

**ANALISIS KAFEIN PADA MINUMAN TEH HITAM DAN TEH HIJAU  
KEMASAN SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**



**Oleh:**

**Shinta Kartika Dewati**

**26141352C**

**FAKULTAS FARMASI**

**PROGRAM STUDI D III ANALIS FARMASI DAN MAKANAN**

**UNIVERSITAS SETIA BUDI**

**SURAKARTA**

**2017**

**ANALISIS KAFEIN PADA MINUMAN TEH HITAM DAN TEH HIJAU  
KEMASAN SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

*Karya Tulis Ilmiah  
Diajukan untuk memenuhi syarat mencapai  
Derajad Ahli Madya Sains  
Program Studi D-III Analis Farmasi dan Makanan  
Universitas Setia Budi*



**Oleh:**

**Shinta Kartika Dewati**

**26141352C**

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

**2017**

**PENGESAHAN KARYA TULIS ILMIAH**  
berjudul

**ANALISIS KADAR KAFEIN PADA MINUMAN TEH HITAM DAN TEH  
HIJAU KEMASAN SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

oleh:  
Shinta Kartika Dewati  
26141352C

Dipertahankan di hadapan panitia Penguji Karya Tulis Ilmiah  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi  
Pada tanggal : 17 Juni 2017

Pembimbing,  
  
Hery Muhamad Ansory, S.Pd.,M.Sc



Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Mengetahui,  
Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi Surakarta  
Dekan,

1. ....   
2. ....  
3. .... 

Penguji:

1. Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt.
2. Ika Purwidyaningrum, M.Sc., Apt.
3. Hery Muhamad Ansory, S.Pd., M.Sc.

## HALAMAN PERSEMPAHAN

*Shinta itu tentang tangisan perempuan. Tangisan yang membuat lelaki lupa akan tangis mereka sendiri – Sujivo tedjo*

Karya Tulis Ilmiah ini kupersembahkan kepada:

Allah SWT yang senantiasa memberikan nikmat yang luar biasa  
Orang tua saya yang selalu memberikan kasih sayang dan dukungan yang tak  
pernah lekang oleh zaman

Kedua adik saya, yang tidak pernah sungkan menjadi *partner in crime* selama ini  
Cornelius Ferdinand Anggi Pratama yang juga tak pernah lelah mendukung, yang  
tak pernah lelah mengantar jemput. Terimakasih sudah menjadi pelipur lara dan

tempat *recharge* semangat

Nur Aini Puji Lestari, teman seperjuangan sedari SMF, kerja, kuliah, ormawa dan  
KTI. Terimakasih untuk 8 tahun ini

Bapak Hery Muhamad Ansory, S.Pd., M.Sc selaku pembimbing KTI saya.

Terimakasih untuk waktu dan ilmu yang sudah diberikan kepada saya  
Karyawan dan staff ALSINBUN yang sudah membantu praktikum KTI saya

disana, teruntuk Mas Sunu dan Mbak Marsi

Teman- teman DIII Anafarma angkatan 2014 baik yang masih bertahan maupun  
yang sudah tereliminasi. Novasya, Via, Winna, Lely, Mega, Ano, Nisa, Nur Aini,

Agam dan Mia. Thanks for everything gaees

Keluarga Besar S. Ngaliman Tjondropangrawit dan Partwidjaja yang selalu  
mendukung dan mendoakan saya.

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur Kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat dan hidayahNya, sehingga penulis dapat menyusun dan menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah dengan Judul "*Analisis Kafein Pada Minuman Teh Yang Dijual Di Toserba "X" Kestalan, Kota Surakarta Secara Spektrofotometri Uv-Vis*" tanpa hambatan yang berarti. Laporan ini disusun sebagai syarat untuk menyelesaikan program pendidikan Diploma III Analis Farmasi dan Makanan di Universitas Setia Budi Surakarta.

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

1. Kepada Allah SWT yang telah membirakan rahmat, hidayah dan inayah serta telah memberikan kelancaran saat penyusunan KTI
2. Dr.Ir.Djoni Tarigan ,MBA. Selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta
3. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
4. Mamik Ponco Rahayu M.Si., Apt. selaku Kepala Program Studi DIII Analis Farmasi dan Makanan.
5. Hery Muhamad Ansory, S.Pd., M.Sc. selaku dosen pembimbing, yang telah memberikan dukungan dan nasehatnya kepada penulis.

6. Dosen-dosen Universitas Setia Budi Surakarta yang telah memberikan ilmu, nasehat dan saran selama mengenyam pendidikan di Prodi DIII Anafarma.
7. Segenap staf laboran dan karyawan Universitas Setia Budi Surakarta yang telah memberikan bantuan dan pelayanan kepada penulis.
8. Rekan-rekan dan semua pihak yang telah membantu demi terselesaiannya Karya Tulis Ilmiah ini.

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 PERSEMBAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR .....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL .....	x
DAFTAR PERSAMAAN.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xii
INTISARI .....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	2
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian .....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Teh .....	4
1. Taksonomi Teh .....	4
2. Penggolongan Teh dan Cara Pengolahan.....	5
3. Kandungan Kimia .....	6
B. Kafein.....	10
C. Spektrofotometri UV-Vis.....	12
1. Pengertian .....	12
2. Instrumentasi.....	13
3. Hukum Lambert Beer.....	14
4. Analisis.....	15
D. Validasi Metode.....	16
1. Pengertian .....	16
2. Tujuan.....	16
3. Jenis Validasi Metode .....	16

4. Parameter Validasi Metode .....	16
E. Landasan Teori .....	19
F. Kerangka Empiris .....	19
BAB III METODOLOGI PENELITIAN .....	21
A. Populasi dan Sampel .....	21
1. Populasi .....	21
2. Sampel .....	21
B. Variabel Penelitian.....	21
1. Identifikasi Variabel Utama.....	21
2. Klasifikasi Variabel Utama .....	21
3. Definisi perasional Variabel Utama.....	22
C. Alat dan Bahan .....	23
1. Alat.....	23
2. Bahan.....	23
D. Jalannya Penelitian .....	23
1. Persiapan Sampel .....	23
2. Uji Kualitatif.....	24
3. Penetapan Kadar Sampel.....	24
E. Analisis Hasil.....	26
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	29
A. Persiapan Sampel.....	29
B. Uji Kualitatif.....	30
1. Uji Fluorosensi.....	30
2. Reaksi Murexid.....	30
3. Reaksi Parry.....	31
4. Kromatografi Lapis Tipis .....	31
C. Penetapan Kadar Sampel.....	32
1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal.....	32
2. Penentuan Operating Time .....	33
3. Kurva Baku Kafein .....	34
4. Presisi .....	34
5. Akurasi .....	35
6. Linearitas .....	36
7. LOD dan LOQ .....	36
8. Penetapan Kadar Sampel.....	36
BAB V PENUTUP .....	39
A. Kesimpulan.....	39

B. Saran .....	39
DAFTAR PUSTAKA.....	40
LAMPIRAN.....	42

## DAFTAR GAMBAR

1. Gambar 1. Tanaman Teh .....	4
2. Gambar 2. Struktur Katekin .....	7
3. Gambar 3. Struktur Flavonol.....	8
4. Gambar 4. Struktur Kafein.....	11
5. Gambar 5. Instrumentasi Spektrofotometri UV-Vis.....	13
6. Gambar 6. Panjang Gelombang Maksimal Kafein.....	32
7. Gambar 7. Grafik Operating Time Kafein.....	33
8. Gambar 8. Kurva Baku Kafein.....	34

## DAFTAR TABEL

1. Tabel 1. Hasil Rendemen Ekstraksi Minuman Teh.....	30
2. Tabel 2. Hasil Uji Fluorosensi.....	30
3. Tabel 3. Hasil Uji Murexid .....	30
4. Tabel 4. Hasil Reaksi Parry.....	31
5. Tabel 5. Hasil Kromatografi Lapis Tipis.....	32
6. Tabel 6. Data Hasil Perhitungan Presisi .....	35
7. Tabel 7. Data Hasil Perhitungan Recovery .....	35
8. Tabel 8. Hasil Perhitungan Kadar Sampel .....	37

## DAFTAR PERSAMAAN

1. Persamaan (1) Rumus Hukum Lambert .....	14
2. Persamaan (2) Rumus Hukum Beer .....	14
3. Persamaan (3) Rumus Hukum Lambert Beer .....	14
4. Persamaan (4) Rumus Recovery .....	17
5. Persamaan (5) Rumus Standar Deviasi.....	17
6. Persamaan (6) Rumus Koefisien Varian.....	17
7. Persamaan (7) Rumus LOD .....	17
8. Persamaan (8) Rumus LOQ .....	18
9. Persamaan (9) Rumus Perhitungan Rf.....	29
10. Persamaan (10) Rumus Perhitungan Kadar .....	29

## DAFTAR LAMPIRAN

1. Lampiran 1. Kromatografi Lapis Tipis .....	42
2. Lampiran 2. Pembuatan HCL 0,1 N .....	43
3. Lampiran 3. Pembuatan Kurva Baku .....	44
4. Lampiran 4. Panjang Gelombang Kafein.....	45
5. Lampiran 5. Tabel Operating Time .....	46
6. Lampiran 6. Kurva Baku Kafein .....	47
7. Lampiran 7. Data dan Perhitungan Kadar Sampel .....	48
8. Lampiran 8. Perhitungan Presisi .....	52
9. Lampiran 9. Perhitungan Akurasi.....	53
10. Lampiran 10. Perhitungan LOD dan LOQ.....	55
11. Lampiran 11. Gambar Sampel .....	56
12. Lampiran 12. Gambar Rendemen Hasil Ekstraksi .....	57
13. Lampiran 13. Gambar Hasil Uji Fluorosensi .....	58
14. Lampiran 14. Gambar Hasil Uji Murexid.....	59
15. Lampiran 15. Gambar Hasil Uji Parry.....	60
16. Lampiran 16. Gambar Spektrofotometer UV-Vis Shimadzu UV 1800 .....	61

## INTISARI

**DEWATI, S.K., 2017, PERBANDINGAN KADAR KAFEIN PADA MINUMAN TEH HITAM DAN TEH HIJAU KEMASAN SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS, KARYA TULIS ILMIAH, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Teh merupakan tanaman yang dapat menjadi minuman yang menyegarkan. Teh mengandung berbagai macam senyawa kimia salah satunya adalah kafein. Kafein berfungsi sebagai stimulan syaraf pusat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar kafein pada minuman teh hitam dan teh hijau kemasan serta mengetahui kadar yang sudah memenuhi syarat SNI 01-7152-2006.

Penelitian dilakukan dengan mengekstraksi minuman teh hitam dan teh hijau kemasan menggunakan kloroform. Fase kloroform diuapkan, kemudian disublimasi hingga menjadi kristal jarum berwarna putih. Kristal kafein ditetapkan kadarnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 272 nm.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar rata-rata kafein pada minuman teh hitam kemasan adalah  $0,0429 \pm 0,0276\% \text{ b/v}$  (sampel A),  $0,0430 \pm 0,0005\% \text{ b/v}$  (sampel B) dan  $0,0601 \pm 0,0010\% \text{ b/v}$  (sampel C). Kadar rata-rata kafein pada minuman teh hijau kemasan adalah  $0,0469 \pm 0,0045\% \text{ b/v}$  (sampel X),  $0,0448 \pm 0,0002\% \text{ b/v}$  (sampel Y) dan  $0,0449 \pm 0,0004\% \text{ b/v}$  (sampel Z). Kadar kafein pada semua sampel tidak memenuhi persyaratan SNI 01-7152-2006.

---

Kata Kunci : Teh, Kafein, Spektrofotometri UV-Vis

## ABSTRACT

DEWATI, S.K., 2017, COMPARISON OF CAFFEINE LEVEL IN BLACK TEA AND GREEN TEA BRANDED DRINKS USE SPECTHROPHOTOMETRY UV VIS, SCENTIFIC PAPER, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY OF SURAKARTA.

Tea is a plant which can be processed into a refreshing drink. Tea contains a lot of chemical compounds which caffeine is one of them. Caffeine is used as central nerves stimulant. This research aimed to determine level of caffeine in black tea and green tea branded drinks and know the levels of caffeine are qualified the term of SNI 01-7152-2006 or not.

This research had been conduct by extracting black tea and green tea branded drinks using chloroform. Chloroform phase was evaporated, then was sublimated into a white crystal which forms look like needles. The level of caffeine in the crystal had been determined using spectrophotometer UV-Vis at wavelengths 272 nm.

The results showed that the average levels of caffeine which contained in black tea branded drinks is  $0.0429 \pm 0.0276\% \text{ b/v}$  (sample A),  $0.0430 \pm 0.0005\% \text{ b/v}$  (sample B) and  $0.0601 \pm 0.0010\% \text{ b/v}$  (sample C). The average levels of caffeine which contain in green tea branded drinks is  $0.0469 \pm 0.0045\% \text{ b/v}$  (sample X),  $0.0448 \pm 0.0002\% \text{ b/v}$  (sample Y) and  $0.0449 \pm 0.0004\% \text{ b/v}$  (sample Z). Levels of caffeine in both samples are not qualified the term of SNI 01-7152-2006.

---

Key words : Tea, Caffeine, Spectrophotometer UV-Vis.

## **PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Shinta Kartika Dewati  
NIM : 26141352C  
Fakultas : Farmasi  
Prodi : D III Anafarma

dengan ini menyatakan bahwa Karya Tulis Ilmiah Dengan Judul “ Analisis Kafaein Pada Minuman Teh Hitam dan Teh Hijau Kemasan Secara Spektrofotometri UV-Vis” benar bebas dari plagiat dan apabila pernyataan ini terbukti tidak benar saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan yang berlaku.

Demikian pernyataan ini saya buat untuk dipergunakan sebagai mestinya.

Surakarta, Juli 2017



Shinta Kartika Dewati

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### A. Latar Belakang Masalah

Teh adalah salah satu jenis tanaman yang dapat diolah menjadi minuman yang diminati oleh berbagai kalangan di dunia. Tanaman teh merupakan tanaman berkayu, berduri tunggal dengan tulang daun menyirip. Tanaman teh mempunyai buah berbentuk kotak yang berwarna hijau saat muda dan berwarna cokelat saat tua (Hutapea, 2001).

Teh yang awalnya dikenal di dataran China pada tahun 2700 SM melalui jalur perdagangan akhirnya tersebar di seluruh penjuru dunia hingga saat ini (Somantri, 2014). Semakin berkembangnya zaman dan derasnya arus globalisasi menuntut kepraktisan dalam menjalani hidup sehingga menimbulkan ide bagi beberapa industri makanan dan minuman untuk membuat minuman dari daun teh yang dikemas dalam kemasan botol kaca, botol plastik, gelas plastik dan karton yang dikemas secara *Ultra High Temperature* untuk mempermudah masyarakat mengkonsumsinya. Konsumsi minuman teh dalam kemasan siap minum semakin meningkat sehingga produksi semakin meningkat. Konsumsi teh mencapai 120 ml perkapita tiap hari sehingga menjadikan teh menjadi minuman yang sering dikonsumsi setelah air mineral (Silalahi, 2002).

Mengkonsumsi teh secara rutin memiliki banyak manfaat karena teh diketahui memiliki beberapa senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan, memperbaiki sel-sel yang rusak, menghaluskan kulit, melangsingkan tubuh,

mencegah kanker, mencegah penyakit jantung, mengurangi kolesterol dalam darah, dan melancarkan sirkulasi darah (Yuniningsih dkk, 2012).

Di dalam daun teh terdapat kandungan senyawa kimia yang beragam. Metabolit sekunder yang terdapat pada daun teh antara lain katekin, flavonoid dan kafein (Towaha, 2013). Banyak masyarakat terutama yang sering mengkonsumsi teh yang tidak mengetahui dan cenderung acuh tentang adanya kandungan kafein dalam teh. Kafein memiliki efek farmakologis yang bermanfaat bagi tubuh manusia, seperti menstimulasi susunan syaraf pusat, relaksasi otot polos terutama otot polos bronkus dan stimulasi otot jantung. Dosis kafein yang diizinkan menurut SNI 01-7152-2006 batas maksimum kafein dalam makanan dan minuman adalah 150 mg/hari atau 50 mg/sajian (SNI, 2006). Efek samping dari mengkonsumsi kafein yang berlebihan dapat menyebabkan gugup, gelisah, tremor, insomnia, hipertensi, mual dan kejang (Yuniningsih dkk, 2012).

Minuman teh kemasan yang beredar di Indonesia memiliki banyak varian. Teh hijau dan teh hitam merupakan varian yang sering dikonsumsi, namun pada kemasan yang digunakan tidak tercantum kadar kafein yang terkandung dalam minuman teh kemasan.

Penilitian ini bertujuan untuk membandingkan kadar kafein pada tiga minuman teh hitam kemasan merk A, B, C dengan minuman teh hijau kemasan merk X, Y dan Z yang menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis.

## B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Berapa kadar kafein pada minuman teh hitam kemasan merk A, B dan C yang ditetapkan dengan metode Spektofotometri UV-Vis ?
2. Berapa kadar kafein pada minuman teh hijau kemasan merk X, Y dan Z yang ditetapkan dengan metode Spektofotometri UV-Vis ?
3. Apakah kadar kafein pada minuman teh kemasan yang didapat apakah memenuhi prasyarat yang ditentukan di SNI 01-7152-2006. ?

#### **C. Tujuan Penelitian**

Adapun tujuan dari penelitian adalah sebagai berikut :

1. Mengetahui kadar kafein pada minuman teh hitam kemasan merk A, B dan C yang ditetapkan dengan metode Spektofotometri UV-Vis.
2. Mengetahui kadar kafein pada minuman teh hijau kemasan merk X, Y dan Z yang ditetapkan dengan metode Spektofotometri UV-Vis.
3. Mengetahui kadar kafein pada minuman teh kemasan memenuhi prasyarat yang ditentukan di SNI 01-7152-2006.

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

Manfaat dari hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan edukasi tentang adanya kandungan kafein pada minuman teh dalam kemasan beserta manfaat dan beberapa metode analisis yang dapat digunakan untuk menganalisis kadar kafein pada minuman teh. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi saran atau rujukan untuk penelitian selanjutnya.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Teh

##### 1. Taksonomi Teh



Gambar 1. Pohon Teh (Bayang, 2016).

Tanaman teh merupakan tanaman perdu dengan tinggi 5-10 cm. *Camelia sinensis* (L.) O.K. memiliki akar berupa akar tunggang. Berkayu, tegak, bercabang-cabang, ujung ranting berambut dengan ujung berwarna coklat kehijauan. Daun teh berupa daun tunggal yang tersebar berbentuk elips dengan ujung dan pangkal runcing tepi yang bergerigi panjang 12 – 14 cm dan lebar 3,5 – 4,5 cm berwarna hijau dengan tulang daun menyirip. Bunganya berkelamin ganda yang terletak di ketiak ranting dengan diameter 3 – 4,5 cm, kelopak berbentuk mangkok, berwarna hijau dan benang sari berbentuk lingkaran. Buah dari tanaman teh berbentuk kotak, keras berdiameter ± 2,3 cm pada saat masih muda berwarna hijau dan berwarna coklat setelah tua. (Hutapea dkk, 2001).

Kingdom : Plantae  
Divisi : Spermatophyta  
Sub division : Angiospermae  
Kelas : Dicotyledone  
Ordo : Guttiferales  
Family : Theaceae  
Genus : Camellia  
Spesies : *Camellia sinensis* (L.) O.K

## 2. Pengolongan Teh dan Cara Pengolahan

Semua jenis teh yang beredar di pasar nasional maupun dunia menggunakan jenis tanaman teh yang sama yaitu *Camellia sinensis* (L.) O.K. yang menjadi perbedaan dalam pengolongan teh adalah cara pengolahannya.

Berdasar cara pengolahannya teh digolongkan menjadi 4 macam, yaitu :

### a. Teh Putih

Teh putih memiliki cara pengolahan yang paling sederhana dibandingkan dengan jenis teh yang lain. Bahan baku yang digunakan hanya pucuk dan dua helai daun dibawahnya lalu dilayukan dengan panas sinar matahari. Proses pelayuan ini dapat mengurangi kadar air sampai 12% lalu dilanjutkan proses pengeringan dengan mesin pengering.

### b. Teh Hijau

Prinsip dasar pengolahan teh hijau adalah inaktivasi enzim polifenol oksidase untuk mencegah terjadinya oksidasi enzimatis yang merubah polifenol

menjadi senyawa oksidanya, teaflavin dan tearubigin. Dalam proses pelayuan digunakan alat *rotary panner* dan *steamer*.

c. Teh Oolong

Proses pembuatan teh oolong adalah dengan menggulung daun teh menggunakan tangan atau mesin setelah dilayukan dengan panas dari sinar matahari. Penggulungan dilakukan untuk menghilangkan polifenol dari dalam daun teh. Proses tersebut sering disebut dengan proses semi oksidasi enzimatis.

d. Teh Hitam

Teh hitam ini juga merupakan jenis teh dengan proses pengolahan yang cukup rumit. Berdasarkan prosesnya teh hitam dibedakan menjadi teh hitam ortodoks dan *crushing-tearing-curling* (CTC). Pada proses pengolahan teh hitam ortodoks, daun teh dilayukan semalam 14-18 jam. Setelah layu, daun teh digulung, digiling dan dioksidasi enzimmatis selama kurang lebih 1 jam. Proses pengolahan CTC, pelayuannya lebih singkat yaitu 8-11 jam dan diikuti dengan proses penggilingan yang sangat kuat untuk mengeluarkan cairan sel semaksimal mungkin. Proses selanjutnya adalah pengeringan yaitu proses pengolahan yang bertujuan untuk menghentikan proses oksidasi enzimatis dan menurunkan kadar air. Teh kering selanjutnya disortasi dan *digrading* untuk menghasilkan jenis mutu teh tertentu (Rohdiana, 2015).

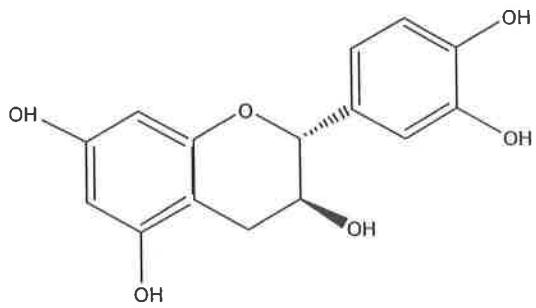
### 3. Kandungan Kimia

Minuman teh tidak hanya berperan sebagai minuman yang menimbulkan kenikmatan, kini teh semakin popular sejalan dengan makin banyaknya publikasi yang menyatakan bahwa teh juga mampu meningkatkan

kesehatan manusia (Rohdiana,2015). Khasiat yang didapat dari meminum seduhan daun teh diakibatkan oleh kandungan- kandungan senyawa kimianya yang terdapat dalam daun teh. Senyawa-senyawa kimia yang terdapat dalam daun teh antara lain dari golongan fenol, golongan non fenol, golongan aromatis dan golongan enzim (Towaha, 2013).

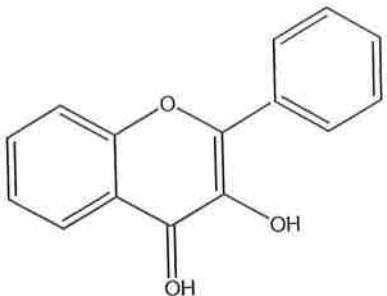
### 3.1. Golongan Fenol

**3.1.1. Katekin.** Katekin adalah senyawa metabolit sekunder yang termasuk dalam golongan tanin. Keberadaan gugus fenol dan satu gugus dihidropiran memberikan katekin aktivitas antioksidan. Katekin sering disebut sebagai senyawa polifenol karena memiliki lebih dari satu gugus fenol. Katekin di dalam daun teh merupakan senyawa kompleks yang tersusun sebagai komponen Katekin (C), Epikatekin (EC), Epikatekin Galat (EGC), Epigalokatekin (EGC), Epigalokatekin Galat (EGCG) dan Galokatekin (GC) (Towaha, 2013)



Gambar 2. Struktur Katekin

**3.1.2. Flavonol.** Flavonol merupakan salah satu senyawa kimia yang memiliki aktivitas antioksidan yang banyak terdapat di berbagai jenis tanaman. Flavonol yang terdapat didalam daun teh antara lain kamferol, kuersetin dan miristin dengan kadar 3-4% dari berat kering (Towaha, 2013).



**Gambar 3 Struktur Flavonol.**

### 3.2. Golongan Non- Fenol

**3.2.1. Karbohidrat.** Karbohidrat yang terkandung dalam daun teh adalah sukrosa, glukosa dan fruktosa. Peranan karbohidrat dalam daun teh pada saat proses pengolahan adalah pada saat suhu tinggi akan bereaksi dengan katekin dan asam-asam amino membentuk senyawa aldehid yang memiliki aroma (Towaha, 2013).

**3.2.2. Pektin.** Pektin adalah senyawa polisakarida kompleks yang terdapat terdapat dalam dinding sel tumbuhan dan dapat ditemukan hamper di semua tanaman pangan. Pektin di dalam daun teh terdiri dari pectin dan asam pektat. Dalam proses pengolahan, pektin akan terurai menjadi asam pektat dan metil alkohol (Towaha, 2013).

**3.2.3. Alkaloid.** Alkaloid adalah senyawa basa nitrogen yang berstruktur heterosiklik yang banyak terdapat pada tanaman. Alkaloid yang terdapat di dalam daun teh adalah kafein, teobromin dan teofillin. Di dalam industri pengolahan teh, kafein dipandang sebagai penentu mutu dari suatu teh. Karena pada proses pengolahan, kafein tidak mengalami penguraian namun akan bereaksi dengan

katekin menghasilkan senyawa yang menentukan nilai *briskness* (kesegaran) dalam seduhan teh (Towaha, 2013).

**3.2.4. Protein dan Asam Amino.** Di dalam daun teh, kandungan protein berguna dalam pembentukan aroma teh terutama pada jenis teh hitam. Pada saat proses pelayuan, protein akan terurai menjadi asam-asam amino yang bereaksi dengan katekin dan karbohidrat membentuk senyawa-senyawa aromatis. Asam amino yang terdapat dalam daun teh antara lain alanine, fenil alanin, valin, leusin dan isoleusin (Towaha, 2013).

**3.2.5. Zat Warna.** Seperti umumnya pada tanaman, zat warna berperan dalam memberikan warna pada tanaman. Zat warna yang terdapat pada daun teh adalah klorofil dan beta karoten. Klorofil akan terurai menjadi feofitin yang berwarna hitam pada proses oksidasi enzimatis (Towaha, 2013).

**3.2.6. Asam Organik.** Pada proses oksidasi enzimatis, asam-asam organik akan bereaksi dengan metil alkohol hasil penguraian pektin membentuk aroma khas dari teh. Adapun asam-asam organik yang terdapat dalam antara lain asam malat, asam sitrat, asam suksinat dan asam oksalat (Towaha, 2013).

**3.2.7. Resin.** Resin atau tanin adalah senyawa polimer rantai karbon dengan kandungan 3% dari berat kering daun teh (Towaha, 2013).

**3.2.8. Vitamin.** Pada daun teh terdapat banyak vitamin antara lain vitamin A, B1, B2, B3, B5, C, E dan K. Vitamin E pada teh akan berkombinasi dengan katekin akan menghasilkan aktivitas antioksidan.

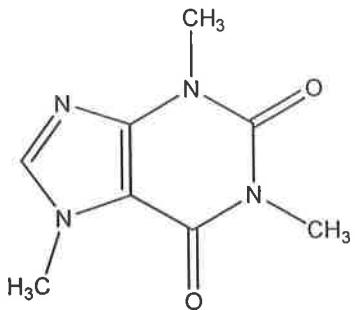
**3.2.9. Mineral.** Kandungan mineral pada daun teh adalah 4-5% dari berat daun kering. Mineral- mineral yang terkandung dalam daun teh adalah K, Na,K, Na, Mg, Ca, F, Zn, Mn, Cu dan Se (Towaha, 2013).

**3.3. Senyawa Aromatis.** Substansi pembentuk aroma teh merupakan senyawa-senyawa volatile (mudah menguap). Senyawa aromatis pada teh terdapat alamiah pada daun teh atau merupakan hasil reaksi biokimia saat pengolahan teh. Senyawa aromatis yang secara alamiah terdapat pada daun teh adalah linalool, linalool oksida, geraniol, pfheneuetanol, benzil alkohol, metil salisilat, n-heksanal dan cis-3-heksenol (Towaha, 2013).

**3.4. Enzim.** Enzim-enzim yang terdapat pada teh di antaranya adalah invertase, amilase,  $\beta$ -glukosidase, oksimetilase, protease dan peroksidase yang berperan sebagai biokatalisator yang terjadi pada tanaman (Towaha, 2013).

## B. Kafein

Kafein adalah kristal putih yang pahit yang berasal dari golongan alkaloid xanthin yang berguna sebagai obat stimulan syaraf pusat. Kafein pertama ditemukan oleh Friedrich Ferdinand Runge pada tahun 1819 (Kakhia, 2012). Kafein memiliki nama lain yaitu Coffeignum, 1,3,7- trimetilxantin, Metil Teobromin dan Guaranine. Kafein memiliki rumus molekul  $C_8H_{10}N_4O_2$  dengan berat molekul 194,19. Kelarutan kafein adalah agak sukar larut dalam air dan etanol (95%) P, sukar larut dalam eter P dan mudah larut dalam kloroform P. Kafein memiliki jarak lebur antara 235°C dan 237,5°C. Dosis maksimal kafein adalah 500 mg untuk sekali pemakaian dan 1,5 gram untuk satu hari pemakaian (Sirait dkk, 1979).



**Gambar 4. Struktur Kafein**

Kafein mempunyai efek psikostimulan, karena pada dosis terapinya bekerja sebagai central stimulan terhadap korteks otak besar. Kemampuan menyempitkan pembuluh darah di dalam otak, kafein sering ditemukan dalam sediaan kombinasi analgetik untuk menyembuhkan sakit kepala dan migrain. Kafein juga meningkatkan terjadinya glikolisis dan lipolisis (Widyotomo dan Mulato, 2007).

Kafein memiliki efek yang beragam pada setiap individu. Hal ini berhubungan dengan sifat genetika dan kemampuan metabolisme tubuh masing-masing individu dalam mencerna kafein. Kafein yang sudah mengalami metabolisme akan menghasilkan tiga metabolit dimetilxantin, yaitu: Paraxanthine (84%) meningkatkan lipolisis, sehingga kadar gliserol dan asam lemak dalam plasma darah bertambah. Theobromine (12%) meningkatkan dilatasi pembuluh darah (aliran darah semakin cepat) dan meningkatkan volume urine (efek diuretik). Teofilin (4%) melemaskan otot-otot polos dari bronki (Schunack dkk, 1982).

Selain memiliki banyak kegunaan, kafein juga memiliki efek samping. Kafein berdampak pada janin karena dapat menyeberang plasenta dan masuk ke

dalam sirkulasi janin dengan resiko terberatnya adalah terjadi keguguran. Ibu hamil yang minum lebih dari 4 cangkir kopi setiap hari dapat menyebabkan SIDS (*Sudden Infant Death Syndrome*). Kafein dapat mengambil cairan dan kalsium dari tubuh yang diperlukan untuk kesehatan janin dan ibu hamil (Widyotomo & Mulato, 2007).

Konsumsi kafein secara berlebihan dapat menimbulkan banyak masalah, seperti warna gigi berubah, bau mulut, meningkatkan stres, serangan jantung, kemandulan pada pria, gangguan pencernaan, kecanduan dan bahkan penuaan dini, sakit kepala, insomnia, mudah gugup, sakit kepala, merasa tegang dan lekas marah, meningkatkan detak jantung dan metabolisme pada tubuh, menghalangi penyerapan zat besi jika dikonsumsi dengan makanan atau dalam satu jam setelah makan. Kecanduan terhadap kafein diperkirakan dapat terjadi jika mengonsumsi lebih dari 600 miligram kafein per hari selama 8-15 hari berturut-turut. Sedangkan dosis kafein yang dapat berakibat fatal bagi manusia adalah sekitar 10 gram kafein yang dikonsumsi per oral (melalui mulut) (Widyotomo dan Mulato, 2007).

### C. Spektrofotometri *Ultra Violet Visible*

#### 1. Pengertian

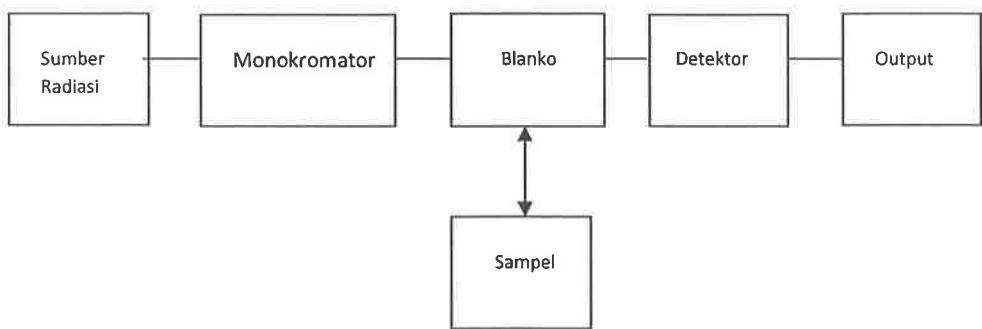
Spektrofotometri adalah suatu metode pengukuran yang digunakan untuk mengukur banyaknya energi radiasi elektromagnetik yang diserap oleh suatu sistem sebagai fungsi panjang gelombang dari radiasi, maupun pengukuran absorbs terisolasi pada suatu panjang gelombang tertentu (Wiryawan dkk, 2007). Spektrofotometri *Ultra Violet – Visible* adalah pengukuran banyaknya radiasi

elektromagnetik yang diserap pada daerah radiasi sinar Ultra Violet dan sinar nampak. Radiasi sinar UV dan sinar tampak terjadi pada daerah panjang gelombang 200 – 750 nm (Gandjar dan Rohman, 2007). Dimana spektrum ultraviolet terdapat pada  $\lambda$  200 – 400 nm. Sedangkan spektrum sinar tampak berada pada  $\lambda$  400 – 750 nm.

## 2. Instrumentasi

**2.1 Sumber radiasi.** Sumber radiasi merupakan energi yang dipancarkan yang dapat diserap pada panjang gelombang tertentu oleh sampel. Sumber radiasi berupa lampu yang mampu memancarkan radiasi elektromagnetik. Lampu yang biasanya digunakan adalah deuterium yang bekerja pada panjang gelombang 190-380 nm. Sedangkan lampu halogen kuarsa atau yang sering disebut lampu tungsten bekerja pada panjang gelombang 350-900 nm (Gandjar dan Rohman,1995).

**2.2 Kuvet.** Dalam spektrofotometri, sampel akan ditempatkan dalam suatu wadah yang terbuat dari gelas, kuarsa, dan silikat. Kuvet tidak hanya berfungsi sebagai tempat meletakkan sampel,namun dapat digunakan sebagai bagian dari komponen optic (Gandjar dan Rohman,2007).



**Gambar 5. Instrumentasi Sprektrofotometri UV-Vis.**

**2.3 Detektor.** Detektor akan menangkap sinar yang diteruskan oleh sampel. Sinar kemudian diubah menjadi sinyal listrik oleh amplifier dan dalam rekorder dan ditampilkan dalam bentuk angka-angka pada reader (komputer) (Gandjar dan Rohman, 2007).

**2.4. Output.** Merupakan system baca yang memperagakan besarnya isyarat listrik, menyatakan dalam bentuk prosentase (%T) transmitan maupun absorbansi (A).

### 3. Hukum Lambert Beer

Hukum Lambert Beer atau yang juga disebut dengan Hukum “Bouguer-Bear” adalah hukum yang menyatakan bahwa konsentrasi membentuk perbandingan yang linear terhadap absorbansi. Menurut Lambert absorbansi (A) berbanding lurus dengan tebal kuvet (b) yang dilintasi radiasi sinar UV-Vis.

Persamaan (1) adalah rumus Hukum Lambert

$$A = k \cdot b \quad (1)$$

Menurut Hukum Beer, yang hanya berlaku untuk cahaya monokromatis dan larutan yang sangat encer, serapan (A) dan konsentrasi (c) adalah proporsional.

Persamaan (2) adalah rumus Hukum Beer

$$A = k \cdot c \quad (2)$$

Apabila kedua hukum digabungkan menjadi satu, maka Hukum Lambert-Bear dinyatakan dengan rumus sebagai berikut:

Persamaan (3) adalah rumus Hukum Lambert Beer

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c \quad (3)$$

Dimana A adalah Absorbansi, b adalah tebal kuvet, c adalah konsentrasi dalam satuan gram/liter dan  $\epsilon$  adalah absorbtivitas molar (Harvey, 2001).

#### **4. Analisis**

##### **4.1. Analisis Kualitatif.**

Analisis kualitatif dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis hanya digunakan untuk mendapatkan data sekunder atau data pendukung. Analisis kualitatif yang dapat diakukan dengan metode Spektrofotometri UV-Vis adalah pemeriksaan kemurnian dan penentuan panjang gelombang maksimal (Gandjar dan Rohman, 2007).

##### **4.2. Analisis Kuantitatif**

**4.2.1. Analisis Satu Komponen.** Analisis ini dilakukan dengan pengukuran nilai absorbansi pada panjang gelombang maksimum atau dilakukan dengan mengukur prosentase transmitan pada panjang gelombang minimum (Mulja dan Suharman, 1995).

**4.2.2. Analisis Dua Komponen.** Analisis kuantitatif campuran dua komponen merupakan teknik pengembangan analisis kuantitatif komponen tunggal. Prinsip kerjanya adalah dengan mencari absorban dan beda absorban tiap komponen yang akan memberikan korelasi yang linear terhadap konsentrasi, sehingga dapat ditentukan kadarnya (Gandjar dan Rohman, 2007).

**4.2.3. Analisis Multi Komponen.** Prinsip analisis multi komponen dengan menggunakan metode spektrfotometri UV-Vis adalah kalibrasi setiap komponen terhadap suatu larutan standar (Gandjar dan Rohman, 2007).

## D. Validasi Metode

### 1. Pengertian

Validasi adalah konfirmasi melalui pengujian dan pengadaan bukti yang obyektif bahwa persyaratan tertentu untuk suatu maksud khusus terpenuhi (ISO/IEC : 17025:2005).

### 2. Tujuan

- a. Mengevaluasi kinerja metode : kepekaan, selektivitas, akurasi, presisi, sekaligus menguji kelemahan dan keterbatasan metode.
- b. Menguji faktor-faktor yang dapat mempengaruhi kinerja metode dan mengetahui besarnya pengaruh itu terhadap hasil analisis.
- c. Melakukan verifikasi atau membuktikan kinerja metode analisis baku yang diadopsi/digunakan laboratorium (Gandjar dan Rohman, 2007).

### 3. Jenis Validasi Metode

**3.1. Validasi Primer.** Dilakukan jika laboratorium menggunakan metode analisis baru, hasil pengembangan atau metode yang dimodifikasi terhadap suatu metode standar.

**3.2. Validasi Sekunder.** Dilakukan untuk verifikasi, jika laboratorium menggunakan atau mengadopsi metode standar yang telah divalidasi (Gandjar dan Suharman, 2007).

### 4. Parameter Validasi Metode

**4.1. Akurasi.** Akurasi atau kecermatan metode analisis adalah salah satu parameter validasi metode yang menunjukkan keterdekatan hasil analisis yang di peroleh dengan memakai metode tersebut dengan harga yang sebenarnya .

Akurasi dinyatakan dengan prosentase perolehan kembali (Gandjar dan Rohman, 2005).

Persamaan (4) digunakan untuk menghitung *Recovery*.

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{kadar terukur}}{\text{kadar diketahui}} \times 100 \% \quad (4)$$

**4.2. Presisi.** Keseksamaan adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran yang homogen. (Gandjar dan Rohman, 2005).

Persamaan (5) untuk menghitung Standar Deviasi.

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (5)$$

Persamaan (6) digunakan untuk menghitung Koefisien Varians

$$CV = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100 \% \quad (6)$$

**4.3. Limit of Detection dan Limit of Quantitation.** *Limit of detection* adalah parameter untuk penentuan sampel dengan kadar yang terkecil akan tetapi masih memberikan tanggap detektor yang berbeda dengan pembanding. Sedangkan *limit of quantitation* adalah kadar terkecil dari suatu sampel yang dapat dianalisis dengan hasil penentuan kuantitatif yang menunjukkan akurasi dan presisi yang memadai (Mulja dan Suharman, 1995).

Persamaan (7) digunakan untuk menghitung LOD

$$LOD = \frac{3 \times SD}{\text{Slope}} \quad (7)$$

Persamaan (8) digunakan untuk menentukan LOQ

$$\text{LOQ} = \frac{10 \times \text{SD}}{\text{Slope}} \quad (8)$$

**4.4. Selektivitas.** Selektivitas atau spesifisitas suatu metode adalah kemampuannya yang hanya mengukur zat tertentu saja secara cermat dan seksama dengan adanya komponen lain yang mungkin ada dalam matriks sampel. Selektivitas seringkali dapat dinyatakan sebagai derajat penyimpangan (*degree of bias*) metode yang dilakukan terhadap sampel yang mengandung bahan yang ditambahkan berupa cemaran, hasil urai, senyawa sejenis, senyawa asing lainnya, dan dibandingkan terhadap hasil analisis sampel yang tidak mengandung bahan lain yang ditambahkan (Harmita, 2004).

**4.5. Linearitas.** Linearitas adalah kemampuan metode analisis yang memberikan respon yang secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Rentang metode adalah pernyataan batas terendah dan tertinggi analit yang sudah ditunjukkan dapat ditetapkan dengan kecermatan, keseksamaan, dan linearitas yang dapat diterima (Harmita, 2004).

**4.6. Ketangguhan Metode.** Ketangguhan metode adalah derajat ketertiruan hasil uji yang diperoleh dari analisis sampel yang sama dalam berbagai kondisi uji normal, seperti laboratorium, analisis, instrumen, bahan pereaksi, suhu, hari yang berbeda, dll. Ketangguhan biasanya dinyatakan sebagai tidak adanya pengaruh perbedaan operasi atau lingkungan kerja pada hasil uji. Ketangguhan metode merupakan ukuran ketertiruan pada kondisi operasi normal antara lab dan antar analis (Harmita, 2004).

### E. Landasan Teori

Ekstraksi kafein dari teh menggunakan kloroform sebagai pelarut. Sampel minuman teh ditambah  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  sebelum diekstraksi untuk memutus ikatan kafein dengan senyawa lain. Fase kloroform hasil ekstraksi diuapkan dan disublimasi (Arwangga dkk, 2016).

Uji kualitatif kafein menggunakan uji fluorosensi, reaksi murexid, reaksi parry dan kromatografi lapis tipis. Uji fluorosensi dilakukan dengan mengamati kristal hasil ekstraksi dibawah sinar UV. Reaksi murexid dilakukan dengan mereaksikan kristal hasil ekstraksi dengan  $\text{HCl}$  pekat dan  $\text{KClO}_3$  kemudian dipanaskan dan ditambah  $\text{NH}_4\text{OH}$ . Reasi parry dilaksanakan dengan mereaksikan kristal hasil ekstraksi dengan  $\text{NaOH}$  dan  $\text{CuSO}_4$ . Identifikasi kafein menggunakan KLT dilakukan dengan mengelusikan kristal hasil ekstraksi dan baku dalam fase gerak Metanol:Kloroform (1:9) (Clarke,1971).

Uji kuantitatif kafein dalam minuman teh menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Kristal hasil ekstraksi ditimbang dan dilarutkan menggunakan  $\text{HCl}$  0,1 N (Danasrayaningsih, 2007).

### F. Kerangka Empiris

Berdasarkan permasalahan yang ada, dapat disusun kerangka empiris dalam penelitian ini adalah

1. Nilai dari kadar kafein pada minuman teh hitam kemasan yang ditetapkan secara spektrofotometri UV-Vis bersifat exploratif.
2. Nilai dari kadar kafein pada minuman teh hijau kemasan yang ditetapkan secara spektrofotometri UV-Vis bersifat exploratif.

3. Kadar kafein pada minuman teh hitam dan teh hijau kemasan memenuhi syarat SNI 01-7152-2006.

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **A. Populasi dan Sampel**

##### **1. Populasi**

Populasi adalah keseluruhan unit atau individu dalam ruang lingkup yang ingin diteliti. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah minuman teh hitam dan teh kemasan yang beredar di Toserba "X" di daerah Kestalan, Kota Surakarta.

##### **2. Sampel**

Sampel yang digunakan yaitu tiga sampel minuman teh hitam kemasan cup sampel A, sampel B dan sampel C yang dijual melalui *franchise* yang berbeda dan tiga sampel minuman teh hijau kemasan botol sampel X, sampel Y dan sampel Z yang dijual di swalayan di Toserba "X", di daerah Kestalan, Kota Surakarta.

#### **B. Variabel Penelitian**

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

Variabel utama dalam penelitian ini minuman teh hitam kemasan cup merk A, B, C dan minuman teh hijau kemasan botol merk X, Y, Z yang beredar di Toserba "X", di daerah Kestalan, Kota Surakarta.

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

Klasifikasi diperlukan untuk menentukan alat pengambilan data dan metode analisis data yang sesuai berdasarkan pada hubungan sebab akibat

menjadi variabel tergantung disatu pihak dan variabel bebas, kendali dan rambang dipihak lain.

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung, dimana variabel bebas dalam penelitian ini adalah minuman teh hitam kemasan sampel A, sampel B, Sampel C dan minuman teh hijau kemasan sampel X, sampel Y dan sampel Z yang beredar di Toserba "X", di daerah Kestalan, Kota Surakarta.

Variabel kendali merupakan variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan kuailifikasinya agar hasil yang didapatkan tidak tersebar dan dapat diulangi oleh peneliti lain secara tepat yang digunakan. Variabel kendali dalam penelitian ini adalah berat penimbangan sampel, pelarut, reagent uji, fase gerak, konsentrasi sampel, absorbansi sampel dan kondisi penelitian.

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah hasil analisis dari kafein meliputi uji kualitatif dan kuantitatif pada minuman teh kemasan yang beredar di Toserba "X", di daerah Kestalan, Kota Surakarta.

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

Pada penelitian ini, definisi operasional variabel utama yang pertama, minuman teh kemasan adalah minuman teh siap minum dalam kemasan cup dan botol jenis teh hitam dan teh hijau yang dijual di Toserba "X" di daerah Kestalan, Kota Surakarta.

Definisi operasional variabel utama kedua, kafein adalah zat metabolit sekunder yang terdapat dalam sampel minuman teh kemasan.

Definisi operasional variabel utama ketiga, perlakuan terhadap sampel dengan dilakukan uji kualitatif menggunakan reaksi fluorosensi, reaksi Murexid, pereaksi Parry, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorf dan Kromatografi Lapis Tipis. Setelah itu dilakukan penetapan kadar dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis.

### C. Alat dan Bahan

#### 1. Alat

Pada penelitian ini digunakan berbagai alat antara lain Spektrofotometer UV-Vis *Shimadzu UV 1800*, labu takar, pipet volume, mikro pipet 1000  $\mu\text{l}$ , gelas ukur, *beker glass*, tabung reaksi, cawan porcelin, pemanas spritus, corong pisah, corong kaca, *chamber*, batang pengaduk, penangas air, neraca analitik dan pipa kapiler.

#### 2. Bahan

Pada penelitian ini digunakan bahan sebagai berikut, sampel minuman teh hitam kemasan cup merk A, B dan C, sampel minuman teh kemasan botol merk X, Y dan Z,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (E.Merck),  $\text{CHCl}_3$  ( E.Merck), HCl pekat (E.Merck),  $\text{KClO}_3$ ,  $\text{NH}_4\text{OH}$  pekat,  $\text{NaOH}$ ,  $\text{CuSO}_4$ , Methanol. Semua bahan yang digunakan berkualitas pro analisis. Silika gel GF 254, kertas saring, aquadest.

### D. Jalannya Penelitian

#### 1. Persiapan Sampel

Diambil 75 ml sampel ditambah 10 gram  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , diaduk menggunakan batang mengaduk, kemudian di saring menggunakan kertas saring biasa. Filtrat dimasukkan ke dalam corong pisah lalu diekstraksi menggunakan 75

ml Kloroform sebanyak tiga kali. Fase dari koroform diuapkan di atas penangas air hingga mengkristal, kristal hasil penguapan disublimasi dan ditimbang.

## 2. Uji Kualitatif

**2.1. Reaksi Fluorosensi.** Sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksinya lalu diamati di bawah sinar UV.

**2.2. Reaksi Murexid.** Dipipet 5 tetes sampel yang sudah dilarutkan dalam metanol, ditambah 3 tetes HCl pekat dan 5 tetes  $\text{KClO}_3$  di dalam cawan porselin, dipanaskan sisa pemanasan ditambah  $\text{NH}_4\text{OH}$  pekat.

**2.3. Reaksi Parry.** Dipipet 5 tetes sampel yang sudah dilarutkan dalam metanol, ditambah 3 tetes NaOH dan 3 tetes  $\text{CuSO}_4$ .

**2.4. Kromatografi Lapis Tipis.** Lempeng silika gel GF 254 diaktivasi dengan cara dipanaskan di dalam oven suhu  $100^\circ \text{C}$  selama 5 menit. Kristal hasil ekstraksi dan baku kafein ditotolkan ke lempeng silika yang sudah diaktivasi, dielusikan ke dalam fase gerak Metanol : Kloroform (1:9). Hasil diamati di bawah sinar UV 254 nm.

## 3. Penetapan Kadar Sampel

**3.1. Pembuatan Larutan Baku Kafein.** Ditimbang 100 mg baku kafein, dilarutkan dengan HCl 0,1 N di dalam labu takar 100 ml hingga tanda batas. Dibuat seri konsentrasi baku kafein 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 dan 14 ppm.

**3.2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal.** Diambil secukupnya baku kafein dengan konsentrasi 5 ppm, dimasukkan ke dalam kuvet, lalu dilakukan pemindaian panjang gelombang maksimal dengan rentang panjang gelombang 220-350 nm.

**3.3. Penentuan Operating Time.** Baku yang digunakan dalam penentuan panjang gelombang di gunakan dalam penentuan operating time. Baku dilakukan pemindaian operating time dengan waktu 30 menit.

**3.4. Pembuatan Kurva Baku.** Larutan baku dengan seri konsentrasi 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 dan 14 ppm. Kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimal yang didapatkan. Nilai absorbansi dan konsentrasi dalam ppm dibuat persamaan linear sehingga terbentuk persamaan  $y = a + bx$ .

**3.5. Presisi.** Dipipet 1 ml baku ke dalam labu takar 10 ml. Ditambah HCl 0,1 N hingga tanda batas. Dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimal. Dilakukan replikasi sebanyak 10 kali

**3.6. Akurasi.** Dipipet 1 ml larutan standar kafein dimasukkan ke dalam labu takar 10 ml. ditambah HCl 0,1 N. Dari larutan induk tersebut dibuat konsentrasi 80%, 100% dan 120%. Masing- masing sampel dilakukan secara triplo.

**3.7. Penentuan Kadar Sampel.** Ditimbang 10 mg kristal sampel dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml. dilarutkan HCl 0,1 N hingga tanda batas. Larutan sampel dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimal. Nilai absorbansi yang di dapat dimasukkan ke dalam persamaan  $y = a + bx$ , dimana y adalah nilai absorbansi, a adalah nilai slope, b adalah nilai intersep dan x adalah konsentrasi.

## E. Analisis Hasil

### 1. Preparasi Sampel

Dari preparasi sampel yang dilakukan akan menghasilkan kristal berwarna putih, tidak berbau dan rasa pahit.

### 2. Uji Kualitatif

**2.1. Reaksi Fluorosensi .** Kristal yang didapat dari proses preparasi sampel di amatai di bawah sinar UV akan memberikan warna biru keunguan

**2.2. Reaksi Murexide.** Sampel diuji kualitatif dengan ditambah HCl pekat dan  $\text{KClO}_3$  kemudian dipanaskan. Sisa pemanasan ditambah dengan  $\text{NH}_4\text{OH}$  pekat berwarna ungu tua.

**2.3. Reaksi Parry.** Sampel ditambah NaOH dan  $\text{CuSO}_4$  akan memberikan warna biru tua atau hijau.

**2.4. Kromatografi Lapis Tipis.** Uji kualitatif dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis di tentukan dengan nilai Rf yang dihitung dari jarak yang ditempuh bercak dibagi jarak tempuh fase gerak.

Persamaan (9) Rumus Perhitungan Rf

$$RF = \frac{\text{Jarak tempuh bercak}}{\text{Jarak tempuh fase gerak}} \quad (9)$$

Apabila Rf dari sampel sama atau mendekati nilai dari Rf dari baku, dapat dinyatakan bahwa sampel mengandung Kafein.

### 3. Metode Spektrofotometri UV-Vis

**3.1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal.** Panjang gelombang maksimal ditentukan dengan melakukan pemindaian dari panjang gelombang 220-

350 nm. Panjang gelombang yang menunjukkan nilai absorbansi yang tertinggi adalah panjang gelombang maksimal.

**3.2. Penentuan Operating Time.** Operating time ditentukan dengan melihat adanya penyimpangan nilai absorbansi dalam rentang waktu 30 menit.

**3.3. Pembuatan Kurva Baku.** Nilai kurva baku didapat dengan membuat persamaan regresi linear antara nilai absorbansi yang didapat dari tiap seri konsentrasi yang dibuat dengan konsentrasi baku, sehingga didapat persamaan  $y = a+bx$ .

**3.4. Presisi.** Presisi diukur dengan menentukan koefisien variansi (CV) yang dapat dihitung sebagai berikut:

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

Kriteria presisi yang baik adalah ketika metode memberikan nilai koefisien varian atau simpangan baku relative tidak lebih dari 2%.

**3.5. Akurasi .** Akurasi dinyatakan dengan prosentasi perolehan kembali atau recovery yaitu dihitung kadar kafein terukur dibagi dengan kadar kafein terhitung dikali 100%.

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{Kadar Terukur}}{\text{Kadar Diketahui}} \times 100\%$$

Prosentasi recovery atau perolehan kembali harus diantara 80% - 120 %.

**3.6. Linearitas.** Linearitas dihitung menggunakan persamaan regresi linear  $y = a+bx$ . Dari persamaan dibuat grafik yang menunjukkan nilai persamaan. Metode analisis yang baik adalah ketika linearitas metode mendapatkan nilai korelasi ( $R$ ) 0,998.

**3.7. LOD dan LOQ.** LOD atau *Limit of Detection* adalah parameter untuk penentuan sampel dengan kadar yang terkecil akan tetapi masih memberikan tanggap detektor yang berbeda dengan pembanding. LOD dapat dihitung dengan cara sebagai berikut:

$$\text{LOD} = \frac{3 \times \text{SD}}{\text{Slope}}$$

Sedangkan LOQ atau *limit of quantitation* adalah kadar terkecil dari suatu sampel yang dapat dianalisis yang dapat dihitung dengan cara sebagai berikut:

$$\text{LOQ} = \frac{10 \times \text{SD}}{\text{Slope}}$$

**3.8. Penentuan Kadar Sampel.** Nilai absorbansi yang didapat sampel dimasukkan ke dalam persamaan kurva baku. Kemudian dihitung menggunakan persamaan.

$$\frac{\text{konsentrasi} \times \text{faktor buat} \times \text{faktor pengenceran}}{\text{volume sampel}} \quad (10)$$

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan adalah sampel minuman teh kemasan cup (sampel A, B, C) yang dijual di *franchise* yang berbeda dan sampel minuman teh hijau bermerk kemasan botol (sampel X, Y,Z) yang dijual di *supermarket* Toserba "X" daerah Kestalan, Kota Surakarta. Preparasi sampel dilakukan dengan mengambil sebanyak 75 ml sampel ditambah dengan natrium karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) sebanyak 10 gram. Penambahan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  bertujuan untuk memutus ikatan kafein dengan senyawa lain yang terdapat dalam teh sehingga kafein menjadi senyawa basa bebas (Arwangga dkk, 2016). Sampel diekstraksi menggunakan kloroform karena kafein dalam bentuk basa bebas terikat dalam pelarut organik yaitu kloroform, kemudian dilakukan pengocokan sehingga terjadi kesetimbangan konsentrasi zat yang diekstraksi pada dua lapisan yang terbentuk (Maramis dkk, 2013). Lapisan dari kloroform dalam cawan penguap, lalu diuapkan diatas *waterbath* suhu 95°C hingga kering. Residu hasil penguapan fraksi kloroform di sublimasi untuk menghasilkan rendemen murni, kemudian ditimbang. Masing-masing sampel dilakukan tiga kali pengambilan sampel sehingga volume total pengambilan sampel adalah 225 ml. Rendemen yang dihasilkan berupa kristal berbentuk jarum berwarna putih (Lampiran 12.). Hasil rendemen yang didapatkan adalah sebagai berikut.

**Tabel 1. Hasil Rendemen Kristal Murni**

Sampel	Berat (mg)	% Rendemen	Sampel	Berat (mg)	% Rendemen
A	93,6667	41,63%	X	48,9667	21,76 %
B	78,1333	34,73 %	Y	52,2000	23,16 %
C	58,6333	26,06 %	Z	62,5333	27,791

**B. Uji Kualitatif****1. Uji Fluorosensi**

Hasil uji fluorosensi adalah sebagai berikut.

**Tabel 2. Hasil Uji Fluorosensi**

Sampel	Hasil	Sampel	Hasil
A	+	X	+
B	+	Y	+
C	+	Z	+

Tabel 2. memberikan informasi bahwa keseluruhan sampel kristal hasil ekstraksi minuman teh mempunyai hasil positif menunjukkan peredaman berwarna biru keunguan yang menandakan adanya kafein dalam sampel. (Lampiran 13.)

**2. Reaksi Murexid**

Reaksi Murexid dilakukan dengan mereaksikan kristal hasil ekstraksi dengan HCl pekat dan KCLO<sub>3</sub> kemudian diuapkan, hasil penguapan ditambah NH<sub>4</sub>OH pekat.

**Tabel 3. Hasil Reaksi Murexid**

Sampel	Hasil	Sampel	Hasil
A	+	X	+
B	+	Y	+
C	+	Z	+

Tabel 3. memperlihatkan hasil uji reaksi murexid pada sampel kristal hasil ekstraksi minuman teh. Seluruh sampel menunjukkan hasil positif terhadap adanya

kafein yang ditunjukkan dengan warna ungu atau warna violet (Clarke, 1971). (Lampiran 14.)

### **3. Reaksi Parry**

Reaksi parry dilakukan dengan mereaksikan kristal hasil ekstraksi dengan NaOH dan CuSO<sub>4</sub>.

**Tabel 4. Hasil Reaksi Parry**

Sampel	Hasil	Sampel	Hasil
A	+	X	+
B	+	Y	+
C	+	Z	+

Tabel 4. Menunjukkan hasil dari uji kualitatif sampel terhadap adanya kafein. Keseluruhan sampel menunjukkan hasil positif terhadap adanya kafein dengan menunjukkan warna biru yang lama kelamaan berwarna hijau tua. (Lampiran 15.)

### **4. Kromatografi Lapis Tipis**

Kromatografi Lapis Tipis dilakukan dengan menotolkan kristal hasil ekstraksi dan baku kafein pada silika GF 254 yang sudah diaktivasi kemudian dielusikan dengan fase gerak Metanol:Kloroform (1:9). Hasil dari Kromatografi Lapis Tipis terlampir pada tabel 5.

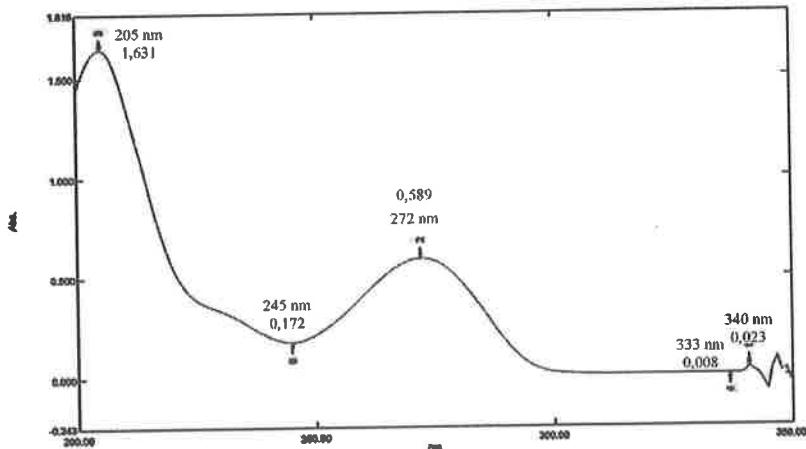
Semua sampel menunjukkan hasil positif terhadap adanya kafein. Sebagaimana ditunjukkan dalam Tabel 5. bahwa Rf sampel mendekati atau hampir sama dengan Rf dari baku kafein. (Lampiran 1.)

**Tabel 5. Hasil Kromatografi Lapis Tipis**

Sampel	Rf
A	0,75
B	0,75
C	0,75
X	0,73
Y	0,73
Z	0,73
Baku	0,73

**C. Penetapan Kadar Sampel****1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal**

Pemindaian panjang gelombang maksimal dari kafein dilakukan pada  $\lambda$  200-350 nm. Panjang gelombang maksimal yang didapat adalah 272 nm dengan absorbansi 0,589.

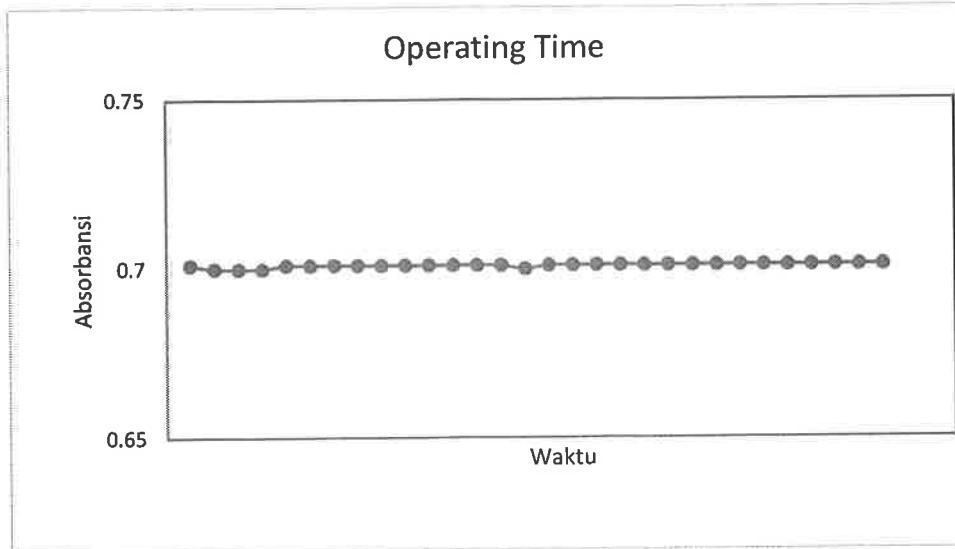
**Gambar 6. Panjang Gelombang Maksimal Kafein**

Menurut Clarke (1971), panjang gelombang maksimal kafein dengan pelarut HCl 0,1 N adalah 272 nm. Penggunaan pelarut HCl 0,1 N berfungsi untuk

mengubah kafein ke dalam bentuk garamnya sehingga lebih mudah larut di dalam air (Danasrayaningsih, 2007). (Lampiran 5.)

## 2. Penentuan Operating Time.

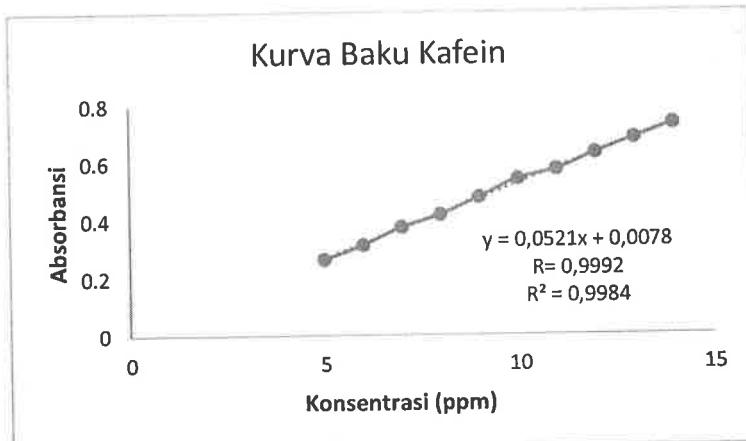
Operating time digunakan untuk mengetahui waktu maksimal analisis yang dilakukan. Hasil operating time dibuat dalam bentuk grafik. Untuk mengetahui adanya atau tidaknya kenaikan dan penurunan nilai absorbansi.



Gambar 7. Operating Time Kafein

Menurut grafik diatas, kafein tidak menunjukkan adanya kenaikan dan penurunan nilai absorbansi yang tidak signifikan karena penurunan absorbansi hanya terjadi di menit ke 2, 3, 4 dan 15 dengan selisih penurunan absorbansi adalah 0,001. Sehingga dapat dinyatakan bahwa kafein adalah senyawa yang stabil dan tidak ada batas waktu untuk melakukan analisa.

### 3. Kurva Baku Kafein



Gambar 8. Kurva Baku Kafein

Gambar 8. menunjukkan kurva baku kafein yang sudah dibuat grafik, dimana sumbu x adalah konsentrasi dan sumbu y adalah absorbansi. Nilai a atau intercept adalah 0,0078. Nilai b adalah 0,0521. Sedangkan nilai R adalah 0,9992 dan  $R^2$  adalah 0,9984. Hal ini menunjukkan bahwa data mempunyai korelasi yang baik.

### 4. Presisi

Presisi dihitung menggunakan koefisien varian. Koefisien varian dihitung dengan cara membagi nilai simpangan baku dengan nilai rata-rata konsentrasi. Suatu metode dikatakan baik apabila koefisien variannya kurang dari 2% (Mulja dan Suharman, 1995).

Berdasarkan tabel 7. yang memuat perhitungan data presisi, koefisien varians yang didapatkan adalah 0,7033%. Sehingga dapat dinyatakan bahwa metode yang digunakan memiliki presisi yang baik dikarenakan nilai koefisien varians kurang dari 2%. (Lampiran 9.)

**Tabel 7. Data Hasil Perhitungan Presisi**

Replikasi	Abs	Konsentrasi (ppm)	$\bar{X}$	$ X - \bar{X} ^2$	SD	CV (%)
1	0,542	10,2503		0,0015		
2	0,548	10,3654		0,0059		
3	0,544	10,2886		0,0000		
4	0,543	10,2694		0,0004		
5	0,549	10,3846	10,2886	0,0092	0,0724	0,70
6	0,538	10,1735		0,0133		
7	0,539	10,1927		0,0092		
8	0,546	10,3270		0,0015		
9	0,548	10,3654		0,0059		
10	0,543	10,2694		0,0004		
$\Sigma = 0,0471$						

## 5. Akurasi

Akurasi dinyatakan dengan nilai persen recovery. Nilai recovery didapat dengan membuat larutan standar dengan tiga konsentrasi berbeda yaitu 80%. 100% dan 120%. Menurut Harmita (2004), suatu metode dinyatakan memiliki akurasi yang baik adalah metode memiliki nilai recovery di antara 80%-120%.

**Tabel 8. Data Hasil Perhitungan Recovery**

Sampel	Kadar Diketahui (ppm)	Kadar Terhitung (ppm)	Recovery (%)
80,a	8	8,2739	103,42
80,b	8	8,1396	101,74
80,c	8	8,1012	101,26
100,a	10	10,3846	103,85
100,b	10	10,4038	104,04
100,c	10	10,2311	102,31
120,a	12	12,2267	101,89
120,b	12	12,3802	103,17
120,c	12	12,3418	102,85

Tabel diatas menunjukkan hasil perhitungan recovery. Data yang didapat menunjukkan bahwa nilai recovery memenuhi rentang 80%.-120%. (Lampiran 10,)

## 6. Linearitas

Pada penelitian ini, linearitas dikerjakan bersamaan pada pembuatan kurva baku, yaitu dengan mengukur nilai absorbansi dari larutan kurva baku 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 dan 14 ppm

Berdasarkan Gambar.8 nilai R yang didapat adalah 0,9992 dan nilai R<sup>2</sup> adalah 0,9984. Sehingga dapat disimpulkan bahwa metode yang digunakan mempunyai korelasi yang baik dengan konsentrasi yang didapatkan.

## 7. LOD dan LOQ.

Batas deteksi dan batas kuantitas adalah parameter validasi yang digunakan untuk mengetahui konsentrasi terkecil dari suatu analit yang dapat terdeteksi dan dianalisa. Pada penelitian ini, LOD dan LOQ senyawa kafein yang sudah dihitung adalah 0,32351 ppm dan 1,0748 ppm. (Lampiran 11.)

## 8. Penentuan Kadar Sampel

Kadar sampel dihitung dari nilai konsentrasi dengan satuan ppm (mg/1000ml) yang di dapat dari persamaan regresi linear dikali faktor pengenceran dan dikonversikan ke satuan mg/ml. Kadar Kafein pada sampel A adalah 0,0517 %, 0,0386 %, 0,0385 % dengan rata-rata  $0,0429 \pm 0,0276$  % sehingga pada sajian A memiliki jumlah rat-rata kafein 42,9 mg/sajian. Kadar Kafein pada sampel B adalah 0,0445 %, 0,0438 %, 0,0432 % dengan rata-rata  $0,0438 \pm 0,0005$  % sehingga pada sajian B memiliki jumlah rata-rata kafein 43,8

mg/sajian. Kadar Kafein pada sampel C adalah 0,0596 %, 0,0590 %, 0,0617 % dengan rata-rata  $0,0610 \pm 0,0010$  % sehingga pada sajian C memiliki jumlah rata-rata kafein 61,0 mg/sajian.

**Tabel 6. Hasil Perhitungan Kadar Sampel**

Sampel	Konsentrasi (mg/1000 ml)	Kadar (%) b/v)	Rata-rata Kadar $\pm$ SD
A1	11,6318	0,0517	
A2	8,6960	0,0386	0,0429 $\pm$ 0,0276
A3	8,6576	0,0385	
B1	10,0200	0,0445	
B2	9,8473	0,0438	0,0438 $\pm$ 0,0005
B3	9,7130	0,0432	
C1	13,4163	0,0596	
C2	13,2820	0,0590	0,0610 $\pm$ 0,0010
C3	13,8768	0,0617	
X1	12,1883	0,0542	
X2	10,0200	0,0445	0,0469 $\pm$ 0,0045
X3	9,4635	0,0421	
Y1	10,0968	0,0449	
Y2	10,1351	0,0450	0,0448 $\pm$ 0,0002
Y3	10,0200	0,0445	
Z1	9,9624	0,0443	
Z2	10,2119	0,0454	0,0449 $\pm$ 0,0004
Z3	10,1159	0,0450	

Kadar Kafein pada sampel X adalah 0,0542 %, 0,0445 %, 0,0421 % dengan rata-rata  $0,0469 \pm 0,0045$  % sehingga pada sajian memiliki jumlah rata-rata kafein 46,9 mg/sajian. Kadar Kafein pada sampel Y adalah 0,0449 %, 0,0450 %, 0,0445 % dengan rata-rata  $0,0448 \pm 0,00052$ % sehingga pada sajian Y memiliki jumlah rata-rata kafein 44,8 mg/sajian. Kadar Kafein pada sampel Z adalah 0,0443 %, 0,0454 %, 0,0450 % dengan rata-rata  $0,0449 \pm 0,0004$  % sehingga pada sajian Z memiliki jumlah rata-rata kafein 44,9 mg/sajian. Kadar kafein pada

sampel minuman teh hitam kemasan cup merk A, B serta minuman teh hijau kemasan botol dengan merk X, Y dan Z memenuhi kadar yang ditetapkan dalam SNI 01-7152-2006 yaitu kurang dari 50 mg/sajian. Sedangkan sampel C tidak memenuhi persyaratan. (Lampiran 8.)

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **A. Kesimpulan**

1. Kadar kafein pada sampel A adalah  $0,0429\pm0,0276$  % b/v. Kadar kafein untuk sampel B adalah  $0,0438\pm0,0005$  % b/v. Sampel C mengandung kafein sebanyak  $0,0610\pm0,0010$  % b/v.
2. Kadar kafein pada sampel X secara adalah  $0,0469\pm0,0045$  % b/v. Kadar kafein untuk sampel Y adalah  $0,0448\pm0,0002$  % b/v. Sampel Z mengandung kafein sebanyak  $0,0449\pm0,0004$  % b/v.
3. Sampel minuman teh hitam kemasan cup merk A, B dan C dan minuman teh hijau kemasan botol merk X, Y dan Z memiliki kadar kafein yang tidak memenuhi persyaratan SNI 01-7152-2006.

#### **B. Saran**

1. Perlu dilakukan penelitian mengenai analisis kafein pada minuman teh kemasan lain.
2. Perlu dilakukan penelitian mengenai analisis kafein pada jenis teh lain.
3. Perlu dilakukan penelitian mengenai analisis kafein pada minuman teh menggunakan metode dan instrumen lain.

## DAFTAR PUSTAKA

- Arwingga Aryanu Fahmi dkk. 2016. Analisis Kandungan Kafein Pada Kopi Di Desa Sesaot Narmada Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. Jurnal Kimia Volume 10 (1).
- Bayang. 2016. Teknik Yang Baik dan Benar Budidaya Teh. <http://homesweetplant.blogspot.com> diakses pada tanggal 29 Mei 2017 pukul 14.01 WIB
- Clarke EGC. 1971. *Isolation and Identification Of Drugs*. London: The Pharmaceutical Press.
- Danasrayaningsih Veronica Suko. 2007. Penetapan Kadar Kafein Dalam Minuman Berenergi Merk "X" Dengan Metode Spektrofotometri Derivatif Aplikasi *Peak to Peak*. Skripsi. Yogyakarta: Universitas Sanatha Darma.
- Towaha Balittri Juniaty. 2013. Kandungan Senyawa Kimia Pada DaunTeh.*Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri* Volume 19 (3).
- Gandjar Ibnu Gholib, Rohman Abdul. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: PustakaPelajar.
- Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya.Majalah Ilmu Kefarmasian Volume I (3): 117-135.
- Harvey David. 2001. *Modern Analytical Chemistry*. Boston : The McGraw Hill.
- Hutapea Johnny Ria. 2001. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia Jilid II*. Jakarta: Depkes RI.
- KakhiaTarek Ismail. 2012. *Alkaloids & Alkaloids Plants*. Turkey: Adana University
- [KAN] Komite Akreditasi Nasional. 2005. ISO/IEC 17025:2005 Edisi Kedua. Jakarta : KAN
- Maramis Rialita Kesia, Citraningtyas Gayatri, Wehantouw Frenly. 2013. Analisis Kafein Dalam Kopi Bubuk di Kota Manado Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. Pharmacon Jurnal IlmiahFarmasi Volume 2 (4).
- Mulja Muhammad, Suharman. 1995. *Analisis Instrumental*. Surabaya: Universitas Airlangga.

- Rohdiana Dadan. Agustus 2015.Teh: Proses, Karakteristik, dan Komponen Fungsionalnya. *Foodreview Indonesia*: Volume 10 (8).
- Sirait Miriam, dkk. 1979. *Farmakope Indonesia Edisi III*. Jakarta: Depkes RI.
- Somantri Ratna. 2014. *A Story In A Cup of Tea*. Jakarta: TransmediaPustaka.
- [SNI] Standard Nasional Indonesia. 2006. SNI 01-7152-2006. Jakarta : SNI
- Sujarweni V. Wiratna. 2015. *SPSS Untuk Penelitian*. Yogyakarta : Pustaka Baru.
- Widyotomo Sukrisno, Mulato Sri. 2007. Kafein: Senyawa Penting PadaBiji Kopi. *Warta Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia* 23(1): 44-45.
- Wiryawan Adam dkk. 2007. *Kimia Analitik*. Malang : Departemen Pendidikan Nasional.
- Yuniningsih Ririn, Samingan, Muhibbuddin.2012. Pengaruh Beratdan Lama WaktuPenyeduhanTerhadap Kadar Kafein di DalamTeh. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi, BiologiEdukasi* 4: 82-87.

### Lampiran 1. Kromatografi Lapis Tipis

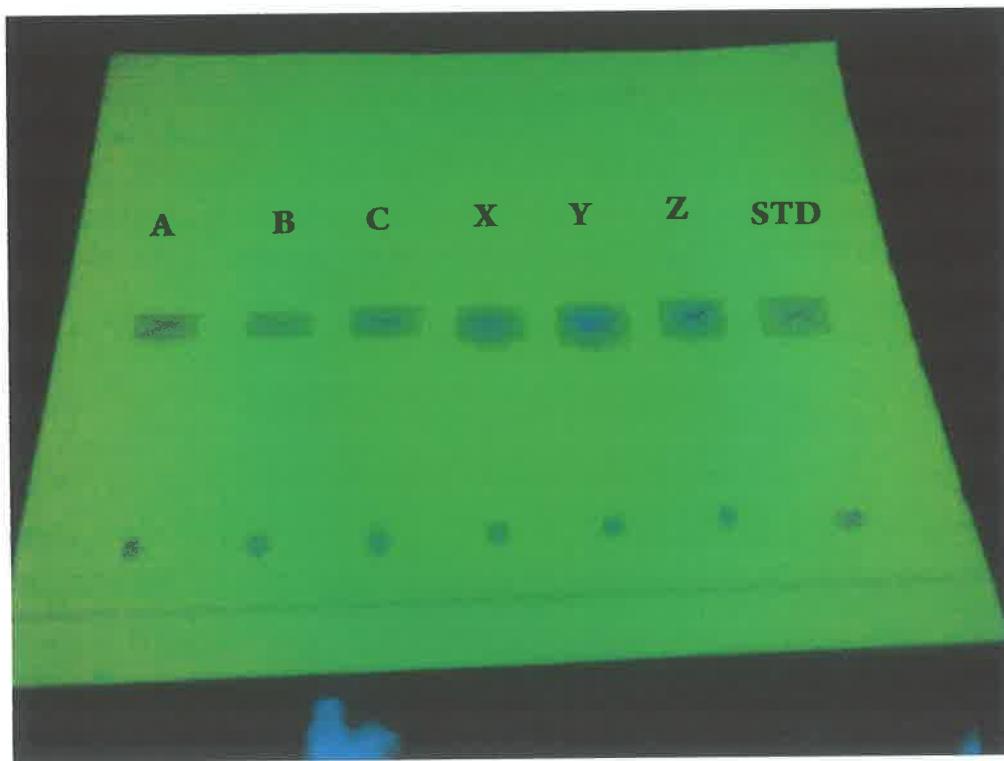
#### Fase Gerak

$$\text{Kloroform} = \frac{9}{10} \times 100 = 90 \text{ ml}$$

$$\text{Metanol} = \frac{1}{10} \times 100 = 10 \text{ ml}$$

#### Perhitungan RF

A	$\frac{3,4}{4,5} = 0,75$	Y	$\frac{3,3}{4,5} = 0,73$
B	$\frac{3,4}{4,5} = 0,75$	Y	$\frac{3,3}{4,5} = 0,73$
C	$\frac{3,4}{4,5} = 0,75$	Baku	$\frac{3,3}{4,5} = 0,73$
X	$\frac{3,3}{4,5} = 0,73$		



## Lampiran 2. Pembuatan HCl 0,1 N

$$\text{HCL 0,1 N} \quad \frac{2500 \times 0,1}{12} = 20,8333 \text{ ml}$$

### Lampiran 3. Perhitungan Kurva Baku

Stok	$\frac{10 \times 1000}{100} = 100 \text{ mg}$
5 ppm	$\frac{10}{100} \times 5 = 0,5 \text{ ml}$
6 ppm	$\frac{10}{100} \times 6 = 0,6 \text{ ml}$
7 ppm	$\frac{10}{100} \times 7 = 0,7 \text{ ml}$
8 ppm	$\frac{10}{100} \times 8 = 0,8 \text{ ml}$
9 ppm	$\frac{10}{100} \times 9 = 0,9 \text{ ml}$
10 ppm	$\frac{10}{100} \times 10 = 1,0 \text{ ml}$
11 ppm	$\frac{10}{100} \times 11 = 1,1 \text{ ml}$
12 ppm	$\frac{10}{100} \times 12 = 1,2 \text{ ml}$
13 ppm	$\frac{10}{100} \times 13 = 1,3 \text{ ml}$
14 ppm	$\frac{10}{100} \times 14 = 1,4 \text{ ml}$

**Lampiran 4. Panjang Gelombang Kafein**

Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
272	0,589
205	1,631
333	0,008
245	0,172
340	0,023

Lampiran 5. Tabel Operating Time

Absorbansi	Menit	Absorbansi	Menit
0,701	1	0,701	15
0,700	2	0,701	17
0,700	3	0,701	18
0,700	4	0,701	19
0,701	5	0,701	20
0,701	6	0,701	21
0,701	7	0,701	22
0,701	8	0,701	23
0,701	9	0,701	24
0,701	10	0,701	25
0,701	11	0,701	26
0,701	12	0,701	27
0,701	13	0,701	28
0,701	14	0,701	29
0,700	15	0,701	30

Lampiran 6. Kurva Baku Kafein

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	$Y'$	$(y-y')^2$	SD
5	0,265	0,2683	0,00001089	0,005618
6	0,316	0,3204	0,00001936	
7	0,377	0,3725	0,00002025	
8	0,42	0,4246	0,00002116	
9	0,481	0,4767	0,00001849	
10	0,544	0,5288	0,0001254	
11	0,576	0,5809	0,00002401	
12	0,633	0,633	0	
13	0,684	0,6851	0,00000121	
14	0,733	0,7372	0,00001764	

Lampiran 7. Data dan Perhitungan Sampel

Sampel	Berat penimbangan (g)	Absorbansi
A1	0,0102	0,614
A2	0,0112	0,461
A3	0,0107	0,459
B1	0,0105	0,580
B2	0,011	0,521
B3	0,0103	0,514
C1	0,0104	0,707
C2	0,0101	0,700
C3	0,0115	0,731
X1	0,011	0,643
X2	0,0109	0,530
X3	0,0112	0,501
Y1	0,0106	0,534
Y2	0,0102	0,536
Y3	0,0105	0,530
Z1	0,0109	0,527
Z2	0,0103	0,540
Z3	0,0107	0,535

$$\text{Konsentrasi} = \frac{C \text{ regresi} \times f.\text{pembuatan} \times f.\text{pengenceran}}{\text{volume sampel} \times 1000 \times 10}$$

$$\text{A1} \quad x = \frac{0,614 - 0,0078}{0,0521} = 11,6318 \text{ ppm}$$

$$x = \frac{11,6318 \times 10 \times 10}{10 \times 225 \times 1000} \times 100\% = 0,0517 \% \text{ b/v}$$

$$\text{A2} \quad x = \frac{0,461 - 0,0078}{0,0521} = 8,6960 \text{ ppm}$$

$$x = \frac{8,6960 \times 10 \times 10}{10 \times 225 \times 1000} \times 100\% = 0,0386 \% \text{ b/v}$$

$$\text{A3} \quad x = \frac{0,459 - 0,0078}{0,0521} = 8,6576 \text{ ppm}$$

$$x = \frac{8,6576 \times 10 \times 10}{10 \times 225 \times 1000} \times 100\% = 0,0385 \% \text{ b/v}$$

$$\text{B1} \quad x = \frac{0,530 - 0,0078}{0,0521} = 10,0200 \text{ ppm}$$

$$x = \frac{10,0200 \times 10 \times 10}{225 \times 1000 \times 100} \times 100\% = 0,0445 \% \text{ b/v}$$

$$\text{B2} \quad x = \frac{0,521 - 0,0078}{0,0521} = 9,8473 \text{ ppm}$$

$$x = \frac{9,8473 \times 10 \times 10}{225 \times 1000 \times 10} \times 100\% = 0,0438 \% \text{ b/v}$$

$$\text{B3} \quad x = \frac{0,514 - 0,0078}{0,0521} = 9,7130 \text{ ppm}$$

$$x = \frac{9,7130 \times 10 \times 10}{225 \times 1000 \times 10} \times 100\% = 0,0432 \% \text{ b/v}$$

$$\text{C1} \quad x = \frac{0,707 - 0,0078}{0,0521} = 13,4163 \text{ ppm}$$

$$x = \frac{13,4163 \times 10 \times 10}{225 \times 1000 \times 10} \times 100\% = 0,0590 \% \text{ b/v}$$

$$\text{C2} \quad x = \frac{0,700 - 0,0078}{0,0521} = 13,2820 \text{ ppm}$$

$$x = \frac{13,2820 \times 10 \times 10}{225 \times 1000 \times 10} \times 100\% = 0,0617 \% \text{ b/v}$$

$$\text{C3} \quad x = \frac{0,731 - 0,0078}{0,0521} = 13,8768 \text{ ppm}$$

$$x = \frac{13,8768 \times 10 \times 10}{225 \times 1000 \times 10} \times 100\% = 0,0542 \% \text{ b/v}$$

$$\text{X1} \quad x = \frac{0,643 - 0,0078}{0,0521} = 12,1883 \text{ ppm}$$

$$x = \frac{12,1883 \text{ ppm} \times 10 \times 100 \text{ ml}}{225 \text{ ml} \times 1000 \times 10} \times 100\% = 0,0542 \% \text{ b/v}$$

X2       $x = \frac{0,530 - 0,0078}{0,0521} = 10,0200 \text{ ppm}$   
 $x = \frac{12,1883 \text{ ppm} \times 10 \times 10}{225 \text{ ml} \times 1000 \times 10} \times 100\% = 0,0445 \% \text{ b/v}$

X3       $x = \frac{0,501 - 0,0078}{0,0521} = 9,4635 \text{ ppm}$   
 $x = \frac{9,4635 \text{ ppm} \times 10 \times 10}{225 \text{ ml} \times 1000 \times 10} \times 100\% = 0,0421 \% \text{ b/v}$

Y1       $x = \frac{0,534 - 0,0078}{0,0521} = 10,0968 \text{ ppm}$   
 $x = \frac{10,0968 \text{ ppm} \times 10 \times 10}{225 \text{ ml} \times 1000 \times 10} \times 100\% = 0,0449 \% \text{ b/v}$

Y2       $x = \frac{0,536 - 0,0078}{0,0521} = 10,1351 \text{ ppm}$   
 $x = \frac{10,1351 \text{ ppm} \times 10 \times 10}{225 \text{ ml} \times 1000 \times 10} \times 100\% = 0,0450 \% \text{ b/v}$

Y3       $x = \frac{0,530 - 0,0078}{0,0521} = 10,0200 \text{ ppm}$   
 $x = \frac{12,1883 \text{ ppm} \times 10 \times 10}{225 \text{ ml} \times 1000 \times 10} \times 100\% = 0,0445 \% \text{ b/v}$

Z1       $x = \frac{0,527 - 0,0078}{0,0521} = 9,9624 \text{ ppm}$   
 $x = \frac{9,9624 \text{ ppm} \times 10 \times 10}{225 \text{ ml} \times 1000 \times 10} \times 100\% = 0,0443 \% \text{ b/v}$

Z2       $x = \frac{0,540 - 0,0078}{0,0521} = 11,6318 \text{ ppm}$

$$x = \frac{10,2119 \text{ ppm} \times 10 \times 10}{225 \text{ ml} \times 1000 \times 10} \times 100 \% = 0,0454 \% \text{ b/v}$$

Z3  $x = \frac{0,535 - 0,0078}{0,0521} = 10,1159 \text{ ppm}$

$$x = \frac{10,1159 \text{ ppm} \times 10 \times 10}{225 \text{ ml} \times 1000 \times 10} \times 100 \% = 0,0450 \% \text{ b/v}$$

Sampel	Replikasi	Kadar	Rata-rata	$ x - \bar{x} ^2$	SD
A	1	0,0517	0,0429	$7,6 \times 10^{-5}$	0,0276
	2	0,0386		$1,5 \times 10^{-3}$	
	3	0,0385		$1,5 \times 10^{-3}$	
B	1	0,0445	0,0430	$5,05 \times 10^{-7}$	0,0005
	2	0,0438		$3,0 \times 10^{-9}$	
	3	0,0432		$4,27 \times 10^{-7}$	
C	1	0,0590	0,0601	$2,34 \times 10^{-7}$	0,0010
	2	0,0617		$1,17 \times 10^{-6}$	
	3	0,0542		$2,4 \times 10^{-6}$	
X	1	0,0542	0,0469	$5,6 \times 10^{-5}$	0,0045
	2	0,0445		$5,7 \times 10^{-6}$	
	3	0,0421		$2,4 \times 10^{-5}$	
Y	1	0,0449	0,0448	$3,0 \times 10^{-9}$	0,0002
	2	0,0450		$5,2 \times 10^{-8}$	
	3	0,0445		$8,1 \times 10^{-8}$	
Z	1	0,0443	0,0449	$3,6 \times 10^{-7}$	0,0004
	2	0,0454		$2,6 \times 10^{-7}$	
	3	0,0450		$7,0 \times 10^{-9}$	

### Lampiran 8. Data dan Perhitungan Presisi

Sampel	Absorbansi	Sampel	Absorbansi
A	0,542	F	0,538
B	0,548	G	0,539
C	0,544	H	0,546
D	0,543	I	0,548
E	0,549	J	0,543

Larutan A $x = \frac{0,542 - 0,0078}{0,0521}$ $x = 10,2503 \text{ ppm}$	Larutan I $x = \frac{0,548 - 0,0078}{0,0521}$ $x = 10,3654 \text{ ppm}$
Larutan B $x = \frac{0,548 - 0,0078}{0,0521}$ $x = 10,3654 \text{ ppm}$	Larutan J $x = \frac{0,543 - 0,0078}{0,0521}$ $x = 10,2694 \text{ ppm}$
Larutan C $x = \frac{0,544 - 0,0078}{0,0521}$ $x = 10,2866 \text{ ppm}$	
Larutan D $x = \frac{0,543 - 0,0078}{0,0521}$ $x = 10,2694 \text{ ppm}$	
Larutan E $x = \frac{0,549 - 0,0078}{0,0521}$ $x = 10,3846 \text{ ppm}$	
Larutan F $x = \frac{0,538 - 0,0078}{0,0521}$ $x = 10,1735 \text{ ppm}$	
Larutan G $x = \frac{0,539 - 0,0078}{0,0521}$ $x = 10,1927 \text{ ppm}$	
Larutan H $x = \frac{0,546 - 0,0078}{0,0521}$ $x = 10,3270 \text{ ppm}$	

Lampiran 9. Data dan Perhitungan Akurasi

Sampel	Absorbansi
80 a	0,439
80 b	0,432
80 c	0,43
100 a	0,549
100 b	0,550

$$\text{Larutan 80a } x = \frac{0,439 - 0,0078}{0,0521}$$

$$x = 8,2739 \text{ ppm}$$

$$\text{Larutan 80b } x = \frac{0,432 - 0,0078}{0,0521}$$

$$x = 8,1396 \text{ ppm}$$

$$\text{Larutan 80c } x = \frac{0,430 - 0,0078}{0,0521}$$

$$x = 8,1012 \text{ ppm}$$

$$\text{Larutan 100a } x = \frac{0,549 - 0,0078}{0,0521}$$

$$x = 10,3846 \text{ ppm}$$

$$\text{Larutan 100b } x = \frac{0,550 - 0,0078}{0,0521}$$

100 c	0,541
120 a	0,645
120 b	0,653
120c	0,651

$$x = 10,4038 \text{ ppm}$$

$$\text{Larutan 100c } x = \frac{0,541 - 0,0078}{0,0521}$$

$$x = 12,2311 \text{ ppm}$$

$$\text{Larutan 120a } x = \frac{0,645 - 0,0078}{0,0521}$$

$$x = 12,2267 \text{ ppm}$$

$$\text{Larutan 120b } x = \frac{0,653 - 0,0078}{0,0521}$$

$$x = 10,3802 \text{ ppm}$$

$$\text{Larutan 120a } x = \frac{0,651 - 0,0078}{0,0521}$$

#### Perhitungan Recovery

$$80a = \frac{8,2739}{8} \times 100 \% \\ = 103,42 \%$$

$$80b = \frac{8,1396}{8} \times 100 \% \\ = 101,74 \%$$

$$80c = \frac{8,1012}{8} \times 100 \% \\ = 101,26 \%$$

$$100a = \frac{10,3846}{10} \times 100 \%$$

$$= 103,85 \%$$

$$100b = \frac{10,4038}{10} \times 100 \%$$

$$= 104,04 \%$$

$$100c = \frac{10,2311}{10} \times 100 \%$$

$$= 102,31 \%$$

120a	$= \frac{12,2267}{12} \times 100\%$	$= 103,17\%$
	$= 101,89\%$	
120b	$= \frac{12,3802}{12} \times 100\%$	$= 102,85\%$
		120c
		$= \frac{12,3418}{12} \times 100\%$

Lampiran 10. Perhitungan LOD dan LOQ

$$\text{LOD} = \frac{3 \times 0,005618}{0,0521}$$

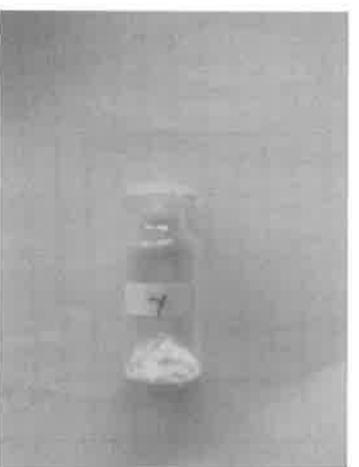
$$= 0,32351 \text{ ppm}$$

$$\text{LOD} = \frac{10 \times 0,005618}{0,0521}$$

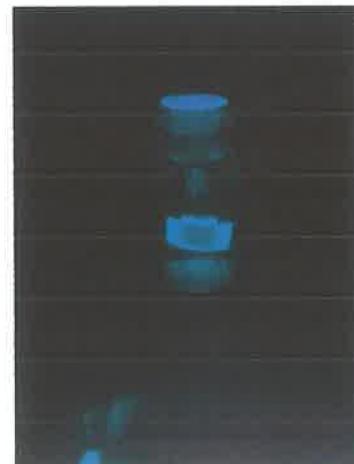
$$= 1,0748 \text{ ppm}$$

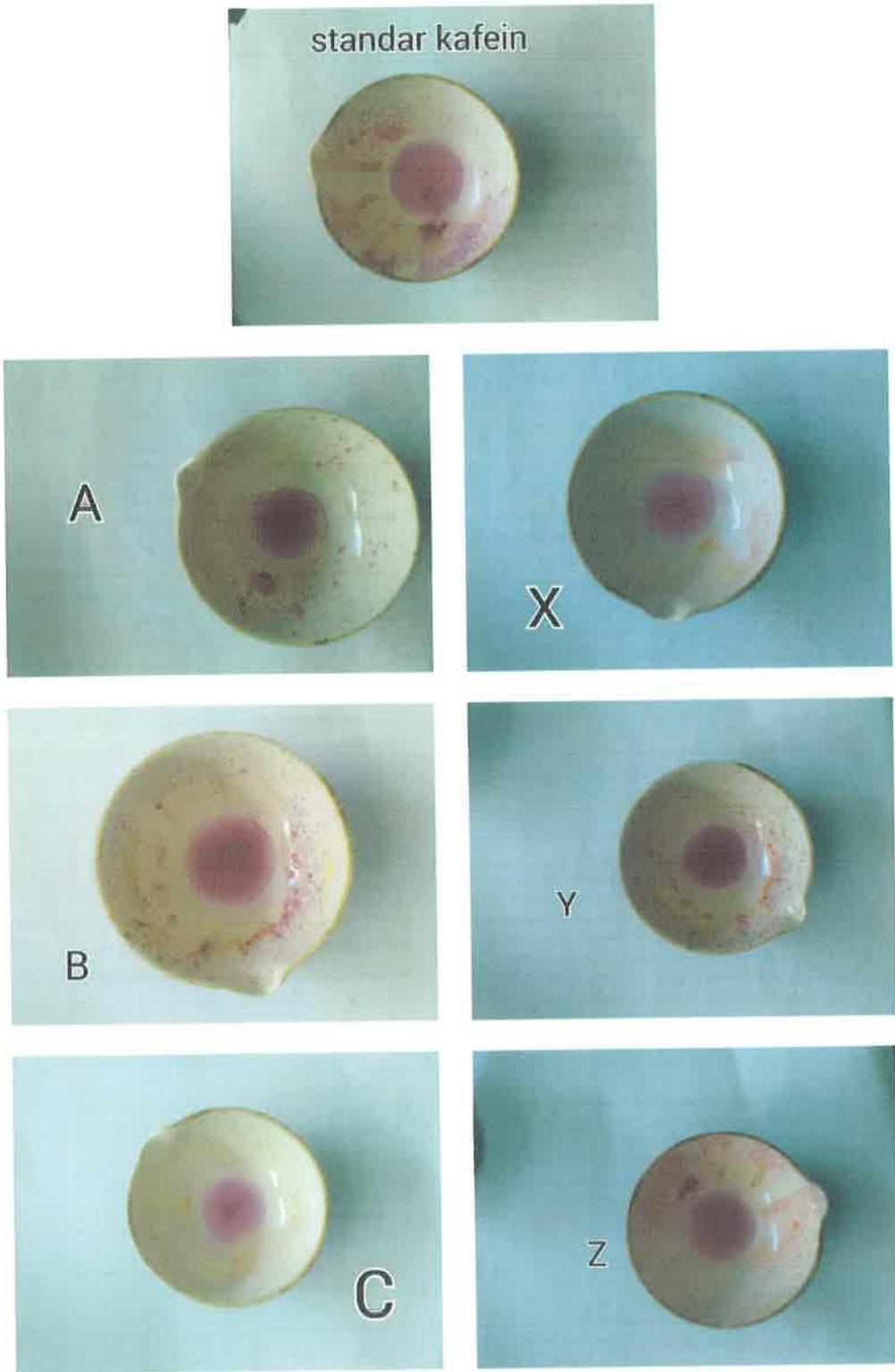
Lampiran 11. Gambar Sampel



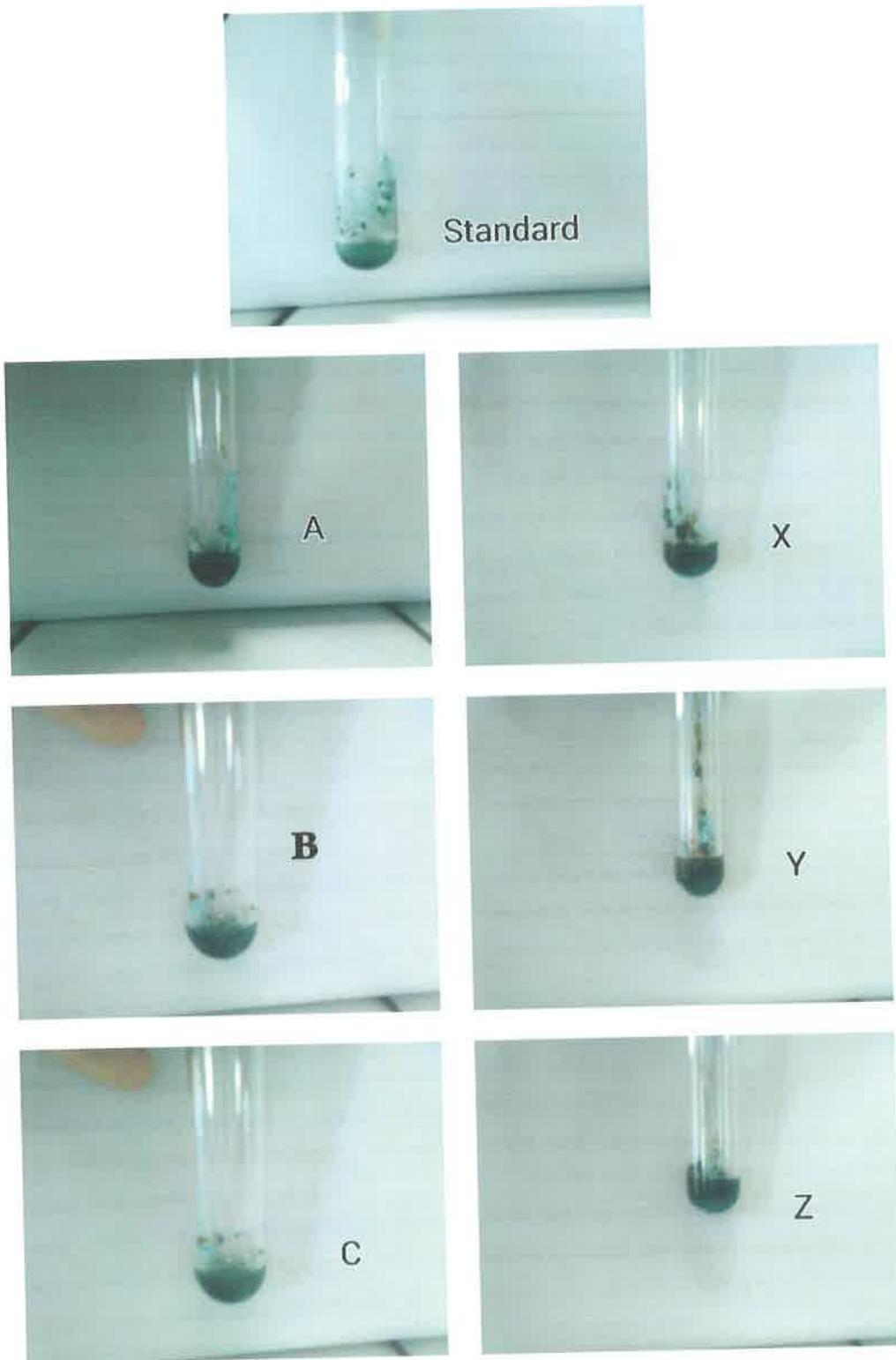
**Lampiran 12. Rendemen Hasil Ekstraksi**

Lampiran 13. Hasil Uji Fluorosensi



**Lampiran 14. Hasil Uji Murexid**

Lampiran 15. Hasil Uji Parry



Lampiran 16. Spektrofotometer Uv-Visible Shimadzu UV 1800

