.	Sosro	SS	Teh Hitam
4.	Sosro Heritage	SSG	Teh Hijau
5.	Dandang	DD	Teh Hitam
6.	Kepala Djenggot	KJ	Teh Hitam
7.	Gardoe	GD	Teh Hitam
8.	Indomaret	IDG	Teh Hijau
9.	Bandulan	BD	Teh Hitam
10.	Naga	NG	Teh Hitam
11.	Cap Botol	BT	Teh Hitam
12.	Cap Botol	BTG	Teh Hijau
13.	Xiamen	XNO	Teh Oolong
14.	Tong Tji	TJ	Teh Hitam
15.	Prendjak	PR	Teh Hitam
16.	Jawa	JWG	Teh Hijau
17.	Balap Sepeda	SB	Teh Hitam
18.	Sarimurni	SM	Teh Hitam
19.	2 Tang	2TG	Teh Hijau
20.	Tjatoet	TJT	Teh Hitam
21.	Zet	ZTW	Teh Putih
22.	Galan 999	GLG	Teh hijau
23.	Gopek	GP	Teh Hitam
24.	Galan	GL	Teh Hijau
25.	Dandang	DD2	Teh Hitam
26.	Sosro	SS2	Teh Hitam
27.	Teh Oolong Online	XOO	Teh Oolong

3.5 Alur Penelitian



3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Pengumpulan Sampel

Teknik sampling yang dipakai yakni *simple random sampling*. Pada teknik ini sampel dipilih secara acak tanpa memperhatikan strata dalam suatu populasi. Cara ini hanya dapat dilakukan jika anggota sampel homogen (Sugiyono, 2011). Sampel teh yang digunakan secara keseluruhan sebanyak 27 buah yang terdiri dari jenis teh hitam, teh hijau, teh oolong, dan teh putih dikumpulkan dari berbagai toko, pusat perbelanjaan, maupun pasar tradisional yang ada di Kabupaten Jember. Sampel teh kemudian dibagi lagi menjadi dua yakni:

3.6.2 Pembentukan *Training set*

Digunakan untuk membentuk sebuah model klasifikasi dari objek/sampel yang masing-masing kategorinya telah diketahui (Berrueta dkk., 2007). Sampel *training set* dipilih sebanyak 20 sampel teh di pasaran yang terdiri dari berbagai jenis teh dengan merek yang berbeda.

3.6.3 Pembentukan *Test set*

Digunakan untuk menguji kehandalan dari suatu model klasifikasi kemometrik yang terbentuk oleh *training set* dimana kategori objek atau sampel dari *test set* tersebut juga telah diketahui (Berrueta dkk., 2007). Pembentukan *test set* dilakukan dengan cara memilih 4 merek sampel teh berbeda di pasaran.

3.6.4 *Scanning* Sampel Teh dengan NIR

Masing-masing sampel teh digerus hingga halus kemudian diayak menggunakan ayakan nomor 60. Instrumen NIR *Luminar 3070* dinyalakan dengan cara menekan tombol *power* kemudian ditunggu hingga 30 menit dengan tujuan untuk memberikan waktu pemanasan pada alat. Langkah selanjutnya adalah membuka perangkat lunak *Brimrose*, sampel teh yang telah dipreparasi ditempatkan di atas plat sampel sambil ditekan perlahan agar permukaan sampel menjadi rata. Penyesuaian spektra dilakukan dengan cara mengatur sinyal agar terletak di antara 40-50.000. Jika sinyal telah mencapai persyaratan rentang, maka prosedur selanjutnya memberi nama file dan menentukan lokasi penyimpanan data

di komputer. Setiap sampel dilakukan pemindaian sebanyak 5 kali dan tiap kali pemindaian dikenai 5 kali penembakan. Prosedur tersebut juga diaplikasikan pada seluruh sampel teh dengan memberi nama yang berbeda untuk masing-masing sampel tersebut. Setelah *scanning* selesai dilakukan pada seluruh sampel teh, *Brimrose* ditutup kemudian membuka program *The Unscrambler X 10.2*. untuk mengolah data yang telah dihasilkan tersebut. NIR *Luminar 3070* dimatikan dengan menekan kembali tombol *power*.

3.6.5 Penentuan Kadar Kafein Menggunakan Metode KLT-Densitometri Ekstraksi sampel teh dan penentuan kadar kafein menggunakan penelitian Trianto (2009) dengan modifikasi.

a. Pembuatan Larutan Standar Kafein

Standar kafein ditimbang sebanyak 50 mg dan 30 mg, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml dan dilarutkan menggunakan metanol sampai tanda batas. Didapat larutan induk standar kafein dengan konsentrasi masing-masing 2000 $\mu\text{g/ml}$ dan 1200 $\mu\text{g/ml}$. Larutan induk 2000 $\mu\text{g/ml}$ diencerkan menjadi konsentrasi 500 $\mu\text{g/ml}$, 800 $\mu\text{g/ml}$, dan 1000 $\mu\text{g/ml}$. Sementara itu, larutan induk 1200 $\mu\text{g/ml}$ menjadi 300 $\mu\text{g/ml}$ dan 600 $\mu\text{g/ml}$ dengan cara memipet sejumlah tertentu dari larutan induk kafein yang kemudian dimasukkan masing-masing ke dalam vial dan ditambahkan dengan metanol.

b. Pembuatan Larutan Sampel

Sampel teh ditimbang masing-masing sebesar 400 mg yang direplikasi sebanyak tiga kali. Sampel teh dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml dan dilarutkan menggunakan metanol hingga tanda batas. Sampel dimasukkan dalam ultrasonikator dan dijalankan selama 10 menit. Larutan sampel tersebut selanjutnya didiamkan selama 24 jam di dalam lemari pendingin untuk mengoptimalkan kafein yang sedang diekstraksi dan kemudian disaring ke dalam vial menggunakan kertas saring.

c. Penentuan Kandungan Kafein

Penentuan kandungan kafein pada penelitian ini menggunakan metode penelitian Trianto (2009) dengan modifikasi. Seluruh larutan standar kafein (300

$\mu\text{g/ml}$, 500 $\mu\text{g/ml}$, 600 $\mu\text{g/ml}$, 800 $\mu\text{g/ml}$, dan 1000 $\mu\text{g/ml}$) beserta larutan sampel ditotolkan masing-masing sebanyak 2 μl pada lempeng KLT dengan menggunakan pipet mikro kapiler. Setelah hasil totolan kering, lempeng dimasukkan ke dalam *chamber* yang telah dijenuhkan oleh eluen kloroform : metanol (9,5:0,5). Apabila eluen telah mencapai batas eluasi, lempeng diangkat dan dikeringkan. Noda hasil eluasi dilakukan *scanning* serta dilihat kemurnian spektra yang dihasilkan menggunakan Densitometer CAMAG. Kandungan kafein dalam sampel teh dihitung berdasarkan data hasil *scanning* tersebut.

d. Perhitungan

Nilai konsentrasi yang dihasilkan dari *scanning* noda sampel dikonversikan sesuai banyaknya volume penotolan dan pengenceran, kemudian dihitung kandungan kafein dalam masing-masing sampel teh yang dinyatakan dengan persentase mg kafein per mg serbuk teh (%b/b).

3.6.6 Pembentukan Model Kalibrasi

Data spektrum dari NIR yang berupa konsentrasi dan absorbansi sampel teh beserta standar kafein dianalisis menggunakan metode PLS, PCR, dan SVR. Nilai absorbansi disebut sebagai prediktor (x) sedangkan konsentrasi disebut sebagai respon (y). Program *The Unscrambler X 10.2*. dibuka > *file* > *import data* > *Brimrose* > *Browse* > pilih data > *OK*, data berupa panjang gelombang dari masing-masing sampel akan muncul. Langkah selanjutnya adalah menambahkan 1 kolom untuk konsentrasi > *define range* > *column range* (diisi dengan nilai konsentrasi pada kolom 1 dan absorbansi pada kolom yang lainnya) > *OK*. Pembentukan model dilakukan dengan cara mengklik *tasks* > *analyze* > model kalibrasi *Partial Least Squares Regression* untuk PLS, *Principal Component Regression* untuk PCR, dan *Support Vector Machine Regression* untuk SVR. Hal yang harus diperhatikan untuk memilih pemodelan terbaik adalah nilai RMSE dan R^2 . Suatu model dinyatakan mempunyai kemampuan prediksi yang baik apabila memiliki nilai RMSE yang kecil dan nilai R^2 yang besar atau mendekati nilai 1.

3.6.7 Validasi Model Klasifikasi Kemometrik

a. *Leave-One-Out-Cross Validation* (LOOCV)

Sebuah sampel pada model kalibrasi yang dibentuk oleh *training set* dikeluarkan kemudian sisa data sampel yang tersisa digunakan untuk membentuk model kalibrasi yang baru. Proses ini dilakukan secara berulang kali pada setiap sampel pengamatan sehingga dihasilkan data sebagai hasil dari kinerja uji validasi.

b. *2-Fold Cross-Validation* (2FCV)

Sampel pengamatan dibagi menjadi 2 bagian secara acak yang berukuran sama, satu bagian sampel yang disebut *test set* dipertahankan sebagai data validasi untuk menguji model dan sampel yang tersisa digunakan sebagai *training set*. Proses validasi selanjutnya dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali, dimana masing-masing sampel digunakan tepat hanya sekali sebagai data validasi. Hasilnya kemudian dirata-rata untuk menghasilkan data tunggal.

3.6.8 Aplikasi pada Sampel Nyata

Apabila model kalibrasi yang dibentuk telah valid, maka model tersebut dapat diterapkan pada sampel nyata. Sampel nyata terdiri dari 3 jenis teh yaitu teh hijau, teh oolong, dan teh putih dengan merek yang berbeda dari sampel yang digunakan pada *training set* maupun *test set*. Preparasi sampel dilakukan dengan cara menggerus sampel hingga halus dan mengayak sampel dengan ayakan nomor 60, kemudian sampel diletakkan di tempat sampel Spektroskopi NIR sampai homogen dan padat, kemudian dipindai dengan panjang gelombang 850 – 2000 nm untuk mendapatkan data spektrum absorbansi. Metode KLT-Densitometri digunakan sebagai metode pembandingan.

3.6.9 Analisis Data

Data analisis kadar kafein yang dihasilkan dari NIR-kemometrik dibandingkan dengan data analisis kandungan kafein menggunakan metode KLT-Densitometri. Kemudian dilakukan Uji T Dua Sampel Berpasangan.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang didapat dari penelitian ini adalah:

1. Kadar kafein sampel teh (*Camellia sinensis*) dapat ditentukan menggunakan metode NIR dan kemometrik menggunakan model kalibrasi jenis PLS yang mempunyai nilai R^2 sebesar 0,9579185 dan RMSE sebesar 0,0698975.
2. Hasil analisis perbandingan kadar kafein dari metode NIR dan KLT-Densitometri yang dilakukan menggunakan Uji Analisis T Dua Sampel Berpasangan menghasilkan nilai signifikansi sebesar 0,122 atau $>0,05$. Jadi, dapat disimpulkan bahwa kedua metode yang digunakan untuk menentukan kadar kafein tersebut tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan.

5.2 Saran

1. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka penulis menyarankan bahwa perlu dilakukan pengembangan model klasifikasi untuk membedakan antara teh hitam, teh hijau, teh oolong, dan teh putih.
2. Memperbanyak sampel untuk memperluas rentang kalibrasi kadar kafein.

DAFTAR PUSTAKA

- Aftab, S., M. Saleem, S. Farrukh, A. Waheed, S. Aslam, B. Shamrez, dan F. Syiar. 2015. Effect of different timing of withering on polyphenols and caffeine contents of black tea *camellia sinensis* l . *Moroccan Journal of Chemistry*. 3:618–626.
- Aini, N. 2016. Penentuan kadar alkaloid pada ekstrak daun tanaman menggunakan metode nir dan kemometrik. *Skripsi*. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Alves, M., A. Martins, N. Teixeira, L. Rato, P. Oliveira, dan B. Silva. 2015. Differential effects of the parental photothermal environment on development of dormancy in caryopses of *aegilops kotschyi*. *Journal of Experimental Botany*. 27(1):43–48.
- Amin, M. S. 2011. Pengkajian metode near infrared (nir) untuk evaluasi mutu pakan ayam broiler secara cepat dan akurat. *Tesis*. Bogor: Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor.
- Anjarsari, I. R. D. 2016. Katekin teh indonesia : prospek dan manfaatnya. *Jurnal Kultivasi*. 15(2):99–106.
- Ardheniati, M. 2008. Kinetika fermentasi pada teh kombucha dengan variasi jenis teh berdasarkan pengolahannya. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Pertanian Universitas Sebelas.
- Arifianti, L., R. D. Oktarina, dan I. Kusumawati. 2014. Pengaruh jenis pelarut pengekstraksi terhadap kadar sinensetin dalam ekstrak daun *orthosiphon stamineus* benth. *E-Journal Planta Husada*. 2(1):3–6.
- Artanti, A. N., W. R. Nikmah, H. Setiawan, dan F. Prihapsara. 2016. Perbedaan kadar kafein daun teh (*camellia sinensis* (l.) kuntze) berdasarkan status ketinggian tempat tanam dengan metode hplc. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*. 01(01):37–44.
- Ashley, K., R. N. Andrews, dan M. Demange. 2001. Ultrasonic extraction as a sample preparation technique for elemental analysis by atomic spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* 16:1147–1153.

- Astutiningsih, C., W. Setyani, dan H. Hindratna. 2014. Uji daya antibakteri dan identifikasi isolat senyawa katekin dari daun teh (*camellia sinensis* L. var *assamica*). *Jurnal Farmasi Sains Dan Komunitas*. 11(2):50–57.
- Aszar, F. D. D. 2014. Manfaat daun teh : sebagai imunomodulator dan manfaat lainnya bagi kesehatan. *Igarss 2014*. (X):1–5.
- Atun, S. 2014. Metode isolasi dan identifikasi struktur senyawa organik bahan alam. *Jurnal Konservasi Cagar Budaya Borobudur*. 8(2):53–61.
- Bae, I. K., H. M. Ham, M. H. Jeong, D. H. Kim, dan H. J. Kim. 2015. Simultaneous determination of 15 phenolic compounds and caffeine in teas and mate using rp-hplc/uv detection: method development and optimization of extraction process. *Food Chemistry*. 172:469–475.
- Basak, D., S. Pal, dan D. C. Patranabis. 2012. Support vector regression. *Neural Information Processing – Letters and Reviews*. (November 2007):220–229.
- Belay, A., K. Ture, M. Redi, dan A. Asfaw. 2008. Measurement of caffeine in coffee beans with uv/vis spectrometer. *Food Chemistry*. 108(1):310–315.
- Berrueta, L. A., R. M. Alonso-Salces, dan K. Héberger. 2007. Supervised pattern recognition in food analysis. *Journal of Chromatography A*. 1158(1–2):196–214.
- Boehm, K., F. Borrelli, E. Ernst, G. Habacher, H. Sk, S. Milazzo, dan M. Horneber. 2016. Green tea (*camellia sinensis*) for the prevention of cancer (review). *Cochrane Library*. (3)
- Brereton, R. G. 2007. *Applied Chemometrics for Scientist*. England: John Wiley & Sons Ltd.
- Buchi. 2005. *Manual NIRLab N-200*. Thailand: Buchi asean Competence Center.
- Caffrey, J. 2013. Understanding and Using K-Fold Cross-Validation for Neural Networks.
<https://visualstudiomagazine.com/articles/2013/10/-0A01/understandingand-using-kfold.aspx> [Diakses pada 2 Maret 2019]
- Choi, J.-Y., C.-S. Park, D.-J. Kim, M.-H. Cho, B.-K. Jin, J.-E. Pie, dan W.-G. Chung. 2002. Prevention of nitric oxide-mediated 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced parkinson's disease in mice by tea.

NeuroToxicology. 23(07):367–374.

Cocchi, M., A. Biancolillo, dan F. Marini. 2018. *Chemometric Methods for Classification and Feature Selection*. Edisi 1. Rome: Elsevier B.V. *Comprehensive Analytical Chemistry*.

Cunha, R. R., S. C. Chaves, M. M. A. C. Ribeiro, L. M. F. C. Torres, R. A. A. Muñoz, W. T. P. D. Santos, dan E. M. Richter. 2015. Simultaneous determination of caffeine, paracetamol, and ibuprofen in pharmaceutical formulations by high-performance liquid chromatography with uv detection and by capillary electrophoresis with conductivity detection. *Journal of Separation Science*. 38(10):1657–1662.

De Monte, A. dan C. Gori. 2011. Major ozonated autohaemotherapy in the treatment of limb ulcers not responding to conventional therapy. *International Journal of Ozone Therapy*. 10(2):85–98.

Dias, R., M. G. Alves, S. Socorro, B. M. Silva, dan P. F. Oliveira. 2013. White tea as a promising antioxidant medium additive for sperm. *J. Agric. Food Chem.* 62:608–617.

Dias, T. R., G. Tomás, N. F. Teixeira, M. G. Alves, P. F. Oliveira, dan B. M. Silva. 2013. White tea (*camellia sinensis* (L.)): antioxidant properties and beneficial health effects. *International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics (IJFS)*. 2(2):19–26.

Dixit, A., N. Vaney, dan O. P. Tandon. 2006. Effect of caffeine on central auditory pathways: an evoked potential study. *Hearing Research*. 220(1–2):61–66.

Effendi, D. S., M. Syakir, M. Yusron, dan Wiratno. 2010. *Budidaya Dan Pasca Panen Teh*. Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. Kementerian Pertanian.

Einöther, S. J. L. dan T. Giesbrecht. 2013. Caffeine as an attention enhancer: reviewing existing assumptions. *Psychopharmacology*. 225(2):251–274.

Engelhardt, U. H. 2010. *Chemistry of Tea*. Dalam Elsevier Ltd. Braunschweig, Germany: Institut für Lebensmittelchemie.

Esbensen, K. H., D. Guyot, dan L. P. Houmøller. 2004. *Multivariate Data Analysis – In Practice*. Edisi 5th. Esbjerg: Camo.

- Evans, A. H., A. D. Lawrence, J. Potts, L. MacGregor, R. Katzenschlager, K. Shaw, J. Zijlmans, dan A. J. Lees. 2006. Relationship between impulsive sensation seeking traits, smoking, alcohol and caffeine intake, and parkinson's disease. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*. 77(3):317–321.
- Ferré, S. 2016. Mechanisms of the psychostimulant effects of caffeine: implications for substance use disorders. *Psychopharmacology*. 233(10):1963–1979.
- Ford, M. J., M. A. Deibel, B. A. Tomkins, dan G. J. Van Berkel. 2005. Quantitative thin-layer chromatography/mass spectrometry analysis of caffeine using a surface sampling probe electrospray ionization tandem mass spectrometry system. *Analytical Chemistry*. 77(14):4385–4389.
- Francis, F. J. dan H. . Roberts. 2018. *Food Science and Technology, Second Edition*. Dalam Willey Encyclopedia of Food Science and Technology 2nd Edition. Editor G. Campbell-Platt. UK.
- Hapsara, S. A., G. M. Sitoresm, dan S. R. Ferdy. 2012. Pengukuran massa gula jagung dengan membandingkan spektrum gula jagung menggunakan spektroskopi nir (near infra red). *Skripsi*. Salatiga: FMIPA Universitas Kristen Satya Wacana.
- Hasanah, U., R. K. Wardani, dan M. A. H. F. Fernanda. 2016. Analisis kadar kafein dari serbuk teh hitam , teh hijau dan teh putih (*camellia sinensis* l .). *Journal of Pharmacy and Science*. 1(1):21–23.
- Heckman, M. A., J. Weil, dan E. G. de Mejia. 2010. Caffeine (1, 3, 7-trimethylxanthine) in foods: a comprehensive review on consumption, functionality, safety, and regulatory matters. *Journal of Food Science*. 75(3):77–87.
- Hilal, Y. dan U. Engelhardt. 2007. Characterisation of white tea – comparison to green and black tea. *Journal Für Verbraucherschutz Und Lebensmittelsicherheit Journal of Consumer Protection and Food Safety*. 2:414–421.
- Hirthe, K. 2007. Identification and comparison of phenolic compounds in the preparation of oolong tea manufactured by semifermentation and drying processes. *Agricultural and Food Chemistry*. 7462–7468.
- Holidah, D., Yasmin, dan F. M. Christianty. 2018. Uji aktivitas antidiabetes ekstrak teh hitam dan teh hijau secara in vitro menggunakan metode inhibisi enzim α -

glukosidase (in vitro antidiabetic activity of black tea and green tea extracts by inhibition of α -glucosidase method). *E-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 6(2):235–239.

Irawati, D., A. A. Styawan, dan R. Nurhaini. 2018. Penetapan kadar kafein pada teh oolong (*camellia sinensis*) dengan metode titrasi bebas air. *The 7th University Research Colloquium 2018 STIKES PKU Muhammadiyah Surakarta*. 464–469.

Jiang, H., U. H. Engelhardt, C. Thräne, B. Maiwald, dan J. Stark. 2015. Determination of flavonol glycosides in green tea, oolong tea and black tea by uhplc compared to hplc. *Food Chemistry*. 183:30–35.

Jolliffe, I. T. 2002. Principal component analysis. second edition. *Springer Series in Statistics*. 98:487.

Kao, Y., R. A. Hiipakka, dan S. Liao. 2000. Modulation of obesity by a green tea catechin. *American Journal of Clinical Nutrition*. 72(5):1232.

Karak, T., F. R. Kutu, J. R. Nath, I. Sonar, R. K. Paul, R. K. Boruah, S. Sanyal, S. Sabhapondit, dan A. K. Dutta. 2017. Micronutrients (b, co, cu, fe, mn, mo, and zn) content in made tea (*camellia sinensis* l.) and tea infusion with health prospect: a critical review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 57(14):2996–3034.

Komes, D., D. Horžić, A. Belščak, K. K. Ganič, dan A. Baljak. 2009. Determination of caffeine content in tea and maté tea by using different methods. *Czech J. Food Sci*. 27(Special Issue):213–216.

Koutelidakis, A. E., K. Argiri, M. Serafini, C. Proestos, M. Komaitis, M. Pecorari, dan M. Kapsokefalou. 2009. Green tea, white tea, and pelargonium purpureum increase the antioxidant capacity of plasma and some organs in mice. *Nutrition*. 25(4):453–458.

Kumaravelu, C. dan A. Gopal. 2015. A Review on the Applications of Near-Infrared Spectrometer and Chemometrics for the Agro-Food Processing Industries. *Proceedings - 2015 IEEE International Conference on Technological Innovations in ICT for Agriculture and Rural Development, TIAR 2015*. (Tiar). 2015. 8–12.

Lavine, B. 2000. Chemometrics. *Analytical Chemistry*. 72(12):91–98.

Lelita, D. I., M. . Rohadi, dan A. S. Putri. 2009. Sifat antioksidatif ekstrak teh

(*camellia sinensis* linn.) jenis teh hijau, teh hitam, teh oolong dan teh putih dengan pengeringan beku (freeze drying). *Skripsi*. Semarang: Jurusan THP FTP Universitas Semarang.

Lengkey, L. C. E. C., I. W. Budiastara, K. B. Seminar, dan B. S. Purwoko. 2013. Determination of chemical properties in *Jatropha curcas* l. seed ip-3p by partial least-squares regression and near-infrared reflectance spectroscopy. *International Journal of Agriculture Innovations and Research*. 2(1)

Lu, K., M. Gray, C. Oliver, D. Liley, B. Harrison, C. Bartholomeusz, L. Phan, dan P. Nathan. 2004. The acute effects of l-theanine in comparison with alprazolam on anticipatory anxiety in humans. *Human Psychopharmacology*. 19(7):457–465.

Lucas, M., E. J. O'reilly, A. Pan, F. Mirzaei, W. C. Willett, O. I. Okereke, dan A. Ascherio. 2014. Coffee, caffeine, and risk of completed suicide: results from three prospective cohorts of american adults. *World Journal of Biological Psychiatry*. 15(5):377–386.

Makmur, E., Y. Koesmaryono, E. Aldrian, dan A. H. Wigena. 2013. Jabar dengan prediktor regional dan global. *Jurnal Meteorologi Dan Geofisika*. 14(3):127–137.

Martono, Y. dan S. Martono. 2012. ANALISIS kromatografi cair kinerja tinggi untuk penetapan kadar asam galat, kafein dan epigalokatekin galat pada beberapa produk. *AGRITECH*. 32(4):362–369.

Mondal, T. K., A. Bhattacharya, M. Laxmikumaran, dan P. S. Ahuja. 2004. Recent advances of tea (*camellia sinensis*) biotechnology. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 76(3):195–254.

Mukhopadhyay, M., T. K. Mondal, dan P. K. Chand. 2016. Biotechnological advances in tea (*camellia sinensis* [L.] o. kuntze): a review. *Plant Cell Reports*. 35(2):255–287.

Mulyono, H. B. dan T. L. Jembise. 2018. Hubungan kebiasaan minum teh terhadap kejadian gout arthritis pada warga jamaah masjid al manshuurin yabansai, waena jayapura. *Jurnal Biologi Papua*. 10(2):56–61.

Namita, P., R. Mukesh, dan K. J. Vijay. 2012. *Camellia sinensis* (green tea): a review. *Global Journal of Pharmacology*. 8(2):78–79.

- Navarra, G., M. Moschetti, V. Guarrasi, M. R. Mangione, V. Militello, dan M. Leone. 2017. Simultaneous determination of caffeine and chlorogenic acids in green coffee by uv/vis spectroscopy. *Journal of Chemistry*. 2017:8.
- Novotny, J. A. dan D. J. Baer. 2013. Tea. *Encyclopedia of Human Nutrition*. 4:260–263.
- Nunes, A. R., M. G. Alves, G. D. Tomás, V. R. Conde, A. C. Cristóvão, P. I. Moreira, P. F. Oliveira, dan B. M. Silva. 2015. Daily consumption of white tea (*camellia sinensis* (l.)) improves the cerebral cortex metabolic and oxidative profile in prediabetic wistar rats. *British Journal of Nutrition*. 113(5):832–842.
- Nurminen, M. L., L. Niittynen, R. Korpela, dan H. Vapaatalo. 1999. Coffee, caffeine and blood pressure: a critical review. *European Journal of Clinical Nutrition*. 53(11):831–839.
- Osborne, B. ., F. T, dan P. . Hindle. 1993. *Practical Near Infrared Spectroscopy with Applications in Food and Beverage Analysis*. Singapore: Longman Publisher.
- Ozaki, Y. 2012. Near-infrared spectroscopy-its versatility in analytical chemistry. *Analytical Sciences*. 28(6):545–563.
- Pavlik, J. W. 1973. TLC detection of caffeine in commercial products. *Journal of Chemical Education*. 50(2):134.
- Pokhrel, P., S. Shrestha, S. K. Rijal, dan K. P. Rai. 2016. A simple hplc method for the determination of caffeine content in tea and coffee. *Journal of Food Science and Technology Nepal*. 9:74.
- Pradhani, F. A. 2016. Perbandingan model neural networks dengan poisson regression dan negative binomial regression pada kasus demam berdarah dengue (dbd) di surabaya. *Tesis*. Surabaya: Program Magister FMIPA ITS.
- Rahayu, Triastuti dan Tuti Rahayu. 2009. Uji antijamur kombucha coffe terhadap candida albicans dan tricophyton mentagrophytes. *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi*. 10(1):10–17.
- Reich, G. 2005. Near-infrared spectroscopy and imaging: basic principles and pharmaceutical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 57(8):1109–1143.

- Roggo, Y., P. Chalus, L. Maurer, C. Lema-Martinez, A. Edmond, dan N. Jent. 2007. A review of near infrared spectroscopy and chemometrics in pharmaceutical technologies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 44(3 SPEC. ISS.):683–700.
- Rohdiana, D. 2015. Teh: proses, karakteristik & komponen fungsionalnya. *FOODREVIEW INDONESIA*. X(8):1–5.
- Rohman, A., I. Gupitasari, K. Triyana, A. Salleh, Shahrel Ahmad, dan Shuhel Ahmad. 2014. Jurnal teknologi full paper quantification of lard in the mixture with olive oil in cream cosmetics based on ftir spectra and chemometrics for halal authentication. 1(Ld):113–119.
- Rohman, A., Sisindari, Y. Erwanto, dan Y. B. Che Man. 2011. Analysis of pork adulteration in beef meatball using fourier transform infrared (ftir) spectroscopy. *Meat Science*. 88(1):91–95.
- Rubiyanto, D. 2017. *Metode Kromatografi Prinsip Dasar, Praktikum & Pendekatan Pembelajaran Kromatografi*. Edisi I. Yogyakarta: Deepublish.
- Rusak, G., D. Komes, S. Likić, D. Horžić, dan M. Kovač. 2008. Phenolic content and antioxidative capacity of green and white tea extracts depending on extraction conditions and the solvent used. *Food Chemistry*. 110(4):852–858.
- S. Pindyck, R. dan D. Rubinfeld. 1976. *Econometric Models and Economic Forecasts*. XF2006305658.
- Schwanninger, M., J. C. Rodrigues, dan K. Fackler. 2011. A review of band assignments in near infrared spectra of wood and wood components. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*. 19(5):287–308.
- Setianingtyas, P., L. Prihastari, dan N. Wardhani. 2018. EFEKTIVITAS berkumur teh hitam terhadap penurunan akumulasi plak pada anak usia 7-8 tahun. *ODONTO Dental Journal*. 5(1):60–66.
- Setyamidjaja, D. 2000. *Teh Budidaya Dan Pengolahan Pascapanen*. Edisi 6. Yogyakarta: Kanisius.
- Shafirany, M. Z., Y. Susilawati, dan I. Musfiroh. 2018. Aplikasi kemometrik dalam penentuan mutu tumbuhan obat. *Majalah Farmasi, Sains, Dan Kesehatan*. 4(2):6–14.

- Shukla, Y. 2007. Tea and cancer chemoprevention: a comprehensive review. *Asia Pacific Journal of Cancer Prevention*. 8(2):155–166.
- Singh, I., P. Juneja, B. Kaur, dan P. Kumar. 2013. Pharmaceutical applications of chemometric techniques. *ISRN Analytical Chemistry*. 2013:1–13.
- Somantri, R. dan K. Tanti. 2013. *Kisah Dan Khasiat Teh*. Gramedia.
- Soraya, N. 2007. *Sehat & Cantik Berkat Teh Hijau*. Bogor: Penebar Plus+.
- Suda, S. dan K. Kato. 1989. Possible contribution of green tea drinking habits to the prevention of stroke. *Tohoku J. Exp. Med.* 157:337–343.
- Sudaryat, Y., M. Kusmiyati, C. R. Pelangi, dan A. Rustamsyah. 2015. Aktivitas antioksidan seduhan sepuluh jenis mutu teh hitam (*camellia sinensis* (L .) o . kuntze) indonesia antioxidant activity of ten grades of indonesia black tea. *Jurnal Penelitian Teh Dan Kina*. 18(2):95–100.
- Sugiyono. 2011. *Metode Penelitian Pendidikan (Pendekatan Kuantitatif, Kualitatif, Dan R&D)*. Bandung: Alfabeta.
- Suprijono, A., D. A. Kusumaningrum, dan L. Kusmita. 2018. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Dan Isolat Flavonoid Teh Oolong (*Camellia Sinensis* [L.] O.K) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Secara In Vitro. *Prosiding Seminar Nasional Unimus*. 1. 2018. 206–215.
- Taylor, P., P. Stchur, D. Cleveland, J. Zhou, dan R. G. Michel. 2002. A review of recent applications of near infrared spectroscopy , and of the characteristics of a novel pbs ccd array-based near-infrared spectrometer. *Applied Spectroscopy Reviews*. 37(4):383–428.
- Tenore, G. C., P. Stiuso, P. Campiglia, dan E. Novellino. 2013. In vitro hypoglycaemic and hypolipidemic potential of white tea polyphenols. *Food Chemistry*. 141(3):2379–2384.
- Torres Y Torres, J. L., S. L. Hiley, S. P. Lorimor, J. S. Rhoad, B. D. Caldwell, G. L. Zweerink, dan M. Ducey. 2015. Separation of caffeine from beverages and analysis using thin-layer chromatography and gas chromatography - mass spectrometry. *Journal of Chemical Education*. 92(5):900–902.
- Trianto, G. O. 2009. Penetapan kadar kafein dalam teh celup yang beredar di

supermarket di wilayah kabupaten jember secara klt-densitometri. *Skripsi*. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Triyati, E. 1985. Spektrofotometer ultra-violet dan sinar tampak serta aplikasinya dalam oseanologi. *Oseana*. X(1):39–47.

Varmuza, K. 2001. Applied Chemometrics : From Chemical Data to Relevant Information. *CHEM 1 1st Conference on Chemistry*. (November). 2001. 1–17.

Vito, J. tanpa tahun. *29 Resep Teh Nikmat*. Yogyakarta: Great.

Winarno, F. dan L. Kristiono. 2016. *Green Tea & White Tea*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.

Wulandari, L. 2011. *Kromatografi Lapis Tipis*. Edisi I. Jember: Taman Kampus Presindo.

Xu, K., D. Garbin, D. Luca, Y. Xu, J. Chen, A. Schwarzschild, dan M. G. Hospital. 2017. Neuroprotection by caffeine in the mptp model of parkinson's disease and its dependence on adenosine a2a receptors. *Neuroscience*. 322:129–137.

Yassin, G. H., J. H. Koek, dan N. Kuhnert. 2015. Model system-based mechanistic studies of black tea thearubigin formation. *Food Chemistry*. 180:272–279.

Zhen, Y. 2005. *Tea Bioactivity and Therapeutic Potential*. Edisi 1. London: Taylor & Francis.

Zulli, A., R. M. Smith, P. Kubatka, J. Novak, Y. Uehara, H. Loftus, T. Qaradakhli, M. Pohanka, N. Kobylak, A. Zagatina, J. Klimas, A. Hayes, G. La Rocca, M. Soucek, dan P. Kruzliak. 2016. Caffeine and cardiovascular diseases: critical review of current research. *European Journal of Nutrition*. 55(4):1331–1343.

Keputusan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor. HK.00.05.23.3644 Tahun 2003. *Ketentuan Pokok Pengawasan Suplemen Makanan*. 9 agustus 2004. Jakarta.

LAMPIRAN**LAMPIRAN A. Alat dan Bahan yang Digunakan****A.1 Sampel *Training Set* dan *Test Set*****A.2 Sampel Nyata****A.3 Instrumen yang Digunakan**

(Spektrofotometer NIR)



(KLT Densitometer)

A.4 Lempeng KLT Hasil Penotolan

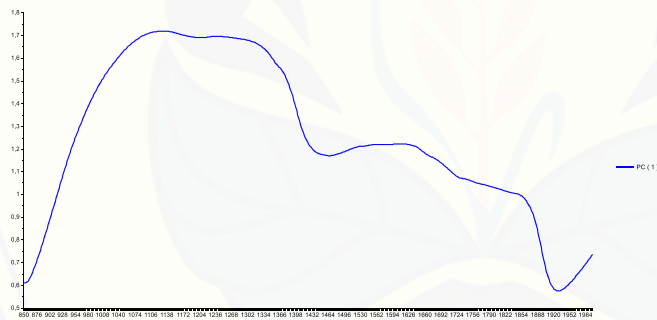


A.5 Kompartemen Sampel NIR

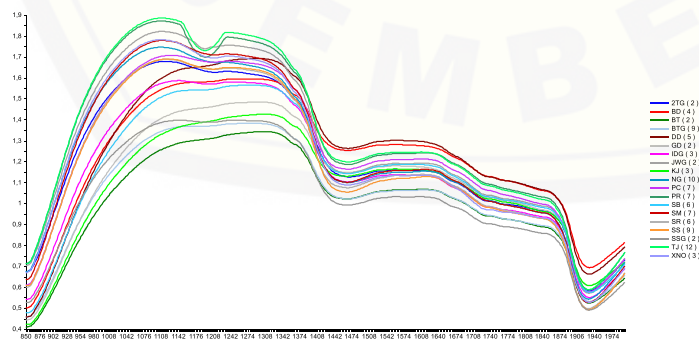


LAMPIRAN B. Spektrum

B.1 Contoh Spektrum Sampel



B.2 Spektrum Gabungan Sampel



LAMPIRAN C. Identitas Sampel**C.1 Sampel *Training Set***

No.	Kode	Merek Sampel Teh
1	PC	Poci
2	SR	Sariwangi
3	SS	Sosro
4	DD	Dandang
5	KJ	Kepala Djenggot
6	GD	Gardoe
7	NG	Naga
8	BD	Bandulan
9	BT	Cap Botol
10	PR	Prendjak
11	SM	Sarimurni
12	SB	Cap Sepeda Balap
13	TJ	Tjatoet
14	IDG	Indomaret
15	BTG	Cap Botol
16	SSG	Sosro
17	JWG	Jawa
18	2TG	2 Tang
19	XNO	Xiamen
20	GLG	Galan 999

C.2 Sampel *Test Set*

No	Kode	Merek Sampel Teh
1	TJ	Tong Tji
2	ZTW	Zet
3	GLG	Galan 999
4	GP	Gopek

C.3 Sampel Nyata

No	Kode	Merek Sampel Teh
1	DD2	Dandang
2	SS2	Sosro
3	XOO	Xiamen

LAMPIRAN D. Pembuatan Larutan pada Penetapan Kadar Kafein**D.1 Perhitungan Pembuatan Larutan Induk Kafein**

➤ Larutan Induk I

- 50 mg

$$\frac{50 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2000 \text{ ppm}$$

- ✓ Pengenceran

$$\frac{1 \text{ ml}}{4 \text{ ml}} \times 2000 \text{ ppm} = 500 \text{ ppm}$$

$$\frac{2 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 2000 \text{ ppm} = 800 \text{ ppm}$$

$$\frac{1 \text{ ml}}{2 \text{ ml}} \times 2000 \text{ ppm} = 1000 \text{ ppm}$$

➤ Larutan Induk II

- 30 mg

$$\frac{30 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 1200 \text{ ppm}$$

- ✓ Pengenceran

$$\frac{1 \text{ ml}}{4 \text{ ml}} \times 1200 \text{ ppm} = 300 \text{ ppm}$$

$$\frac{1 \text{ ml}}{2 \text{ ml}} \times 1200 \text{ ppm} = 600 \text{ ppm}$$

D.2 Perhitungan Pembuatan Larutan Sampel

Sampel <i>Training Set</i>	Replikasi	Pembuatan Larutan
PC	1	$\frac{400 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40030 \text{ ppm}$
	2	$\frac{400 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40040 \text{ ppm}$
	3	$\frac{400 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40030 \text{ ppm}$
SR	1	$\frac{400,7 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40070 \text{ ppm}$
	2	$\frac{400,1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40010 \text{ ppm}$
	3	$\frac{400,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40030 \text{ ppm}$
SS	1	$\frac{400,8 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40080 \text{ ppm}$
	2	$\frac{400,7 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40070 \text{ ppm}$
	3	$\frac{400,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40040 \text{ ppm}$

DD	1	$\frac{400,8 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40080 \text{ ppm}$
	2	$\frac{400,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40040 \text{ ppm}$
	3	$\frac{400,5 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40050 \text{ ppm}$
KJ	1	$\frac{400,1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40010 \text{ ppm}$
	2	$\frac{400,1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40010 \text{ ppm}$
	3	$\frac{400,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40030 \text{ ppm}$
GD	1	$\frac{400,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40020 \text{ ppm}$
	2	$\frac{400,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40020 \text{ ppm}$
	3	$\frac{400,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40020 \text{ ppm}$
IDG	1	$\frac{400,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40040 \text{ ppm}$
	2	$\frac{400,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40030 \text{ ppm}$
NG	1	$\frac{400,1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40010 \text{ ppm}$
	2	$\frac{401,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40120 \text{ ppm}$
	3	$\frac{401,0 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40100 \text{ ppm}$
BD	1	$\frac{400,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40030 \text{ ppm}$
	2	$\frac{400,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40040 \text{ ppm}$
	3	$\frac{400,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40040 \text{ ppm}$
BT	1	$\frac{400,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40030 \text{ ppm}$
	2	$\frac{399,9 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 39990 \text{ ppm}$
BTG	1	$\frac{400,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40040 \text{ ppm}$
	2	$\frac{400,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40030 \text{ ppm}$
	3	$\frac{400,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40040 \text{ ppm}$
PR	1	$\frac{400,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40030 \text{ ppm}$
	2	$\frac{400,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40040 \text{ ppm}$
	3	$\frac{400,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40040 \text{ ppm}$
SSG	1	$\frac{400,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40040 \text{ ppm}$
	2	$\frac{400,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40040 \text{ ppm}$
	3	$\frac{400,0 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40000 \text{ ppm}$
SM	1	$\frac{400,0 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40000 \text{ ppm}$
	2	$\frac{400,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40020 \text{ ppm}$
	3	$\frac{400,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40030 \text{ ppm}$
JWG	1	$\frac{400,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40040 \text{ ppm}$
	2	$\frac{400,0 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40000 \text{ ppm}$

SB	1	$\frac{400,1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40010 \text{ ppm}$
	2	$\frac{400,5 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40050 \text{ ppm}$
2TG	1	$\frac{400,0 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40000 \text{ ppm}$
	2	$\frac{400,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40030 \text{ ppm}$
TJ	1	$\frac{400,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40020 \text{ ppm}$
	2	$\frac{400,1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40010 \text{ ppm}$
XNO	1	$\frac{400,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40020 \text{ ppm}$
	2	$\frac{400,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40030 \text{ ppm}$

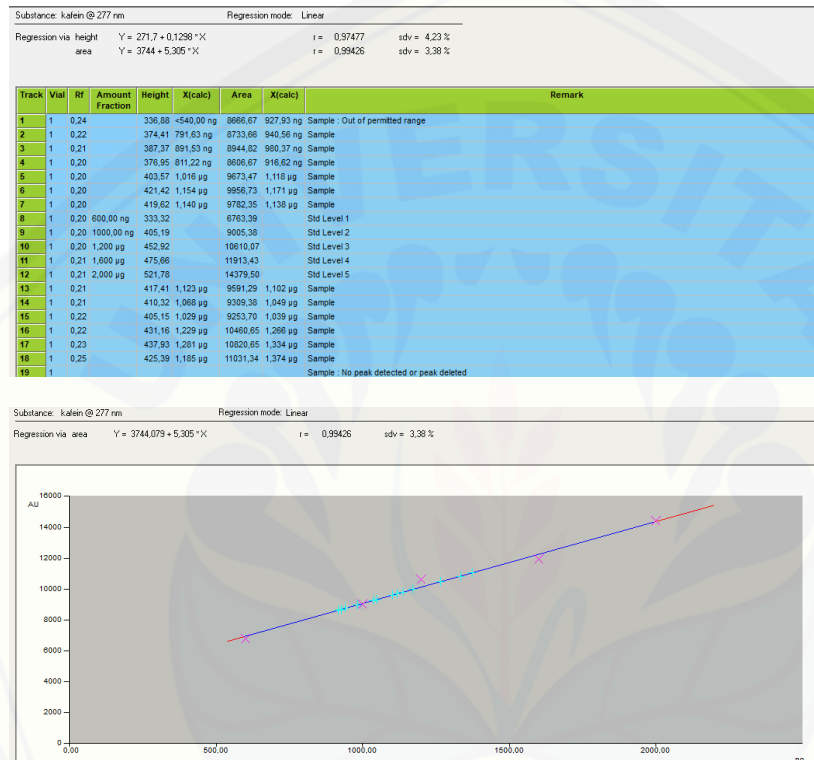
Sampel <i>Test Set</i>	Replikasi	Pembuatan Larutan
TJ	1	$\frac{400,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40030 \text{ ppm}$
	2	$\frac{400,6 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40060 \text{ ppm}$
	3	$\frac{400,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40020 \text{ ppm}$
ZT	1	$\frac{400,0 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40000 \text{ ppm}$
	2	$\frac{400,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40030 \text{ ppm}$
GLG	1	$\frac{400,0 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40000 \text{ ppm}$
	2	$\frac{400,1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40010 \text{ ppm}$
	3	$\frac{400,5 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40050 \text{ ppm}$
GP	1	$\frac{400,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40020 \text{ ppm}$
	2	$\frac{400,1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40010 \text{ ppm}$
	3	$\frac{400,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40020 \text{ ppm}$

Sampel Nyata	Replikasi	Pembuatan Larutan
DD2	1	$\frac{400,5 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40050 \text{ ppm}$
	2	$\frac{400,1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40010 \text{ ppm}$
SS2	1	$\frac{400,1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40010 \text{ ppm}$
	2	$\frac{400,0 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40000 \text{ ppm}$
XOO	1	$\frac{400,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40040 \text{ ppm}$
	2	$\frac{400,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40030 \text{ ppm}$
	3	$\frac{400,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 40020 \text{ ppm}$

LAMPIRAN E. Pembuatan Eluen Kloroform : Metanol (9,5:0,5)

Kloroform sebanyak 9,5 ml dan metanol sebanyak 0,5 ml dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian dihomogenkan dan dimasukkan ke dalam *chamber* untuk dijenuhkan.

LAMPIRAN F. Hasil Penentuan Kadar Kafein dengan KLT-Densitometri



F.1. Contoh Perhitungan (Sampel PC)

✓ Replikasi 1 (R1)

- Penotolan 1

$$x = 940,56 \text{ ng (dalam } 2\mu\text{l)}$$

$$\text{Dalam } 10 \text{ ml (} 10000 \mu\text{l)} : \frac{10000 \mu\text{l}}{2 \mu\text{l}} \times 940,56 \text{ ng} = 4702800 \text{ ng} = 4,703 \text{ mg}$$

$$= \frac{4,703 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 100\% = 1,18 \%$$

- Penotolan 2

$$x = 1,102 \mu\text{g (dalam } 2\mu\text{l)} = 1102 \text{ ng}$$

$$\text{Dalam } 10 \text{ ml (} 10000 \mu\text{l)} : \frac{10000 \mu\text{l}}{2 \mu\text{l}} \times 1102 \text{ ng} = 5510000 \text{ ng} = 5,510 \text{ mg}$$

$$= \frac{5,510 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 100\% = 1,38\%$$

$$\text{Rata-rata kadar : } \frac{1,18\% + 1,38\%}{2} = 1,28\%$$

✓ Replikasi 2 (R2)

- Penotolan 1

$$x = 980,37 \text{ ng (dalam } 2\mu\text{l)}$$

$$\text{Dalam 10 ml (10000 } \mu\text{l)} : \frac{10000 \mu\text{l}}{2 \mu\text{l}} \times 980,37 \text{ ng} = 4901850 \text{ ng} = 4,901 \text{ mg}$$

$$= \frac{4,901 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 100\% = 1,23\%$$

- Penotolan 2

$$x = 1,049 \mu\text{g (dalam } 2\mu\text{l)} = 1049 \text{ ng}$$

$$\text{Dalam 10 ml (10000 } \mu\text{l)} : \frac{10000 \mu\text{l}}{2 \mu\text{l}} \times 1049 \text{ ng} = 5245000 \text{ ng} = 5,245 \text{ mg}$$

$$= \frac{5,245 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 100\% = 1,31\%$$

$$\text{Rata-rata kadar : } \frac{1,23\% + 1,31\%}{2} = 1,27\%$$

✓ Replikasi 3 (R3)

- Penotolan 1

$$x = 916,62 \text{ ng (dalam } 2\mu\text{l)}$$

$$\text{Dalam 10 ml (10000 } \mu\text{l)} : \frac{10000 \mu\text{l}}{2 \mu\text{l}} \times 916,62 \text{ ng} = 4583100 \text{ ng} = 4,583 \text{ mg}$$

$$= \frac{4,583 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 100\% = 1,15\%$$

- Penotolan 2

$$x = 1,039 \mu\text{g (dalam } 2\mu\text{l)} = 1039 \text{ ng}$$

$$\text{Dalam 10 ml (10000 } \mu\text{l)} : \frac{10000 \mu\text{l}}{2 \mu\text{l}} \times 1039 \text{ ng} = 5195000 \text{ ng} = 5,195 \text{ mg}$$

$$= \frac{5,195 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 100\% = 1,30\%$$

$$\text{Rata-rata kadar : } \frac{1,15\% + 1,30\%}{2} = 1,23\%$$

Rata-rata kadar (\bar{x}) dari R1,R2, dan R3 : $\frac{1,28 \% + 1,27\% + 1,23\%}{2} = 1,26\%$

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

$$SD = \sqrt{\frac{\sum 0,0014}{3-1}}$$

$$SD = \sqrt{0,0007}$$

$$SD = 0,03$$

$$RSD (CV) = \frac{SD}{x} \times 100\%$$

$$CV = \frac{0,03}{1,26} \times 100\%$$

$$CV = 2,33\%$$

Replikasi	Penotolan	Massa sampel (mg)	Area	Kadar kafein	Rata-rata kadar kafein (% b/b)
1	1	400	8733,66	1,18 %	1,28%
	2	400	9591,29	1,38 %	
2	1	400	8944,82	1,23%	1,27%
	2	400	9309,38	1,31%	
3	1	400	8606,67	1,15%	1,26%
	2	400	9253,70	1,30%	

F.2 Hasil Perhitungan Kadar Kafein Sampel

Kode sampel <i>training set</i>	Masa penimbangan (mg)	Kadar kafein (% b/b)	Rata-rata kadar kafein (% b/b)	RSD (%)
PC	400,3	1,28	1,26	2,33
	400,4	1,27		
	400,3	1,22		
SR	400,7	1,40	1,43	2,34
	400,1	1,46		
	400,3	1,42		
SS	400,8	1,46	1,43	2,52

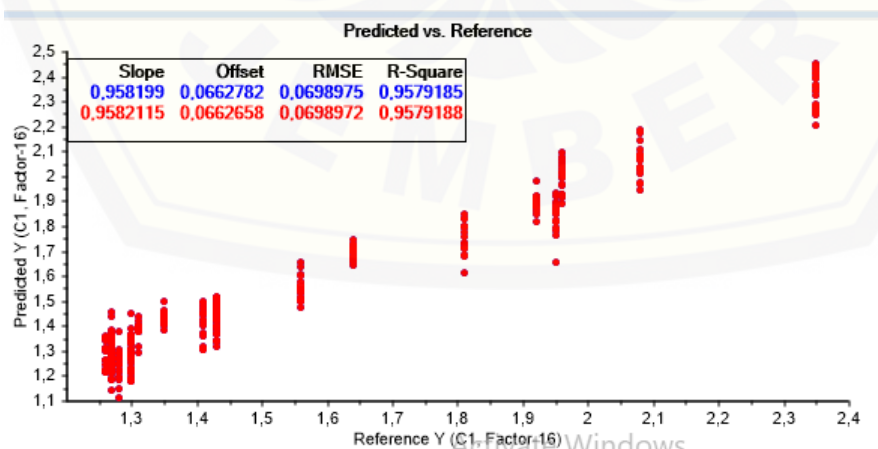
	400,7	1,44		
	400,4	1,39		
DD	400,8	1,28	1,27	0,97
	400,4	1,26		
	400,5	1,26		
KJ	400,1	1,27	1,26	0,26
	400,1	1,27		
	400,3	1,27		
GD	400,2	1,36	1,31	5,20
	400,2	1,26		
NG	400,1	1,40	1,41	2, 1
	400,2	1,38		
	400,1	1,44		
BD	400,3	1,81	1,81	0,56
	400,4	1,82		
	400,4	1,80		
BT	400,3	1,96	1,95	1, 18
	399,9	1,93		
PR	400,3	1,30	1,28	2,48
	400,4	1,30		
	400,4	1,24		
SM	400,0	1,57	1,56	1,21
	400,2	1,54		
	400,3	1,58		
SB	400,1	1,28	1,30	1,45
	400,5	1,31		
TJ	400,2	1,30	1,30	0, 17
	400,1	1,30		
IDG	400,4	1,63	1,64	0,86
	400,3	1,65		
BTG	400,4	1,35	1,35	2,33
	400,3	1,38		
	400,4	1,32		
SSG	400,4	2,09	2,08	0,55
	400,4	2,09		
	400,0	2,07		
JWG	400,4	1,96	1,96	0,52
	400,5	1,97		
2TG	400,0	1,92	1,92	0,09
	400,3	1,92		
XNO	400,2	1,29	1,27	2,73
	400,3	1,24		

Kode sampel <i>test set</i>	Masa penimbangan (mg)	Kadar kafein (%b/b)	Rata-rata kadar kafein (%b/b)	RSD (%)
TJ	400,3	1,68	1,67	1,71
	400,6	1,64		
	400,2	1,69		
ZTW	400,0	1,74	1,75	0,41
	400,3	1,75		
GP	400,2	1,49	1,49	2,06
	400,1	1,52		
GLG	400,2	1,46	2,35	1,95
	400,0	1,37		
	400,1	1,38		
	400,5	1,30		

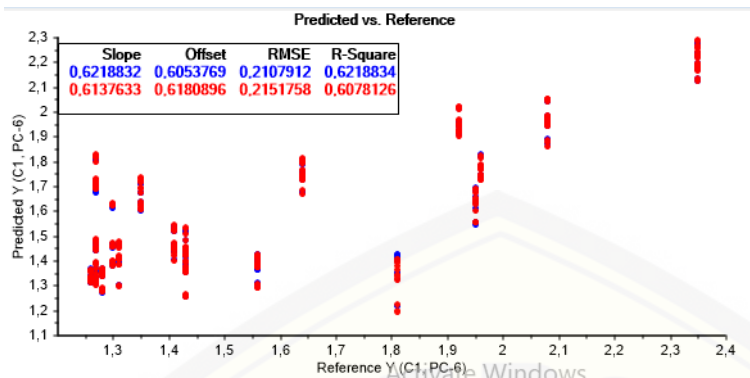
Kode sampel nyata	Masa penimbangan (mg)	Kadar kafein (%b/b)	Rata-rata kadar kafein (%b/b)	RSD (%)
DD2	400,5	1,41	1,41	0,75
	400,1	1,42		
SS2	400,1	1,55	1,53	1,91
	400,0	1,51		
XOO	400,4	1,35	1,49	2,06
	400,3	1,40		
	400,2	1,34		

Lampiran G. Hasil Analisis dengan Metode Kemometrik

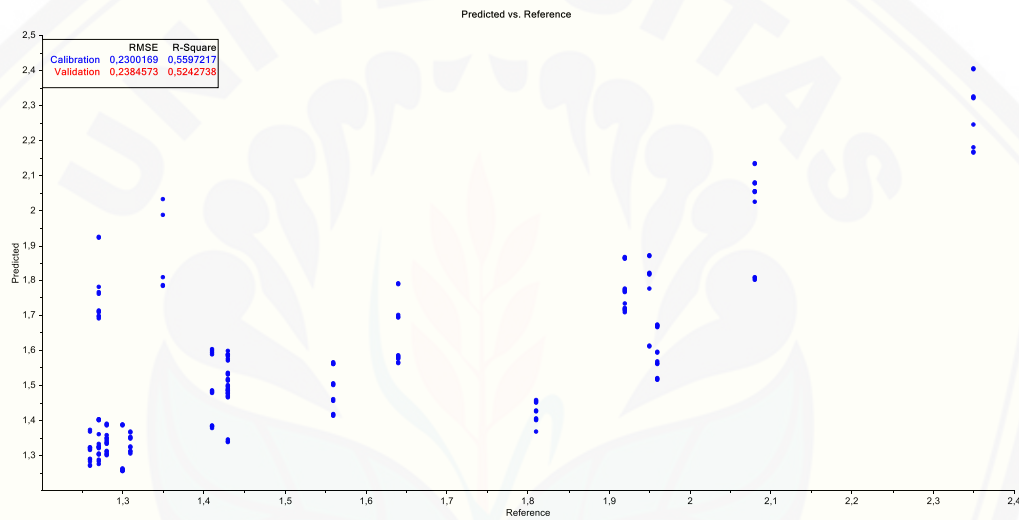
G.1 Model Kalibrasi *Training Set* Model PLS



G.2 Model Kalibrasi *Training Set* Model PCR

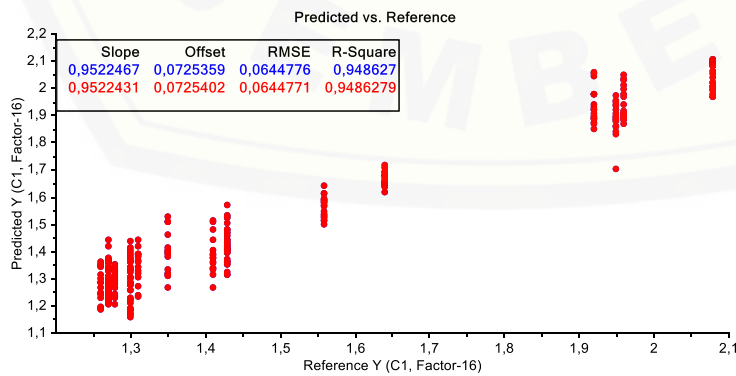


G.3 Model Kalibrasi *Training Set* Model SVR

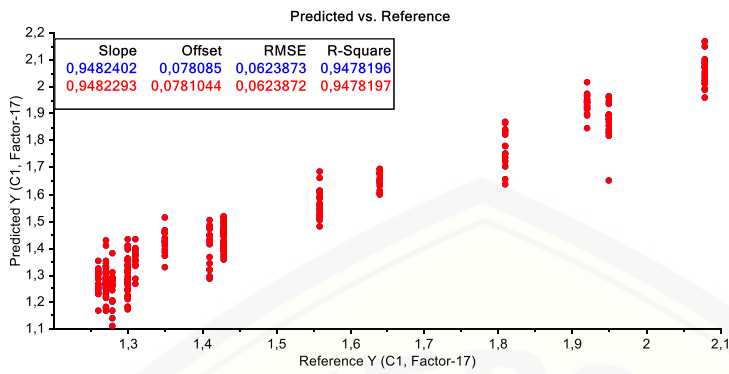


G.4 Hasil Validasi Model Kalibrasi PLS LOOCV

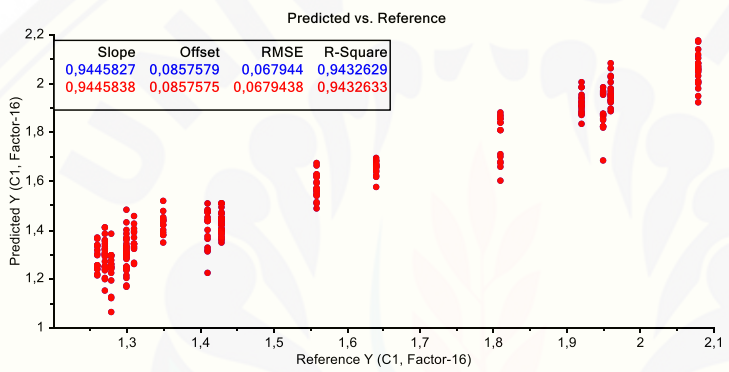
a. Sampel BD dikeluarkan



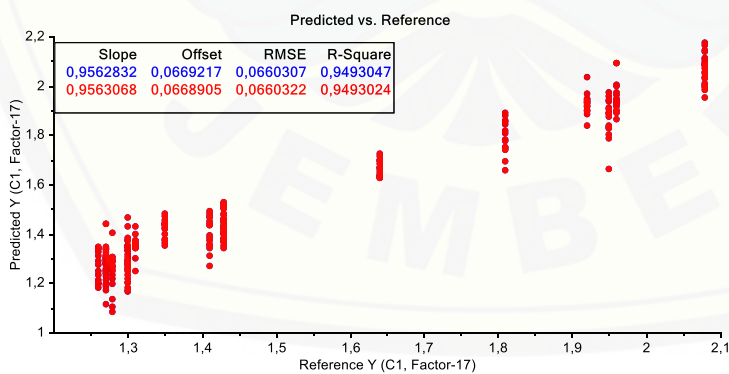
b. Sampel JPG dikeluarkan



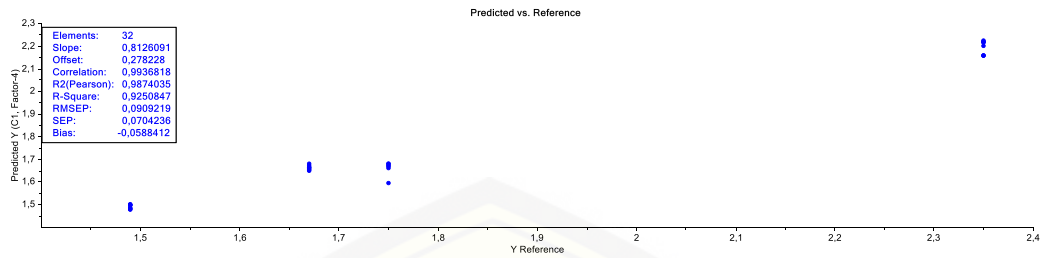
c. Sampel XNO dikeluarkan



d. Sampel SM dikeluarkan



G.5 Hasil Validasi Model Kalibrasi PLS 2-FCV



G.6 Hasil Prediksi Sampel Nyata

Predicted Y (C1, Fictive)	Predicted	Deviation			
DD 2 (16)(1)	1,2513	0,2768	SS2 new (19)	1,4926	0,2356
DD 2 (17)(1)	1,2546	0,2745	SS2 new (20)	1,4930	0,2364
DD 2 (18)(1)	1,2545	0,2744	XOO (1)	1,3415	0,6063
DD 2 (19)(1)	1,2570	0,2731	XOO (2)	1,3426	0,6113
DD 2 (21)(1)	1,3113	0,2150	XOO (3)	1,3427	0,6161
DD 2 (22)(1)	1,3135	0,2147	XOO (4)	1,3424	0,6200
DD 2 (23)(1)	1,3124	0,2144	XOO (5)	1,3420	0,6260
DD 2 (24)(1)	1,3115	0,2156	XOO (7)	1,3224	0,7830
DD 2 (25)(1)	1,3133	0,2169	XOO (8)	1,3215	0,7870
SS2 new (11)	1,5377	0,2232	XOO (9)	1,3235	0,7914
SS2 new (12)	1,5386	0,2221	XOO (10)	1,3262	0,7929
SS2 new (13)	1,5385	0,2181			
SS2 new (14)	1,5373	0,2135			
SS2 new (15)	1,5389	0,2173			
SS2 new (17)	1,4926	0,2410			
SS2 new (18)	1,4936	0,2380			

Lampiran H. Hasil Analisis Sampel Nyata dengan Uji T Dua Sampel Berpasangan

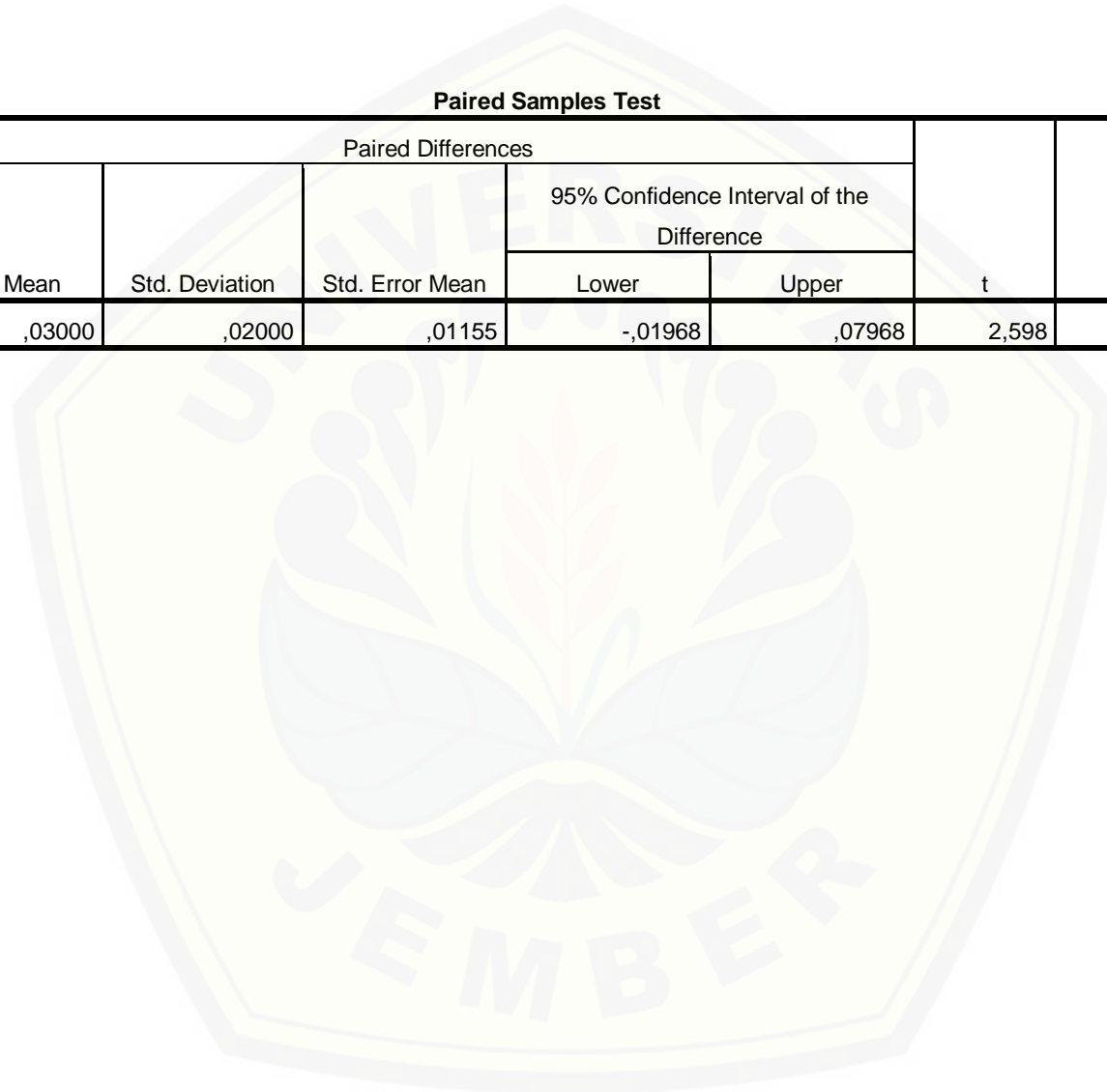
Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kadar KLT	,334	3	.	,860	3	,266
kadar NIR	,310	3	.	,898	3	,380

a. Lilliefors Significance Correction

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	KLT - NIR	,03000	,02000	,01155	-,01968	,07968	2,598	2	,122



LAMPIRAN I. Tabel Identitas Kemurnian Spektra Sampel dan Standar Kafein

I.1. Sampel BD dan BT

Track	Rf	Assigned Substance	Max. Signal	Display	r(s,m)	r(m,e)	Purity	r(s,s)	r(s,a)	Identity
3	0,41	kafein	346 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999928	0,999804	ok	0,999111	0,999554	ok
6	0,38	kafein	360 AU @ 276 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999873	0,999801	ok	0,999111	0,999893	ok
8	0,35	kafein	188 AU @ 276 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999742	0,999470	ok	0,999111	0,999070	ok
10	0,34	kafein	313 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999812	0,999780	ok	0,999111		N/A
12	0,35	kafein	361 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999958	0,999812	ok	0,999111		N/A
17	0,41	kafein	308 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999963	0,999682	ok	0,999111	0,999253	ok

I.2. Sampel XNO

Track	Rf	Assigned Substance	Max. Signal	Display	r(s,m)	r(m,e)	Purity	r(s,s)	r(s,a)	Identity
3	0,42	kafein	415 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999848	0,999677	ok	0,998757	0,999315	ok
7	0,35	kafein	377 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999893	0,999632	ok	0,998757	0,999801	ok
9	0,34	kafein	398 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999739	0,999737	ok	0,998757		N/A
12	0,35	kafein	501 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999722	0,999569	ok	0,998757		N/A
15	0,39	kafein	390 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999815	0,999440	ok	0,998757	0,998846	ok
17	0,42	kafein	352 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999756	0,999706	ok	0,998757	0,997555	ok

I.3. Sampel DD2

Track	Rf	Assigned Substance	Max. Signal	Display	r(s,m)	r(m,e)	Purity	r(s,s)	r(s,a)	Identity
7	0,32	Kafein	524 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999792	0,999805	ok	0,999965	0,999891	ok
9	0,31	Kafein	533 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999690	0,999717	ok	0,999965		N/A
10	0,31	Kafein	566 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999713	0,999574	ok	0,999965		N/A
13	0,31	Kafein	526 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999749	0,999727	ok	0,999965	0,999879	ok

I.4 Sampel SS2

Track	Rf	Assigned Substance	Max. Signal	Display	r(s,m)	r(m,e)	Purity	r(s,s)	r(s,a)	Identity
11	0,04	Kafein	671 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,998814	0,998994	ok	0,999865		N/A
12	0,04	Kafein	712 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,998733	0,998682	ok	0,999865		N/A
13	0,04	Kafein	635 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999295	0,998939	ok	0,999865	0,999202	ok
16	0,04	Kafein	601 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999361	0,998936	ok	0,999865	0,997144	ok

I.5 Sampel GLG

Track	Rf	Assigned Substance	Max. Signal	Display	r(s,m)	r(m,e)	Purity	r(s,s)	r(s,a)	Identity
7	0,23	kafein	612 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999424	0,999738	ok	0,999183	0,997884	ok
8	0,22	kafein	396 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999949	0,999863	ok	0,999183		N/A
10	0,22	kafein	530 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999731	0,999808	ok	0,999183		N/A
13	0,22	kafein	576 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999520	0,999943	ok	0,999183	0,999805	ok

I.6 Sampel TJ & GP

Track	Rf	Assigned Substance	Max. Signal	Display	r(s,m)	r(m,e)	Purity	r(s,s)	r(s,a)	Identity
5	0,41	kafein	488 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999903	0,999777	ok	0,999189	0,999953	ok
9	0,41	kafein	472 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999754	0,999829	ok	0,999189		N/A
12	0,42	kafein	611 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999463	0,999403	ok	0,999189		N/A
14	0,42	kafein	530 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999578	0,999564	ok	0,999189	0,999475	ok

I.7 Sampel ZTW

Track	Rf	Assigned Substance	Max. Signal	Display	r(s,m)	r(m,e)	Purity	r(s,s)	r(s,a)	Identity
7	0,30	kafein	420 AU @ 276 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999723	0,999689	ok	0,996357	0,999298	ok
8	0,30	kafein	298 AU @ 276 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999978	0,999911	ok	0,996357		N/A
12	0,33	kafein	493 AU @ 276 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999743	0,999560	ok	0,996357		N/A
13	0,33	kafein	443 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999841	0,999691	ok	0,996357	0,999343	ok

I.8 Sampel JWG & SB

Track	Rf	Assigned Substance	Max. Signal	Display	r(s,m)	r(m,e)	Purity	r(s,s)	r(s,a)	Identity
5	0,38	kafein	436 AU @ 276 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999653	0,999685	ok	0,999079	0,999663	ok
10	0,36	kafein	443 AU @ 276 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999670	0,999653	ok	0,999079		N/A
12	0,37	kafein	502 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999338	0,999594	ok	0,999079		N/A
13	0,37	kafein	419 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999854	0,999543	ok	0,999079	0,999432	ok

I.9 Sampel SSG & SM

Track	Rf	Assigned Substance	Max. Signal	Display	r(s,m)	r(m,e)	Purity
1	0,41	AutoGenerated3	273 AU @ 276 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999913	0,999803	ok
2	0,35	kafein	302 AU @ 276 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999817	0,999824	ok
3	0,34	kafein	309 AU @ 276 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999453	0,999648	ok
4	0,33	kafein	326 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999430	0,999705	ok
5	0,32	kafein	291 AU @ 276 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999595	0,999688	ok

I.10. Sampel BTG & PR

Track	Rf	Assigned Substance	Max. Signal	Display	r(s,m)	r(m,e)	Purity	r(s,s)	r(s,a)	Identity
2	0,49	kafein	379 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999946	0,999219	ok	0,997039	0,998036	ok
8	0,43	kafein	313 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999928	0,999755	ok	0,997039		N/A
12	0,43	kafein	585 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999496	0,999467	ok	0,997039		N/A
16	0,45	kafein	449 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999823	0,999526	ok	0,997039	0,997633	ok

I.11. Sampel IDG & NG

Track	Rf	Assigned Substance	Max. Signal	Display	r(s,m)	r(m,e)	Purity	r(s,s)	r(s,a)	Identity
7	0,43	kafein	439 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999627	0,999641	ok	0,999175	0,999953	ok
9	0,43	kafein	434 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999648	0,999578	ok	0,999175		N/A
11	0,43	kafein	511 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999642	0,999490	ok	0,999175		N/A
13	0,43	kafein	645 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999160	0,999446	ok	0,999175	0,998296	ok

I.12. Sampel KJ & GD

Track	Rf	Assigned Substance	Max. Signal	Display	r(s,m)	r(m,e)	Purity	r(s,s)	r(s,a)	Identity
7	0,41	kafein	376 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999939	0,999822	ok	0,998826	0,999875	ok
8	0,40	kafein	315 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999921	0,999681	ok	0,998826		N/A
11	0,39	kafein	480 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999798	0,999735	ok	0,998826		N/A
13	0,39	kafein	373 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999856	0,999882	ok	0,998826	0,999118	ok

I.13. Sampel PC & SR

Track	Rf	Assigned Substance	Max. Signal	Display	r(s,s)	r(s,a)	Identity
1	0,48	kafein	500 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,998907	0,995891	ok
2	0,44	kafein	511 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,998907	0,996370	ok
3	0,42	kafein	473 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,998907	0,997646	ok
4	0,42	kafein	525 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,998907	0,998285	ok
5	0,41	kafein	470 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,998907	0,999022	ok
6	0,41	kafein	523 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,998907	0,996418	ok
7	0,41	kafein	484 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,998907	0,997840	ok
8	0,40	kafein	347 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,998907		N/A
9	0,41	kafein	448 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,998907		N/A
10	0,41	kafein	470 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,998990		N/A
11	0,41	kafein	540 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999628		N/A

I.14. Sampel XOO

Track	Rf	Assigned Substance	Max. Signal	Display	r(s,m)	r(m,e)	Purity	r(s,s)	r(s,a)	Identity
7	0,24	Kafein	415 AU @ 276 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999774	0,999707	ok	0,999516		N/A
10	0,23	Kafein	472 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999599	0,999683	ok	0,999516		N/A
12	0,27	Kafein	444 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999786	0,999831	ok	0,999516	0,999730	ok
15	0,27	Kafein	413 AU @ 276 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0,999935	0,999210	ok	0,999516	0,999716	ok

I.15. Sampel SS & DD

Track	Rf	Assigned Substance	Max. Signal	Display	r(s,m)	r(m,e)	Purity	r(s,a)	r(s,a)	Identity
4	0.13	kafein	483 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0.999603	0.999261	ok			? Std.
10	0.11	kafein	523 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0.999441	0.998865	ok			? Std.
12	0.11	kafein	581 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0.998161	0.999621	ok			? Std.
17	0.12	kafein	456 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0.999594	0.999406	ok			? Std.

I.16. Sampel 2TG & TJ

Track	Rf	Assigned Substance	Max. Signal	Display	r(s,m)	r(m,e)	Purity
1	0.24	kafein	424 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0.999555	0.999200	ok
2	0.22	kafein	465 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0.999598	0.999425	ok
3	0.21	kafein	483 AU @ 276 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0.999557	0.999403	ok
4	0.20	kafein	467 AU @ 276 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0.999543	0.999456	ok
5	0.20	kafein	501 AU @ 275 nm	<input checked="" type="checkbox"/>	0.999323	0.999226	ok

