

**ANALISIS KADAR KAFEIN PADA MINUMAN KOPI INSTAN  
SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV**



Oleh:

Nur Aini Puji Lestari

26141353C

**FAKULTAS FARMASI  
PROGRAM STUDI D-III ANALIS FARMASI DAN MAKANAN  
UNIVESITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA**

**2017**

**ANALISIS KADAR KAFEIN PADA MINUMAN KOPI INSTAN  
SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV**

*KARYA TULIS ILMIAH*

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai*

 *Derajat Ahli Madya Sains*  
*Program Studi D-III Anafarma pada Fakultas Farmasi*

*Universitas Setia Budi*

Oleh:

Nur Aini Puji Lestari

26141353C

**FAKULTAS FARMASI  
PROGRAM STUDI D-III ANALIS FARMASI DAN MAKANAN  
UNIVESITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2017**

**PENGESAHAN KARYA TULIS ILMIAH**

Berjudul:

**ANALISIS KADAR KAFEIN PADA MINUMAN KOPI INSTAN  
SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV**

Oleh :

Nur Aini Puji Lestari

26141353C

Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Tugas Akhir

Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi

Pada Tanggal : Juni 2017

Mengetahui,

Fakultas Farmasi

Universitas Setia Budi

Pembimbing,



Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt.



Prof. Dr. R.A. Oetari, S.E., M.M., M.Sc., Apt.

Penguji :

1. Nuraini Harmastuti, S.Si., M.Si.
2. Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt.
3. Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt.

1.   
2.   
3. 

## **PERNYATAAN**

Saya menyatakan bahwa Karya Tulis Ilmiah ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar Ahli Madya di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum apabila karya tulis ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya tulis/skripsi orang lain.

Surakarta, juni 2017



Nur Aini Puji Lestari

## PERSEMBAHAN

*“jangan menunggu setrika panas baru anda menyetrika;  
Tapi, buatlah setrika itu panas dengan menyetrika”*

*(W.B yeats)*

*“usaha tanpa doa itu sombong, Doa tanpa usaha itu  
bohong”*

Karya tulis ilmiah ini ku persembahkan kepada:

Allah SWT atas segala nikmat-Nya.

Ayah ibu tercinta yang telah memberi doa, dan motivasi terbaik saya

Adik saya (chandra) dan sahabat saya (Tienna), teman-teman Apotek Sari  
sehat yang telah mengisi hari-hariku dengan canda tawa

Dosen pembimbing saya ibu Endang terimakasih atas bimbingan dan  
bantuannya sehingga karya tulis ilmiah ini dapat terslesaikan.

Buat partner SMF & kafeina shinta kartika makasih banyak  
bantuannya :-\*

Teman-teman seperjuanganku D-III ANAFARMA (winna, nisa, lely,  
mega, ano,) tidak terasa sudah 3 tahun berjuang bersama

Om wisnu, Mbak Fitri, Mbak andin, terimakasih atas motivasi dan  
bantuannya selama penelitian ini.

Mas wahyu terimakasih telah menginspirasi adek untuk banyak hal.

Semua orang yang telah membantu saya yang tidak bisa saya sebutkan  
satu persatu.

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur Kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat serta hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyusun dan menyelesaikan KTI (Karya Tulis Ilmiah) yang berjudul “Analisis Kadar Kafein Pada Minuman Kopi Instan Secara Spektrofotometri UV” tanpa suatu hambatan yang berarti. Karya Tulis Ilmiah ini disusun sebagai syarat untuk menyelesaikan program pendidikan Diploma III Analisis Farmasi dan Makanan di Universitas Setia Budi Surakarta.

Dalam menyusun laporan ini penulis mendapat banyak bantuan, dukungan dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis ingin mengucapkan banyak terimakasih kepada:

1. Dr. Ir. Djoni Taringan, MBA selaku rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt. selaku dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Ibu Mamik Ponco Rahayu M.Si., Apt. selaku Kaprodi D-III Anafarma.
4. Ibu Endang Sri Rejeki M.Si., Apt. selaku Dosen pembimbing yang telah banyak membantu memberikan bimbingan dan masukan demi terselesaikannya Karya Tulis Ilmiah ini.
5. Dosen penguji yang telah meluangkan waktunya untuk menguji serta mengoreksi Karya Tulis Ilmiah ini.
6. Perpustakaan dan Laboratorium Universitas Setia Budi yang menjadi tempat untuk menyelesaikan karya Tulis Ilmiah ini.

7. Segenap staf dan karyawan Universitas Setia Budi dan semua pihak yang telah membantu demi terselesaikannya Karya Tulis Ilmiah ini.

8. Keluarga yang telah memberikan doa kepada saya

Penulis menyadari bahwa dalam menyusun Karya Tulis Ilmiah ini jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun. Penulis berharap agar Karya Tulis Ilmiah ini dapat memberikan manfaat serta menambah pengetahuan baik bagi penulis dan pembaca pada umumnya.

Surakarta, juni 2017

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PENGESAHAN .....	ii
HALAMAN PERNYATAAN .....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR TABEL .....	xi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xii
INTISARI .....	xiii
ABSTRACT .....	xiv
BAB I PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang Masalah .....	1
B. Perumusan Masalah .....	2
C. Tujuan Penulisan .....	2
D. Manfaat Penelitian .....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	4
A. Kopi .....	4
1. Taksonomi kopi .....	5
2. Jenis-jenis kopi .....	5
3. Kandungan kopi .....	7
4. Kegunaan kopi .....	7
B. Kafein .....	7
1. Struktur kafein .....	8
2. Sifat fisika kafein .....	8
3. Mekanis kerja .....	9
4. Kegunaan klinis .....	9
5. Efek samping .....	10
C. Spektrofotometri .....	10
1. Pengertian .....	10
2. Prinsip kerja spektrofotometri .....	10
3. Bagian-bagian dalam spektrofotometer .....	11
3.1. Sumber lampu .....	11
3.2. Monokromator .....	11
3.3. Sel absorpsi .....	11
3.4. Detektor .....	11
3.5. Rekorder .....	11

4. Penggunaan spektrofotometri UV-Vis ... ..	12
4.1. Analisa kualitatif .....	12
4.2. Analisa kuantitatif .....	12
5. Hal-hal yang harus diperhatikan dalam analisis spektrofotometri UV-Vis. ....	12
5.1. Pembentukan molekul yang dapat menyerap sinar UV-Vis ... ..	12
5.2. Waktu operasional ... ..	12
5.3. Pemilihan panjang gelombang .....	13
5.4. Pembuatan kurva baku ... ..	13
5.5. Pembacaan absorbansi sampel atau cuplikan .....	13
D. Validasi metode ... ..	13
1. Akurasi .....	13
2. Presisi .....	14
3. Spesifitas .....	14
4. Batas deteksi.....	14
5. Batas kuantifikasi ... ..	15
6. Linieritas .....	15
E. Landasan teori ... ..	15
F. Hipotesis ... ..	17
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....</b>	<b>18</b>
A. Populasi .....	18
B. Sampel .....	18
C. Variabel penelitian ... ..	18
1. Identifikasi variabel utama ... ..	18
2. Klasifikasi variabel utama ... ..	18
3. Definisi operasional variabel utama .....	19
D. Alat dan bahan.....	20
1. Alat .....	20
2. Bahan.....	20
E. Jalannya penelitian ... ..	20
1. Preparasi sampel.....	20
2. Uji reaksi warna ... ..	21
2.1. Reaksi murexide ... ..	21
2.2. Reaksi parry ... ..	21
2.3. Reaksi mayer .....	21
3. Uji kromstogrsfi lapis tipis ... ..	21
4. Analisa kuantitatif ... ..	22
4.1. Pembuatan larutan HCl 0,1 N ... ..	22
4.2. Pembuatan larutan baku kafein ... ..	22
4.3. Penentuan panjang gelombang maksimal ... ..	22

4.4. Penentuan <i>operating time</i> (OT) ... ..	22
4.5. Penetapan kurva kalibrasi .....	22
4.6. Penetapan kadar kafein pada sampel... ..	23
5. Validasi metode analisis ... ..	23
5.1. Presisi ... ..	23
5.2. Akurasi ... ..	23
5.3. Linearitas .....	23
6. Analisis data ... ..	23
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN ... ..	25
A. Preparasi sampel... ..	25
B. Uji kualitatif ... ..	26
1. Uji reaksi murexid .....	26
2. Uji reaksi parry .....	27
3. Uji reaksi mayer ... ..	27
4. Uji kromatografi lapis tipis .....	28
C. Penetapan kadar sampel ... ..	29
1. Penetapan panjang gelombang maksimal .....	29
2. Penentuan <i>operating time</i> ... ..	30
3. Penentuan kurva kalibrasi .....	31
4. Hasil penentuan kadar sampel .....	32
D. Validasi metode ... ..	33
1. Presisi .....	33
2. Akurasi ... ..	34
3. Linieritas.....	35
4. LOD dan LOQ ... ..	35
BAB V PENUTUP ... ..	36
A. Kesimpulan ... ..	36
B. Saran ... ..	36
DAFTAR PUSTAKA .....	37

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Gambar rumus bangun kafein .....	8
2. Panjang gelombang maksimal kafein .....	29
3. Grafik <i>operating time</i> .....	30
4. Grafik kurva kalibrasi kafein .....	31

## DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Hasil uji kualitatif metode reaksi murexide ... ..	26
2. Hasil uji kualitatif metode reaksi parry ... ..	27
3. Hasil uji kualitatif metode reaksi mayer ... ..	28
4. Hasil perhitungan nilai Rf pada Kromatografi Lapis Tipis .....	29
5. Hasil perhitungan kadar kafein dalam sampel .....	32
6. Hasil perhitungan presisi .....	33
7. Hasil perhitungan recovery ... ..	34

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Lampiran pembuatan HCl 0,1 N ... ..	39
2. Lampiran pembuatan larutan baku kafein .....	40
3. Data operating time ... ..	44
4. Gambar panjang gelombang maksimal .....	45
5. Data kurva kalibrasi kafein ... ..	46
6. Data penimbangan sampel ... ..	47
7. Data perhitungan kadar sampel ... ..	49
8. Tabel perhitungan recovery dan LOD/LOQ .....	56
9. Gambar sampel.....	57
10. Uji kualitatif ... ..	58
11. Alat praktikum .....	61

## INTISARI

**LESTARI, N.A.P., 2017. ANALISIS KADAR KAFEIN PADA MINUMAN KOPI INSTAN SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV. KARYA TULIS ILMIAH, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Kopi dikenal dengan minuman yang memiliki kandungan kafein berkadar tinggi didalamnya. Kafein adalah salah satu jenis alkaloid yang banyak terdapat dalam biji kopi, daun teh dan biji coklat. Tujuan penelitian ini yaitu menentukan kadar kafein dalam minuman kopi instan yang dapat dikonsumsi per hari berdasarkan SNI.

Identifikasi dilakukan dengan metode parry, murexide, kromatografi Lapis tipis. Sedangkan kadar kafein ditentukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 272 nm.

Hasil identifikasi menunjukkan bahwa seluruh 3 sampel minuman kopi instan yang dijual di minimarket daerah Solo Baru, Grogol mengandung kafein. Kadar kafein dalam minuman kopi instan yaitu  $4,4130 \pm 0,010332$  b/b (Sampel B),  $4,7518 \pm 0,0355$  b/b (Sampel B) dan  $4,29499 \pm 0,0252$  b/b (Sampel C). Jumlah maksimum kafein yang dapat dikonsumsi masyarakat dalam sehari berdasarkan SNI yaitu 50 mg-150 mg.

---

---

Kata kunci: Kafein, kopi, spektrofotometri UV-Vis

## ABSTRACT

LESTARI, N.A.P., 2017. ANALYSIS OF CAFFEINE LEVEL IN THE INSTAN COFFEE DRINKS USING SPHECTROPHOTOMETRY UV. SCIENTIFIC WRITINGS, THE FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Caffein is one of alkaloid which contain in coffee bean, tea leaves and cacao bean. The aims of this research were to determine caffein level in instant coffee drink which consumed per day based on SNI.

Identification of caffeine was done using parry reagent, murexide reagent, thin layer Chromatography. Although caffeine level was determine using UV-Vis spektrophotometry method with a waveleghth of 272 nm.

The result show that both samples of instant coffee drinks which sold in minimarket at Solo Baru area, Grogol contain caffeine. Levels of caffeine in instans coffee drinks are  $4.4130 \pm 0.010332$  mg/mg b/b (Sample A),  $4.7518 \pm 0.0355$  mg/mg b/b (Sample B) and  $4.29499 \pm 0.0252$  mg/mg b/b (Sample C ). The maximum amount of caffeine that people can consume per day on the basis of SNI is 50 mg - 150 mg.

---

---

Keyword: Caffeine, coffee, UV-Vis spectrophotometry

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang Masalah**

Kopi merupakan salah satu minuman yang banyak digemari oleh banyak orang, baik pria maupun wanita, karena kopi telah banyak dikonsumsi dari generasi ke generasi. Hingga saat ini, para lanjut usia bahkan muda-mudi memilih kopi instan dibandingkan kopi jenis lain karena praktis dalam mengkonsumsinya. Pengonsumsi kopi biasanya meminum kopi 3-4 kali dalam satu hari (Maramis, 2013). Mengonsumsi kopi dalam batas wajar memiliki banyak manfaat bagi kesehatan, seperti mengurangi sakit kepala, aroma kopi menghilangkan rasa stress, kafein pada kopi mencegah gigi berlubang, memperkaya antioksidan tubuh, mencegah penyakit parkinson, merangsang kerja otak, kopi juga dipercaya dapat menurunkan resiko terkena penyakit kanker, diabetes dan batu empedu (Sofiana, 2011).

Kopi dikenal dengan minuman yang memiliki kandungan kafein berkadar tinggi didalamnya (Mulato, 2001). Kafein adalah salah satu jenis alkaloid yang banyak terdapat di daun teh (*Camelia sinesis*), biji kopi (*Coffea arabica*) dan biji coklat (*Theobroma cacao*). Kafein memiliki efek farmakologi yang bermanfaat secara klinis, seperti menstimulan syaraf, dengan efek menghilangkan rasa letih, lapar dan mengantuk, meningkatkan daya konsentrasi, memperbaiki kerja otak, suasana jiwa serta memperkuat kontraksi jantung. Mengonsumsi kopi secara berlebihan dapat menimbulkan debar jantung, gangguan lambung, tangan gemetar, gelisah, ingatan berkurang dan sukar tidur (Tjay dan Raharja, 2007).

Dosis yang diizinkan menurut SNI 01-7152-2006 batas maksimum kafein dalam makanan maupun minuman adalah 150 mg/hari dan 50 mg/sajian.

Berdasarkan uraian di atas peneliti tertarik untuk melakukan penelitian terhadap kadar kafein pada minuman kopi merk A, B, C yang dijual di Minimarket daerah Solo Baru, grogol, Sukoharjo. Keuntungan metode spektrotometri UV-Vis dapat menganalisis kadar dalam jumlah kecil, dan untuk mengetahui apakah kadar kafein pada kopi instan cair memenuhi standar SNI 01-7152-2006.

### **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Berapakah kadar kafein yang terdapat pada minuman kopi instan.
2. Apakah kadar kafein yang terkandung dalam minuman kopi instan tersebut memenuhi persyaratan sesuai yang tertera pada SNI 01-7152-2006.

### **C. Tujuan Penulisan**

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui kadar kafein yang terkandung pada minuman kopi instan.
2. Untuk mengetahui kadar kafein yang terkandung sesuai dengan persyaratan pada SNI 01-7152-2006.

#### **D. Manfaat Penelitian**

Berdasarkan tujuan penelitian, manfaat dan penelitian ini:

1. Bagi masyarakat, hasil penelitian ini diharapkan bermanfaat dan dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang efek samping mengkonsumsi kopi dalam jumlah banyak.
2. Bagi penulis, dapat menambah wawasan ilmu pengetahuan dalam bidang sains, khususnya tentang analisis kadar kafein pada minuman kopi instan dengan metode spektrofotometri UV-Vis.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Kopi**

Kopi adalah sejenis minuman yang berasal dari proses pengolahan dan ekstraksi biji tanaman kopi. Saat ini kopi merupakan minuman terbesar kedua yang dikonsumsi orang di seluruh dunia, setelah air. Finlandia merupakan negara yang konsumsi perkapitanya paling tinggi, dengan rata-rata konsumsi kopi per orang sekitar 14.000 cangkir setiap tahunnya (Fathoni, 2015).

Di Indonesia kopi mulai dikenal pada tahun 1696, yang dibawa oleh VOC. Tanaman kopi di Indonesia mulai di produksi di pulau Jawa, dan hanya bersifat coba-coba, tetapi karena hasilnya memuaskan dan dipandang oleh VOC cukup menguntungkan sebagai komoditi perdagangan maka VOC menyebarkan ke berbagai daerah agar para penduduk menanamnya (Najiyanti dan Danarti, 2004).

Kata kopi berasal dari bahasa Arab qahwah, yang berarti kekuatan, karena pada awalnya kopi digunakan sebagai makanan berenergi tinggi. Istilah ini kemudian diadopsi oleh negara-negara lain melalui perubahan lafal menjadi cafe (Prancis), *caffè* (Italia), *kaffe* (Jerman), *coffee* (Inggris) dan *coffea* (Latin). Kata ini kemudian diserap ke dalam bahasa Indonesia menjadi kopi (Sofiana, 2011).

Kopi bukan satu-satunya tanaman yang mengandung kafein, tetapi kadar kafein kopi jauh lebih tinggi dibanding dengan tumbuhan lain seperti teh, kola dan coklat. Kafein merupakan senyawa golongan alkaloid yang membuat kopi terasa pahit. Dalam mengkonsumsi pada batas wajar, kopi memiliki beberapa manfaat positif bagi kesehatan seperti menderit sakit kepal dan aroma kopi

menghilangkan stres. Kafein pada kopi memperkaya antioksidan pada tubuh sehingga kopi sering digunakan dalam sebuah perawatan kecantikan.

### 1. Taksonomi kopi

Sistematika tanaman kopi menurut Rahardjo, (2012) dapat digolongkan sebagai berikut:

- Kingdom : Plantae
- Divisi : Tracheophyta
- Sub Division : Spermatophyta
- Kelas : Magnoliopsida
- Ordo : Gentianales
- Family : Rubiaceae
- Genus : *Coffea* L.
- Spesies : - *Coffea* L.
- *Coffea arabica* L.
  - *Coffea benghalensis* B.
  - *Coffea canephora* Pierre
  - *Coffea stenophylla* G. Don
  - *Coffea congensis* A. Froehner
  - *Coffea liberica* W. Bull

### 2. Jenis jenis kopi

Di dunia perdagangan, kopi dikenal menjadi beberapa golongan, tetapi yang sering dibudidayakan hanya kopi arabika dan kopi robusta. Pada umumnya, penggolongan kopi berdasarkan spesies.

**2.1. Kopi arabika (*Coffea arabika. L.*).** Kopi arabika berasal dari Etiopia dan Abessinia, kopi arabika dapat tumbuh pada ketinggian 700 - 1700 meter di atas permukaan air laut dengan temperatur 10-16°C dan akan berbuah setahun sekali (Hulupi dan Martini, 2013). Ciri - ciri dari tanaman kopi arabika yaitu tinggi pohon 3 meter, cabang primernya rata-rata mencapai 123 cm, sedangkan ruas cabangnya pendek. Batangnya tegak, bulat, percabangan monopodial, permukaan kasar, warna batangnya kuning keabu-abuan, memiliki tingkat aroma dan rasa yang kuat. Kopi arabika juga memiliki kelemahan yaitu rentan terhadap penyakit karat daun yang disebabkan oleh jamur HV (*Hemilia Vastatrix*) oleh karena itu sejak muncul kopi robusta yang tahan terhadap penyakit jamur HV, dominasi kopi arabika mulai tergantikan (Hulupi dan Martini, 2013).

**2.2. Kopi robusta (*Coffea canephora. L.*).** Kopi robusta juga disebut kopi *canephora*. Nama robusta dipergunakan untuk perdagangan, sedangkan *Canephora* adalah nama botanis. Kopi robusta berasal dari Kongo dan tumbuh baik di dataran rendah sampai ketinggian 1.000 meter di atas permukaan laut, dengan suhu sekitar 20°C. Menurut Hulupi dan Martini (2013), kopi robusta resisten terhadap penyakit karat daun yang disebabkan oleh jamur HV (*Hemilia Vastrix*) dan memerlukan syarat tumbuh yang ringan dan pemeliharaan ringan, sedangkan produksinya lebih tinggi. Kopi robusta juga sudah banyak tumbuh tersebar di wilayah Indonesia dan Filipina. Ciri-ciri dari tanaman kopi robusta yaitu pohon mencapai 5 meter, sedangkan ruas cabangnya pendek. Batangnya berkayu, keras, tegak, putih ke abu-abuan. Seduhan kopi robusta memiliki rasa

seperti coklat dan aroma yang khas, warna bervariasi sesuai dengan pengolahan (Hulupi dan Martini, 2013).

### **3. Kandungan kopi**

Kopi merupakan salah satu minuman yang sangat populer di dunia. Kopi berasal dari biji kopi kemudian ditumbuk halus. Hasil olahan kopi sangat bermacam-macam mulai dari kopi hitam, kopi susu, espresso, capuccino dan lain-lain. Kandungan yang terdapat dalam kopi sangatlah bermacam-macam. Menurut Tjay dan Raharja (2007) kopi mengandung kurang lebih 24 zat, yang terpenting adalah kafein, tanin, zat-zat asam, zat-zat pahit, lemak dan minyak terbang.

### **4. Kegunaan kopi**

Mengonsumsi kopi pada batas wajar, memiliki beberapa manfaat positif bagi kesehatan, seperti mengurangi derita sakit kepala, aroma kopi menghilangkan stress. Kafein pada kopi mencegah gigi berlubang, memperkaya antioksidan pada tubuh, melindungi kulit, mencegah parkinson (Sofiana, 2011). Kopi bisa mencegah penyakit batu empedu. Batu empedu disebabkan adanya lendir yang berada dalam kantong empedu mengeras dan xanthine (terdapat dalam kafein) dapat mengurangi lendir tersebut. Kopi dapat mencegah penyakit diabetes karena mengandung asam klorogenik yang dapat membantu mencegah resistensi dari hormon yang merupakan gejala dari penyakit diabetes (Nurcahyaningrum, 2008).

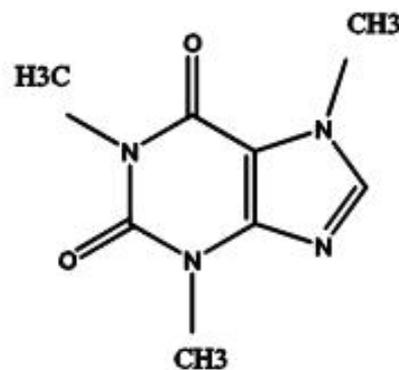
## **B. Kafein**

Kafein merupakan sejenis alkaloid heterosiklik dalam golongan methylxantine, yang menurut definisi berarti senyawa organik yang mengandung

nitrogen dengan struktur dua-cincin atau dua-siklik. Molekul ini secara alamiah terjadi pada tanaman sebagai metabolit sekunder. Fungsinya dalam tumbuhan adalah sebagai pestisida alami yang melumpuhkan dan membunuh serangga yang memakan tumbuhan tersebut. Zat ini dihasilkan secara khusus dalam daun, kacang-kacangan dan buah-buahan lebih dari 60 tanaman, termasuk daun teh biasa (*Camellia sinensis*), kacang kola (*Cola acuminata*), kopi (*Coffea arabica*), kacang koko (Reinhardt, 2009). Kafein memiliki efek farmakologis yang bermanfaat secara klinis, seperti menstimulasi susunan syaraf pusat, relaksasi otot terutama otot polos bronkus dan stimulan otot jantung (Maramis, 2013).

### 1. Struktur kafein

Kafein mempunyai nama kimia 1,3,7- trimetil xantin. Rumus molekulnya  $C_8H_{10}N_4O_2$  dengan berat molekul 194.19 dan mempunyai struktur seperti gambar 1.



Gambar 1. Rumus bangun kafein

### 2. Sifat fisika kafein

Pemerian Kafein berupa hablur bentuk jarum halus, mengkilat, tidak berwarna, rasa pahit, tidak berbau, larutan bersifat netral terhadap kertas lakmus.

Kafein agak sukar larut dalam air, dalam etanol, mudah larut dalam kloroform dan sukar larut dalam eter. Titik lebur kafein  $235^{\circ}\text{C}$  dan  $275^{\circ}\text{C}$ . Dosis maksimal kafein adalah 500 mg untuk sekali pemakaian dan 1,5 gram untuk satu hari pemakaian (Anonim, 1995).

### **3. Mekanisme kerja**

Mekanisme kerja kafein pada sel saraf berkontribusi pada efek kafein tersebut. Aktivitas sel saraf dipengaruhi oleh senyawa adenosin. Adenosin adalah senyawa nukleotida yang berfungsi mengurangi aktivitas sel saraf saat menempel pada sel tersebut. Senyawa kafein juga menempel pada reseptor yang sama tetapi tidak memperlambat aktivitas sel saraf sebaliknya menghalangi adenosin untuk berfungsi. Kafein mengikat senyawa adenosin di otak, sehingga dampak aktivitas otak meningkat dan menyebabkan hormon epinefrin atau adrenalin disebar. Hormon tersebut akan menaikkan detak jantung, meninggikan tekanan darah, menambah penyaluran darah ke otot-otot, dan mengeluarkan glukosa dari hati (Fhatoni, 2015).

### **4. Kegunaan klinis**

Kafein berkhasiat sebagai stimulan saraf pusat dan kardiotonikum (Anonim, 1979). Daya kerja sebagai stimulan saraf pusat dari kafein secara farmakologi sangat menonjol sehingga umumnya digunakan sebagai stimulan sentral (Nurchayaningsih, 2008). Kafein pada dosis rendah digunakan sebagai bahan pembangkit stamina dan penghilang rasa lelah. Kafein juga berefek inotrop positif terhadap jantung, vasodilatasi perifer dan diuretik (Tan dan Rahardja, 2002).

## **5. Efek samping**

Penggunaan kafein secara berlebih dapat menimbulkan efek samping seperti gelisah, denyut jantung tidak beraturan, susah tidur, hipertensi, tremor dan kejang. Kafein juga dapat menyebabkan tekanan darah tinggi dan mengakibatkan ketagihan ringan serta dapat mengurangi tingkat kesuburan (Nurchayaningih, 2008). Konsumsi kafein yang berlebih dan dalam jangka panjang dapat beresiko berkembangnya penyakit tertentu seperti darah tinggi, ginjal, jantung dan stroke. kafein juga beresiko aborsi bagi wanita hamil (Nurchayaningih, 2008).

## **C. Spektrofotometri**

### **1. Pengertian**

Spektrofotometri adalah suatu cara untuk menetapkan atau mengukur absorban atau transmittan suatu zat dengan panjang gelombang tertentu. Spektrofotometri UV-Vis merupakan anggota teknik analisis spektrokopi yang memakai sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dekat (190 - 380 nm) dan sinar tampak (380-780 nm) dengan memakai instrumenspektrofotometer (Mulja dan Suharman,1995)

### **2. Prinsip kerja spektrofotometri**

Prinsip kerja spektroskopi didasarkan adanya interaksi radiasi elektromagnetik dengan zat kimia. Hasil interaksi tersebut bisa menimbulkan satu atau lebih peristiwa seperti: pemantulan, pembiasan, interferensi,difraksi, penyerapan (absorbansi), flouresnsi, fosforisensi dan ionisasi. Peristiwa absorpsi

merupakan dasar dari cara spektroskopi karena proses absorpsi berbanding lurus dengan banyaknya zat kimia (sudarmadji dkk, 2003).

### **3. Bagian- bagian dalam spektrofotometer**

**3.1. Sumber lampu.** Lampu deuterium digunakan pada daerah UV pada panjang gelombang dari 190-350 nm, lampu halogen kuarsa atau lampu tungsten digunakan untuk daerah visibel pada panjang gelombang antara 350-900 nm (Ganjar dan Rohman, 2007).

**3.2. Monokromator.** Monokromator digunakan untuk mendispersikan sinar ke dalam komponen-komponen panjang gelombangnya yang selanjutnya akan dipilih oleh celah.

**3.3. Sel absorpsi.** Kuvet biasanya terbuat dari kuarsa atau gelas, namun kuvet kuarsa yang terbuat dari silika memiliki kualitas yang lebih baik. Hal ini disebabkan terbuat dari kaca dan plastik dapat menyerap UV sehingga penggunaannya hanya spektrofotometer sinar tampak (Vis).

**3.4. Detektor.** Detektor merupakan salah satu bagian terpenting dalam spektrofotometri UV-Vis. Kualitas detektor akan menentukan kualitas spektrofotometer UV-Vis. Fungsi dari detektor di dalam spektrofotometer adalah mengubah sinyal radiasi yang diterima menjadi sinyal elektronik (Mulja dan Suharman,1995).

**3.5. Rekorder.** Rekorder merupakan alat untuk mencatat hasil pengukuran dan dinyatakan dalam bentuk angka.

#### 4. Penggunaan spektrofotometri UV-Vis

**4.1. Analisa kualitatif.** Analisa kualitatif dengan metode spektrofotometri UV-Vis hanya dipakai untuk data sekunder pendukung. Pada analisa dengan metode kualitatif dengan metode spektrofotometri yang ditentukan ada 2 yaitu Pemeriksaan kemurnian spektrum UV-Vis dapat ditentukan dengan pemeriksaan spektrum UV-Vis dan penentuan panjang gelombang maksimum (Ganjar dan rahman,2007).

**4.2. Analisa kuantitatif.** Analisa kuantitatif pada metode spektrofotometri UV-Vis zat tunggal dilakukan dengan pengukuran harga A pada panjang gelombang maksimum atau dilakukan pengukuran %T pada panjang gelombang minimum, karena perubahan absorban untuk setiap satuan konsentrasi adalah paling besar pada panjang gelombang maksimum, sehingga diperoleh kepekaan analisis yang sangat tinggi.

#### 5. Hal-hal yang harus diperhatikan dalam analisis spektrofotometri UV-Vis.

**5.1. Pembentukan molekul yang dapat menyerap sinar UV-Vis.** Hal ini perlu dilakukan jika senyawa yang dianalisis tidak menyerap pada daerah tersebut. Cara yang dilakukan dengan merubah menjadi senyawa lain atau direaksikan dengan pereaksi tertentu.

**5.2. Waktu operasional (*operating time*).** Pengukuran *operating time* bertujuan untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil. Waktu operasional ditentukan dengan mengukur hubungan antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan.

**5.3. Pemilihan panjang gelombang.** Pada kegiatan analisis kuantitatif panjang gelombang yang digunakan adalah panjang gelombang yang mempunyai absorbansi maksimal.

**5.4. Pembuatan kurva baku.** Dibuat seri larutan baku dari zat yang akan dianalisis dengan berbagai konsentrasi. Masing-masing konsentrasi larutan diukur absorbansinya, kemudian dibuat kurva yang merupakan hubungan antara absorbansi (y) dengan konsentrasi (x).

**5.5. Pembacaan absorbansi sampel atau cuplikan.** Absorbansi yang terbaca pada spektrofotometer hendaknya antara 0,2 sampai 0,8 atau 15% sampai 70% jika dibaca sebagai transmitans. Anjuran ini berdasarkan anggapan bahwa kesalahan dalam pembacaan adalah 0,005 atau 0,5%.

#### **D. Validasi Metode**

Kesahihan metode analisis diartikan sebagai suatu prosedur yang digunakan untuk membuktikan bahwa metode analisis tersebut memberikan hasil seperti yang diharapkan dengan kecermatan dan ketelitian yang memadai. Pedoman kesahihan metode analisis didukung oleh parameter- parameter berikut ini:

##### **1. Akurasi**

Akurasi merupakan ketelitian metode analisis atau kedekatan antar nilai terukur dengan nilai yang diterima baik nilai konvensi, nilai sebenarnya atau nilai rujukan (Ganjar dan rahman,2007). Untuk pengujian senyawa obat, akurasi

diperoleh dengan membandingkan hasil pengukuran dengan bahan rujukan standar.

## **2. Presisi**

Presisi atau kesamaan adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil individual, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata - rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel - sampel yang diambil dari campuran yang homogen (Hamita, 2004). Keterulangan metode analisis dan biasanya dirumuskan sebagai simpangan baku relatif dari sejumlah sampel yang berbeda signifikan secara statistik. Metode dapat dinyatakan memiliki presisi yang baik apabila memiliki nilai RSD 1-2% untuk senyawa aktif dalam jumlah yang banyak, sedangkan untuk senyawa - senyawa dengan kadar sekelumit, RSD berkisar 5-10% (Ganjar dan rahman,2007).

## **3. Spesifitas**

Spesifitas adalah kemampuan untuk mengukur analit yang dituju secara tepat dan spesifik dengan adanya komponn komponen lain dalam matriks sampel seperti ketidakmurnian. Produk degradasi dan komponen matriks (Ganjar dan rahman, 2007).

## **4. Batas deteksi (*limit of detection*)**

Batas deteksi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi, meskipun tidak terlalu dapat dikuantitatifkan. LOD merupakan batas uji yang secara spesifik menyatakan apakah analit di atas atau di bawah nilai tertentu (Ganjar dan Rahman, 2007). Dengan rumus  $LOD = 3(SD/S)$  dimana SD didasarkan pada standar deviasi, S yaitu Slope kurva baku.

## 5. Batas kuantifikasi (*limit of quantification, LOQ*)

Batas kuantifikasi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima pada kondisi operasional metode yang digunakan (Ganjar dan rahman,2007). Dengan rumus:  $LOQ = 10(SD/S)$  dimana SD didasarkan pada standar deviasi, S yaitu Slope kurva baku.

## 6. Linieritas

Linieritas merupakan kemampuan suatu metode untuk memperoleh hasilhasil uji yang secara langsung proposional dengan konsentrasi analit pada kisaran yang diberikan. Linieritas suatu metode merupakan ukuran seberapa baik kurva kalibrasi yang menghubungkan antara respon (y) dengan konsentrasi (x) (Ganjar dan rahman,2007).

## E. Landasan Teori

Kopi merupakan salah satu minuman yang banyak digemari oleh masyarakat, karena kopi telah banyak dikonsumsi dari generasi ke generasi. Hingga saat ini, para lanjut usia bahkan muda-mudi memilih kopi instan dibandingkan kopi jenis lain karena praktis dalam mengkonsumsinya. Banyak yang membuka kedai-kedai kopi di pinggir jalan. Pengonsumsi kopi biasanya meminum kopi 3-4 kali dalam satu hari (Maramis, 2013).

Kopi memiliki beberapa manfaat positif bagi kesehatan, seperti mengurangi derita sakit kepala, aroma kopi menghilangkan stress. Kafein pada kopi mencegah gigi berlubang, memperkaya antioksidan pada tubuh, melindungi

kulit, mencegah parkinson (Sofiana, 2011). Kopi merupakan minuman yang berasal dari bubuk kopi. Hasil olahan kopi sangat bermacam - macam mulai dari kopi hitam, kopi susu, capucinno, mocacinno, kopi espresso. Zat yang paling utama terdapat dalam kopi berupa kafein. Kadar kafein pada minuman dan makanan di atur dalam SNI 01-7152-2006 dengan dosis 150mg/hari atau 50 mg/saji. Hal ini mengingat dampak negatif bila mengkonsumsi makanan atau minuman yang mengandung kadar kafein yang melebihi dosis yang telah ditentukan dalam jangka panjang.

Kafein mempunyai nama kimia 1,3,7- trimetil xantin. Rumus molekul  $C_8H_{10}N_4O_2$  berupa bubuk putih berbentuk jarum mengkilat putih, biasanya menggumpal rasa pahit (Anonim,1995). Kafein adalah zat tergolong dalam jenis alkaoid. Selain kopi, kafein banyak ditemukan dalam daun teh, biji coklat, cola. Kafein memiliki efek farmakologis yang bermanfaat secara klinis, seperti menstimulasi susunan syaraf pusat, relaksasi otot polos bronkus dan stimulasi otot jantung (Maramis, 2013). Berdasarkan efek farmakologis tersebut, kafein ditambahkan dalam jumlah tertentu ke minuman. Efek berlebihan (*over dosis*) mengkonsumsi kafein dapat menyebabkan gugup, gelisah, tremor, insomnia, hipertensi, mual. Dosis kafen yang diizinkan menurut SNI 01-7152-2006 50 mg/ saji dan batas maksimum dalam makanan atau minuman 150 mg/hari.

Metode yang digunakan untuk analisis kafein dapat dilakukan dengan metode Spektrofotometri UV-Vis. Spektrofotometri Ultra Violet - visible adalah pengukuran banyaknya radiasi elektromagnetik yang diserap pada daerah radiasi sinar Ultra Violet dan sinar nampak. Radiasi sinar UV dan nampak terjadi pada

daerah panjang gelombang 200 - 750 nm (Gandjar dan Rohman, 2007). Kafein dapat dilakukan uji kualitatif dengan menggunakan pereaksi warna berupa reagen parry, reagen murexide, reagen mayer dan dilakukan uji KLT menggunakan fase gerak metanol- kloroform (1:9).

Menurut Aryanu (2016) berdasarkan penelitian yang dilakukan bahwa kandungan kafein pada kopi tertinggi pada kopi murni, dibandingkan dengan kopi mentah ataupun kopi campuran. Kadar kafein pada kopi mentah adalah sebesar  $1,28 \pm 0,82\%$ , kopi murni sebesar  $1,63 \pm 0,13\%$  dan kopi campuran  $0,87 \pm 0,01\%$ . Hal ini disebabkan kandungan kadar air dan kafein pada kopi mentah masih dalam bentuk ikatan dengan senyawa lain berupa senyawa organik. Kopi campuran kadar kafeinnya lebih rendah dibandingkan dengan kopi mentah ataupun kopi murni yang disebabkan oleh proses pengeringan dan penyangraian biji kopi menjadi kopi campuran.

## **F. Hipotesis**

Berdasarkan landasan teori yang ada dapat disusun suatu hipotesis dalam penelitian ini terdapat kandungan kafein pada minuman kopi. Kadar kafein pada minuman kopi dapat ditetapkan dengan metode spektrofotometri UV-Vis.

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **A. Populasi**

Populasi adalah keseluruhan objek yang akan diteliti. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah minuman kopi kemasan yang beredar di Minimarket di daerah Solo Baru, Grogol, Sukoharjo.

#### **B. Sampel**

Sampel yang digunakan yaitu tiga sampel minuman kopi kemasan merk A, B, C yang dijual di Minimarket, di daerah Solo Baru, Grogol, Sukoharjo. Sampel diambil pada bulan Januari 2017.

#### **C. Variabel Penelitian**

##### **1. Identifikasi variabel utama**

Variabel utama pada penelitian ini adalah metode analisis kafein meliputi uji kualitatif dan uji kuantitatif pada minuman kopi kemasan yang dijual di Minimarket, di daerah Solo Baru, Grogol, Sukoharjo.

##### **2. Klasifikasi variabel utama**

Variabel utama diklasifikasikan kedalam berbagai variabel, antara lain: variabel bebas, variabel terkontrol dan variabel tergantung.

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung, dimana variabel bebas dalam penelitian ini adalah minuman kopi instan.

Variabel kendali merupakan variabel yang mempengaruhi variabel tergantung. Variabel kendali dalam penelitian ini adalah pelarut, kondisi alat spektrofotometer UV-Vis, peralatan di laboratorium, reagent uji, berat penimbangan sampel dan kondisi peneliti.

Variabel tergantung adalah pusat atau titik permasalahan yang merupakan pemilihan dalam penelitian ini. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah kadar kafein pada minuman kopi kemasan yang dijual di Minimarket, di daerah Solo Baru, Grogol, Sukoharjo.

### **3. Definisi operasional variabel utama**

Definisi operasional variabel utama yang pertama, minuman kopi kemasan adalah minuman yang terbuat dari bubuk kopi yang diseduh dengan atau tanpa bahan tambahan seperti gula, susu. Minuman kopi dalam kemasan kotak atau botol yang dijual di Minimarket, di daerah Solo Baru, Grogol, Sukoharjo.

Definisi operasional variabel utama yang kedua, kafein adalah zat metabolit sekunder yang terdapat dalam sampel minuman kopi kemasan yang berkhasiat sebagai stimulan saraf pusat dan kardiotonikum.

Definisi operasional variabel utama yang ketiga, pengujian terhadap sampel meliputi uji kualitatif menggunakan reaksi Murexide, reaksi parry dan Kromatografi Lapis Tipis. Untuk penetapan kadar kafein pada sampel

menggunakan spektrofotometri UV-Vis berdasarkan pengukuran serapan oleh larutan dengan panjang gelombang yang spesifik.

Definisi operasional variabel utama yang keempat validitas metode analisis kafein pada minuman kopi kemasan dengan metode spektrofotometri UV-Vis berdasarkan parameter akurasi, presisi, linearitas, LOD dan LOQ.

#### **D. Alat dan Bahan**

##### **1. Alat**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah spektrofotometri UV-Vis, corong pisah, neraca analitik, chamber, lampu UV, beaker glas, labu takar, corong gelas, pipet volume, pembakar spirtus, cawan porselin, tabung reaksi, erlenmeyer, penjepit tabung, corong kaca,

##### **2. Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel minuman kopi A, B dan C, kafein baku standar, kloroform ( $\text{CHCl}_3$ ), HCl pro analisa,  $\text{KClO}_3$  p.a,  $\text{NH}_4\text{OH}$  p.a, K.I p.a,  $\text{HgCl}_2$  p.a,  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$  p.a, aquadest, metanol, NaOH p.a,  $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{NH}_4\text{OH}$  2N, larutan HCl 2N, reagen Murexide, reagen Mayer.

#### **E. Jalannya Penelitian**

##### **1. Preparasi sampel**

Sebanyak 50 ml sampel dimasukkan dalam erlenmeyer kemudian ditambah dengan  $\text{CaCO}_3$  sebanyak 1,5 gram aduk sampai homogen dipanskan sampai mendidih kemudian disaring, filtrat hasil saringan dimasukkan dalam corong

pisah kemudian diekstraksi dengan kloroform sebanyak 2 kali, masing-masing penambahan sebanyak 50 ml kloroform. Lapisan bawah diambil, kemudian ekstrak ( fase kloroform) diupakan di atas waterbath sampai diperoleh ekstrak kering. Diekstraksi diulang sebanyak 3 kali. Pemipetan pada sampel diulang 2 kali, sehingga volume sampel yang diekstraksi menggunakan kloroform sebanyak 100ml.

## **2. Uji reaki warna.**

Ekstrak kering hasil preparasi sampel diambil sebagian untuk dilakukan pengujian reaksi warna

**2.1. Reaksi murexide.** Ekstrak kering ditambah dengan HCl pekat dan  $KClO_3$  kemudian dipanaskan, sisa pemijaran ditambah dengan Ammoniak hidroksida pekat.

**2.2. Reaksi parry.** Sejumlah sampel dilarutkan dalam alkohol, kemudian ditambahkan reagen parry dan ammonia encer. Larutan berwarna biru tua/ hijau menyatakan positif kafein. Reagen parry dibuat dengan mereaksikan Cobalt Nitrat ( $Co(NO_3)_2$ ) dengan methanol  $CH_3OH$ .

**2.3.Reaksi mayer.** Ekstrak kering ditambah dengan HCl 2N kemudian ditambah dengan Reagen Mayer terjadi endapan kuning.

## **3. Uji Kromatografi Lapis Tipis**

Untuk uji KLT, sampel hasil ekstraksi dilarutkan dengan kloroform. Kemudian sampel ditotolkan pada silika GF 254 yang telah diaktivasi dengan cara dipanaskan di dalam oven suhu  $100^\circ C$  selama 5 menit. Dielusi pada fase gerak metanol-kloroform (1:9) hingga tanda batas atas plat KLT, dikeluarkan dan

dikeringkan. Di lihat pada sinar UV 254. Dihitung nilai Rfnya kemudian dibandingkan antara sampel dan baku kafeinnya.

#### **4. Analisa kuantitatif**

**4.1. Pembuatan larutan HCl 0,1 N.** Dipipet sebanyak 9,8 ml HCl pro analisa dimasukkan ke dalam labu takar 1000ml, kemudian ditambah dengan aquadest sampai volumenya 1000ml.

**4.2. Pembuatan larutan baku kafein.** Ditimbang seksama lebih kurang 100mg kafein, dimasukkan ke dalam labu takar dan ditambah dengan HCl 0,1N sampai 100 ml. Dibuat seri konsentrasi baku kafein dari 5 mg/L, 6 mg/L, 7 mg/L, 8 mg/L, 9 mg/L, 10 mg/L, 11 mg/L dan 12 mg/L.

**4.3. Penentuan panjang gelombang maksimal.** Diambil baku kafein dengan konsentrasi 10 mg/L, dimasukkan ke dalam kuvet, lalu dilakukan pemindaian panjang gelombang maksimal dari rentang panjang gelombang 200-350 nm.

**4.4. Penentuan *operating time* (OT).** penentuan *operating time* dilakukan dengan cara baku yang digunakan dalam penentuan panjang gelombang maksimal digunakan pula dalam penentuan *operating time*. Baku dilakukan pemindaian *operating time* dengan waktu 30 menit.

**4.5. Penetapan kurva kalibrasi.** Kurva kalibrasi dilakukan dengan membuat serangkaian larutan baku standar sebanyak 7 konsentrasi sebagai berikut: 5 mg/L, 6 mg/L, 7 mg/L, 8 mg/L, 9 mg/L, 10 mg/L, 11 mg/L dan 12 mg/L. Kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang serapan maksimal yang di dapatkan dan sebagai blangko yang digunakan HCl.

**4.6. Penetapan kadar kafein pada sampel.** Sampel ditimbang sebanyak 10mg kemudian dimasukkan dalam labu takar 100ml larutkan dengan HCl 0,1 N sampai tanda batas. Dipipet 1,0 ml masuk dalam labu takar 10ml, diencerkan dengan larutan HCl 0,1N sampai tanda batas. Serapan dibaca pada panjang gelombang maksimal, HCl 0,1 N sebagai blangko. Nilai abasorbansi yang di dapat dimasukkan dalam persamaan  $y = a + bx$ , dimana y adalah nilai absorbansi, a adalah nilai slope, b adalah nilai intersep dan x adalah konsentrasi.

## **5. Validasi metode analisis**

**5.1. Presisi.** Di pipet 1 ml larutan baku dimasukkan kedalam labu takar 10 ml. Di tambah HCl 0.1 N hingga tanda batas. Dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimal 272 nm. Dilakukan pengulangan sebanyak 10 kali.

**5.2. Akurasi.** Di pipet 1 ml larutan baku kafein dimasukkan kedalam labu takar 10 ml. Ditambah larutan HCl 0,1 N sampai tanda batas. Dari larutan induk kafein dibuat konsentrasi 80%, 100% dan 120%. Dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

**5.3. Linearitas.** Pengerjaan linearitas sama dengan pembuatan kurva baku kafein, yaitu dengan dibuat seri konsentrasi 5 mg/L, 6 mg/L, 7 mg/L, 8 mg/L, 9 mg/L, 10 mg/L, 11 mg/L, dan 12 mg/L. Sehingga dapat dimasukkan dalam persamaan  $y = a + bx$ .

## **6. Analisis Data**

Metode analisis yang dipakai menggunakan pembacaan absorbansi sampel (y) yang kemudian dicari regresi liniernya (a dan b) menggunakan hubungan absorbansi sampel dengan konsentrasi mg/L.

## Regresi Linier

$$y = a + bx \dots \dots \dots (1)$$

keterangan:

y= serapan yang diperoleh

a= konstanta

b= koefisien regresi (kemiringan)

berdasarkan persamaan garis tersebut dapat dihitung konsentrasi kafei dalam sampel, kemudian dihitung kadar menggunakan rumus:

$$\text{kadar kafein} = \frac{\text{konsentrasi} \times \text{fraksi pembuatan} \times \text{fraksi pengenceran}}{\text{berat sampel}}$$

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Preparasi Sampel**

Kopi merupakan salah satu minuman yang berasal dari proses pengolahan dan ekstraksi biji tanaman kopi. Penelitian ini dilakukan untuk menganalisa kadar kafein pada minuman kopi yang sering dikonsumsi oleh masyarakat. Sampel yang digunakan adalah sampel minuman kopi instan merk A, B, C yang dijual di mini market daerah Solo Baru, Grogol, Sukoharjo.

Sebelum dilakukan pengujian analisa kualitatif dilakukan preparasi sampel terlebih dahulu dengan dipipet sampel sebanyak 100ml sampel, dikarenakan pipet volume yang tersedia 50 ml, dilakukan 2 kali replikasi. Sampel dilakukan pemipetan sebanyak 50 ml, kemudian memasukkannya dalam erlenmeyer 250 ml ditambah dengan 1,5 gram  $\text{CaCO}_3$ , kemudian merefluks sampel selama 20 menit untuk menghomogenkan  $\text{CaCO}_3$  dengan sampel. setelah dingin dilakukan proses penyaringan dengan kertas saring, penyaringan ini bertujuan untuk memperoleh filtrat serta memisahkan pengotor-pengotor dan garam-garam yang terkandung dalam kopi. Filtrat yang diperoleh selanjutnya dilakukan ekstraksi menggunakan kloroform sebanyak 50 ml Kloroform dipilih sebagai pelarut karena kafein sangat mudah larut dalam kloroform. Menurut Nazar (2014) kafein mudah larut didalam air, namun kelarutan kafein lebih besar didalam kloroform. Pada saat proses pemisahan terbentuk dua lapisan dimana lapisan bawah adalah kloroform dan lapisan atas air. Lapisan bawah diambil untuk selanjutnya diuapkan menjadi ekstrak kering, untuk lapisan atas di ekstraksi kembali sebanyak 3 kali. Dalam

preparasi sampel untuk sampel B sedikit mengalami perbedaan dalam proses preparasi dikarenakan kandungan susu dalam sampel terlalu banyak, sehingga pada saat merefluk sampel dengan  $\text{CaCO}_3$  dan proses menyaring, susu didalam sampel tidak pecah sehingga ikut tersaring membuat larutan menjadi keruh, pada saat dilakukan proses ekstraksi menggunakan kloroform timbul buih yang mengganggu proses pemisahan antara fase kloroform dan air. Untuk memecah susu yang terkandung dalam sampel menambahkan 2 ml Pb asetat jenuh pada saat sampel masih dalam keadaan panas. Pb asetat adalah suatu asam lemah yang dapat mengendapkan protein susu pada sampel disamping itu, pb asetat mampu mengendapkan kotoran - kotoran seperti tanin dan garam -garam yang terdapat dalam kopi.

## B. Uji Kualitatif

### 1. Uji reaksi murexide

Untuk mengetahui keberadaan kafein dalam sampel minuman kopi, maka dilakukan uji kualitatif meggunakan reagen Murexide. Keberadaan kafein ditunjukkan dengan warna hasil pemijaran. Hasil uji kualitatif metode reaksi murexide dapat dilihat pada Tabel 1 berikut.

**Tabel 1. Hasil uji kualitatif dengan metode reaksi murexide**

<b>Sampel</b>	<b>Hasil pengamatan</b>	<b>Keterangan</b>
<b>Baku Kafein</b>	Ungu	
<b>Sampel A</b>	Ungu	+
<b>Sampel B</b>	Ungu	+
<b>Sampel C</b>	Ungu	+

Dari tabel diatas menunjukkan bahwa 3 sampel yang diuji menggunakan reagen murexide menghasilkan warna ungu, dengan cara hasil sisa pemijaran

ditetesi dengan Amoniak pekat. Hal tersebut menunjukkan adanya kafein dalam sampel (Clarke, 1971).

## 2. Uji reaksi parry

Untuk mengetahui keberadaan kafein dalam sampel minuman kopi, maka dilakukan uji kualitatif dengan menggunakan reagen parry. Keberadaan kafein ditunjukkan dengan warna larutan. Hasil uji kualitatif metode parry dapat dilihat pada Tabel 2 berikut.

**Tabel 2. Hasil uji kualitatif dengan menggunakan reaksi parry**

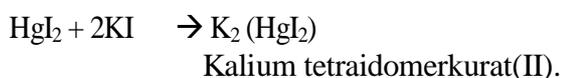
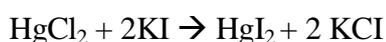
<b>Sampel</b>	<b>Hasil pengamatan</b>	<b>Keterangan</b>
<b>Baku Kafein</b>	Biru/Kehijauan	
<b>Sampel A</b>	Biru kehijauan	+
<b>Sampel B</b>	Hijau	+
<b>Sampel C</b>	Hijau	+

Dari tabel di atas menunjukkan bahwa 3 sampel yang diuji menggunakan reagen parry menghasilkan warna biru kehijauan atau hijau. Hal ini menunjukkan adanya kafein dalam sampel tersebut. Reagen parry dibuat dengan mereaksikan Cobalt Nitrat ( $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ ) dengan methanol. Ion kobalt (Co) dalam reagen tersebut akan membentuk kompleks yang berwarna hijau. Ion kobalt bermuatan dua positif sehingga memungkinkan untuk mengikat gugus senyawa nitrogen yang terdapat pada senyawa kafein.

## 3. Uji reaksi mayer

Untuk mengetahui keberadaan kafein pada minuman kopi instan dilakukan uji kualitatif menggunakan reagen mayer. Keberadaan kafein pada sampel ini ditunjukkan dengan adanya endapan putih. Reaksi ini mayer ini dilakukan dengan cara mereaksikan sampel dengan HCl encer kemudian ditambah dengan reagen mayer. Pereaksi Mayer dibuat dengan cara mereaksikan merkuriem (II) klorida

ditambah dengan kalium iodida akan bereaksi membentuk endapan merah merkuri (II) iodida. Jika kalium iodida ditambahkan berlebih maka akan terbentuk kalium tetraiodomerkurat (II) (Svehla, 1990). Adanya kalium tetraiodomerkurat bereaksi dengan nitrogen alkaloid membentuk senyawa kompleks yang berupa endapan. Perkiraan reaksi yang terjadi pada uji Mayer diunjukkan pada gambar 2.



Berikut hasil dengan menggunakan reaksi mayer dapat dilihat pada Tabel 3 berikut.

**Tabel 3. Hasil uji reaksi mayer**

<b>Sampel</b>	<b>Hasil pengamatan</b>	<b>Hasil warna literatur</b>	<b>Keterangan</b>
<b>Baku Kafein</b>	Kuning	Endapan putih/larutan kuning	
<b>A</b>	Kuning		+
<b>B</b>	Kuning		+
<b>C</b>	Kuning		+

Dari tabel diatas menunjukkan bahwa sampel direaksikan dengan reagen mayer menghasilkan warna kuning. Hal ini menunjukkan bahwa sampel positif dengan menggunakan reagen parry karena menghasilkan endapan putih atau larutan kuning.

#### **4. Uji kromatografi lapis tipis**

Untuk mempertegas reaksi warna dilakukan uji kromatografi lapis tipis dengan menggunakan fase diam berupa silika GF 254 dan fase gerak klorofom: metanol (9:1).

**Tabel 4. Hasil perhitungan nilai Rf pada kromatografi lapis tipis**

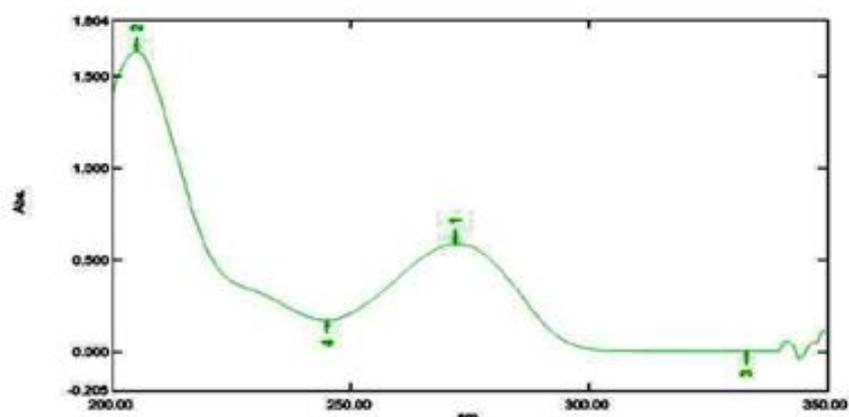
Sampel	Nilai Rf	Deteksi Bercak		Keterangan
		Sinar Tampak	UV 254 nm	
<b>Baku Kafein</b>	0,8		Meredam	
<b>Sampel A</b>	0,79	Cokelat muda	Meredam	+
<b>Sampel B</b>	0,78	Cokelat muda	Meredam	+
<b>Sampel C</b>	0,79	Cokelat muda	Meredam	+

Dari tabel diatas menunjukkan bahwa nilai Rf baku dan nilai Rf 3 sampel mendekati dan hampir sama. Hal ini menunjukkan bahwa sampel mengandung adanya kafein.

### C. Penetapan Kadar Sampel

#### 1. Penentuan panjang gelombang maksimal

Pada penelitian yang telah dilakukan penentuan panjang gelombang maksimal, sehingga diketahui sensitifitas pembacaan spektrofotometer yang tinggi dan dapat mengurangi kesalahan pembacaan absorbansi. Penentuan panjang gelombang maksimal kafein dilakukan pada daerah panjang gelombang 200-350 nm, menggunakan larutan baku kafein dengan konsentrasi 10 ppm. Hasil panjang gelombang maksimal dapat dilihat pada Gambar 2.

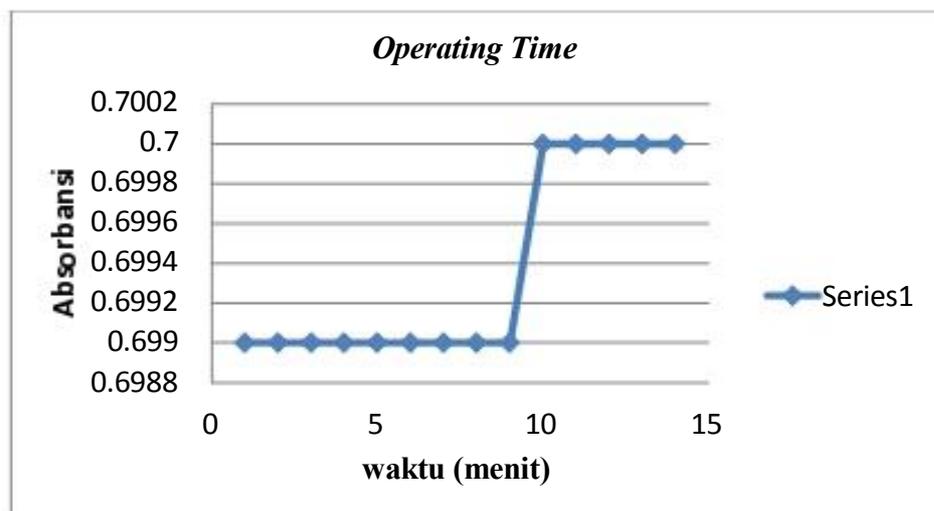


Gambar 2. Panjang Gelombang Maksimal Kafein

Berdasarkan penelitian ini, diketahui nilai panjang gelombang maksimal baku kafein adalah 272 nm. Sedangkan panjang gelombang maksimal kafein berdasarkan literatur adalah 272 nm dengan menggunakan HCl 0,1 N sebagai pelarutnya (Clarke, 1971). Penggunaan pelarut HCl 0,1 N bertujuan mengubah kafein ke dalam bentuk garamnya sehingga lebih mudah larut dalam air (Danasyaningsih, 2007)

## 2. Penentuan *operating time*

Penentuan *operating time* dilakukan untuk mengetahui pada menit berapa serapan larutan stabil. Penentuan *operating time* pada penelitian ini menggunakan larutan baku kafein dengan konsentrasi 10 ppm dan panjang gelombang maksimal yang didapat yaitu 272 nm. Penetapan *operating time* pada penelitian ini dilakukan pada menit ke-0 sampai pada menit ke-30. Gambar penentuan *operating time* dapat dilihat pada Gambar 3 berikut.



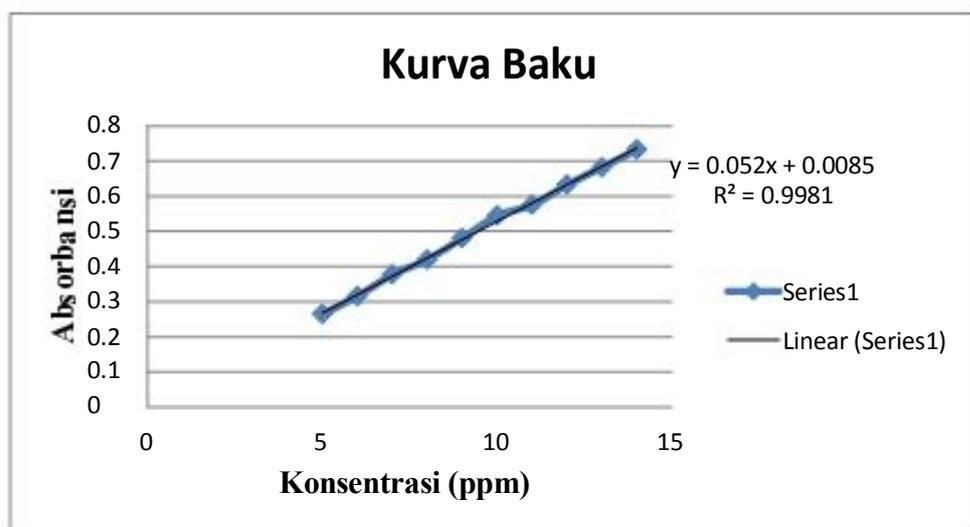
Gambar 3. Grafik *operating time*

Pada penentuan *operating time* yang telah dilakukan, data yang di dapat menunjukkan bahwa serapan pada menit pertama sampai ke-8 menunjukkan stabil namun mengalami kenaikan pada menit ke 9 dan pada menit ke-9 sampai menit

ke-30 tidak mengalami penurunan maupun kenaikan, sehingga pembacaan larutan kurva baku dan sampel dilakukan pada menit ke-9 agar mendapatkan hasil yang maksimal.

### 3. Penentuan kurva kalibrasi

Kurva di buat dengan cara menghubungkan nilai serapan yang dihasilkan oleh sedikitnya lima konsentrasi larutan baku yang berbeda. Penentuan kurva kalibrasi pada percobaan ini menggunakan 10 konsentrasi larutan baku kafein yang berbeda yaitu 5 ppm, 6 ppm, 7 ppm, 8 ppm, 9 ppm, 10 ppm, 11 ppm, 12 ppm, 13 ppm dan 14 ppm. Grafik kurva kalibrasi dapat dilihat pada Gambar 4 berikut



Gambar 4. Grafik kurva kalibrasi baku kafein

Berdasarkan Gambar 4 hasil kurva kalibrasi dari pembacaan serapan didapatkan persamaan ,  $a = 0,0085$ ;  $b = 0,0520$ ;  $r = 0,9991$ . Persamaan kurva kalibrasi yang diperoleh adalah  $y = 0,0085 + 0,0520x$  dengan koefisien korelasi  $r = 0,9991$ .

#### 4. Hasil Penentuan Kadar Sampel

Penetapan kadar sampel dilakukan dengan menimbang 10 mg ekstrak sampel dilarutkan kedalam labu takar 100 ml menggunakan HCl 0,1 N. Dalam penentuan kadar sampel dilakukan pengenceran sebanyak 10 x, sehingga sampel dipipet 1 ml kemudian dimasukkan kedalam labu takar 10 ml dilarutkan dengan HCl 0,1 N. Nilai absorbansi sampel dibaca pada panjang gelombang maksimal 272 nm. Absorbansi yang diperoleh disubstitusikan dengan y pada persamaan regresi linier yang sudah diketahui. Hasil penentuan kadar sampel dapat dilihat pada Tabel 5 berikut.

Tabel 5. Hasil Perhitungan Kadar Kafein Pada Sampel

Sam pel	Abs	Konsentrasi (mg/1000 ml)	kadar kafein/1 0mg ekstrak kopi(mg )	Rata-rata kadar + SD	Kadar kafein dalam 100 ml
A1	0,469	8,8521	0,8765	0,8599 ±	4,4413
A2	0,462	8,7176	0,8547	0,010332	
A3	0,450	8,4869	0,8487		
B1	0,593	11,2359	1,1125	1,0558 ±	4,7519
B2	0,554	10,4862	1,0382	0,035513	
B3	0,548	10,3708	1,0167		
C1	0,482	9,1021	0,8924	0,9228 ±	4,300
C2	0,484	9,1405	0,9141	0,025238	
C3	0,514	9,7172	0,9621		

Berdasarkan perhitungan kadar kafein dalam sampel pada tabel 5. Bahwa

setiap 100 ml minuman kopi instan sampel A mengandung kafein sebesar  $(4,4413 \pm 0,0103)$  mg/mg b/b, dalam minuman kopi instan sampel B sebesar  $(4,7418 \pm 0,0355)$  mg/mg b/b dan dalam minuman kopi instan sampel C sebesar  $(4,2949 \pm 0,0252)$  mg/mg b/b. Menurut SNI 01-7152-2006 batas maksimum kafein dalam makanan ataupun minuman adalah 150 mg/hari dan 50 mg/sajian. Untuk

sekali minum sampel A mengandung kafein sebesar 8,882 mg/mg b/b perkemasan, sampel B mengandung 11,380 mg/mg b/b perkemasan dan sampel C mengandung kafein sebesar 10,308 mg/mg b/b perkemasan. Ini menunjukkan bahwa apabila mengkonsumsi minuman kopi instan paling sedikit 3 botol sehari maka seseorang telah mengkonsumsi 26,5-34,2 mg/hari. Itu artinya dosis kafein yang dikonsumsi tidak melebihi batas maksimal sesuai yang ditetapkan pada SNI.

#### D. Validasi Metode

##### 1. Presisi

Presisi diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien variasi). Presisi dapat dikatakan sebagai keterulangan atau ketertiruan. Presisi dikatakan baik bila memberikan simpangan baku relatif (RSD) atau koefisien variasi (CV) 2% atau kurang dari 2% (Riyanto,2014). Tabel 6 menunjukkan hasil perhitungan presisi sebagai berikut.

**Tabel 6. Data Hasil Perhitungan Presisi**

Replikasi	Abs	Konsentrasi (ppm)	$\bar{X}$	$X - \bar{X}^2$	SD	CV (%)
1	0,542	10,2555	10,2959	0,0016	0,0755	0,7335
2	0,548	10,3708		0,0056		
3	0,544	10,2940		0,0000		
4	0,543	10,2747		0,0004		
5	0,550	10,4093		0,00129		
6	0,538	10,1786		0,0138		
7	0,540	10,2171		0,0062		
8	0,545	10,3132		0,0003		
9	0,549	10,3901		0,0089		
10	0,542	10,2555		0,00016		
				$\Sigma = 0,0513$		

Berdasarkan tabel 6. Yang memuat data perhitungan data presisi, koefisien variasi yang didapatkan adalah 0,7335 %. Sehingga metode yang digunakan mempunyai presisi yang baik dikarenakan nilai koefisien variasi tidak lebih dari 2%.

## 2. Akurasi

Akurasi merupakan ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (recovery) analit yang ditambahkan (Riyanto, 2014). Nilai recovery didapat dengan membuat larutan standar dengan tiga konsentrasi yang berbeda yaitu 80%, 100% dan 120%. Metode memiliki akurasi yang baik adalah metode yang memiliki nilai recovery diantara 80%-120%. Data perhitungan recovery terdapat pada Tabel 8 berikut.

**Tabel 8. Data Hasil Perhitungan Recovery**

<b>Sampel</b>	<b>Kadar Diketahui (ppm)</b>	<b>Kadar Terhitung (ppm)</b>	<b>Recovery (%)</b>
<b>80.a</b>	8	8,294	103,68
<b>80.b</b>	8	8,1409	101,76
<b>80.c</b>	8	8,0832	101,04
<b>100.a</b>	10	10,3901	103,90
<b>100.b</b>	10	10,3901	103,90
<b>100.c</b>	10	10,2555	102,56
<b>120.a</b>	12	12,2356	101,96
<b>120.b</b>	12	12,3317	102,76
<b>120.c</b>	12	12,4086	103,40

Berdasarkan tabel diatas menunjukkan hasil data perhitungan recovery.

Recovery yang didapatkan berkisar 101%-103,7% sehingga data yang dapat memsehingga data yang didapatkan menunjukkan bahwa nilai recovery memenuhi syarat antara 80%-120%.

### 3. Linearitas

Pada penelitian ini linearitas dikerjakan bersamaan dengan pembuatan kurva kalibrasi. Sebagai parameter adanya hubungan linier digunakan koefisien korelasi  $r$  pada analisis regresi linier  $y = a + bx$ , sehingga hubungan linier yang  $r = +1$  atau  $-1$  yang bergantung pada arah garis (Riyanto, 2014).

Bersasarkan Gambar grafik 4. Nilai  $r$  yang didapatkan 0,9991, sehingga linearitas yang didapatkan mempunyai nilai korelasi yang baik.

### 4. LOD/LOQ

Batas deteksi merupakan jumlah analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibandingkan blanko. Batas deteksi merupakan parameter uji batas. Batas kuantitas merupakan batas kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih memenuhi kriteria cermat dan seksama. Pada penelitian ini LOD/LOQ senyawa kafein didapat adalah 0,39118 mg/L dan 1,30395 mg/L, Sehingga seluruh hasil pembacaan sampel A, B dan C dengan metode spektrofotometri UV memenuhi nilai LOD dan LOQ yang diperoleh.

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil percobaan yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Kadar kafein secara spektrofotometri dalam minuman kopi instan setiap 100 ml sampel, untuk sampel A rata-rata sebesar  $4,4130 \pm 0,010332$  mg/mg b/b, untuk sampel B rata-rata sebesar  $4,7518 \pm 0,0355$  mg/mg b/b dan sampel C rata-rata sebesar  $4,29499 \pm 0,0252$  mg/mg b/b.
2. Kadar kafein yang diperoleh memenuhi persyaratan yang sudah ditentukan pada SNI.

#### **B. Saran**

Mengacu pada penelitian ini penulis menyarankan:

1. Perlu dilakukan penelitian lain mengenai analisis kafein pada minuman kopi kemasan lain.
2. Perlu dilakukan penelitian lain mengenai analisis kafein pada minuman kopi dengan metode dan instrumen lain.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1979, Farmakope Indonesia, Edisi III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Arwangga Aryanu Fahmi dkk. 2016. Analisa Kandungan Kafein Pada Kopi Di Desa Sesaot Narmada Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. Jurnal Kimia Volume 10 (1).
- Clarke ECG. 1971. *Isolation and Identification Of Drugs*. The Pharmaceutical Press : London.
- Fathoni, Ahmad., 2015. Analisa Secara Kualitatif Dan Kuantitatif Dalam Kopi Bubuk Lokal Yang Beredar Di Kota Palembang Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Penelitian mandiri. Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Bhakti Pertiwi Palembang.
- Ganjar, Ibnu Rohman., 1991. Kimia Analisa Instrumental. UGM. Yogyakarta.
- Hulupi R. Martini E. 2013. Pedoman Budi Daya Dan Pemeliharaan Tanaman Kopi Di Kebun Campur. Bogor, Indonesia: World Agroforest Centre (ICRAF) South Asia Regional Program.
- Kuschinsky.G, Ilham., 1973. Textbook Of Pharmacology. London. Academi press.
- Maramis.R.K,Citraningtyas,G., wehantouw.F, 2013, Analisis Kafein Dalam Kopi Bubuk Di Kota Manado Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. Pharmacon. Jurnal Ilmiah Farmasi.
- Mulja, M., Suharman. 1995. Analisis Instrumental. Air Langga University Press. Surabaya.
- Mulato,S. 2001. Pelarutan kafein Robusta dengan Kolom Tetap menggunakan Pelarut Air. Jakarta: Pelita Perkebunan.
- Nazar M, Mustofa A D. 2014. Isolasi Dan Identifikasi Kadar Kafein Berdasarkan Varietas Kopi Arabika (*Coffea Arabica*) Yang Tumbuh Di Aceh Tengah.Penelitian. Universitas Syiah Kuala Darussalam Banda Aceh.
- Nurchahyaningrum,I. 2008. Penetapan Kadar Kafein Pada Kopi Instan Bubuk Secara Spektrofotometri UV-Vis. Karya Tulis Ilmiah. Universitas Setia Budi Surakarta

- Rahardjo, Pudji. 2012. Panduan Budidaya Dan Pengolahan Kopi Arabika Dan Robusta. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Raharjo, R.A (2010). Penentuan Kadar Kafein Dalam Kopi. Laporan Praktikum. Kendari: Universitas Haholoe.
- Riyanto, Ph.D. 2014. Validasi Dan Verifikasi Metode Uji: Sesuai Dengan ISO/IEC 17025 Laboratorium Pengujian Dan Kalibrasi. Edisi 1. Deepublish: Yogyakarta.
- Sofiana, N. 2011. 1001 Fakta Tentang Kopi. Yogyakarta: Cahaya atm pustaka.
- Sri Najiyanti dan Danarti. 2004. Budidaya Tanaman Kopi dan Penanganan Pasca Panen. Penebar Swadaya. Jakarta
- Standar Nasional Indonesia. 2006. Kopi. 01-7152-2006.
- Tan, H.T., Raharja,K. 2007. Obat-obat penting, khasiat, penggunaannya dan efek sampingnya. Elek media komputindo. Jakarta.

### Lampiran 1. Pembuatan larutan HCl 0,1 N

#### Perhitungan larutan HCl 0,1 N

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$1000 \times 0,1 \text{ N} = V_2 \times 12 \text{ N}$$

$$\text{HCl } 0,1 \text{ N} \quad \frac{1000 \times 0,1 \text{ N}}{12 \text{ N}} = 8,4 \text{ ml}$$

Cara kerja :

Memipet larutan HCL pekat sebanyak 8,4 ml, dimasukkan kedalam beaker glass 1000 ml, dilarutkan dengan aqua dest sampai volume 1000 ml.

## Lampiran 2. Pembuatan larutan baku kafein

### 2.1. pembuatan larutan induk 100 ppm sebanyak 100 ml

Perhitungan larutan baku kafein 100 ppm.

$$100 \text{ ppm} = \frac{\text{mg} \times 1000}{100}$$

$$\text{mg} = \frac{100 \times 100}{1000}$$

$$\text{mg} = 10 \text{ mg}$$

Penimbangan baku kafein

$$\text{Berat kertas + sampel} = 0,342 \text{ gram}$$

$$\text{Berat kertas + sisa} = 0,3314 \text{ gram}$$

$$\text{Berat sampel} = 0,0100 \text{ gram}$$

Cara kerja :

Menimbang baku kafein sebanyak 10 mg, dimasukkan kedalam labu takar 100 ml, dilarutkan sedikit demi sedikit menggunakan HCl 0,1 N sampai homogen, kemudian ditambah HCl 0,1 N sampai tanda batas.

### 2.2. Pembuatan variasi konsentrasi

Pembuatan larutan baku 5 ppm sebanyak 10 ml.

#### a. Perhitungan

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 100 = 10 \times 5$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

#### b. Cara pembuatan

Dipipet 0,5 ml larutan induk kemudian dimasukkan kedalam labu takar 10 ml, ditambah dengan larutan HCl 0,1 N sampai tanda batas.

Pembuatan larutan baku 6 ppm sebanyak 10 ml

a. Perhitungan

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 100 = 10 \times 6$$

$$V_1 = 0,6 \text{ ml}$$

b. Cara pembuatan

Dipipet 0,6 ml larutan induk kemudian dimasukkan kedalam labu takar 10 ml, ditambah dengan larutan HCl 0,1 N sampai tanda batas.

Pembuatan larutan baku 7 ppm sebanyak 10 ml

a. Perhitungan

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 100 = 10 \times 7$$

$$V_1 = 0,7 \text{ ml}$$

b. Cara pembuatan

Dipipet 0,7 ml larutan induk kemudian dimasukkan kedalam labu takar 10 ml, ditambah dengan larutan HCl 0,1 N sampai tanda batas.

Pembuatan larutan baku 8 ppm sebanyak 10 ml

a. Perhitungan

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 100 = 10 \times 8$$

$$V_1 = 0,8 \text{ ml}$$

b. Cara pembuatan

Dipipet 0,8 ml larutan induk kemudian dimasukkan kedalam labu takar 10 ml, ditambah dengan larutan HCl 0,1 N sampai tanda batas.

Pembuatan larutan baku 9 ppm sebanyak 10 ml

a. Perhitungan

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 100 = 10 \times 9$$

$$V_1 = 0,9 \text{ ml}$$

## b. Cara pembuatan

Dipipet 0,8 ml larutan induk kemudian dimasukkan kedalam labu takar 10 ml, ditambah dengan larutan HCl 0,1 N sampai tanda batas.

Pembuatan larutan baku 10 ppm sebanyak 10 ml

## a. Perhitungan

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 100 = 10 \times 10$$

$$V_1 = 1 \text{ ml}$$

## b. Cara pembuatan

Dipipet 1 ml larutan induk kemudian dimasukkan kedalam labu takar 10 ml, ditambah dengan larutan HCl 0,1 N sampai tanda batas.

Pembuatan larutan baku 11 ppm sebanyak 10 ml

## a. Perhitungan

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 100 = 10 \times 11$$

$$V_1 = 1,1 \text{ ml}$$

## b. Cara pembuatan

Dipipet 1,1 ml larutan induk kemudian dimasukkan kedalam labu takar 10 ml, ditambah dengan larutan HCl 0,1 N sampai tanda batas.

Pembuatan larutan baku 12 ppm sebanyak 10 ml

## a. Perhitungan

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 100 = 10 \times 12$$

$$V_1 = 1,2 \text{ ml}$$

## b. Cara pembuatan

Dipipet 1,2 ml larutan induk kemudian dimasukkan kedalam labu takar 10 ml, ditambah dengan larutan HCl 0,1 N samai tanda batas.

Pembuatan larutan baku 13 ppm sebanyak 10 ml

a. Perhitungan

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 100 = 10 \times 13$$

$$V_1 = 1,3 \text{ ml}$$

b. Cara pembuatan

Dipipet 1,3 ml larutan induk kemudian dimasukkan kedalam labu takar 10 ml, ditambah dengan larutan HCl 0,1 N sampai tanda batas.

Pembuatan larutan baku 14 ppm sebanyak 10 ml

a. Perhitungan

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 100 = 10 \times 14$$

$$V_1 = 1,4 \text{ ml}$$

b. Cara pembuatan

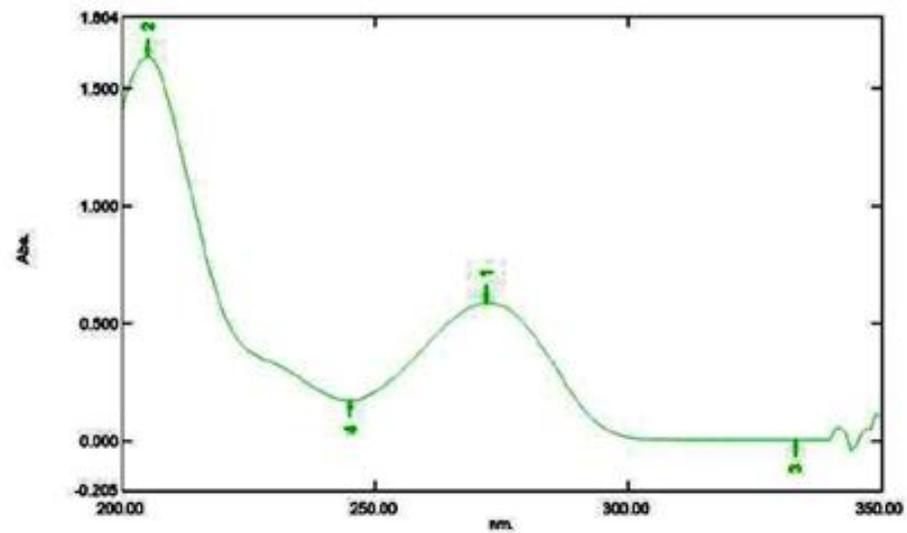
Dipipet 1,4 ml larutan induk kemudian dimasukkan kedalam labu takar 10 ml, ditambah dengan larutan HCl 0,1 N sampai tanda batas.

## Lampiran 3. Data operating time

Data operating time berdasarkan pembacaan absorbansi dari larutan induk kafein yang diamati pada panjang gelombang 272 nm.

waktu	Absorbansi
1	0,699
2	0,699
3	0,699
4	0,699
5	0,699
6	0,699
7	0,699
8	0,699
9	0,699
10	0,700
11	0,700
12	0,700
13	0,700
14	0,700
15	0,700
16	0,700
17	0,700
18	0,700
19	0,700
20	0,700
21	0,700
22	0,700
23	0,700
24	0,700
25	0,700
26	0,700
27	0,700
28	0,700
29	0,700
30	0,700

Lampiran 4. Gambar panjang gelombang maksimal



No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	⊕	272.00	0.591	
2	⊕	205.00	1.636	
3	⊖	333.00	0.008	
4	⊖	245.00	0.175	

Dari data ini bahwa panjang gelombang maksimal terdapat pada  $\lambda$  272 nm, dengan nilai absorbansi 0,591 ppm.

## Lampiran 5. Data kurva kalibrasi

Data kurva kalibrasi berdasarkan pembacaan absorbansi dari larutan baku kafein dengan berbagai variasi konsentrasi yang diamati pada panjang gelombang maksimal yaitu 272 nm.

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
5	0,265
6	0,316
7	0,377
8	0,42
9	0,481
10	0,545
11	0,575
12	0,633
13	0,682
14	0,733

Dari data diperoleh nilai  $A = 0,0085$

$$B = 0,0520$$

$$r = 0,9991$$

## Lampiran 6. Data penimbangan sampel

Sampel A1 berat kertas dan sampel = 0,3323 gram

Berat kertas + sisa = 0,3211 gram

Berat sampel = 0,0101 gram

Sampel A2 berat kertas dan sampel = 0,3320 gram

Berat kertas + sisa = 0,3218 gram

Berat sampel = 0,0102 gram

Sampel A3 berat kertas dan sampel = 0,3323 gram

Berat kertas + sisa = 0,3323 gram

Berat sampel = 0,0100 gram

Sampel B1 berat kertas dan sampel = 0,3361 gram

Berat kertas + sisa = 0,3260 gram

Berat sampel = 0,0101 gram

Sampel B2 berat kertas dan sampel = 0,3272 gram

Berat kertas + sisa = 0,371 gram

Berat sampel = 0,0101 gram

Sampel B3 berat kertas dan sampel = 0,3261 gram

Berat kertas + sisa = 0,3159 gram

Berat sampel = 0,0102 gram

Sampel C1 berat kertas dan sampel = 0,337 gram

Berat kertas + sisa = 0,3268 gram

Berat sampel = 0,0102 gram

Sampel C2 berat kertas dan sampel = 0,3342 gram

Berat kertas + sisa = 0,3242 gram

Berat sampel = 0,0100 gram

Sampel C3 berat kertas dan sampel = 0,3267 gram

Berat kertas+ sisa = 0,3166 gram

Berat sampel = 0,0101 gram

Lampiran 7. Data perhitungan dan kadar sampel  
Sampal A.

$$A1 \quad A = 0,469$$

$$Y = a + bx$$

$$0,469 = 0,0085 + 0,0520 x$$

$$x = \frac{0,469 - 0,0085}{0,0520}$$

$$x = 8,8521 \text{ mg/L}$$

$$\text{kadar} = \frac{\text{X. Faktor pembuatan. Faktor pengenceran}}{\text{berat penimbangan}}$$

$$= \frac{8,8521 \text{ mg/L} \times 0,1 \text{ L} \times 10}{10,1 \text{ mg}}$$

$$= 0,8765 \text{ mg/mg b/b}$$

$$A2 \quad A = 0,462$$

$$Y = a + bx$$

$$0,462 = 0,0085 + 0,0520 x$$

$$X = \frac{0,462 - 0,0085}{0,0520}$$

$$X = 8,7176 \text{ mg/L}$$

$$\text{Kadar} = \frac{\text{X. Faktor pembuatan. Faktor pengenceran}}{\text{berat penimbangan}}$$

$$= \frac{8,7176 \text{ mg/L} \times 0,1 \text{ L} \times 10}{10,2 \text{ mg}}$$

$$= 0,8678 \text{ mg/mg b/b}$$

$$A_3 \quad A = 0,450$$

$$Y = a + bx$$

$$0,450 = 0,0085 + 0,0520 x$$

$$X = \frac{0,450 - 0,0085}{0,0520}$$

$$X = 8,4869 \text{ mg/L}$$

$$\text{Kadar} = \frac{X \cdot \text{Faktor pembuatan} \cdot \text{Faktor pengenceran}}{\text{berat penimbangan}}$$

$$= \frac{8,4869 \text{ mg/L} \times 0,1 \text{ L} \times 10}{10 \text{ mg}}$$

$$= 0,8487 \text{ b/b}$$

$$\text{Kadar rata - rata} = \frac{0,8765 + 0,8547 + 0,8487}{3}$$

$$= 0,8599 \text{ mg/mg b/b}$$

$$\text{SD sampel A} = \frac{\sqrt{0,8765 - 0,8599 + 0,8547 - 0,8599 + (0,8487 - 0,8599)^2}}{2}$$

$$= 0,010332$$

Perhitungan kadar dalam setiap 100 ml sampel

Berat ekstrak untuk sampel A = 0,052 gram

kadar setiap 10 mg ekstrak = 0,8599 b/b

$$\text{kadar sampel A} = \frac{0,052 \times 0,8599}{0,010}$$

$$= 4,441003 \text{ mg/mg b/b}$$

Dalam setiap 100 sampel A mengandung kafein sebanyak 4,441003 b/b dan dalam 1 kemasan sampel A dengan netto 200 ml mengandung kafein sebanyak 8,882 b/b.

Sampel B

$$B1 \quad A = 0,593$$

$$Y = a + bx$$

$$0,593 = 0,0085 + 0,0520 x$$

$$X = \frac{0,593 - 0,0085}{0,0520}$$

$$X = 11,2359 \text{ mg/L}$$

$$\text{Kadar} = \frac{X \cdot \text{Faktor pembuatan} \cdot \text{Faktor pengenceran}}{\text{berat penimbangan}}$$

$$= \frac{11,2359 \text{ mg/L} \times 0,1 \text{ L} \times 10}{10,1 \text{ mg}}$$

$$= 1,1125 \text{ mg/mg b/b}$$

$$B2 \quad A = 0,554$$

$$Y = a + bx$$

$$0,554 = 0,0085 + 0,0520 x$$

$$X = \frac{0,554 - 0,0085}{0,0520}$$

$$X = 10,4862 \text{ mg/L}$$

$$\text{Kadar} = \frac{X \cdot \text{Faktor pembuatan} \cdot \text{Faktor pengenceran}}{\text{berat penimbangan}}$$

$$= \frac{10,4862 \text{ mg/L} \times 0,1 \text{ L} \times 10}{10,1 \text{ mg}}$$

$$= 1,0382 \text{ mg/mg b/b}$$

$$B3 \quad A = 0,548$$

$$Y = a + bx$$

$$0,548 = 0,0085 + 0,0520 x$$

$$X = \frac{0,548 - 0,0085}{0,0520}$$

$$X = 10,3708 \text{ mg/L}$$

$$\text{Kadar} = \frac{X \cdot \text{Faktor pembuatan} \cdot \text{Faktor pengenceran}}{\text{berat penimbangan}}$$

$$= \frac{10,3708 \text{ mg/L} \times 0,1 \text{ L} \times 10}{10,2 \text{ mg}}$$

$$= 1,0378 \text{ b/b}$$

$$\text{Kadar rata - rata} = \frac{1,1125 + 1,0382 + 1,0167}{3}$$

$$= 1,0558 \text{ b/b}$$

$$\text{SD sampel B} = \frac{\sqrt{1,1125 - 1,0558 + 1,0382 - 1,0558 + (1,0167 - 1,0558)^2}}{2}$$

$$= 0,035513$$

Perhitungan kadar dalam setiap 100 ml sampel

Berat ekstrak untuk sampel B = 0,0456

Kadar setiap 10 mg ekstrak = 1,0558

$$\text{Kadar sampel B} = \frac{0,0456 \times 1,0558}{0,010}$$

$$= 4,751862 \text{ mg/mg b/b}$$

Dalam setiap 100 sampel B mengandung kafein sebanyak 4,441003 b/b dan dalam 1 kemasan sampel B dengan netto 240 ml mengandung kafein sebanyak 11,380 b/b.

Sampel C

$$C1 \quad A = 0,482$$

$$Y = a + bx$$

$$0,482 = 0,0085 + 0,0520 x$$

$$X = \frac{0,482 - 0,0085}{0,0520}$$

$$X = 9,1021 \text{ mg/L}$$

$$\text{Kadar} = \frac{X \cdot \text{Faktor pembuatan} \cdot \text{Faktor pengenceran}}{\text{berat penimbangan}}$$

$$= \frac{9,1021 \text{ mg/L} \times 0,1 \text{ L} \times 10}{10,2 \text{ mg}}$$

$$= 0,8924 \text{ mg/mg b/b}$$

$$C2 \quad A = 0,484$$

$$Y = a + bx$$

$$0,484 = 0,0085 + 0,0520 x$$

$$X = \frac{0,484 - 0,0085}{0,0520}$$

$$X = 9,1405 \text{ mg/L}$$

$$\text{Kadar} = \frac{X \cdot \text{Faktor pembuatan} \cdot \text{Faktor pengenceran}}{\text{berat penimbangan}}$$

$$= \frac{9,1405 \text{ mg/L} \times 0,1 \text{ L} \times 10}{10 \text{ mg}}$$

$$= 9,1405 \text{ mg/mg b/b}$$

$$\text{C3 A} = 0,514$$

$$Y = a + bx$$

$$0,514 = 0,0085 + 0,0520 x$$

$$X = \frac{0,514 - 0,0085}{0,0520}$$

$$X = 9,7172 \text{ mg/L}$$

$$\text{Kadar} = \frac{X \cdot \text{Faktor pembuatan} \cdot \text{Faktor pengenceran}}{\text{berat penimbangan}}$$

$$= \frac{9,7172 \text{ mg/L} \times 0,1 \text{ L} \times 10}{10,1 \text{ mg}}$$

$$= 0,9621 \text{ b/b}$$

$$\text{Kadar rata - rata} = \frac{0,8924 + 0,9141 + 0,9621}{3}$$

$$= 0,9228 \text{ mg/mg b/b}$$

$$\text{SD sampel C} = \frac{\sqrt{0,8924 - 0,9228 + 0,9141 - 0,9228 + (0,9621 - 0,9228)^2}}{2}$$

$$= 0,025238$$

Perhitungan kadar dalam setiap 100 ml sampel

Berat ekstrak untuk sampel C = 0,047

kadar rata-rata setiap 10 mg = 0,9228

$$\text{kadar sampel C} = \frac{0,0470 \times 0,9228}{0,010}$$

$$= 4,294998 \text{ mg/mg b/b}$$

Dalam setiap 100 sampel C mengandung kafein sebanyak 4,441003 b/b dan dalam 1 kemasan sampel C dengan netto 240 ml mengandung kafein sebanyak 10,308 mg/mg b/b.

Lampiran 8. Tabel perhitungan recovery dan LOD/LOQ

Sampel	Kadar Diketahui (ppm)	Kadar Terhitung (ppm)	Recovery (%)
<b>80.a</b>	8	8,294	103,68
<b>80.b</b>	8	8,1409	101,76
<b>80.c</b>	8	8,0832	101,04
<b>100.a</b>	10	10,3901	103,90
<b>100.b</b>	10	10,3901	103,90
<b>100.c</b>	10	10,2555	102,56
<b>120.a</b>	12	12,2356	101,96
<b>120.b</b>	12	12,3317	102,76
<b>120.c</b>	12	12,4086	103,40

$$\text{LOD} = \frac{3 \times 0,00678}{0,0520}$$

$$= 0,39118 \text{ ppm}$$

$$\text{LOQ} = \frac{10 \times 0,00678}{0,0520}$$

$$= 1,30395 \text{ ppm}$$

Lampiran 9. Gambar sampel



Sampel A



Sampel B



Sampel C

## Lampiran 10. Uji kualitatif

## 11.1 uji reaksi murexide

Sampel	Hasil
Baku	 A white plate held over a Bunsen burner flame. A small amount of pinkish-red residue is visible on the plate's surface.
A	 A white plate held over a Bunsen burner flame. A small amount of pinkish-red residue is visible on the plate's surface.
B	 A white plate held over a Bunsen burner flame. A small amount of pinkish-red residue is visible on the plate's surface.
C	 A white plate held over a Bunsen burner flame. A small amount of pinkish-red residue is visible on the plate's surface.

### 11.2 uji reaksi parry



### 11.3 uji reaksi Mayer



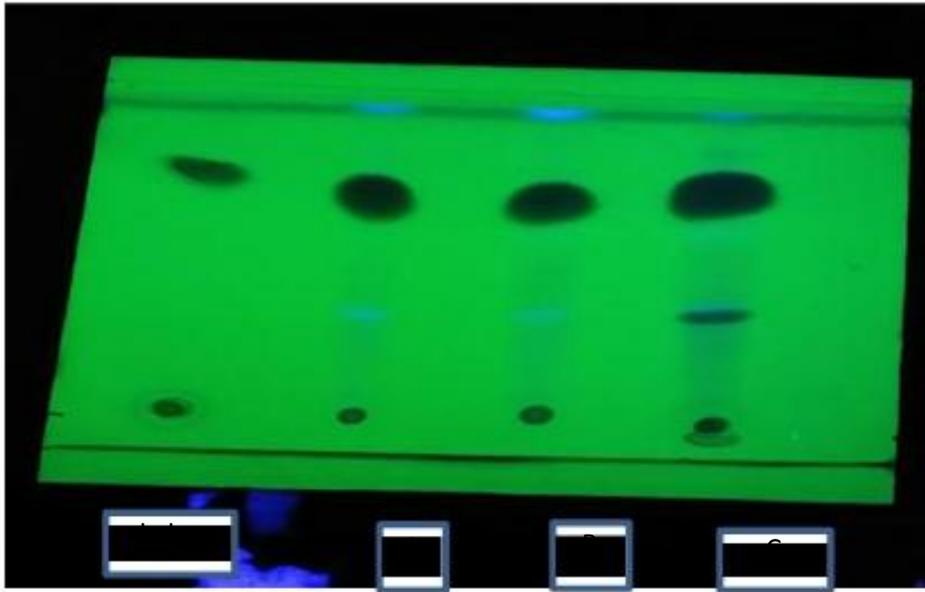
### 11.4 uji Kromatografi Lapis Tipis

a. pembuatan fase gerak Kloroform : Metanol (9:1)

$$\text{Kloroform} = \frac{9}{10} \times 20 = 18 \text{ ml}$$

$$\text{Metanol} = \frac{1}{10} \times 20 = 2 \text{ ml}$$

b.perhitungan nilai rf



Sampel	Nilai Rf	Penampak bercak		Keterangan
		visual	UV 254 nm	
<b>Baku Kafein</b>	$\frac{4}{5}=0,8$	-	Meredam	
<b>A</b>	$\frac{3,95}{5}=0,79$	Cokelat muda	Meredam	+
<b>B</b>	$\frac{3,90}{5}=0,78$	Cokelat muda	Meredam	+
<b>C</b>	$\frac{3,95}{5}=0,79$	Cokelat muda	Meredam	+

Lampiran 11. Alat praktikum

a. Spektrofotometer Uv-Visble Shimadzu UV 1800

