

**ANALISIS KADAR KAFEIN DAN ASAM KLOOROGENAT KOPI  
WONOSALAM JOMBANG MENGGUNAKAN METODE  
SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
I'IN ATIQOTUL MIR'AH  
NIM. 18630055**



**PROGRAM STUDI KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2022**

**ANALISIS KADAR KAFEIN DAN ASAM KLOGENAT KOPI  
WONOSALAM JOMBANG MENGGUNAKAN METODE  
SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
I'IN ATIQOTUL MIR'AH  
NIM. 18630055**

**Diajukan Kepada:  
Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang  
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2022**

**ANALISIS KADAR KAFEIN DAN ASAM KLOROGENAT KOPI  
WONOSALAM JOMBANG MENGGUNAKAN METODE  
SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
PIN ATIQOTUL MIR'AH  
NIM. 18630055**

**Telah diperiksa dan Disetujui untuk Diuji  
Tanggal: 30 November 2022**

**Pembimbing I**



**Armeida D R Madjid, M.Si  
NIP. 19890527 201903 2 016**

**Pembimbing II**



**Ahmad Hanapi, M.Sc  
NIDT. 19851225 20160801 1 069**

**Mengetahui,  
Ketua Program Studi**



**Rachmawati Ningsih, M.Si  
NIP. 19810811 200801 2 010**

**ANALISIS KADAR KAFEIN DAN ASAM KLOOROGENAT KOPI  
WONOSALAM JOMBANG MENGGUNAKAN METODE  
SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**P'IN ATIQOTUL MIR'AH**  
NIM. 18630055

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi  
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan  
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)  
Tanggal: 30 November 2022**

**Penguji Utama : Diana Candra Dewi, M.Si**  
NIP. 19770720 200312 2 001

**Ketua Penguji : Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc**  
NIDT. 19900906 20180201 2 239

**Sekretaris Penguji : Armeida D R Madjid, M.Si**  
NIP. 19890527 201903 2 016

**Anggota Penguji : Ahmad Hanapi, M.Sc**  
NIDT. 19851225 20160801 1 069

(.....  
(.....  
(.....  
(.....)

**Mengetahui,  
Ketua Program Studi**

  
**Rachmayati Pangsih, M.Si**  
NIP. 19810811 200801 2 010

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : I'in Atiqotul Mir'ah  
NIM : 18630055  
Jurusan : Kimia  
Fakultas : Sains dan Teknologi  
Judul Penelitian : Analisis Kadar Kafein dan Asam Klorogenat Kopi  
Wonosalam Jombang Menggunakan Metode  
Spektrofotometri UV-Vis

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa hasil penelitian saya ini tidak terdapat unsur-unsur penjiplakan karya penelitian atau karya ilmiah yang pernah dilakukan atau dibuat oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan tugas akhir/skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia untuk mempertanggung jawabkan serta diproses sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 30 November 2022  
Yang Membuat Pernyataan,



I'in Atiqotul Mir'ah  
NIM. 18630055

## **HALAMAN PERSEMBAHAN**

Alhamdulillahirobbil'aalamin

Segala puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nyakepada penulis. Sholawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW beserta keluarga dan para sahabat.

Karya ilmiah ini, penulis persembahkan untuk orang – orang tersayang yaitu Ayah Muhib, M.Pd.I dan Ibu Sumiharsih, ke-3 kakak penulis, Bapak dan Ibu Dosen, serta teman-teman penulis. Penulis juga ingin mengucapkan terima kasih kepada diri sendiri yang tetap berusaha semaksimal mungkin untuk menyelesaikan penulisan naskah ini. Terakhir, penulis juga ingin mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu penulis selama berlangsungnya penelitian dan penyusunan naskah ini, khususnya kepada teman seperbimbingan Fitri Yulifah dan Nur Rofiatul Majidah serta Febi Andriani yang selalu menemani dan membantu selama penulis melakukan penelitian.

Terima kasih atas semua dukungan, nasihat, motivasi, perhatian, bantuan, dan do'a yang telah diberikan kepada penulis selama ini sehingga penulis dapat menyelesaikan studi ini dengan baik. Semoga Allah SWT membalas atas kebaikan semua pihak dengan balasan yang sebaik-baiknya

*Aamin Yaa Robbal'Aalamin*

## **MOTTO**

“Kesulitan yang teratasi adalah hal yang menyenangkan untuk diceritakan”

## KATA PENGANTAR

Puji syukur bagi Allah Swt. yang telah memberikan kenikmatan yang melimpah sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Analisis Kadar Kafein dan Asam Klorogenat Kopi Wonosalam Jombang Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis”** dengan semaksimal mungkin, meskipun masih jauh dari kata sempurna.

Penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah terlibat dalam terselesaikannya proposal penelitian ini. Khususnya kepada:

1. Prof. Dr. M. Zainuddin, M.A selaku rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si selaku Ketua Program Studi Kimia.
3. Ibu Armeida D R Madjid, M.Si selaku dosen pembimbing I dan Bapak Ahmad Hanapi, M.Sc sebagai dosen pembimbing II yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing dan mengarahkan penulis dalam terselesaikannya skripsi ini.
4. Ibu Diana Candra Dewi, M.Si dan Ibu Lulu'atul Hamidatul Ulya, M.Si selaku Dosen Penguji I dan II yang telah memberikan kritik dan saran dalam proses penulisan naskah skripsi ini.
5. Seluruh Dosen Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan ilmu, pengalaman, serta wawasan lainnya sebagai panutan penulis.
6. Kedua orang tua yang telah memberikan dukungan moral dan material.
7. Teman-teman angkatan Kimia 2018, khususnya sahabat terdekat saya Febi Andriani, Fitri Yulifah, Nur Rofiatul Majidah, Ulvi Dwi Pertiwi serta teman-teman lab. analitik.

Semoga semua bantuan dari Bapak/Ibu Dosen serta pihak lain kepada penulis dalam menyelesaikan naskah ini dibalas oleh Allah Swt. Penulis menyadari bahwa penyusunan naskah skripsi ini masih belum sempurna dan terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis memohon maaf sebesar-besarnya dan penulis akan menerima dengan senang hati atas segala saran dan kritik yang membangun. Semoga naskah skripsi ini dapat memberikan sedikit wawasan baru dan bermanfaat bagi para pembaca dan bagi penulis sendiri.

Malang, 30 November 2022

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN .....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>	<b>v</b>
<b>MOTTO .....</b>	<b>vi</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR PERSAMAAN.....</b>	<b>xiv</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>xv</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>xvi</b>
<b>نبذة مختصرة .....</b>	<b>xvii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan Penelitian .....	6
1.4 Batasan Masalah .....	6
1.5 Manfaat Penelitian .....	6
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>7</b>
2.1 Berbagai Jenis Kopi di Wonosalam Jombang .....	7
2.1.1 Arabika ( <i>Coffea arabica</i> ) .....	9
2.1.2 Robusta ( <i>Coffea canephora</i> ) .....	9
2.1.3 Excelsa ( <i>Coffea Liberica var. dewevrei</i> ) .....	11
2.2 Senyawa Aktif Dalam Kopi: Kafein & Asam Klorogenat .....	11
2.3 Pemisahan Senyawa Kafein Menggunakan KLT .....	14
2.4 Analisis Kadar Kafein & Asam Klorogenat Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis .....	15
<b>BAB III METODOLOGI .....</b>	<b>17</b>
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	17
3.2 Alat dan Bahan .....	17
3.2.1 Alat.....	17
3.2.2 Bahan .....	17
3.3 Rancangan Penelitian.....	17
3.4 Tahapan Kerja.....	19
3.5 Pelaksanaan Penelitian.....	19

3.5.1 Preparasi Sampel Bubuk Kopi .....	19
3.5.2 Ekstraksi Cair-cair .....	20
3.5.3 Pemisahan Senyawa Kafein Menggunakan KLT .....	20
3.5.4 Analisis Kadar Kafein dan Asam Klorogenat.....	20
3.5.4.1 Analisis Kadar KLT .....	20
3.5.4.1.1 Pembuatan Larutan Baku Kafein.....	20
3.5.4.1.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	21
3.5.4.1.3 Pembuatan Kurva Standar .....	21
3.5.4.1.4 Penentuan Kadar Kafein.....	21
3.5.4.2 Analisis Kadar Asam Klorogenat.....	21
3.5.4.2.1 Pembuatan Larutan Baku Asam Klorogenat .....	21
3.5.4.2.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	22
3.5.4.2.3 Pembuatan Kurva Standar .....	22
3.5.4.2.4 Penentuan Kadar Asam Klorogenat .....	22
3.5.5 Analisis Data .....	22
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>24</b>
4.1 Persiapan Sampel.....	24
4.2 Analisis Kadar Asam Klorogenat dalam Sampel Kopi Wonosalam	27
4.3 Analisis Kadar Kafein dalam Sampel Kopi Wonosalam.....	32
4.4 Hikmah Penelitian .....	40
<b>BAB V PENUTUP .....</b>	<b>43</b>
5.1 Kesimpulan .....	43
5.2 Saran .....	43
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>44</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>51</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Kopi arabika .....	9
Gambar 2.2 Kopi robusta .....	10
Gambar 2.3 Kopi excelsa .....	11
Gambar 2.4 Struktur kafein.....	12
Gambar 2.5 Struktur asam klorogenat .....	13
Gambar 4.1 Gugus hidroksi asam klorogenat .....	26
Gambar 4.2 Hasil ekstraksi kopi .....	26
Gambar 4.3 Gugus kromofor asam klorogenat .....	27
Gambar 4.4 Panjang gelombang maksimum asam klorogenat .....	27
Gambar 4.5 Serapan asam klorogenat fasa air sampel kopi .....	28
Gambar 4.6 Kurva standar asam klorogenat .....	29
Gambar 4.7 Hasil KLT sampel kopi .....	33
Gambar 4.8 Serapan kafein dalam fasa organik .....	34
Gambar 4.9 Serapan kafein hasil KLT .....	34
Gambar 4.10 Gugus kromofor kafein .....	35
Gambar 4.11 Panjang gelombang maksimum kafein .....	36
Gambar 4.12 Kurva standar kafein .....	37

## DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Kadar asam klorogenat sampel kopi wonosalam.....	18
Tabel 3.2 Kadar kafein sampel kopi wonosalam .....	19
Tabel 4.1 Senyawa pada fasa air .....	28
Tabel 4.2 Kadar asam klorogenat.....	30
Tabel 4.3 Senyawa pada fasa organik .....	35
Tabel 4.4 Kadar kafein .....	37

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Diagram alir.....	52
Lampiran 2 Perhitungan.....	55
Lampiran 3 Data analisis.....	70
Lampiran 4 Dokumentasi penelitian.....	76

## DAFTAR PERSAMAAN

Persamaan 3.1 Massa senyawa UV-Vis .....	23
Persamaan 3.2 Massa pada fasa organik .....	23
Persamaan 3.3 Massa hasil KLT .....	23
Persamaan 3.4 Kadar kafein.....	23
Persamaan 3.5 Kadar asam klorogenat .....	23
Persamaan 4.1 Reaksi $\text{CaCO}_3$ .....	24
Persamaan 4.2 Reaksi $\text{Ca(OH)}_2$ .....	25
Persamaan 4.3 Reaksi kafein dengan $\text{Ca(OH)}_2$ .....	25

## ABSTRAK

Mir'ah, I'in Atiqotul. 2022. **Analisis Kadar Kafein dan Asam Klorogenat Kopi Wonosalam Jombang Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis**. Skripsi, Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Armeida D R Madjid, M.Si; Pembimbing II: Ahmad Hanapi, M.Sc.

---

Kata Kunci: Wonosalam, Kopi, Kafein, Asam Klorogenat, Ekstraksi cair-cair, Spektrofotometer UV-Vis

Terdapat tiga jenis kopi yang ditanam di Wonosalam Jombang, yaitu Robusta, Arabika dan Excelsa. Kadar kafein dan asam klorogenat pada kopi dipengaruhi oleh jenis kopi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan kadar kafein dan asam klorogenat dari jenis kopi yang ada di Wonosalam Jombang menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis. Tahapan yang dilakukan meliputi preparasi sampel, ekstraksi cair-cair dengan pelarut kloroform dan penambahan  $\text{CaCO}_3$ . Hasil dari ekstraksi berupa fasa organik dan fasa air. Fasa organik diambil untuk pemisahan senyawa kafein dan fasa air untuk analisis asam klorogenat. Untuk menentukan kadar kafein dan asam klorogenat dilakukan pengukuran dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.

Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan kadar kafein dan asam klorogenat yang signifikan antara variasi ketiga jenis kopi, hasil uji BNT membuktikan adanya pengaruh nyata antara variasi ketiga jenis kopi terhadap kadar kafein dan asam klorogenat. Kadar kafein tertinggi dihasilkan pada jenis kopi Robusta dengan rata-rata 3,89 %; Arabika 2,24 % dan Excelsa 1,33 %. Kadar asam klorogenat tertinggi dihasilkan pada jenis kopi Arabika dengan rata-rata 6,83 %; Excelsa 4,81 % dan Robusta 4,07 %.

## ABSTRACT

Mir'ah, I'in Atiqotul. 2022. **Analysis of Caffeine and Chlorogenic Acid Content in Wonosalam Jombang Coffee Using UV-Vis Spectrophotometry Method.** The Thesis, Chemistry Study Program, Faculty of Science and Technology, State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Armeida D R Madjid, M.Si; Supervisor II: Ahmad Hanapi, M.Sc.

---

Keywords: Wonosalam, Coffee, Caffeine, Chlorogenic Acid, Liquid-liquid extraction, UV-Vis Spectrophotometer

There are three types of coffee grown in Wonosalam, Jombang, namely Robusta, Arabica and Excelsa. The levels of caffeine and chlorogenic acid in coffee are affected by the type of coffee. The purpose of this study was to determine the differences in the levels of caffeine and chlorogenic acid from coffee types in Wonosalam, Jombang using the UV-Vis Spectrophotometry method. The steps taken included sample preparation, liquid-liquid extraction with chloroform and the addition of CaCO<sub>3</sub>. The results of the extraction are in the form of an organic phase and an aqueous phase. The organic phase was taken for the separation of caffeine compounds and the water phase for chlorogenic acid analysis. To determine the levels of caffeine and chlorogenic acid, measurements were made using a UV-Vis spectrophotometer.

The results showed that there were significant differences in the levels of caffeine and chlorogenic acid between the variations of the three types of coffee, the BNT test results proved that there was a significant effect between the variations of the three types of coffee on the levels of caffeine and chlorogenic acid. The highest caffeine content is produced in Robusta coffee with an average of 3.89%; Arabica 2.24% and Excelsa 1.33%. The highest levels of chlorogenic acid were produced in Arabica coffee with an average of 6.83%; Excelsa 4.81% and Robusta 4.07%.

## نبذة مختصرة

المرأة ، اي عين عتقة. ٢٠٢٢. تحليل محتوى الكافيين وحمض الكلوروجينيك في قهوة ونوسالام جومبانغ باستخدام طريقة قياس الطيف الضوئي بالأشعة المرئية وفوق البنفسجية. الأطروحة ، برنامج دراسة الكيمياء ، كلية العلوم والتكنولوجيا ، جامعة الدولة الإسلامية مولانا مالك إبراهيم مالانج. المشرف الأول: ارميدا دوى ريزاواتى مجيد ، م. المشرف الثاني: احمد حنفى ، ماجستير.

---

الكلمات الرئيسية: ونوسالام ، قهوة ، كافيين ، حمض الكلوروجينيك ، استخلاص سائل سائل ، مقياس الطيف الضوئي للأشعة المرئية وفوق البنفسجية

هناك ثلاثة أنواع من القهوة المزروعة في ونوسالام وجومبانغ ، وهي روبوستا وأرابيكا وإكسيلسا. تتأثر مستويات الكافيين وحمض الكلوروجينيك في القهوة بنوع القهوة. كان الغرض من هذه الدراسة هو تحديد الفروق في مستويات الكافيين وحمض الكلوروجينيك من أنواع القهوة في ونوسالام ، جومبانغ باستخدام طريقة قياس الطيف الضوئي بالأشعة المرئية وفوق البنفسجية. تضمنت الخطوات تحضير العينة ، واستخراج السائل بمذيب الكلوروفورم والإضافة. من كربونات الكالسيوم ٣. تكون نتائج الاستخراج في شكل مرحلة عضوية ومرحلة مائية. تم أخذ المرحلة العضوية لاحقاً في TLC كتحليل الكافيين وتم أخذ المرحلة المائية لتحليل حمض الكلوروجينيك. تم البحث عن امتصاص هاتين المرحتين باستخدام مقياس الطيف الضوئي بالأشعة المرئية وفوق البنفسجية لتحديد مستويات الكافيين وحمض الكلوروجينيك.

أظهرت النتائج أن هناك فرقا معنوياً بين اختلاف أنواع القهوة الثلاثة على مستويات الكافيين وحمض الكلوروجينيك. أثبتت نتائج اختبار BNT وجود تأثير معنوي بين الاختلافات في أنواع القهوة الثلاثة على مستويات الكافيين وحمض الكلوروجينيك. يتم إنتاج أعلى محتوى من الكافيين في قهوة روبوستا بمتوسط ٣,٨٩٪. أرابيكا ٢,٢٤٪ وإكسيلسا ١,٣٣٪. تم إنتاج أعلى مستويات حمض الكلوروجينيك في قهوة أرابيكا بمتوسط ٦,٨٩٪. إكسيلسا ٤,٨١٪ وروبوستا ٤,٠٧٪.

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Wonosalam merupakan salah satu kecamatan di Kabupaten Jombang yang termasuk penghasil kopi terbesar di Provinsi Jawa Timur (Triwasono, 2018). Total luas area panen kopi Wonosalam pada tahun 2018 mencapai 751 Ha dengan total produksi 583 ton (BPS Kab. Jombang). Pada tahun 2021, 30 Ha total luas perkebunan kopi di Wonosalam dapat menghasilkan sampai 703 ton biji kopi (Nasikhudin, 2021). Kecamatan Wonosalam terletak di kaki dan lereng gunung Anjasmoro dengan ketinggian rata-rata 100 – 1000 mdpl (BPS Kab. Jombang). Hal ini menyebabkan tanaman kopi mudah tumbuh subur. Perkebunan kopi di Wonosalam sudah ada sejak tahun 1800-an, tetapi baru dikenal secara luas oleh masyarakat sejak tahun 2010. Terdapat tiga jenis kopi yang dibudidayakan di Wonosalam yaitu robusta, arabika dan excelsa (Junaedi, 2021).

Kopi mengandung dua senyawa yang sangat berpengaruh pada cita rasa dan kualitasnya, yaitu kafein dan asam klorogenat (Navvara et al., 2017). Kadar kafein dan asam klorogenat pada kopi berbeda tergantung jenis dan letak geografisnya (Mangiwa S, 2015). Biji kopi yang berkualitas unggul memiliki kadar kafein yang tidak terlalu tinggi dan derajat asam yang tidak terlalu rendah (Heckman et al., 2010). Golongan asam pada kopi akan mempengaruhi kualitas serta citarasa dan aroma biji kopi (Yusianto, 2014). Meskipun disebut sebagai asam, asam klorogenat dalam biji kopi mentah tidak berperan pada pembentukan rasa asam, tetapi setelah biji kopi melalui proses penyangraian, sekitar 70% asam klorogenat akan terurai

membentuk senyawa asam alifatik sederhana sehingga memberikan rasa asam pada kopi (Taqwa et al., 2021). Penelitian yang dilakukan oleh Fathy, M pada tahun 2020 untuk mengetahui kadar kafein dan asam klorogenat pada biji kopi, menunjukkan hasil bahwa kadar kafein pada biji kopi mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya suhu dan waktu sangrai, sedangkan kadar asam klorogenat mengalami penurunan seiring dengan bertambahnya suhu dan waktu sangrai (Fathy et al, 2020). Semakin gelap warna biji kopi sangrai maka kadar asam klorogenat akan semakin berkurang (Belay, 2009). Kadar asam klorogenat menunjukkan tingkat keasaman dari biji kopi yang dipengaruhi oleh kematangan, pengolahan pasca panen dan proses sangrai (Cheng et al., 2016). Asam klorogenat bermanfaat sebagai antioksidan, antivirus, hepatoprotektif dan juga membantu dalam proses antispasmodic (Farah & Carmen, 2006). Sedangkan kafein berperan sebagai stimulant sistem saraf pusat yang menyebabkan peningkatan aktivitas saraf (Chalmers, 2016). Kafein dapat meningkatkan konsentrasi dan kewaspadaan (Lorist & Tops, 2003 ; Heckman et al., 2010), menghilangkan rasa kantuk (Cysneiros et al., 2007 ; Heckman et al., 2010) dan meningkatkan mood (Alamri et al., 2022).

Mengonsumsi kopi dengan kadar kafein yang tinggi dan derajat asam yang rendah bisa menyebabkan gangguan pada pencernaan terutama pada sekresi dan asam lambung (Rubach et al., 2008). Selain bersifat adiktif, mengonsumsi kafein secara berlebih memiliki dampak negatif seperti gangguan saraf dan peredaran darah (Wikoff et al., 2017). Kemampuan tiap individu untuk menoleransi kadar kafein dan asam klorogenat dalam tubuh berbeda-beda. Badan Standarisasi Nasional (BSN) telah menetapkan standar untuk kadar kafein dalam kopi. Kadar

kafein dalam bubuk kopi diatur dalam SNI 01-3542-2004 yaitu 0,9 – 2% untuk persyaratan mutu I dan 0,45 – 2% untuk persyaratan mutu II (SNI, 2004). Sesuai dengan firman Allah mengenai larangan mengonsumsi segala sesuatu secara berlebihan, dalam Al-Qur'an surat Al-A'raf ayat 31 :

يٰۤاٰدَمُ خُذُوْا زِيْنَتَكُمْ عِنْدَ كُلِّ مَسْجِدٍ وَكُلُوْا وَشَرِبُوْا وَّلَا تُسْرِفُوْا ۗ اِنَّهٗ لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِيْنَ

*Artinya ; "Hai anak Adam, pakailah pakaianmu yang indah di setiap (memasuki) masjid, makan dan minumlah, dan janganlah berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang berlebih-lebihan."*

Berdasarkan tafsir As-Sa'di oleh Syaikh Abdurrahman bin Nashir as-Sa'di pada kalimat “makan dan minumlah dan janganlah berlebih-lebihan” bisa dengan melampaui batas kemewahan dalam makan dan minum, dan bisa pula dengan melampaui batas yang halal kepada yang haram “sesungguhnya Allah tidak menyukai orang yang berlebihan” karena dapat membahayakan tubuh dan kehidupan manusia sehingga Allah melarang berlebihan dalam mengonsumsi makanan dan minuman (As-Sa'di, 2016). Seperti halnya dalam mengonsumsi kopi yang mengandung kafein dan asam klorogenat jika berlebihan dapat menyebabkan intoksikasi kafein yang membahayakan tubuh (Sadock., et al, 2017).

Penentuan kadar kafein dan asam klorogenat pada kopi dapat dilakukan menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis (Alamri et al., 2022). Spektrofotometer UV-Vis merupakan salah satu metode instrumen yang digunakan sebagai analisis kimia untuk mengetahui senyawa berdasarkan absorbansi foton (Irawan, 2019). Spektrum kafein dan asam klorogenat pada kopi berada pada daerah panjang gelombang 200 – 500 nm sehingga kedua senyawa tersebut perlu dipisahkan terlebih dahulu agar tidak terjadi tumpang tindih (Belay et al., 2009).

Untuk memisahkan kafein dan asam klorogenat dilakukan metode ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut kloroform (Elfariyanti et al., 2020).. Dengan menggunakan ekstraksi cair-cair dapat diperoleh kafein dan asam klorogenat secara bersamaan, kafein terikat pada fasa organik (kloroform) dan asam klorogenat berada pada fasa air atau sisa residu dari hasil ekstraksi (Belay et al., 2009). Kloroform dipilih sebagai pelarut karena sifatnya yang dapat mengikat kafein dengan baik dengan konstanta dielektrik 4,1 serta mudah dipisahkan dan harganya yang relatif terjangkau (J. Ney et al., 2021). Pemisahan senyawa kafein dilakukan menggunakan KLT dengan membandingkan nilai  $R_f$  standar dan nilai  $R_f$  sampel maka akan didapatkan senyawa kafein (Palacios et al., 2017). Penentuan kadar kafein menggunakan ekstraksi cair-cair pelarut kloroform dengan metode spektrofotometri UV-Vis telah dilakukan oleh Aryanu pada tahun 2016 menghasilkan rata-rata kadar kafein sebesar 1,6% dalam 1 gram bubuk kopi. Pada penelitian lain, penentuan kadar asam klorogenat menggunakan ekstraksi cair-cair dengan metode spektrofotometri UV-Vis juga telah dilakukan oleh Abebe Belay pada tahun 2009 menghasilkan rata-rata kadar asam klorogenat  $6,19 \pm 0,23$  % (Belay, 2009).

Pada penelitian kali ini dilakukan analisis kadar kafein dan asam klorogenat biji kopi robusta, arabika dan excelsa yang berasal dari Wonosalam, Jombang. Penelitian ini perlu dilakukan karena belum ada data yang mendukung tentang kadar kafein dan asam klorogenat dari kopi Wonosalam yang memenuhi standar SNI yang mana kadar kafein dan asam klorogenat pada kopi tidak hanya dipengaruhi oleh jenis tetapi juga dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti daerah tempat tumbuh, kondisi tanah, iklim, perawatan, proses pasca panen, serta proses

preparasi. Penentuan kadar kafein dan asam klorogenat dilakukan dengan metode Spektrofotometri UV-Vis menggunakan ekstraksi cair-cair pelarut kloroform serta pemisahan senyawa kafein menggunakan KLT. Kafein akan terikat pada kloroform sedangkan asam klorogenat akan berada pada fasa air.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Rumusan masalah pada penelitian ini yaitu, berapa kadar kafein dan asam klorogenat dari tiga jenis kopi Wonosalam Jombang (Robusta, Arabika dan Excelsa) ?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar kafein dan asam klorogenat dari tiga jenis kopi Wonosalam Jombang (Robusta, Arabika dan Excelsa).

## **1.4 Batasan Penelitian**

Batasan masalah yang terdapat pada penelitian ini antara lain :

1. Sampel kopi yang digunakan berasal dari kebun kopi Wonosalam, Jombang
2. Sampel kopi yang digunakan merupakan jenis kopi Arabika, Robusta dan Excelsa
3. Sampel kopi yang digunakan berupa kopi bubuk yang telah melalui proses sangrai dan ayakan
4. Metode ekstraksi yang digunakan yaitu ekstraksi cair-cair dengan pelarut kloroform
5. Analisis kadar kafein menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis.

### **1.5 Manfaat Penelitian**

Manfaat dari penelitian ini adalah dapat memberikan informasi mengenai perbedaan kadar kafein dan asam klorogenat 3 jenis kopi (Arabika, Robusta dan Excelsa) Wonosalam serta membantu pihak perkebunan untuk memperoleh biji kopi dengan kadar kafein optimum dan kualitas yang unggul sesuai SNI 01-3542-2004, memberikan informasi kepada pembaca terutama pengonsumsi kopi mengenai kadar kafein dan asam klorogenat yang aman dikonsumsi oleh tubuh.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Berbagai Jenis Kopi di Wonosalam**

Kopi merupakan minuman yang tingkat konsumsinya terus meningkat di seluruh dunia (Jezka et al., 2015 ; M. Mehaya et al., 2020). Jenis kopi yang banyak dikenal yaitu kopi arabika, robusta, liberka dan excelsa (Loong Tak Lim et al., 2019). Secara umum tanaman kopi dapat tumbuh pada daerah tropis maupun subtropis terutama di daerah khatulistiwa (Patay et al., 2016) pada ketinggian 1000 – 2100 mdpl (Dewajanti, 2019). Tanaman kopi memiliki pohon tegak dan bercabang yang bisa tumbuh hingga 12 meter (Susandi, 2019). Meskipun bisa tumbuh hingga 12 meter, tanaman kopi yg dibudidayakan selalu dipangkas (*pruning*) secara teratur dan dijaga ketinggiannya hanya sekitar 2,5 meter tujuannya untuk meningkatkan produksi, kualitas buah, dan memudahkan panen. Jika pohon dibiarkan tinggi, nutrisi yang diserap akar akan lebih banyak diserap oleh batang. Akibatnya, ukuran buah dan biji kopinya menjadi lebih kecil sehingga kualitasnya kurang baik. Sebaliknya, jika dipangkas buahnya akan lebih banyak dan besar serta proses panennya mudah (Susandi, 2019). Tanaman kopi memiliki daun yang berbentuk agak bulat dengan ujung runcing, daun kopi tumbuh pada batang, cabang dan rantingnya begitu pula dengan bijinya yang tumbuh disetiap ranting dan bergerumbul (Najiyati 2004 ; Ega, Yunna & Ade , 2019). Buah kopi memiliki kulit yang seperti ceri, memiliki lapisan lender, lapisan perkamen, lapisan perak, dan bijinya berwarna hijau. Lapisan-lapisan pada buah kopi ini berfungsi untuk melindungi biji kopi yang ada didalamnya (Mafaza , 2021).

Kingdom : Plantae  
Divisi : Tracheophyta  
Subdivisi : Spermatophyta  
Infradivisi : angiospermae  
Kelas : Magnoliopsida  
Ordo : Gentianales  
Famili : Rubiaceae  
Genus : Coffea

(Integrated Taxonomic Information System, 2011)

Komponen bioaktif yang terdapat pada biji kopi antara lain asam klorogenat, kafein, dan senyawa fenolik lain seperti asam caffeoylquinic, asam dicaffeoylquinic dan asam feruloylquinic (Fuller et al., 2017). Kandungan senyawa kimia pada kopi dipengaruhi oleh daerah asal tumbuh (Hasani, 2018), kondisi tanah (Susandi, 2019), iklim (Syakir, 2017) , jenis kopi (Mangiwa et al., 2015), pasca panen (Ega, Yunna & Ade, 2019), proses roasting (Alamri et al., 2022) , ukuran bubuk kopi (Fuller et al., 2017) dan juga proses penyeduhan (Sup Jeon et al., 2019). Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa mengonsumsi kopi dapat mengurangi bahaya kanker hati sebanyak 40% dibanding orang yang tidak mengonsumsi kopi (Bravi et al., 2013 ; Alamri et al., 2022). Proses *roasting* mempengaruhi aktivitas biologi dan komposisi kimia pada kopi dengan signifikan (Wang et al., 2011 ; Alamri et al., 2022). Jumlah kafein dan asam klorogenat yang dikonsumsi menjadi parameter penting untuk menentukan efek positif dan negatif yang ditimbulkan (Navvara et al., 2017).

### 2.1.2 Arabika (*Coffea Arabica*)

Jenis kopi arabika bisa tumbuh dengan baik pada ketinggian 700 – 1700 mdpl dengan suhu 16 -20°C (Anggara & Marini, 2011). Batang tanamannya kecil dan lebih kurus (lebih kecil) dibanding dengan batang tanaman kopi robusta. Tinggi tanaman bisa mencapai 10-12 meter. Ukuran daunnya juga lebih kecil dibanding dengan daun tanaman kopi robusta. Namun, warna daunnya lebih hijau. Susunan buahnya tidak teratur dan buah tidak masak secara bersamaan (ada buah yg masih hijau, kuning dan sudah merah / matang dalam satu tangkai yg sama). Kopi arabika cenderung berasa asam, memiliki banyak karakter aroma dan kaya akan rasa (Susandi, 2019). Kopi arabika memiliki kandungan kafein 0,8% - 1,4% (Loong Tak Lim et al., 2019). Biji kopi arabika dipetik merah namun pengolahan pasca panennya menggunakan proses kering, karena buahnya tidak matang serentak sehingga tetap bisa menghasilkan biji kopi siap olah (Susandi, 2019).



Gambar 2.1 Kopi arabika

### 2.1.2 Robusta (*Coffea canephora*)

Jenis kopi robusta bisa tumbuh dengan baik pada ketinggian 400 – 700 mdpl (Anggara & Martini, 2011) . Batangnya lebih besar dari kopi arabika dan bisa tumbuh hingga 10 – 12 meter. Memiliki ukuran daun yang lebih besar dari kopi arabika. Buah dari kopi robusta tersusun rapi dengan bentuk biji buah bulat, garis

tengah lurus dan cembung. Kopi robusta memiliki rasa yang cenderung pahit dan tidak memiliki banyak karakter rasa (Susandi, 2019). Kopi robusta memiliki kandungan kafein 1,7% - 4% (Loong Tak Lim et al., 2019). Pengolahan pasca panen kopi robusta bisa dilakukan dengan dua cara, yaitu pengolahan RWP (*Robusta Wet Process*) dan RDP (*Robusta Dry Process*). RWP merupakan proses pengolahan basah yang menggunakan air sebagai komponen utama dalam prosesnya. Pengolahan RWP meliputi proses pengupasan kulit buah dan pencucian menggunakan alat tertentu. Pengolahan RWP lebih cocok digunakan untuk biji kopi yang masak dari pohon karena kulitnya mudah terkelupas. Sedangkan RDP merupakan proses pengolahan kopi tanpa melalui pengelupasan kulit buah, langsung dikeringkan dibawah sinar matahari. Pengolahan ini sederhana namun membutuhkan waktu yang lama dan tempat yang luas. Pengolahan RDP lebih cocok digunakan untuk biji kopi yang masih berwarna hijau (Dinas Pertanian, 2019).



Gambar 2.2 Kopi robusta

### 2.1.3 Excelsa (*Coffea Liberica var. dewevrei*)

Jenis kopi excelsa bisa ditanam di dataran rendah dengan ketinggian kurang dari 700 mdpl (Setiyono, 2015), dapat ditanam di lahan gambut yg tidak dapat ditanamin oleh jenis kopi lain (Susandi, 2019). Idealnya kopi excelsa tumbuh baik di daerah yang beriklim tropis dengan curah hujan sedang, karena pada curah hujan yang tinggi akan lebih banyak tumbuh sebagai kayu dari pada buahnya. Kopi excelsa cenderung berbuah sepanjang tahun, sangat mudah untuk dibudidayakan dan relatif tahan terhadap hama penyakit. Ukuran bijinya lebih besar dari kopi arabika dan robusta. Karakter khas kopi excelsa adalah memiliki aroma dan cita rasa yg sangat kuat dan dominan pahit, kesat dan getir (Susandi, 2019). Biji kopi excelsa dipetik buah merah karena jenis ini bisa berbuah sepanjang tahun, sehingga untuk pengolahan pasca panen lebih cocok menggunakan proses basah (Ditjenbun, 2012).

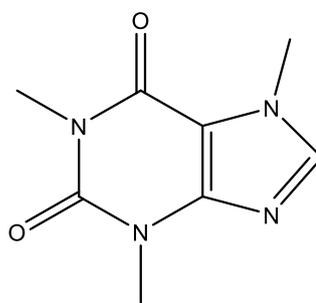


Gambar 2.3 Kopi excelsa

## 2.2 Senyawa Aktif dalam Kopi : Kafein & Asam Klorogenat

Kafein pertama kali ditemukan pada tahun 1827 pertama kali ditemukan pada teh kemudian dilakukan penelitian lebih lanjut dan diketahui bahwa kafein yang terkandung dalam kopi sama dengan kafein yang terkandung dalam the (Mohktar, 2000). Pada biji kopi adanya kafein berperan sebagai sumber aroma

dan cita rasa ( I Wayan, 2015). Kafein dengan nama lain 1,3,7-trimethylxanthine, memiliki rumus molekul  $C_8H_{10}N_4O_2$ , berbentuk serbuk putih yang tidak berbau, dengan berat molekul 194,19 g/mol, densitas  $1,23 \text{ g/cm}^3$ , kelarutan dalam air 2,2 mg/1ml ( $25^{\circ}\text{C}$ ) titik didih  $178^{\circ}\text{C}$  dan titik leleh  $235^{\circ}\text{C}$  (Sri Mulato, 2021). Secara kimia kafein adalah senyawa organik heterosiklik aromatik yang tersusun dari ikatan cincin pirimidina dan cincin imidazol. Memiliki atom karbon (C), Hidrogen (H). Nitrogen (N) dan oksigen (O) ( Sri Mulato, 2021).

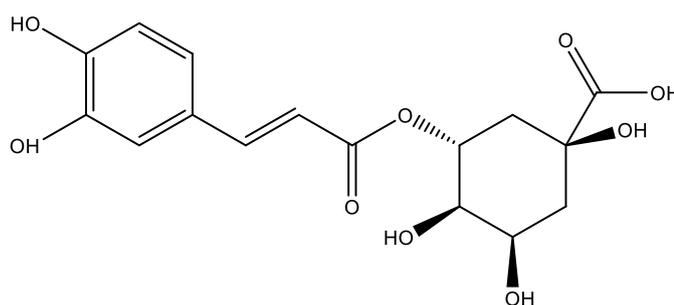


Gambar 2.4 Struktur Kafein

Kafein merupakan salah satu komponen bioaktif yang dapat merangsang sistem syaraf pusat dan memberikan efek positif memori jangka panjang (De Mejia & Ramirez-Mares, 2014 ; Ackalin & Nevin et al., 2021). Kafein juga memberikan efek pada tubuh setelah dikonsumsi seperti membantu tubuh tetap terjaga (Smit & Rogers, 2002 ; Hekcman et al, 2010) dan meningkatkan performa fisik pada olahraga (MC Lellan et al., 2016 ; Prasetyo, 2020). Penelitian lain menyebutkan bahwa kafein berperan dalam mengurangi faktor resiko diabetes mellitus tipe 2 dan obesitas (Hino et al, 2007 ; Hekcman et al, 2010) serta memperkuat sistem kekebalan tubuh (Capelletti et al., 2015 ; Ackalin dan Nevin et al., 2021). Konsumsi kafein dalam dosis tinggi dapat menimbulkan efek negatif, seperti kardiovaskular (Navvara et al., 2017), komplikasi kehamilan (Fredholm et al., 1999 ; Fernandi,

2019), intoksikasi kafein (Sadock et al., 2017 : Prasetio, 2020), gangguan kecemasan (Uddlallin et al., 2017 ; Prasetio, 2020) dan insomnia (Sadock et al., 2017 : Prasetio, 2020), selain itu kafein juga berpotensi menimbulkan ketergantungan atau ketagihan (Meredith et al., 2013 ; Prasetio 2020).

Asam klorogenat merupakan asam fenolik yang paling melimpah dalam biji kopi mentah (Dewajanti et al., 2019). Asam klorogenat berbentuk serbuk putih, memiliki rumus molekul  $C_{16}H_{18}O_9$  dengan berat molekul 354,31 g/mol, larut dalam air panas, etanol dan aseton, memiliki titik didih  $407,55^{\circ}C$  dan titik leleh  $210^{\circ}C$  (Pubchem). Kandungan utama dari asam klorogenat berupa asam 5-O-caffeoylquinic yang terdiri dari asam caffeic teresterifikasi asam quinic (Moon et al., 2009 : M. Mehaya et al., 2020). Biji kopi hijau mengandung sekitar 3% - 12% asam klorogenat (Loong Tak Lim et al., 2019). Kadar asam klorogenat sangat dipengaruhi oleh proses *roasting* (Fuller et al., 2017) karena peningkatan suhu *roasting* menyebabkan asam klorogenat terdegradasi (Blumberg et al., 2010 ; Fuller et al., 2017).



Gambar 2.5 Struktur asam klorogenat

Asam klorogenat memiliki aktivitas antioksidan, karena mengandung gugus hidroksil (polifenol) (Agudelo et al., 2016 ; Ackalin & Nevin et al., 2021). Efek farmakologi dari asam klorogenat salah satunya dapat menurunkan kadar asam urat

darah pada penderita hiperurisemia (Koto et al., 2014 ; Maria et al., 2019). Selain itu asam klorogenat memiliki efek positif pada sistem kekebalan tubuh, karena mampu melawan radikal bebas dan mencegah perluasan proses oksidatif (Castro et al., 2018 ; Ackalin & Nevin et al., 2021). Kadar asam klorogenat dalam secangkir kopi sekitar 70 – 350 mg tergantung pada waktu *roasting* dan jumlah kopi yang digunakan (Zuo et al., 2015 ; Awwad et al., 2021). Jenis kopi robusta memiliki kandungan asam klorogenat sekitar 6 – 11,5% , sedangkan kopi arabika mengandung kadar asam klorogenat sekitar 4 – 8% (Farah et al., 2006 ; Navvara et al., 2017). Namun, untuk jenis kopi excelsa belum diketahui dengan pasti rata-rata kandungan asam klorogenatnya.

### **2.3 Pemisahan Senyawa Kafein Menggunakan KLT**

Kromatografi merupakan proses pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan kepolarannya (Valianti, 2017). Eluen disebut sebagai fasa gerak sedangkan silica gel disebut fasa diam. Fasa gerak akan membawa zat terlarut melalui media (fasa diam) hingga terpisah dari senyawa lainnya (Gritter, dkk., 1991). Prinsip kerja metode KLT adalah “*like dissolve like*”, senyawa polar akan larut dalam pelarut polar dan sebaliknya, dengan adanya perbedaan sifat fisik dan kimia dari senyawa (Hensayana, 2006). Senyawa yang telah terpisah dapat diidentifikasi dengan cara membandingkan nilai  $R_f$  standar dengan nilai  $R_f$  sampel, nilai  $R_f$  dipengaruhi oleh struktur kimia dari senyawa yang sedang dipisahkan, sifat penyerap, jenis eluen dan jumlah cuplikan (Sastrohamidjojo, 1991). *Retardation factor* ( $R_f$ ) merupakan parameter karakteristik KLT yang merupakan perbandingan antara jarak tempuh senyawa dan jarak tempuh fasa gerak (Gandjar & Rohman, 2007). Pada proses KLTP perlu diketahui berapa volume sampel yang ditotolkan kemudian bercak

yang terbentuk dikerok untuk menentukan kadar dari senyawa target (Dewi, 2018). KLT sebagai metode pemisahan senyawa kafein telah dilakukan oleh Palacios C. et al, (2017) menghasilkan nilai  $R_f = 0,63 - 0,65$ .

## **2.4 Analisis Kafein & Asam Klorogenat Menggunakan Spektrofotometer**

### **UV-Vis**

Spektrofotometer UV-Vis merupakan instrumen yang digunakan untuk mengukur absorbansi dari suatu senyawa pada panjang gelombang tertentu (Irawan, 2019). Pengukuran spektrofotometer UV-Vis dilakukan pada rentang panjang gelombang 200-700 nm (Irawan, 2019). Metode spektrofotometri UV-Vis memiliki beberapa keuntungan yaitu sederhana, sensitivitas tinggi dan juga terjangkau (Navvara et al., 2017). Prinsip kerja dari spektrofotometer UV-Vis adalah interaksi antara radiasi UV-Vis terhadap molekul sehingga molekul tersebut mengalami transisi elektronik. Jika suatu molekul dikenai radiasi elektromagnetik maka sebagian dari radiasi akan diserap oleh molekul sesuai dengan strukturnya yang memiliki gugus kromofor (Mulja, 1990 ; Mukhriani, 2014). Untuk membantu proses analisis pada suatu sampel, perlu dilakukan proses ekstraksi terlebih dahulu (Belay et al., 2009).

Ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu campuran zat dengan cara melarutkan sampel dengan pelarut lain yang menghasilkan dua fasa, fasa rafinat dan fasa ekstrak (Patel et al, 2018). Ekstraksi cair-cair merupakan pemisahan suatu zat terlarut diantara dua fasa cair yang tidak saling bercampur (Soebagio, 2003 ; Handini et al., 2018). Hasil dari ekstraksi cair-cair akan diperoleh dua lapisan, yaitu fasa air dan fasa organik. Fasa air adalah larutan yang dapat larut dalam air,

sedangkan fasa organik adalah larutan yang tidak dapat larut dalam air dan mengandung ekstrak (Handini et al., 2018). Kelarutan didasarkan pada prinsip “like dissolve like”, dimana senyawa dengan sifat yang sama akan larut satu sama lain (Chalmers, 2016). Faktor yang mempengaruhi hasil ekstraksi cair-cair antara lain pengaruh pH, jenis pelarut, kelarutan analit, kecepatan pengadukan, lama pengadukan dan kestabilan analit (Flanagan et al., 2007 ; Ida Bagus et al., 2015). Namun hal paling penting adalah pada pemilihan pelarut, pelarut yang baik adalah pelarut yang memiliki selektivitas tinggi, mudah dipisahkan dari senyawa, tidak bereaksi dengan senyawa yang akan dipisahkan (Patel et al., 2018) murah, tidak beracun dan tidak mudah terbakar (Treybal et al., 1987 ; Patel et al., 2018). Beberapa contoh pelarut organik yang biasa digunakan pada ekstraksi cair-cair antara lain, diklorometan, dietil eter, heksana, petroleum eter dan kloroform ( Patel et al., 2018). Metode Spektrofotometri UV-Vis dengan bantuan ekstraksi cair-cair telah dilakukan pada penelitian Alamri et al., 2022 pada penelitian ini diperoleh kadar kafein pada sampel *light coffee* =  $1,13 \pm 0,02^a$ , *medium coffee* =  $1,17 \pm 0,07^a$ , dan *dark coffee* =  $1,08 \pm 0,06^a$  (Alamri et al., 2022).

## **BAB III**

### **METODOLOGI**

#### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian dilaksanakan pada bulan 19 Juli 2022 – 26 September 2022 yang dilakukan di Laboratorium Analitik Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

#### **3.2 Alat dan Bahan**

##### **3.2.1 Alat**

Adapun alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah 100 ml *beaker glass*, *magnetic stirrer*, penangas air, neraca analitik, pipet volume 25 ml, mikro pipet 1000 – 5000  $\mu$ l & 5 – 50  $\mu$ l, bola hisap, corong gelas, corong pisah 250 ml, kertas saring whatman, labu ukur 100 ml, 10 ml & 5 ml, spatula, gelas arloji, pipa kapiler, *chamber*, plat KLT GF<sub>245</sub>, lampu UV 254, seperangkat alat spektrofotometer UV-Vis.

##### **3.2.2 Bahan**

Adapun bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel kopi bubuk robusta, arabika, excelsa wonosalam, kloroform, CaCO<sub>3</sub>, etanol, standar kafein, standar asam klorogenat dan aquades.

#### **3.3 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksploratif laboratorik yang bertujuan untuk mengetahui perbedaan kadar kafein dan asam klorogenat kopi robusta,

arabika dan excelsa yang berasal dari Wonosalam Jombang. Sifat penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif yang menggunakan instrument spektrofotometer UV-Vis sebagai metode analisisnya. Proses penelitian diawali dengan preparasi sampel, dimana sampel bubuk kopi dilarutkan dalam akuades panas kemudian di aduk menggunakan magnetic stirrer dan disaring menggunakan kertas saring. Selanjutnya larutan kopi di ekstraksi dengan cara ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut kloroform serta ditambahkan  $\text{CaCO}_3$ . Kemudian diambil fasa organik dan fasa air. Fasa organik digunakan untuk menentukan kadar kafein, sedangkan fasa air digunakan untuk menentukan kadar asam klorogenat. Fasa organik (ekstrak kafein) diuji menggunakan KLT terlebih dahulu untuk pemisahan senyawa kafein, kemudian hasil KLT dikerok dan dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Data yang diperoleh kemudian dihitung rata-rata dan simpangan deviasinya, yang selanjutnya diolah menggunakan *oneway* ANOVA 1 faktor yaitu jenis kopi dengan variabel bebas berupa kadar kafein dan asam klorogenat. Jika hasilnya signifikan akan dilanjutkan uji lanjut BNT.

Tabel 3.1 Kadar Asam Klorogenat Sampel Kopi Wonosalam

No.	Sampel	Kadar CGA (mg/g)	Kadar CGA (%)	Rata-rata kadar CGA (mg/g) $\pm$ SD
1.	Robusta	_____	_____	_____
2.	Arabika	_____	_____	_____
3.	Excelsa	_____	_____	_____

### 3.2 Kadar Kafein Sampel Kopi Wonosalam

No.	Sampel	Kadar Kafein (mg/g)	Kadar Kafein (%)	Rata-rata kadar Kafein (mg/g) $\pm$ SD
1.	Robusta	_____	_____	
2.	Arabika	_____	_____	
3.	Excelsa	_____	_____	

### 3.4 Tahapan Kerja

1. Preparasi sampel bubuk kopi
2. Ekstraksi cair-cair
3. Pemisahan senyawa kafein menggunakan KLT
4. Analisis kadar kafein dan asam klorogenat
5. Analisis data

### 3.5 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.5.1 Preparasi Sampel Bubuk Kopi

Dilarutkan 5 g bubuk kopi dalam 100 ml akuades pada suhu 80-90°C. Di aduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 30 menit sambil dihangatkan pada penangas air. Kemudian dipisahkan ekstrak menggunakan kertas saring (Alamri et al., 2022).

### **3.5.2 Ekstraksi Cair-cair**

Larutan kopi dipindahkan ke dalam corong pisah kemudian ditambahkan 1 gram  $\text{CaCO}_3$  dan 25 ml kloroform. Larutan dikocok selama 10 menit sampai terbentuk 2 lapisan, kemudian diambil lapisan bawah (fasa organik). Lapisan yang tersisa (fasa air) di tambahkan 25 ml kloroform lagi kemudian dikocok, dilakukan sebanyak 4 kali. Fasa organik dan fasa air dikumpulkan untuk dianalisis kadar kafein dan asam klorogenat (Alamri et al., 2022).

### **3.5.3 Pemisahan Senyawa Kafein Menggunakan KLT (Palacios, C et al., 2017)**

Diambil sebanyak 5  $\mu\text{L}$  fasa organik dan standar kafein dalam pelarut kloroform, kemudian ditotolkan pada plat KLT GF<sub>254</sub>, diberi jarak 1 cm. dimasukkan ke dalam chamber yang telah dijenuhkan dengan kloroform : etanol (99 : 1), dilihat bercak dibawah lampu UV 254, kemudian dikerok spot yang terbentuk.

### **3.5.4 Analisis Kadar Kafein dan Asam Klorogenat**

#### **3.5.4.1 Analisis Kadar kafein (Elfariyanti et al., 2020)**

##### **3.5.4.1.1 Pembuatan larutan baku kafein 100 ppm**

Dilarutkan 0,1 gram kafein baku dengan 30 ml akuades panas dalam beaker glass. Kemudian larutan dimasukkan kedalam labu ukur 100 ml dan ditandabatkan sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Selanjutnya diambil 10 ml dari larutan 1000 ppm untuk diencerkan pada labu ukur 100 ml sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm.

#### **3.5.4.1.2 Penentuan panjang gelombang maksimum**

Diambil 10 ml larutan baku 100 ppm kedalam 100 ml labu ukur, lalu diencerkan dengan akuades hingga tandabatas, sehingga diperoleh larutan baku 10 ppm. Kemudian diukur absorbansi pada panjang gelombang 200-800 nm.

#### **3.5.4.1.3 Pembuatan kurva standar**

Diambil sebanyak 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1 dan 1,2 ml dari larutan baku standar kafein 100 ppm, lalu diencerkan menggunakan akuades pada 10 ml labu ukur, sehingga diperoleh konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10, dan 12 ppm. Selanjutnya larutan standar kafein diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum.

#### **3.5.4.1.4 Penentuan kadar kafein**

Dikerok noda pada plat KLT kemudian ditanda bataskan dalam labu ukur 5 ml, selanjutnya ditandabatkan lagi dalam labu ukur 10 ml. Diukur absorbansi pada panjang gelombang maksimum 273 nm menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.

### **3.5.4.2 Analisis Kadar Asam Klorogenat (Elfariyanti et al., 2020)**

#### **3.5.4.2.1 Pembuatan larutan baku asam klorogenat 100 ppm**

Dilarutkan 0,1 gram asam klorogenat baku dengan 30 ml akuades panas dalam beaker glass. Kemudian larutan dimasukkan kedalam labu ukur 100 ml dan ditandabatkan sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Selanjutnya diambil 10 ml dari larutan 1000 ppm untuk diencerkan pada labu ukur 100 ml sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm.

### 3.5.4.2.2 Penentuan panjang gelombang maksimum

Diambil 10 ml larutan baku 100 ppm kedalam 100 ml labu ukur, lalu diencerkan dengan akuades hingga tanda batas, sehingga diperoleh larutan baku 10 ppm. Kemudian diukur absorbansi pada panjang gelombang 200-800 nm.

### 3.5.4.2.3 Pembuatan kurva standar

Diambil sebanyak 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1 dan 1,2 ml dari larutan baku standar asam klorogenat 100 ppm, lalu diencerkan menggunakan akuades pada 10 ml labu ukur, sehingga diperoleh konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10, dan 12 ppm. Selanjutnya larutan standar asam klorogenat diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum.

### 3.5.4.2.4 Penentuan kadar asam klorogenat

Dipipet 0,4 ml fasa air kedalam labu ukur 100 ml dan ditandabatkan menggunakan akuades. Selanjutnya diukur absorbansi pada panjang gelombang maksimum menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.

### 3.5.5 Analisis Data

Data yang diperoleh berupa konsentrasi (ppm) kafein dan asam klorogenat dari tiga jenis sampel kopi. Penentuan kadar kafein dihitung menggunakan perhitungan massa sebagai berikut ;

- Massa senyawa UV-Vis =  $konsentrasi \left( \frac{mg}{l} \right) \times V \text{ terakhir } (L)$   
.....3.1
- Massa pada fasa organik =  $massa \text{ senyawa UV-Vis } (mg) \times Fp$  .....3.2

$$\text{➤ Massa hasil klt} = \frac{\text{massa pengeringan (g)}}{\text{massa KLT (g)}} \times \text{massa pada fasa organik (g)}$$

.....3.3

$$\text{➤ \% b/b} = \frac{\text{massa hasil KLT (g)}}{\text{massa sampel (g)}} \times 100\%$$

.....3.4

Penentuan kadar asam klorogenat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut ;

$$\%b/b = \frac{\text{konsentrasi (mg/l)} \times \text{volume (L)} \times \text{FP}}{\text{berat sampel (mg)}} \times 100\%$$

.....3.5

Selanjutnya data diolah menggunakan software SPSS untuk menghitung rata-rata, kemudian dilanjutkan uji standar deviasi. Data diolah menggunakan *oneway* ANOVA. Jika terdapat pengaruh nyata (nilai alpha < 0,05) pada perlakuan akan dilanjutkan dengan uji lanjut Beda Nyata Terkecil (BNT).

**BAB IV**  
**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**4.1 Persiapan Sampel**

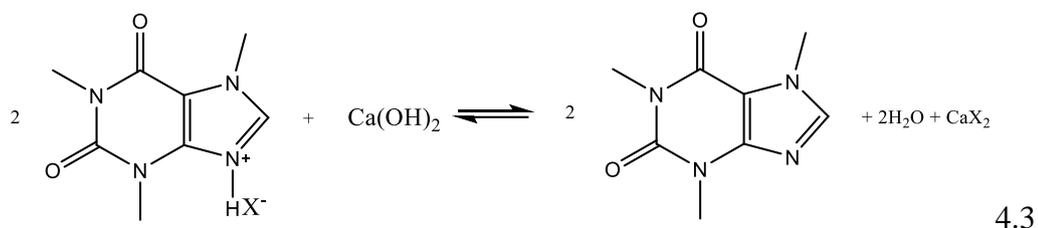
Sampel bubuk kopi yang diambil bersifat *representatif* (mewakili) populasi bahan yang akan dianalisis dan homogen. Penelitian ini menggunakan 3 jenis kopi dengan 3 merk yang berbeda, kemudian dikelompokkan tiap jenis dan dihomogenkan. Proses preparasi sampel dilakukan dengan menimbang sampel bubuk kopi sebanyak 5 gram. Kemudian dilarutkan dalam 100 mL akuades pada suhu 80-90°C sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer* pada penangas air selama 30 menit. Hasil penyeduhan kopi disaring menggunakan kertas saring Whattman.

Penentuan kadar kafein dan asam klorogenat dalam sampel kopi perlu dilakukan pemisahan dengan cara ekstraksi cair-cair. Hal ini disebabkan karena senyawa kafein dan asam klorogenat berada pada rentang panjang gelombang yang sama, sehingga jika tidak dipisahkan akan terjadi tumpang tindih antara kafein dan asam klorogenat (Belay, 2009). Filtrat kopi dalam keadaan hangat ditambahkan  $\text{CaCO}_3$ , yang berfungsi untuk memutus ikatan antara kafein dengan senyawa lain (Alamri et al., 2022). Filtrat kopi ditambahkan dalam keadaan hangat hal ini dikarenakan  $\text{CaCO}_3$  akan terdekomposisi menjadi  $\text{CaO}$ . Kemudian  $\text{CaO}$  bereaksi dengan air menghasilkan  $\text{Ca(OH)}_2$ . Reaksi yang terjadi ditampilkan pada persamaan 4.1 – 4.3.



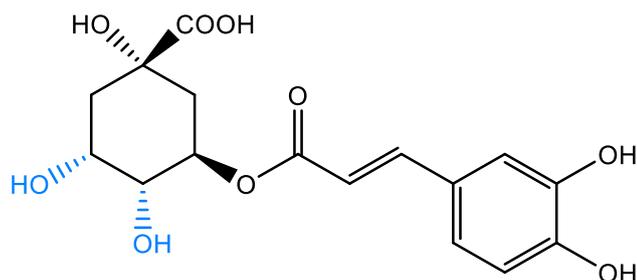


Ca(OH)<sub>2</sub> bersifat basa yang dapat membasakan kafein yang telah terpisah dari senyawa asam – asam organik. Kafein dalam keadaan basa bebas ini merupakan bentuk kafein yang paling tidak polar sehingga dapat larut dalam kloroform. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Maimuna (2020) bahwa kloroform mampu meningkatkan pembentukan interaksi ikatan non-kovalen seperti hidrogen antara kafein dengan kloroform. Adapun reaksi yang terjadi dapat dilihat pada persamaan 4.3.



Penambahan kloroform sebagai pelarut sebanyak 25mL dilakukan 4 kali agar proses pemisahan berlangsung sempurna. Pengocokan dilakukan selama 10 menit yang bertujuan untuk memaksimalkan kontak pelarut dengan sampel. Kemudian didiamkan hingga terbentuk 2 lapisan. Lapisan bawah disebut sebagai fasa organik, berwarna krem dengan tekstur kental yang merupakan hasil reaksi CaO dengan air (Ca(OH)<sub>2</sub>), pada fasa organik ini terdapat senyawa kafein yang terlarut dalam kloroform dan sudah terpisah dari asam-asam organik.

Asam klorogenat akan larut dalam air karena memiliki gugus hidroksil yang bersifat polar. Adapun struktur asam klorogenat dapat dilihat pada gambar 4.1:



Gambar 4.1 Gugus hidroksil asam klorogenat

Lapisan atas disebut sebagai fasa air yang berwarna coklat dengan tekstur seperti air, pada fasa air ini terdapat asam klorogenat yang telah terpisah dari senyawa kafein. Fasa air berada dilapisan atas karena air memiliki berat molekul (18,01528 g/mol) lebih rendah dari kloroform (119,38 g/mol) (Gambar 4.2).

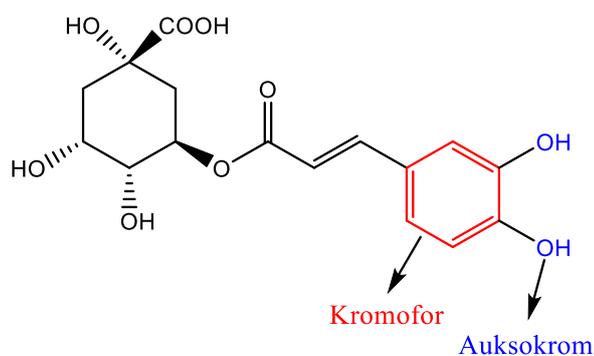


Gambar 4.2 Hasil ekstraksi kopi

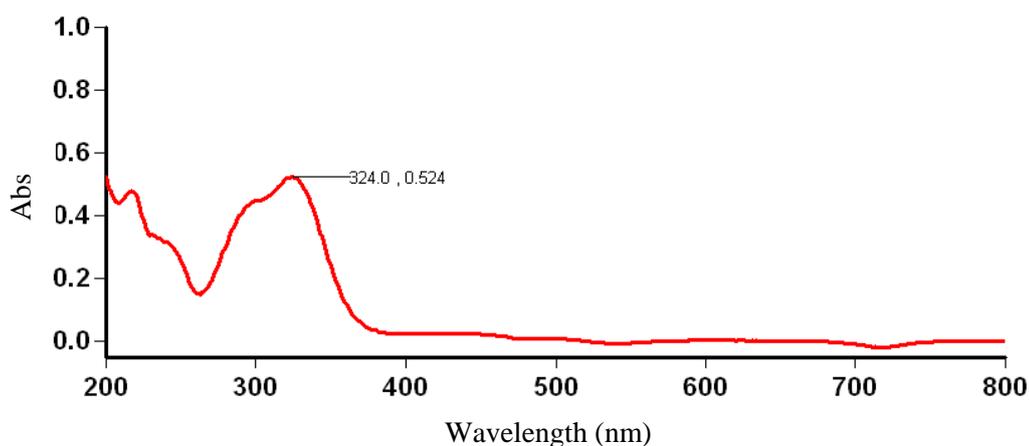
#### 4.2 Analisis Kadar Asam Klorogenat dalam Sampel Kopi Wonosalam

Proses analisis kadar asam klorogenat menggunakan spektrofotometri UV-Vis diawali dengan pengukuran panjang gelombang maksimum dari asam klorogenat pada rentang 200-500 nm untuk mengetahui panjang gelombang yang memberikan serapan terbesar. Dari hasil pengukuran asam klorogenat dicirikan oleh dua puncak pada panjang gelombang 324 nm dengan bahu 295 nm. Panjang

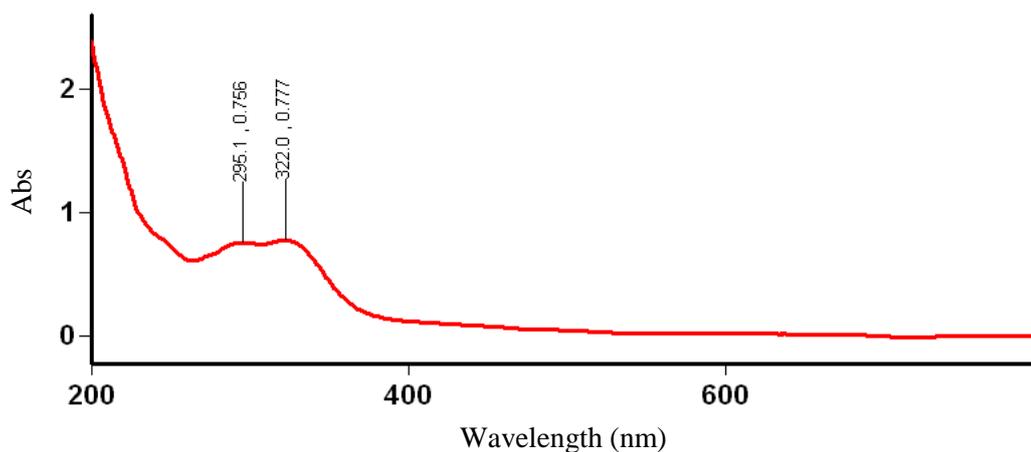
gelombang 324 nm merupakan puncak tertinggi dari serapan asam klorogenat dalam air. Pada panjang gelombang ini akan menyerap energi kemudian energi tersebut digunakan untuk berpindah dari  $\pi - \pi^*$ , elektron terlokalisasi pada cincin benzen dan rantai karbon. Gugus kromofor pada asam klorogenat berupa benzen menyerap radiasi pada daerah 324 nm. Karena adanya interaksi dipol-dipol antara pelarut dan asam klorogenat, interaksi pelarut zat terlarut dalam keadaan dasar lebih besar daripada keadaan tereksitasi sehingga mengarah ke pergeseran biru (*hipsocromic*) (Belay, 2009).



Gambar 4.3 Gugus kromofor asam klorogenat



Gambar 4.4 Panjang gelombang maksimum asam klorogenat



Gambar 4.5 Serapan asam klorogenat fasa air sampel kopi

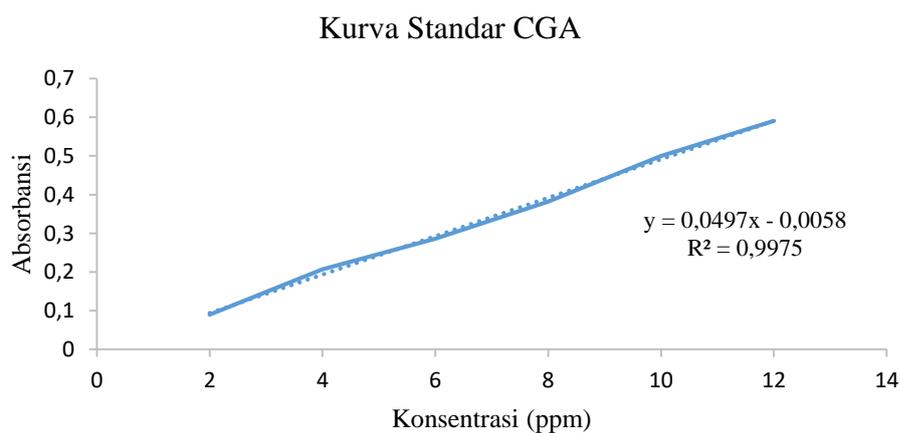
Hasil serapan asam klorogenat sampel kopi menunjukkan puncak yang identik dengan standar asam klorogenat. Terdapat puncak pada panjang gelombang 322 nm dengan bahu 295 nm. Senyawa-senyawa yang mungkin ada pada fasa air sampel kopi dapat dilihat pada tabel 4.1. Berdasarkan tabel tersebut kemungkinan adanya serapan senyawa lain sangatlah kecil karena memiliki rentang panjang gelombang yang cukup jauh dengan asam klorogenat. Kemungkinan adanya asam-asam organik lain yang belum terpisah dengan asam klorogenat bisa terjadi tetapi tidak terlihat pada serapan UV-Vis karena konsentrasinya yang sangat kecil.

Tabel 4.1 Senyawa Pada Fasa Air

No.	Senyawa	Panjang gelombang Maksimum	Referensi
1.	Asam klorogenat	324 nm	
2.	Asam laktat	340 nm	Jose, (2013)
3.	Asam oksalat	352 nm	Myo, (2018)
4.	Asam tartarat	510 nm	Asti, dkk (2013)
5.	Asam askorbat	265 nm	Yogesh, (2020)

6.	Melanoidin	410 nm	Azreen, (2016)
7.	Asam piruvat	340 nm	Jose, (2013)

Kurva standar menyatakan hubungan antara konsentrasi dan absorbansi, berdasarkan hukum Lambert-Beer absorbansi akan berbanding lurus dengan konsentrasi. Dari perhitungan regresi linier  $y=bx+a$ , maka akan diperoleh garis lurus. Uji linieritas suatu metode bertujuan untuk membuktikan adanya hubungan yang linier antara konsentrasi analit yang sebenarnya dengan respon alat. Hubungan linier antara x dan y dapat diketahui dari harga koefisien kolerasi (r). Nilai r mendekati satu menyatakan kurva linier (Gambar 4.5)



Gambar 4.6 Grafik kurva standar asam klorogenat

Pengukuran kadar asam klorogenat dilakukan dengan cara mengencerkan fasa air asam klorogenat dalam aquades.

Tabel 4.2 Kadar Asam Klorogenat

No.	Sampel	Kadar CGA (mg/g)	Kadar CGA (%)	Rata-rata kadar CGA (%) $\pm$ SD
1.	Robusta	40,19	4,01	4,07 $\pm$ 0,11 <sup>a</sup>
		42,15	4,21	
		40,09	4	
2.	Arabika	67,03	6,7	6,83 $\pm$ 0,12 <sup>b</sup>
		69,57	6,95	
		68,59	6,85	
3.	Excelsa	43,84	4,84	4,81 $\pm$ 0,14 <sup>c</sup>
		49,47	4,94	
		46,53	4,65	

Notasi yang berbeda (a,b, c) menunjukkan perlakuan beda nyata.

Hasil perhitungan diperoleh kadar asam klorogenat tertinggi pada jenis kopi Arabika dengan rata-rata 6,83 % sedangkan kadar asam klorogenat terendah dihasilkan pada jenis kopi Robusta dengan rata-rata 4,07 %. Dapat diketahui bahwa jenis kopi mempengaruhi kadar asam klorogenat. Jenis kopi dapat mempengaruhi kadar asam klorogenat karena pada tiap jenis kopi memiliki susunan karakteristik genotip yang berbeda, setidaknya 1 sifat yang membedakan antara jenis satu dengan yang lainnya. Hal ini berpengaruh pada karakteristik fisik dari tiap jenis biji kopi. Perbedaan karakteristik fisik tiap jenis kopi berpengaruh terhadap intensitas serangan hama. Biji kopi excelsa memiliki kulit buah yang lebih tebal sehingga lebih tahan terhadap serangan hama, sedangkan biji kopi arabika memiliki kulit buah yang lebih tipis sehingga rentan terhadap serangan hama. Jenis kopi arabika akan memproduksi lebih banyak senyawa asam klorogenat untuk melindungi diri dari serangan hama. Oleh karena itu jenis kopi arabika menghasilkan kadar asam klorogenat tertinggi.

Sifat fisiologis tanaman mempengaruhi serangga untuk menyerang tanaman. Sifat fisiologis yang paling berperan ialah kandungan senyawa kimia yang dihasilkan. Asam klorogenat yang terkandung dalam buah kopi dapat menarik hama *Hypothenemus hampei* Ferr. Semakin bertambah umur tanaman kopi, produksi buah juga semakin meningkat dan sumber nutrisi bagi *Hypothenemus hampei* Ferr. semakin tersedia. Hal ini mengakibatkan intensitas serangan hama naik secara signifikan (Girsang, 2020).

Berdasarkan perbedaan karakteristik fisik dari tiap jenis kopi, ketinggian tanah berpengaruh terhadap kadar asam klorogenat pada kopi, semakin tinggi maka semakin rendah suhu udara dan semakin tinggi curah hujan. Iklim akan mempengaruhi proses penguraian bahan organik dan komposisi kimia pada tanah yang berpengaruh pada pertumbuhan tanaman kopi (Somporn, et al., 2012). Jenis kopi Arabika tumbuh baik pada ketinggian 700-1700 mdpl, kopi Robusta tumbuh baik pada ketinggian 400-700 mdpl dan kopi Excelsa tumbuh baik pada ketinggian 0-700 mdpl. Berdasarkan *cctcid* (*Coffee and Cocoa Training Center*) kopi Robusta yang ditanam di dataran rendah dengan suhu lingkungan udara lebih panas, memiliki kadar asam klorogenat lebih tinggi dari kopi Arabika yang ditanam di dataran tinggi. Pada kebun kopi Wonosalam, jenis kopi Robusta ditanam di daerah dataran tinggi (>1000 mdpl), kemudian dibawahnya ditanam jenis kopi Arabika (>800 mdpl) dan di dataran rendah ditanam kopi Excelsa (>600 mdpl).

Hal ini membuktikan bahwa tiap jenis kopi dengan karakteristik genotip yang berbeda akan mempengaruhi tingkat ketahanannya terhadap serangan hama yang secara tidak langsung berkaitan juga dengan faktor lingkungan. Oleh karena

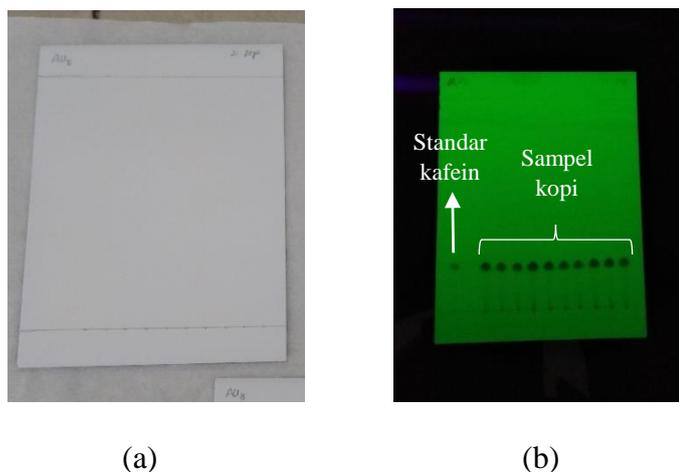
itu ketahanan terhadap serangan hama, iklim, intensitas cahaya, daerah tempat tumbuh akan mempengaruhi produksi senyawa asam klorogenat dalam tiap jenis biji kopi. Faktor – faktor ini menyebabkan kadar asam klorogenat dari 3 jenis kopi yang ditanam di Wonosalam berbeda. Meskipun jenis kopi Arabika tidak ditanam pada ketinggian yang sesuai, tetap menghasilkan kadar asam klorogenat tertinggi dibandingkan jenis kopi Excelsa dan Robusta. Sehingga faktor genetik lebih berpengaruh terhadap kadar asam klorogenat yang dihasilkan kopi dari pada faktor lingkungan.

Kadar asam klorogenat pada kopi tidak diatur dalam SNI namun, hasil yang diperoleh pada penelitian ini telah sesuai dengan literatur yaitu sekitar 4 – 6 % CGA pada biji kopi sangrai (Belay, 2009). Berdasarkan hasil analisis *oneway* ANOVA menunjukkan bahwa variasi jenis kopi memiliki pengaruh secara signifikan terhadap kadar asam klorogenat. Hal tersebut didukung dengan hasil uji BNT yang berbeda nyata.

#### **4.3 Analisis Kafein dalam Sampel Kopi Wonosalam**

Proses analisis kadar kafein diawali dengan pemisahan senyawa kafein dengan cara mengeringkan fasa organik hasil ekstraksi cair-cair sampai berat konstan kemudian dilarutkan dalam kloroform dan ditotolkan pada plat KLT<sub>GF254</sub>. Setelah proses elusidasi selesai, dilihat bercak pada lampu UV 254. Pemisahan senyawa kafein menggunakan KLT berdasarkan perbedaan kepolaran dari sampel dan pelarut. Fasa gerak yang digunakan berupa campuran kloroform : etanol dengan perbandingan (99:1) yang merupakan eluen terbaik berdasarkan penelitian Fatoni (2015). Fasa gerak dijenuhkan selama 1 jam untuk

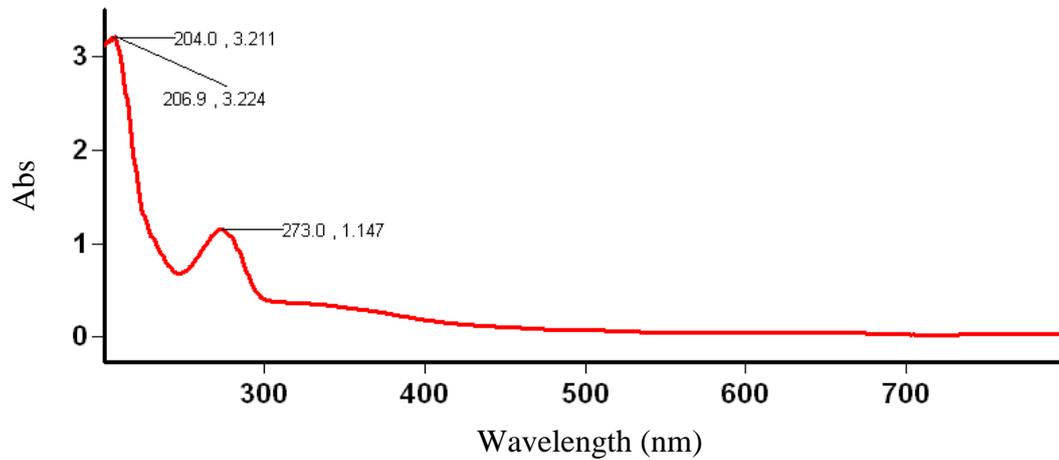
mendistribusikan tekanan uap sehingga dapat memisahkan senyawa kafein dengan baik. Berdasarkan kromatogram dihasilkan spot tunggal tiap totalan pada plat KLT yang menunjukkan bahwa senyawa kafein telah terpisah dengan baik sesuai dengan literatur (Palacios et al., 2017). Pada cahaya tampak bercak tidak terlihat karena berwarna putih sesuai dengan warna kafein murni, tetapi setelah diamati dibawah lampu UV 254 nm bercak dapat terlihat. Setelah diamati dibawah lampu UV 254, spot ditandai menggunakan pensil dan dihitung nilai Rfnya. Hasil yang diperoleh nilai Rf sampel sama dengan nilai Rf standar kafein sehingga dapat dipastikan senyawa tersebut benar-benar kafein. Pada gambar 4.7, 1 spot di sebelah kiri merupakan standar kafein dan 10 spot lainnya adalah spot yang dihasilkan dari fasa organik yang telah diuapkan pelarutnya.



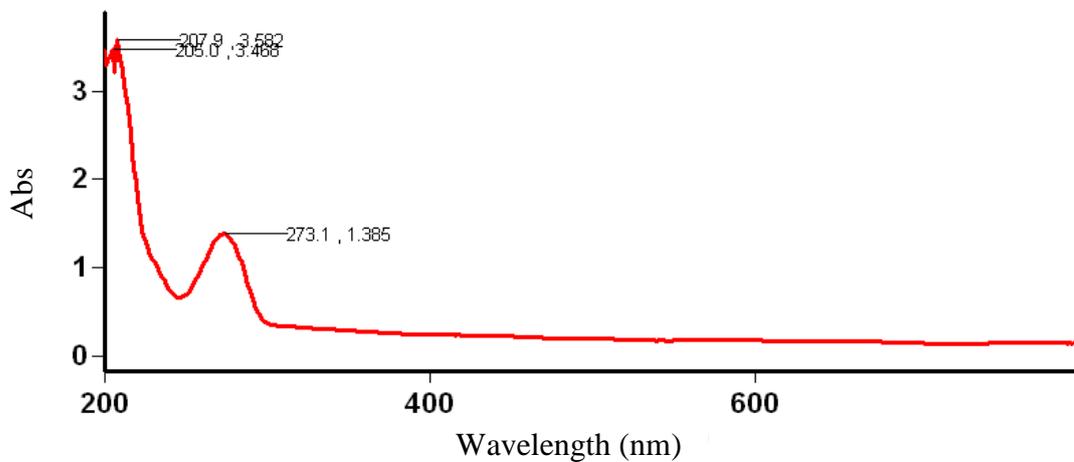
Gambar 4.7 Hasil KLT sampel kopi pada cahaya tampak (a), Hasil KLT sampel kopi pada UV 254 (b)

Pemisahan senyawa kafein menggunakan KLT perlu dilakukan untuk mendapatkan senyawa kafein yang bersih dari pengotor dan senyawa lain. Kromatogram KLT menghasilkan 1 spot sesuai dengan serapan dari fasa organik yang hanya memiliki 1 puncak utama. Kemungkinan adanya senyawa lain yang

terserap bisa terjadi tetapi tidak terlihat pada spot KLT dikarenakan konsentrasinya yang sangat rendah.



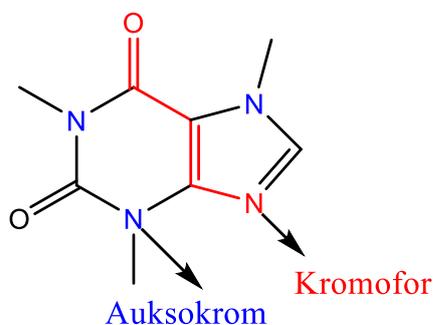
Gambar 4.8 Serapan kafein dalam fasa organik



Gambar 4.9 Serapan kafein hasil KLT

Setelah diperoleh senyawa kafein hasil pemisahan KLT, maka proses analisis dapat dilanjutkan dengan pengukuran panjang gelombang maksimum kafein pada rentang 200-500 nm untuk mengetahui panjang gelombang yang memberikan serapan terbesar. Panjang gelombang 273 nm merupakan puncak tertinggi dari serapan kafein dalam air. Gugus kromofor senyawa kafein menyerap

radiasi pada daerah 273 nm, hal ini disebabkan karena terjadi transisi elektron  $n-\pi^*$  dari kromofor C=O pada cincin benzen. Pada panjang gelombang ini menunjukkan rentang serapan golongan senyawa alkaloid purin yaitu 270-275 nm.



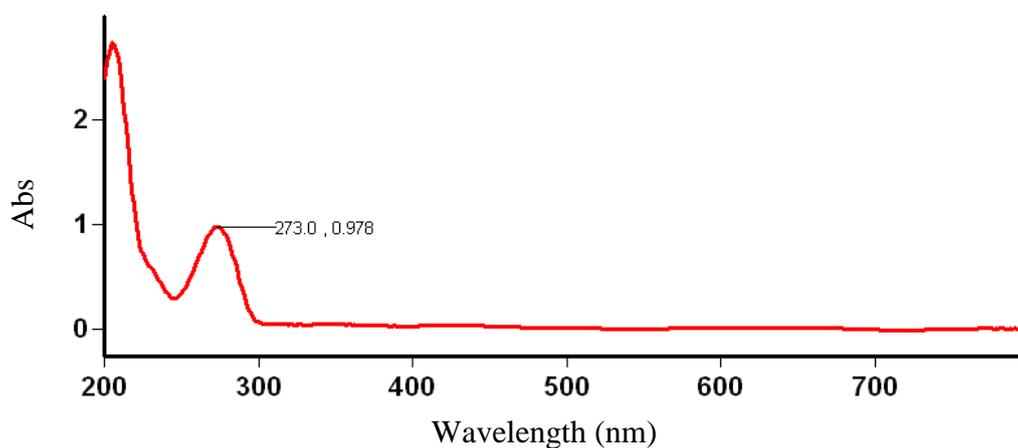
Gambar 4.10 Gugus kromofor kafein

Pada standar kafein terdapat 2 puncak yang terdeteksi sesuai dengan CAS. Puncak utamanya ada pada panjang gelombang 273 nm. Serapan hasil KLT menghasilkan puncak yang sama dengan standar kafein dan fasa organik, terdapat puncak 273 nm yang merupakan puncak dari senyawa kafein. Senyawa – senyawa yang mungkin ada pada fasa organik dapat dilihat pada tabel 4.3. Berdasarkan tabel tersebut kemungkinan adanya serapan senyawa lain sangatlah kecil karena memiliki rentang panjang gelombang yang cukup jauh dengan kafein. Kemungkinan adanya asam organik dari fasa air dan juga senyawa dari golongan alkaloid yang memiliki range panjang gelombang berdekatan dengan kafein dan belum terpisah dengan baik bisa terjadi namun tidak terlihat pada serapan UV-Vis karena konsentrasinya yang sangat kecil.

Tabel 4.3 Senyawa Pada Fasa Organik

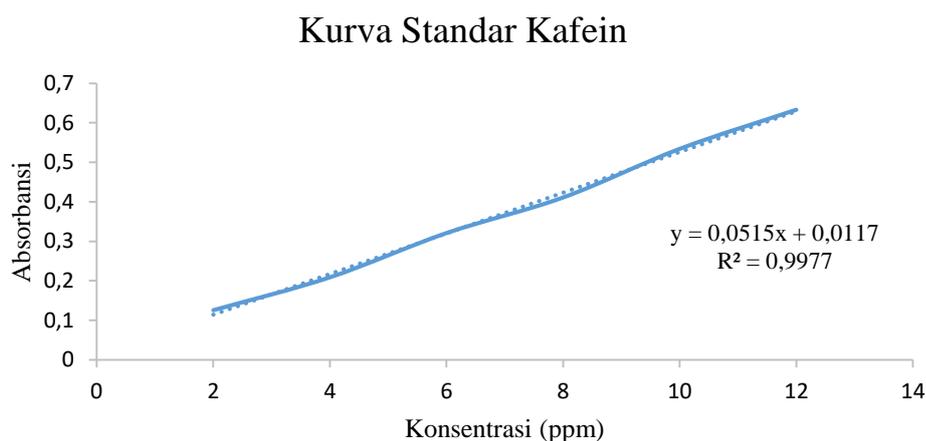
No.	Senyawa	Panjang gelombang maksimum	Referensi
1.	Kafein	273 nm	
2.	Trigonelin	266 nm	Mohamadi, (2020)

3.	Trigliserida	546 nm	Febta, (2021)
4.	Karbohidrat	470 nm	Manik, (2021)
5.	Pirazin	317 nm	Samir, (2018)



Gambar 4.11 Panjang gelombang maksimum kafein

Kurva standar menyatakan hubungan antara konsentrasi dan absorbansi, berdasarkan hukum Lambert-Beer absorbansi akan berbanding lurus dengan konsentrasi. Dari perhitungan regresi linier  $y=bx+a$ , maka akan diperoleh garis lurus. Uji linieritas suatu metode bertujuan untuk membuktikan adanya hubungan yang linier antara konsentrasi analit yang sebenarnya dengan respon alat. Hubungan linier antara x dan y dapat diketahui dari harga koefisien korelasi ( $r$ ). Nilai  $r$  mendekati satu menyatakan kurva linier (Gambar 4.10)



Gambar 4.12 Grafik kurva standar kafein

Penentuan kadar kafein menggunakan spektrofotometer UV-Vis dilakukan dengan mengerok spot yang terbentuk pada plat KLT. Spot dikerok kemudian dilarutkan dalam aquades sebanyak 5 mL dan diencerkan sebanyak 10 mL

Tabel 4.4 Kadar Kafein

No.	Sampel	Kadar Kafein (mg/g)	Kadar Kafein(%)	Rata-rata kadar kafein (%) $\pm$ SD
1.	Robusta	38,96	3,89	$3,89 \pm 0,13^a$
		40,24	4,02	
		37,64	3,76	
2.	Arabika	24,31	2,43	$2,24 \pm 0,46^b$
		17,16	1,71	
		25,72	2,57	
3.	Excelsa	9,56	0,95	$1,33 \pm 0,33^c$
		15,8	1,58	
		14,56	1,45	

Notasi yang beda (a,b,c) menunjukkan perlakuan beda nyata.

Hasil perhitungan diperoleh kadar kafein tertinggi pada jenis kopi Robusta dengan rata-rata 3,89 % sedangkan kadar kafein terendah dihasilkan jenis kopi Excelsa dengan rata-rata 1,32 %. Dapat diketahui bahwa jenis kopi

mempengaruhi kadar kafein yang terkandung. Meskipun pada kebun kopi Wonosalam jenis kopi Robusta ditanam pada ketinggian >1000 mdpl (tidak sesuai dengan tempat tumbuh idealnya 400-700 mdpl) tetapi tetap menghasilkan kadar kafein lebih tinggi dari jenis Arabika dan Excelsa.

Jenis kopi mempengaruhi kadar kafein karena perbedaan susunan molekuler genetika memiliki karakteristik genotipe atau kombinasi genotipe yang dapat membedakan dari jenis yang sama oleh setidaknya 1 sifat yang menentukan. Molekul DNA tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan karena berhubungan dengan kekerabatan dan perurutan silsilah dari generasi tanaman kopi. Tiap jenis kopi memiliki beberapa varietas hasil persilangan yang bertujuan untuk menghasilkan kopi dengan kadar kafein ideal serta tahan terhadap serangan hama.

Pengaruh serangan hama berhubungan dengan jenis dan varietas pada kopi telah dibuktikan pada penelitian yang dilakukan oleh Fuad (2014) bahwa salah satu dari 4 varietas kopi Arabika memiliki intensitas serangan hama yang rendah karena memiliki sifat pembungaan dan pemasakan buah yang serempak. Genotipe dengan pembungaan yang serempak bisa menekan siklus perkembangan dari hama penggerek buah kopi, selain itu varietas ini memiliki kulit tanduk yang keras dan tebal. Serangan hama kutu putih (*Ferrisia virgate*) banyak menyerang kopi Robusta pada musim hujan dikarenakan tingkat kelembaban tinggi. Kutu ini akan menyerap nutrisi pada tanaman kopi sehingga aliran nutrisi ke buah dan jaringan aktif lainnya berkurang. Selain itu kotoran kutu ini mengandung banyak sukrosa pada daun akan mengganggu proses fotosintesis dan menyebabkan munculnya penyakit baru yaitu embun jelaga dari fungi (*Meliola sp.*) yang menyerang pada

daun dengan menghalangi proses fotosintesis dan menghisap nutrisi daun sehingga menyebabkan keguguran daun sebelum waktunya.

Hal ini membuktikan bahwa tiap jenis kopi dengan karakteristik genotipe yang berbeda akan mempengaruhi tingkat ketahanannya terhadap serangan hama yang secara tidak langsung berkaitan juga dengan iklim. Oleh karena itu ketahanan terhadap serangan hama, iklim, intensitas cahaya, daerah tempat tumbuh akan mempengaruhi produksi senyawa kafein dalam tiap jenis biji kopi. Faktor – faktor ini menyebabkan kadar kafein dari 3 jenis kopi yang ditanam di Wonosalam berbeda. Meskipun jenis kopi Robusta tidak ditanam pada ketinggian yang sesuai, tetap menghasilkan kadar kafein tertinggi dibandingkan jenis kopi Arabika dan Excelsa. Sehingga faktor genetik lebih berpengaruh terhadap kadar kafein yang dihasilkan kopi dari pada faktor lingkungan.

Berdasarkan SNI 01-3542-2004 kadar kafein dalam bubuk kopi yang dapat diterima adalah 0,9 – 2% untuk persyaratan mutu I dan 0,45 – 2% untuk persyaratan mutu II. Perbedaan mutu persyaratan I dan II didasarkan pada metode analisisnya. Berdasarkan SNI 2004 metode analisis pada penelitian ini mengacu pada persyaratan mutu I. Kadar kafein kopi Wonosalam jenis Robusta dan Arabika melebihi batas maksimal yang telah ditentukan dalam SNI bubuk kopi persyaratan mutu 1 (0,9 – 2%), hal ini disebabkan karena kemungkinan adanya senyawa lain yang masih belum bisa terpisah dengan baik. Kemungkinan adanya asam-asam organik seperti asam askorbat yang memiliki serapan UV-Vis pada panjang gelombang 265 nm dan senyawa golongan alkaloid yaitu trigonelin yang memiliki serapan UV-Vis 266 nm berdekatan dengan panjang

gelombang kafein bisa terjadi meskipun tidak terdeteksi pada spot KLT dan serapan UV-Vis karena konsentrasinya yang sangat rendah. Kedua senyawa tersebut tidak tahan terhadap proses pemanasan sehingga sebagian besar akan terdekomposisi ketika proses sangrai. Meskipun begitu kemampuan menoleransi kafein dalam tubuh tiap individu berbeda-beda, jenis kopi arabika dan excelsa lebih disarankan bagi individu yang kemampuan menoleransi kafeinnya rendah. Berdasarkan hasil analisis *oneway* ANOVA menunjukkan bahwa variasi jenis kopi memiliki pengaruh secara signifikan terhadap kadar kafein. Hal tersebut didukung dengan hasil uji BNT yang berbeda nyata.

#### 4.4 Hikmah Penelitian

Allah SWT menciptakan segala sesuatu yang ada di bumi telah ditentukan ukurannya agar manusia dapat memanfaatkan dan mengambil hikmah dari alam, dalam al-Qur'an surah Ar-Ra'd ayat 4 ;

وَفِي الْأَرْضِ قِطْعٌ مُّتَجَاوِرَاتٌ وَجَنَّاتٌ مِنْ أَعْنَابٍ وَزَرْعٌ وَنَخِيلٌ صِنْوَانٌ وَعَيْرٌ صِنْوَانٍ يُسْقَى  
بِمَاءٍ وَاحِدٍ وَنُفِضِلُ بَعْضَهَا عَلَى بَعْضٍ فِي الْأَكْلِ ۚ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِقَوْمٍ يَعْقِلُونَ

*Artinya ; “Dan di bumi ini terdapat bagian-bagian yang berdampingan, dan kebun-kebun anggur, tanaman-tanaman dan pohon korma yang bercabang dan yang tidak bercabang, disirami dengan air yang sama. Kami melebihkan sebahagian tanaman-tanaman itu atas sebahagian yang lain tentang rasanya. Sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang berfikir.”*

Dalam tafsir Ath-Thabari dijelaskan makna *وَفِي الْأَرْضِ قِطْعٌ مُّتَجَاوِرَاتٌ* “*Dan di bumi ini terdapat bagian-bagian yang berdampingan*”, yakni tanah yang tidak bagus dan tanah yang bagus, keduanya saling berdekatan namun keduanya menumbuhkan makanan yang berbeda dalam rasa. *وَجَنَّاتٌ مِنْ أَعْنَابٍ وَزَرْعٌ وَنَخِيلٌ*

صِنُونٌ وَغَيْرُ صِنُونٍ “Dan kebun-kebun anggur, tanaman-tanaman dan pohon kurma yang bercabang dan yang tidak bercabang”, yakni pohon yang memiliki asal yang sama dan pohon yang saling terpisah. يُسْقَى بِمَاءٍ وَاحِدٍ “Disirami dengan air yang sama”, yakni air hujan, sebagai mana manusia ada yang baik ada yang jahat padahal bapak mereka satu. وَنُفَضِّلُ بَعْضَهَا عَلَى بَعْضٍ فِي الْأَكْلِ “Kami melebihkan sebagian tanam-tanaman itu atas sebagian yang lain tentang rasanya”, Allah membedakan rasa diantara semua jenis tanaman itu, melebihkan rasa sebagian buah atas sebagian lainnya, yang ini manis yang ini asam dan seterusnya. إِنَّ فِي ذَلِكَ لآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَعْقِلُونَ “Sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang berfikir”. Allah berfirman, “sesungguhnya pembedaan yang dilakukan Allah terhadap tanah-tanah yang berdampingan, dengan rasa buah-buahannya yang bermacam-macam, sebagaimana yang telah dijelaskan merupakan bukti yang jelas dan pelajaran bagi orang-orang yang mengerti perbedaan tersebut, bahwa Dzat yang membuat perbedaan tersebut telah membuat perbedaan – perbedaan di antara makhluk-makhluk-Nya. Diantara mereka ada yang beruntung mendapatkan petunjuk dan sebagian lain ada yang tersesat, sebagaimana Dia menghendaki maka akan disamakan semua rasa buah-buahan yang disirami dengan air yang sama namun memiliki rasa yang berbedabeda (Hidayat, 2009).

Pada penelitian ini digunakan 3 jenis kopi yang ditanam di Wonosalam Jombang yaitu Robusta, Arabika dan Excelsa. Masing-masing jenis kopi ini

memiliki tempat tumbuh dan iklim tersendiri sehingga ukuran kandungan senyawa yang dihasilkan tiap jenis kopi akan berbeda. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh bahwa jenis kopi mempengaruhi kadar kafein dan asam klorogenat yang terkandung, sehingga berpengaruh juga terhadap cita rasa dan aroma yang dihasilkan.

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **1.1 Kesimpulan**

Dari penelitian Analisis Kadar Kafein dan Asam Klorogenat Kopi Wonosalam Jombang Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis dapat diambil kesimpulan bahwa Kadar Kafein berdasarkan jenis kopi memiliki perbedaan yang signifikan. Hasil Uji BNT menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antara variasi ketiga jenis kopi terhadap kadar kafein dan asam klorogenat. Kadar kafein tertinggi dihasilkan pada jenis kopi Robusta dengan rata-rata  $3,89 \% \pm 0,13^a$ ; Arabika  $2,24 \% \pm 0,46^b$  dan Excelsa  $1,33 \% \pm 0,33^c$ . Kadar asam klorogenat tertinggi dihasilkan pada jenis kopi Arabika dengan rata-rata  $6,83 \% \pm 0,12^b$ , Excelsa  $4,81 \% \pm 0,14^c$  dan Robusta  $4,07 \% \pm 0,11^a$ .

#### **1.2 Saran**

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, penulis memberikan saran yang dapat digunakan sebagai acuan untuk penelitian lebih lanjut yaitu perlu dilakukan penentuan kadar kafein dan asam klorogenat berdasarkan pelarut yang digunakan serta metode analisis senyawa volatil penyusun flavour pada kopi untuk mendapatkan data kadar kafein dan asam klorogenat lebih valid menggunakan HPLC.

## DAFTAR PUSTAKA

- Açıklalın, B., Nevin, S. (2021). Coffee And its Effects on The Immune System. *Trends in Food Science & Technology*, 114, 625-632.
- Agustina, R., Diswandi, N., Windy, A., & Rika, S. (2019). Pengaruh Suhu Dan Lama Penyangraian Terhadap Sifat Fisik-Kimia Kopi Arabika Dan Kopi Robusta. *Prosding Seminar Nasional*,
- Alamri, E., Mahmoud, R., & Hala, B. (2022). A Study of Chemical Composition, Antioxidants, and Volatile Compounds in Roasted Arabic Coffee. *Saudi Journal of Biological Science*, 29, 3133-3139.
- Awwad, S., Reem, I., Lilian, A., Dima, A., & Idrees, A. (2021). Quantification of Caffeine and Chlorogenic Acid in Green and Roasted Coffee Samples Using HPLC-DAD and Evaluation of the Effect of Degree of Roasting on Their Levels. *Molecules*, 26, 7502.
- Agudelo, G., Isabel, C. P., Claudia, M. V., Mauricio, D., Mauricio, N., Monica, M. Q., Oscar, J. L., & Katalina, M. (2016). Coffee Consumption Increases the Antioxidant Capacity of Plasma and Has No Effect on the Lipid Profile or Vascular Function in Healthy Adults in a Randomized Controlled Trial. *The Journal Of Nutrition*, 146(3), 524-531.
- Alpdogan, G., Karbina, K., & Sungur, S. (2002). Derivative spectrophotometer determination of caffeine in some beverages. *Turkish Journal of Chemistry*, 26, 295–302.
- Anggara, A., & Marini, S. (2011). *Kopi Si Hitam Menguntungkan, Budidaya dan Pemasaran*. Yogyakarta: Cahaya Atma Pustaka.
- As-Sa'di, A. N., 2016. Tafsir As-Sa'di. Dilihat 11 Mei 2022 <https://katalogarpusdakabsemarang.perpusnas.go.id/detailopac?id=25678>
- Azreen, I., A Y Zahri., S H Choong & SW Ng. (2016). Estimation of Melanoidin Concentration in Palm Oil Mill Effluent Ponding System and its Treatment Usingcalcium Lactate. *IOP Conference Science*. 206.
- Babova, O., Occhipinti, A. & Maffei, M. E. (2016). Chemical Partitioning an Antioxidant Capacity of Green Coffee (*Coffea arabica* and *Coffea canephora*) of Different Geopraohical Origin. *Phytochemistry*. 123 : 33-39
- Bagus, Ida. G. A. R. E. P., Ni Putu, L. L., & I.N.K Widjaja. (2015). Optimasi Metode Ekstraksi Cair-Cair Senyawa-Senyawa Pada Tablet Ekstasi Ditentukan Dengan Spektrofotodensitometer. *Indonesian Journal of Legal and Forensic Science*, 5: 4-10.
- Badan Standarisasi Nasional Indonesia (SNI). 2004. Kopi Bubuk. SNI 3542-2004.

- Belay, A., Kassahun, T., mesfin, R., & Araya, A. (2008). Measurement of caffeine in coffee beans with UV/vis spectrometer. *Journal Food and Chemistry*, 108, 310-315.
- Belay, A., & A. V. Gholap. (2009). Characterization and determination of chlorogenic acids (CGA) in coffee beans by UV-Vis spectroscopy. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*. 3(11), 234-240.
- Bravi, F., Bosetti, C., tavani, A., Gallus, S., La vecchia, C. (2013). Coffe reduces risk for hepatocellular carcinoma: An updated meta-analysis, *Clin. Gastroenterol. Hepatol*, 11 (11), 1413-1421.
- Cappelletti, S., Daria, P., Sani, G., & Aromatario, M. (2015). Caffeine: cognitive and physical performance enhancer or psychoactive drug. *Current Neuropharmacology*, 13(1), 71-88.
- Castro, A., Oda, F. B., Almeida, M. G. J., Davanco, M. G., Chiari, B. G., cicarelli, R. M. B., Peccinini, R. G., Zocolo, G. J., Ribeiro, P. R., Correa, M. A., Isaac, V. L., & Santos, A. G. (2018). Freen coffe seed residue: A sustainable sorce of antioxidant compunds, *Food Chemistry*, 246, 48-57.
- Chalmers, Logan. (2016) .The Determination of Caffeine Content in Decaffeinated Blackbird Coffee, *The Corinthian*, 17.
- Clemente, J.M., Martinez, H.E.P., Alves, L.C., & Lara, M.C.R. (2013). Effect of N and K doses in Nutritive Solution on Growth, Production and Coffee Bean Size. *Rev. Ceres. Viçosa*, 60(2), 279–285
- Dinas Pertanian. 2019. Pengolahan Kopi Robusta. Dilihat 14 April 2022 <https://distan.bulelengkab.go.id/>
- DITJENBUN (Direktorat Jendral Perkebunan). 2012. Pengolahan Kopi Excelsa. Dilihat 14 April 2022 <https://ditjenbun.pertanian.go.id/kopi-excelsa-potensi-kopi-specialty-baru/>
- Ega, Yunna, A. Y., & Ade W. (2019). Pengelolaan Panen dan Pascapanen Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) di Kebun Kalisat Jampit, Bondowoso, Jawa Timur. *Agrohorti*, 7(3), 343-350.
- Elfariyanti, Ernita, S., & Mela, S. (2020). Analisis Kandungan Kafein Pada Kopi Seduhan Warung Kopi di Kota Banda Aceh. *Lantanida Journal*, 8(1), 1-95.
- Farah, A., Tomas, D. P., Daniel, P. M., Luiz, C. T., & Peter, R. M. (2006). Chlorogenic Acids and Lactones in Regular and Water-Decaffeinated Arabica Coffees. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54. 374-381.
- Fathy, M. M., & Ayman, A. M. (2020). Thermostability of bioactive compounds during roasting process of coffee beans. *Heliyon*, e05508.

- Febta, A. (2021). Gambaran Kadar Trigliserida pada Penderita Diabetes Mellitus Tipe 2 Tidak Terkontrol Peserta Prolanis Di Klinik Rejosari Husada. Stikes Nasional.
- Fernandi, R. (2019). Efek kafein terhadap kesehatan manusia. *Opini*, 4(1), 64-68.
- Flanagan, R. J., Andrew T., Ian D. W., and Robin W. 2007. *Fundamentals of Analytical Toxicology*. New Delhi : John Wiley and Sons, Ltd.
- Fredholm, B. B., Battig, K., Holmen, J., Nehlig, A., Zvartau, E. E. (1999). Actions of caffeine in the brain with special reference to factors that contribute to its widespread use *pharmacol Rev*, 51(1): 83-133.
- Fuller, M., & Niny, Z. R. (2017). The Effect of Time, Roasting Temperature, and Grind Size on Caffeine and Chlorogenic Acid Concentrations in Cold Brew Coffee. *Scientific Report*, 7:17979.
- Gandjar, I.G., dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar. Hal. 419, 425.
- Girsang, Warlinson., Rosmadelina P dan Rudiyanono. 2020. Intensitas Serangan Hama Penggerek Buah Kopi (*Hypothenemus hampei* Ferr.) pada Tingkat Umur tanaman yang Berbeda dan Upaya Pengendalian Memanfaatkan Atraktan. *Journal Tabaro*. 4(1):27-34.
- Gritter, R.J., Bobbit, J.M., dan Swharting, A.E. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Edisi Kedua. Bandung: ITB.
- Handini, T., I Made, S., & Anisa, D. Y. (2018). Pemisahan Itrium dengan cara Ekstraksi Menggunakan Solven TOPO. *Eksplorium*, 39(2), 105-112.
- Hasani, Nur. F., & Imelda, F. (2018). Analisis Kadar Kafein Kopi Arabika (*Coffea Arabica* L.) Pada Variasi Temperatur Sangrai Secara Spektrofotometri Ultra Violet. *Analytical and Environmental Chemistry*, 3(2).
- Heckman, M. A., Jorge, W., & Elvira, G. D. M. (2010). Caffeine (1, 3, 7-trimethylxanthine) in Foods: A Comprehensive Review on Consumption, Functionality, Safety, and Regulatory Matters. *Jornal of Food Science*, 75(3).
- Hidayat B, M (Eds). (2009). *Tafsir Ath-Thabari* (Jil.15), Jakarta : Pustaka Azzam.
- Hino A, Adachi H, Enomoto M, Furuki K, Shigetoh Y, Ohtsuka M, Kumagae SI, Hirai Y, Jalaldin A, Satoh A, Imaizumi T. 2007. Habitual coffee but not green tea consumption is inversely associated with metabolic syndrome an epidemiological study in a general Japanese population. *Diabetes Res Clin Practice* 76:383–9.

- Irawan, A. (2019). Kalibrasi Spektrofotometer Sebagai Penjaminan Mutu Hasil Pengukuran Dalam Kegiatan Penelitian Dan Pengujian. *Indonesian Journal of Laboratory*, 1(2), 1-9.
- ITIS (Integrated Taxonomic Information System). 2011. Coffea L. Dilihat 30 Maret 2022 <https://www.itis.gov/>
- Jezka, S. M., Zgola, G. A., Grzeskowiak, T. (2015). Analytical methods applied. *Eur. Food Res. Technol*, 240, 19-31.
- J. Ney, L., Kim, L. F., Raimondo, B., Allison, M., & David, S. N. (2021). Chloroform-based liquid-liquid extraction and LC–MS/MS quantification of endocannabinoids, cortisol and progesterone in human hair. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 201, 114103.
- Koto FA, Kadri H, Rofinda ZD. Pengaruh pemberian kopi instan oral terhadap kadar asam urat pada tikus wistar. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 2014;3(3).
- Lellan TM, Caldwell JA, Lieberman HR. A review of caffeine's effects on cognitive, physical, and occupational performance. *Elsevier Neurosci Biobehavioral*, 2016, 71: 296-312.
- Mangiwa S, Futwembun A, Awak PM. Kadar asam klorogenat (CGA) dalam biji kopi arabika (*Coffea Arabica*) asal Wamena, Papua. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Kimia 'Hidrogen'* 2015;3(2):313-7.
- Manik E. Magdalena & herlinawati. (2020). Analysis of the Utilization of VCO as a Glucose Level Reducing Material in Brown Rice Using a UV-Vis Spectrophotometer. *IJCST*. (4);1, 11-14.
- Maria, A., Dewajanti. (2019). Peranan Asam Klorogenat Tanaman Kopi terhadap Penurunan Kadar Asam Urat dan Beban Oksidatif. *Jurnal Kedokteran Meditek*, 25(1), 46-51.
- Marpaung R, dan Lutvia. (2020). Lama Penyangraian Terhadap Karakteristik Dan Mutu Organoleptik Seduhan Kopi Liberika Tunggal Komposit. *Jurnal Media Pertanian*, 5(1), 15-21.
- Meredith SE, Juliano LM, Hughes JR, Griffiths RR. Caffeine use disorder: A comprehensive review and research. *J Caffeine Res*. 2013;3:144-30.
- Moon, J. K., Yoo, H. S., Shibamoto, T. (2009). Role of roasting conditions in the level of chlorogenic acid content in coffee beans: correlation with coffee acidity. *J. Agric. Food Chem*, 57(12), 5365-5369.
- Mohamadi, Neda., Mostafa, P., Fariba, S., & Mehdi, A. (2020). Simultaneous Spectrophotometric Determination of Trigonelline, Diosgenin and Nicotinic

- Acid in Dosage Forms Prepared from Fenugreek Seed Extract. *IJPR*. 19(2): 153 – 159.
- Mukhriani. (2014). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, 7(2), 361-367.
- Mulja, M. 1990. *Aplikasi Spektrofotometer UV-VIS*. Mecphiso. Surabaya.
- Myo M T., Kuan Y C & Atsunori M. (2018). Effects of Oxalic Acid on UV-C Sencing Property of Tomato Thin-Film Based Photodetector. *IOP Conference Science*. 1082.
- Najiyati, S., Danarti. 2004. *Kopi: Budi Daya & Penanganan Pascapanen*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Navarra, G., M. Moschetti., V. Guarrasi., M. R. Mangione., V. Militello., & M. Leone. (2017). Simultaneous Determination of Caffeine and Chlorogenic Acids in Green Coffee by UV/Vis Spectroscopy. *Journal of Chemistry*, 6435086.
- Palacios, C., Maria L. F. S., & Antonio S. (2017). TLC Procedure for Determination of Approximate Contents of Caffeine in Food and Beverages. *World Journal of Chemical Education*, 5(5), 148-152.
- Patay, Eva, B., Timea, B., & Nora, P. (2016). Phytochemical overview and medicinal importance of Coffea species from the past until now. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 9(12), 1127-1135.
- Patel, K., Namrata, P., & Dr. Pradnya, I. (2019). Extraction Methods: Microwave, Ultrasonic, Pressurized Fluid, Soxhlet Extraction, Etc. *IJARCS*, 6(3), 6-21.
- Prasetio, A. (2020). Gangguan Psikiatri Terkait Kafein. *Analisis*, 47(5), 379-381.
- Pubchem. 2022. Sifat Fisika Asam Klorogenat. Dilihat 30 Maret 2022 <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Chlorogenic-acid>
- Putu, N, A, P., Ida B, P, G., & Gede A. (2017). Pengaruh Suhu dan Lama Penyangraian terhadap Karakteristik Fisik dan Mutu Sensori Kopi Arabika (*Coffea Arabica* L). *Jurnal Beta*, 5(2), 39-48.
- Rubach, M., R. Lang., T. Hofmann., & V. Somoza. (2008). Time-dependent Component-specific Regulation of Gastric Acid Secretion-related Proteins by Roasted Coffee Constituents. *New York Academy of Science*, 1126, 310-314.
- Sadock BJ, Sadock VA, Ruiz P. Kaplan & Sadock's Comprehensive Textbook of Psychiatry. 10th Ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health; 2017.

- Samir, B., C. Kalalian, E. Roth, R. Salghi & A. chakir. 2018. Gas-phase UV Absorption Spectra of Pyrazine, Pyrimidine and Pyridazine.
- Sari, N.P., Santoso, T.I., & Mawardi, S. (2013). Sebaran Tingkat Kesuburan Tanah pada Perkebunan Rakyat Kopi Arabika di Dataran Tinggi Ijen-Raung Menurut Ketinggian Tempat dan Tanaman Penaung. *Pelita Perkebunan*, 29(2), 93– 107
- Sienko, Plane and Marcus. 1984. “Experimental Chemistry 6th Edition”.Mc Graw Hill Book Co, Singapore.
- Smit HJ, Rogers PJ. 2002. Effects of energy drinks on mood and mental performance: critical methodology. *Food Qual Pref* 13:317–26.
- Soebagio, E. Budiasih, M. S. Ibnu, H. R. Widarti, and Munzil, Kimia Analitik II. Malang: Universitas Negeri Malang, 2003.
- Sri Mulato., 2021. Coffe and Cocoa Training Center. Dilihat 30 Maret 2022 <https://www.cctcid.com/2021/08/24/lebih-akrab-dengan-kafein-dalam-kopi/>
- Sup Jeon, Jong., Han-Taek, K., Il-Hyung, J., Se-Ra, H., Moon-Seog, O., Mi-Hye, Y., Jae-Han, s., Ji-Hoon, J., & A.M. Abd E., (2019). Contents of chlorogenic acids and caffeine in various coffee-related products. *Jornal of Advanced Research*, 17, 85-94.
- Soebagio, 2002. Kimia Analitik. Makassar: Universitas Negeri Makassar Fakultas MIPA
- Susandi, E. 2019. *Coffe Roasting*. PT Agro Media Pustaka: Jakarta Selatan.
- Syakir, M., & E. Surmaini. (2017). Perubahan iklim dalam konteks system produksi dan pengembangan kopi di Indonesia. *Jurnal Litbang Pertanian*, 36(2), 77-90.
- Tak Lim, Loong., Matthew, Z., & Xiuju, W. (2019). Coffee: One of the Most Consumed Beverages in the World. *Comprehensive Biotechnology*, 4: 275-283.
- Taqwa, Meiko, P., Masrukan., & Kuntjahjawati. (2021). Pengaruh Suhu Dan Lama Penyangraian (Roasting) Terhadap Sifat Fisik Dan Kimia Pada Seduhan Kopi Arabika (*Coffea Arabica L.*) Dari Kabupaten Gayo, Provinsi Aceh. *Agrotech*, 3(2), 1-10.
- Tarakanita, D. N. S., Satriadi, T. & Jauhari, A. (2019). Potensi Keberadaan Fitokimia Kamalaka (*Phyllanthus emblica*) Berdasarkan Perbedaan Ketinggian Tempat Tumbuh, *Jurnal Sylvia Scientiae*. 2 (4): 645-654

- Treybal, R.E., "Mass-Transfer Operations", 3rd Edition, McGraw-Hill, 1987 (reissue). pp. 477-553.
- Uddin MS, Sufian MA, Hossain MF, Kabir MT, Islam MT, Rahman MM, et al. Neuropsychological Effects of Caffeine: Is Caffeine Addictive? *J Psychol Psychother.* 2017;7:295.
- Wikoff, D., Brian, T. W., Rayetta, H., Gregory, P. B., Janice, B., Esther, M., Jeffrey, G., Harris, R. L., Charles, O., Jennifer, P., Milton, T., Connie, W., Seneca, H., Jonathan, U., & Candace, D. (2017). Systematic review of the potential adverse effects of caffeine consumption in healthy adults, pregnant women, adolescents, and children. *Food and Chemical Toxicology*, 109, 585-648.
- Yusianto., Dwi N. Mutu Fisik dan Citarasa Kopi Arabika yang Disimpan Buahnya Sebelum di-Pulping. *Pelita Perkebunan.* 2014; 30(2) : 137-158
- Yogesh P P., Girish B & Shailendra S S. (2020). UV-Spectrophotometric Method for Quantification of Ascorbic acid in Bulk Powder. *The Pharma Innovation Journal.* 9(5): 05-08.
- Zuo, J.; Tang, W.; Xu, Y. Chapter 68-Anti-hepatitis b virus activity of chlorogenic acid and its related compounds. In *Coffee in Health and Disease Prevention*; Preedy, V.R., Ed.; Academic Press: San Diego, CA, USA, 2015; pp. 607–613.

*Lampiran 4: Dokumentasi*

Gambar 1. Preparasi sampel



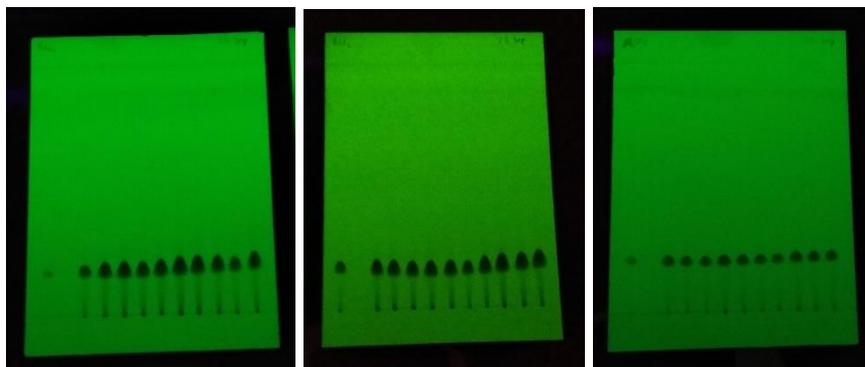
Gambar 2. Ekstraksi Cair-cair



Gambar 3. Pengeringan Fasa Organik



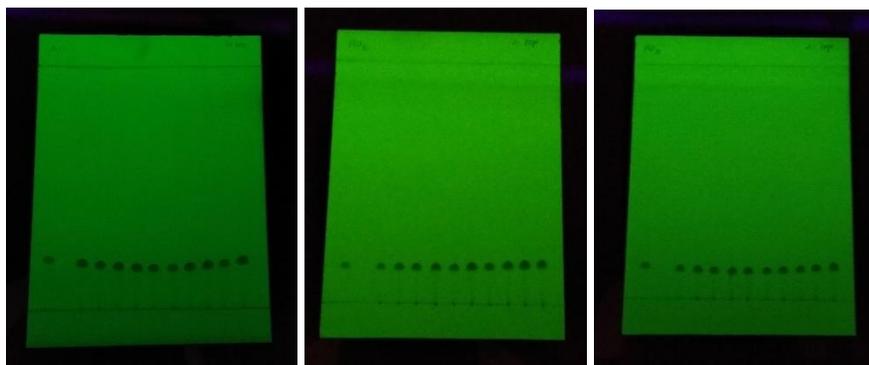
Gambar 5. Pemisahan senyawa kafein menggunakan KLT



Robusta  
Ulangan 1

Robusta  
Ulangan 2

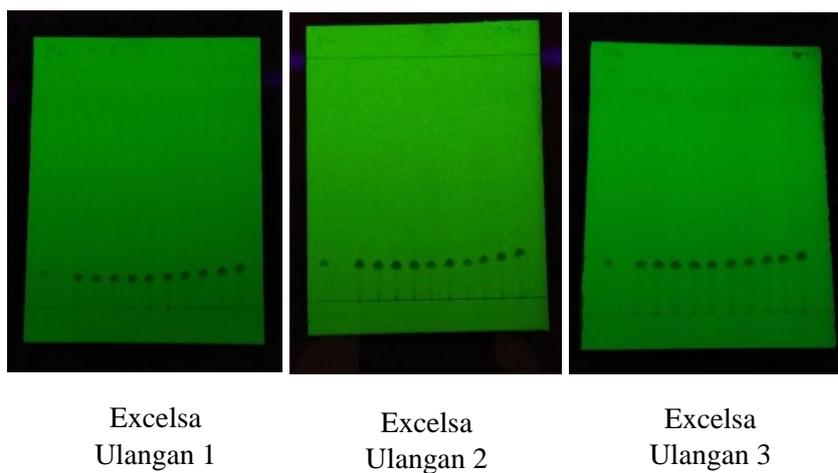
Robusta  
Ulangan 3



Arabika  
Ulangan 1

Arabika  
Ulangan 2

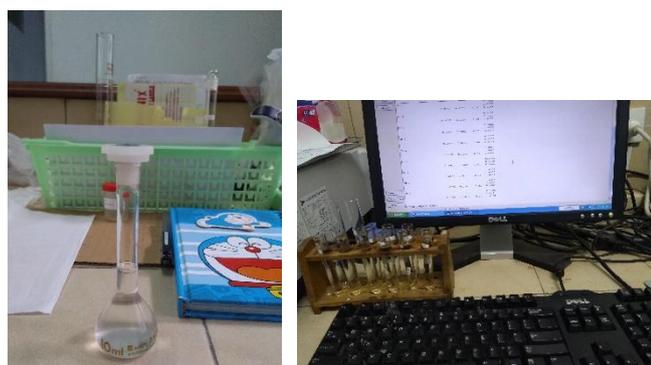
Arabika  
Ulangan 3



Gambar 6. Hasil KLT senyawa kafein dilihat pada lampu UV 254



Gambar 7. Pengerokan hasil KLT



Gambar 8. Pengukuran absorbansi asam klorogenat dan kafein menggunakan spektrofotometer UV-Vis