

**ANALISIS KADAR KAFEIN DALAM BIJI KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*)
DI KECAMATAN DAMPIT KABUPATEN MALANG BERDASARKAN TIGA
PROFIL SANGRAI (TERANG, COKELAT, GELAP) DENGAN METODE
SPEKTROFOTOMETRI UV-VISIBLE**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi**



Oleh:

Luciana Manna Claudia

NIM 155070507111013

PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2019

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

Analisis Kadar Kafein dalam Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Di Kecamatan Dampit Kabupaten Malang Berdasarkan Tiga Profil Sangrai (Terang, Cokelat, Gelap) dengan Metode Spektrofotometri UV-Visible

Oleh:

Luciana Manna Claudia

NIM: 155070507111013

Telah diuji pada:
Hari : Selasa
Tanggal : 2 April 2019
dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji-I,

Uswatun Khasanah, S.Farm., M.Farm., Apt.
NIP.2011068512222001

Pembimbing-I/Penguji-II,

Pembimbing-II/Penguji-III,

Bachtiar Rifai P. I., S.Farm., M.Farm., Apt.
NIP. 2012058709291001

Alvan Febrian S., S.Farm., M.Farm., Apt.
NIP. 2011068502181001

Mengetahui,
Ketua Program Studi Sarjana Farmasi,

Alvan Febrian S., S.Farm., M.Farm., Apt.
NIP. 2011068502181001

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Luciana Manna Claudia

NIM : 155070507111013

Program Studi : Program Studi Sarjana Farmasi

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, April 2019
Yang membuat pernyataan,

(Luciana Manna Claudia)
NIM.155070507111013

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yesus Kristus atas berkat, anugerah, serta kasih karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul “Analisis Kadar Kafein dalam Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Di Kecamatan Dampit Kabupaten Malang Berdasarkan Tiga Profil Sangrai (Terang, Cokelat, Gelap) dengan Metode Spektrofotometri UV-Visible” dengan lancar.

Ketertarikan penulis terhadap topik yang dibahas didalam penelitian ini didasarkan pada maraknya kedai kopi serta tingkat konsumsi kopi yang tinggi di masyarakat sehingga diperlukan pemantauan kualitas dari kopi yang mengandung senyawa kafein. Tujuan dari penelitian adalah untuk mengetahui kadar kafein pada biji kopi robusta dengan metode spektrofotometri UV-Visible.

Dengan selesainya Tugas Akhir ini, penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada seluruh pihak yang telah membantu penyelesaiannya, antara lain:

1. Alvan Febrian Shalas, S.Farm., M.Farm., Apt., selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan dosen pembimbing kedua yang telah sabar memberikan pengarahannya, bimbingan dan saran-saran yang membangun selama penulisan Tugas Akhir ini.
2. Bachtiar Rifai Pratita Ihsan, S.Farm., M.Farm., Apt., selaku dosen pembimbing pertama yang telah sabar memberikan pengarahannya, bimbingan dan saran-saran yang membangun selama penulisan Tugas Akhir ini.
3. Uswatun Khasanah, S.Farm., M.Farm., Apt., sebagai penguji yang telah memberi masukan dan wawasan untuk menyempurnakan Tugas Akhir ini.
4. Hananditia Rachma Pramestutie, S.Farm., M.Farm.Klin., Apt., selaku ketua tim Tugas Akhir Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

5. Orang tua saya tersayang Mama (Elisa H. M. Nainggolan) dan Papa (J. T. Sirait), Kakak (Martha) dan Adik (Gabriel) yang selalu menaruh harapan, doa, dukungan dan kasih sayang kepada penulis sehingga Tugas Akhir dapat terselesaikan dengan baik.
6. Segenap admin dan PLP (Pak Atmari, Bu Tri, Mbak Septi, Mas Nur, Mas Dani dan yang lainnya) yang telah membantu penulis selama penelitian dan perihal administrasi sehingga penulis dapat melaksanakan Tugas Akhir dengan lancar.
7. Elis sebagai teman seperjuangan dalam penelitian yang selalu memberikan dukungan dan kerjasama dalam penyusunan Tugas Akhir.
8. Sahabat-sahabat dekat penulis Jojo, Elis, Sarah, Fira, dan Nyus yang selalu memberi dukungan dalam penyusunan Tugas Akhir serta hal lainnya selama perkuliahan, motivasi, dan berbagi suka duka serta kebahagiaan.
9. Mas Menel, Pak Heri, dan Sandi yang telah membantu selama tahap pengambilan data penelitian penulis.
10. Seluruh teman-teman Phyretrin 2015 untuk kebersamaan, pertemanan, dan keceriaan yang diberikan selama perkuliahan.
11. Kakak-kakak tingkat yang telah memberikan banyak ilmunya kepada penulis serta adik-adik tingkat yang siap meneruskan perjuangan dan inovasi penulis.
12. Semua pihak yang telah membantu dan tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis sadar bahwa tidak ada yang sempurna di dunia ini, demikian pula dengan penelitian Tugas Akhir yang penulis yakin masih sangat jauh dari kesempurnaan. Sehingga penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun. Semoga penelitian ini bermanfaat bagi kita semua.

Malang, 13 April 2019

Penulis

ABSTRAK

Claudia, Luciana Manna. 2019. *Analisis Kadar Kafein dalam Biji Kopi Robusta (Coffea canephora) Di Kecamatan Dampit Kabupaten Malang Berdasarkan Tiga Profil Sangrai (Terang, Cokelat, Gelap) dengan Metode Spektrofotometri UV-Visible*. Tugas Akhir, Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Bachtiar Rifai Pratita Ihsan, S.Farm., M.Farm., Apt. (2) Alvan Febrian Shalas, S.Farm., M.Farm., Apt.

Penyangraian adalah salah satu proses pengolahan biji kopi yang perlu diperhatikan untuk menghasilkan olahan kopi berkualitas yang baik. Penyangraian dapat merubah sifat fisik maupun sifat kimia biji kopi seperti komposisi senyawa kimia yang terkandung didalamnya yaitu senyawa kafein dapat menurun. Kafein merupakan salah satu senyawa yang terkandung dalam biji kopi. Kafein memiliki efek farmakologi yang dapat berdampak positif bagi kesehatan dan juga berdampak negatif apabila dikonsumsi secara berlebihan. Perlu dilakukan adanya eksplorasi perbedaan profil sangrai dalam proses penyangraian untuk mengetahui jika adanya perbedaan kadar kafein berdasarkan profil sangrai. Menurut SNI 01-3542-2004, syarat mutu kadar kafein dalam kopi bubuk yaitu 0,45 - 2 % b/b. Pada penelitian ini, penyangraian biji kopi robusta dengan 3 profil sangrai yaitu terang, cokelat, dan gelap untuk mengetahui kadar kafein yang terkandung didalamnya. Biji kopi robusta dipilih dengan cara metode *purposive sampling* dengan beberapa kriteria tertentu. Pengukuran kadar kafein sampel dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Visible. Berdasarkan hasil penelitian, kadar kafein biji kopi robusta dalam % b/b pada profil sangrai terang, cokelat, dan gelap berturut-turut didapatkan dengan nilai $8,19 \pm 0,389$, $7,36 \pm 0,287$, dan $5,65 \pm 0,105$. Uji secara statistika menggunakan ANOVA memenuhi persyaratan nilai signifikansi $p < 0,05$ sehingga menunjukkan adanya perbedaan kadar kafein biji kopi robusta yang disangrai berdasarkan profil sangrai terang, cokelat dan gelap.

Kata kunci: biji kopi robusta, kafein, profil sangrai, spektrofotometri UV-Visible

ABSTRACT

Claudia, Luciana Manna. 2019. *Caffeine Content Analysis of Robusta Coffee Beans (Coffea canephora) In Dampit, Malang District Based On Three Profile Roast (Light, Medium, Dark) Using UV-Visible Spectrophotometry Method*. Final Assignment, Pharmacy Program, Faculty of Medicine, Universitas Brawijaya. Supervisors: (1) Bachtiar Rifai Pratita Ihsan, S.Farm., M.Farm., Apt. (2) Alvan Febrian Shalas, S.Farm., M.Farm., Apt.

Roasting is one of the processing of coffee beans that need to be considered to produce good quality of the coffee. Roasting could change the physical and chemical properties of coffee beans like its chemical compounds so that the caffeine content could be decreased. Caffeine is one of the compounds in coffee beans that have pharmacological effects. Caffeine has a positive impact on health but also a negative impact if excessive consumption. It is necessary to explore the roasting process differences to find out if any difference of the caffeine content by its roasting profile. According to SNI 01-3542-2004, coffee caffeine content for ground coffee is related to the quality requirement which is 0.45 - 2% w/w. In this study, light, medium, and dark profiles were used to determine caffeine content in coffee beans. Robusta coffee beans were selected by purposive sampling method with certain criteria. Caffeine content was measured by UV-Visible spectrophotometry. Based on the results of this study, the caffeine content value of robusta coffee beans were $8,19 \pm 0,389$, $7,36 \pm 0,287$, and $5,65 \pm 0,105$, for light, medium, and darkly roasted profile, respectively. Statistical test using ANOVA fulfills the requirement for a significance value $p < 0.05$, so it is demonstrated that there are significant differences of the caffeine content of robusta coffee beans by light, medium and darkly roasted profiles.

Keywords: robusta coffee beans, caffeine, profile roast, UV-Visible spectrophotometry

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	
1.4.1 Manfaat Akademik.....	5
1.4.2 Manfaat Praktisi.....	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Kopi	6
2.1.1 Kopi robusta.....	7
2.2 Kafein.....	8
2.3 Proses Pengolahan Biji Kopi	9
2.4 Ekstraksi	10
2.5 Spektrofotometri UV-Vis.....	12

BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep..... 14

3.2 Deskripsi Kerangka Konsep 15

3.3 Hipotesis Penelitian..... 16

BAB 4. METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian 17

4.2 Populasi dan Sampel

 4.2.1 Populasi Penelitian..... 17

 4.2.2 Sampel Penelitian 17

 4.2.3 Pengambilan Sampel 17

4.3 Variabel Penelitian

 4.3.1 Variabel Bebas..... 18

 4.3.2 Variabel Terikat..... 18

 4.3.3 Variabel Terkendali 18

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

 4.4.1 Lokasi Penelitian 19

 4.4.2 Waktu Penelitian 19

4.5 Bahan dan Alat Penelitian

 4.5.1 Bahan Penelitian 19

 4.5.2 Alat / Instrumen Penelitian 19

4.6 Definisi Istilah/Operasional 19

4.7 Prosedur Penelitian..... 20

 4.7.1 Penyangraian Biji Kopi 21

 4.7.2 Ekstraksi Sampel 21

 4.7.3 Pembuatan Larutan Baku Kafein..... 22



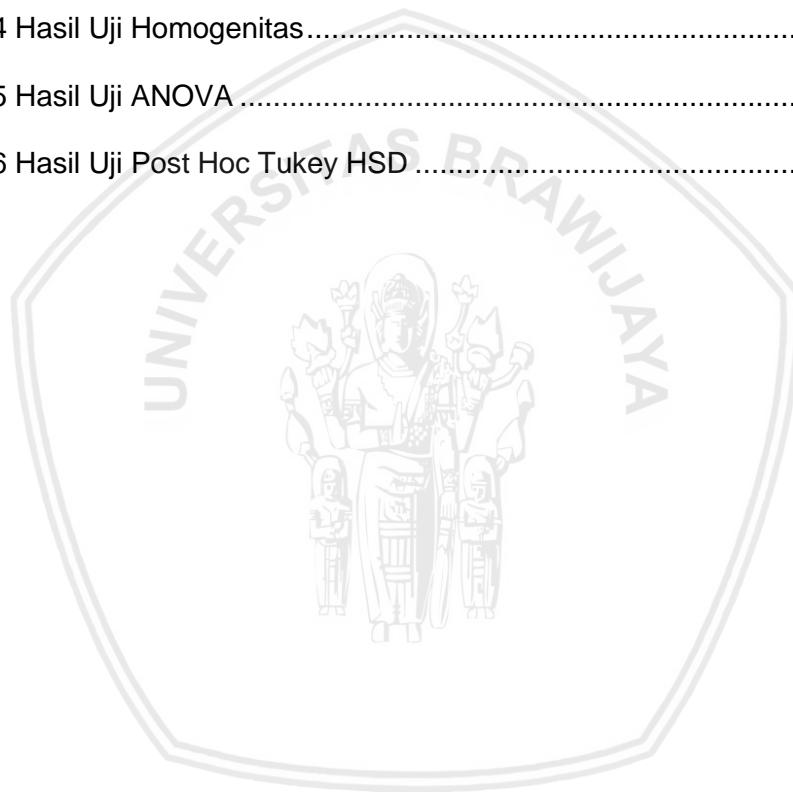
4.7.4 Verifikasi Metode Analisis	
4.7.4.1 Linieritas	22
4.7.4.2 Spesifisitas	23
4.7.4.3 Akurasi dan Presisi.....	23
4.7.4.4 Penetapan Kadar Kafein Kopi Robusta	25
4.7.5 Analisis Data	25
4.7.5.1 Penetapan Kadar Kafein	25
4.7.5.2 Analisis Statistik.....	26
BAB 5. HASIL DAN ANALISA DATA	
5.1 Penyangraian Biji Kopi	27
5.2 Ekstraksi Sampel	27
5.3 Verifikasi Metode Analisis	
5.3.1 Spesifisitas	28
5.3.2 Linieritas	29
5.3.3 Akurasi dan Presisi.....	30
5.3.4 LOD dan LOQ.....	31
5.3.5 Penetapan Kadar Kafein pada Biji Kopi Robusta	32
5.4 Analisis Statistik	32
BAB 6. PEMBAHASAN	
6.1 Pembahasan.....	35
6.2 Implikasi Penelitian.....	43
6.3 Keterbatasan Penelitian	43
BAB 7. PENUTUP	
7.1 Kesimpulan	44
7.2 Saran	44

DAFTAR PUSTAKA 45
LAMPIRAN..... 52



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Senyawa Kimia dalam Biji Kopi.....	7
Tabel 5.1 Hasil Uji Akurasi dan Presisi	31
Tabel 5.2 Hasil Perhitungan Kadar Kafein Sampel Kopi Robusta	32
Tabel 5.3 Hasil Uji Normalitas.....	33
Tabel 5.4 Hasil Uji Homogenitas.....	33
Tabel 5.5 Hasil Uji ANOVA	34
Tabel 5.6 Hasil Uji Post Hoc Tukey HSD	34

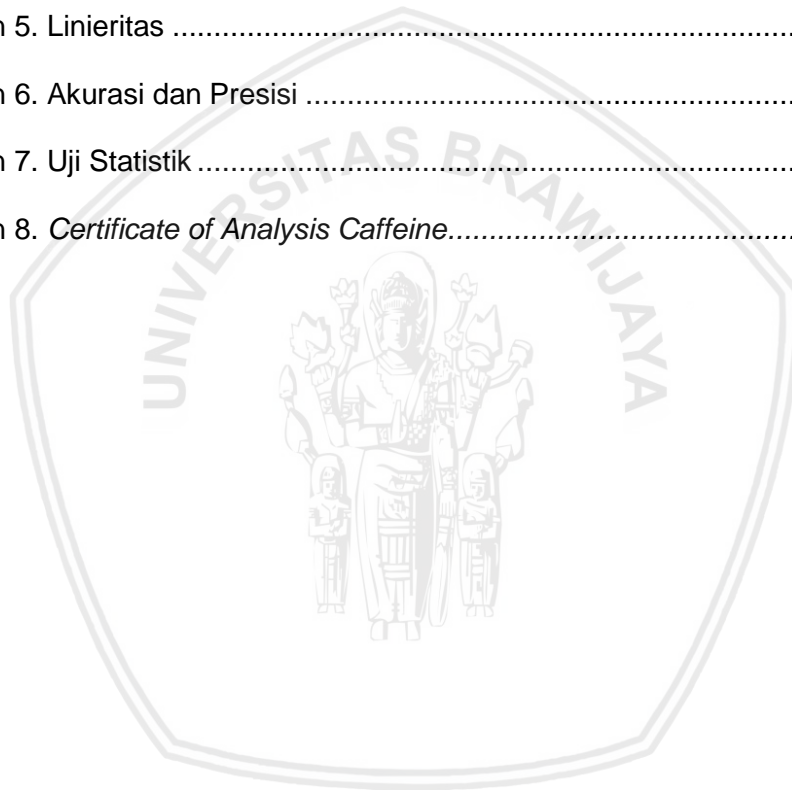


DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Senyawa Kafein.....	8
Gambar 2.2 Profil Sangrai Biji Kopi.....	10
Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konsep	14
Gambar 4.1 Prosedur Penelitian.....	20
Gambar 5.1 Bubuk Kopi Hasil Penyangraian Profil Terang, Cokelat, dan Gelap	27
Gambar 5.2 Ekstraksi Sampel	27
Gambar 5.3 Spektrum Standar Kafein Konsentrasi 30 ppm dan Sampel Kopi Profil Terang, Cokelat, Gelap	28
Gambar 5.4 Spektrum Gabungan Standar Kafein dan Profil Terang, Cokelat, Gelap	29
Gambar 5.5 Kurva Baku Kafein	30

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Penyangraian Biji Kopi.....	52
Lampiran 2. Data Uji Spesifisitas	53
Lampiran 3. Data Absorbansi.....	61
Lampiran 4. Data Kadar Kafein Sampel Biji Kopi Robusta	63
Lampiran 5. Linieritas	65
Lampiran 6. Akurasi dan Presisi	66
Lampiran 7. Uji Statistik	68
Lampiran 8. <i>Certificate of Analysis Caffeine</i>	70



HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

Analisis Kadar Kafein dalam Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Di
Kecamatan Dampit Kabupaten Malang Berdasarkan Tiga Profil Sangrai
(Terang, Cokelat, Gelap) dengan Metode Spektrofotometri UV-Visible

Oleh:

Luciana Manna Claudia

NIM: 155070507111013

Telah diuji pada:

Hari : Selasa

Tanggal : 2 April 2019

dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji-I,

Uswatun Khasanah, S.Farm., M.Farm., Apt.
NIP.201106851222001

Pembimbing-I/Penguji-II,

Bachtiar Rifai P. I., S.Farm., M.Farm., Apt.
NIP. 2012058709291001

Pembimbing-II/Penguji-III,

Alvan Febrian S., S.Farm., M.Farm., Apt.
NIP. 2011068502181001

Mengetahui,
Ketua Program Studi Sarjana Farmasi,



Alvan Febrian S., S.Farm., M.Farm., Apt.
NIP. 2011068502181001



ABSTRAK

Claudia, Luciana Manna. 2019. *Analisis Kadar Kafein dalam Biji Kopi Robusta (Coffea canephora) Di Kecamatan Dampit Kabupaten Malang Berdasarkan Tiga Profil Sangrai (Terang, Cokelat, Gelap) dengan Metode Spektrofotometri UV-Visible*. Tugas Akhir, Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Bachtiar Rifai Pratita Ihsan, S.Farm., M.Farm., Apt. (2) Alvan Febrian Shalas, S.Farm., M.Farm., Apt.

Penyangraian adalah salah satu proses pengolahan biji kopi yang perlu diperhatikan untuk menghasilkan olahan kopi berkualitas yang baik. Penyangraian dapat merubah sifat fisik maupun sifat kimia biji kopi seperti komposisi senyawa kimia yang terkandung didalamnya yaitu senyawa kafein dapat menurun. Kafein merupakan salah satu senyawa yang terkandung dalam biji kopi. Kafein memiliki efek farmakologi yang dapat berdampak positif bagi kesehatan dan juga berdampak negatif apabila dikonsumsi secara berlebihan. Perlu dilakukan adanya eksplorasi perbedaan profil sangrai dalam proses penyangraian untuk mengetahui jika adanya perbedaan kadar kafein berdasarkan profil sangrai. Menurut SNI 01-3542-2004, syarat mutu kadar kafein dalam kopi bubuk yaitu 0,45 - 2 % b/b. Pada penelitian ini, penyangraian biji kopi robusta dengan 3 profil sangrai yaitu terang, cokelat, dan gelap untuk mengetahui kadar kafein yang terkandung didalamnya. Biji kopi robusta dipilih dengan cara metode *purposive sampling* dengan beberapa kriteria tertentu. Pengukuran kadar kafein sampel dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Visible. Berdasarkan hasil penelitian, kadar kafein biji kopi robusta dalam % b/b pada profil sangrai terang, cokelat, dan gelap berturut-turut didapatkan dengan nilai $8,19 \pm 0,389$, $7,36 \pm 0,287$, dan $5,65 \pm 0,105$. Uji secara statistika menggunakan ANOVA memenuhi persyaratan nilai signifikansi $p < 0,05$ sehingga menunjukkan adanya perbedaan kadar kafein biji kopi robusta yang disangrai berdasarkan profil sangrai terang, cokelat dan gelap.

Kata kunci: biji kopi robusta, kafein, profil sangrai, spektrofotometri UV-Visible

ABSTRACT

Claudia, Luciana Manna. 2019. *Caffeine Content Analysis of Robusta Coffee Beans (Coffea canephora) In Dampit, Malang District Based On Three Profile Roast (Light, Medium, Dark) Using UV-Visible Spectrophotometry Method*. Final Assignment, Pharmacy Program, Faculty of Medicine, Universitas Brawijaya. Supervisors: (1) Bachtiar Rifai Pratita Ihsan, S.Farm., M.Farm., Apt. (2) Alvan Febrian Shalas, S.Farm., M.Farm., Apt.

Roasting is one of the processing of coffee beans that need to be considered to produce good quality of the coffee. Roasting could change the physical and chemical properties of coffee beans like its chemical compounds so that the caffeine content could be decreased. Caffeine is one of the compounds in coffee beans that have pharmacological effects. Caffeine has a positive impact on health but also a negative impact if excessive consumption. It is necessary to explore the roasting process differences to find out if any difference of the caffeine content by its roasting profile. According to SNI 01-3542-2004, coffee caffeine content for ground coffee is related to the quality requirement which is 0.45 - 2% w/w. In this study, light, medium, and dark profiles were used to determine caffeine content in coffee beans. Robusta coffee beans were selected by purposive sampling method with certain criteria. Caffeine content was measured by UV-Visible spectrophotometry. Based on the results of this study, the caffeine content value of robusta coffee beans were $8,19 \pm 0,389$, $7,36 \pm 0,287$, and $5,65 \pm 0,105$, for light, medium, and darkly roasted profile, respectively. Statistical test using ANOVA fulfills the requirement for a significance value $p < 0.05$, so it is demonstrated that there are significant differences of the caffeine content of robusta coffee beans by light, medium and darkly roasted profiles.

Keywords: robusta coffee beans, caffeine, profile roast, UV-Visible spectrophotometry

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Kopi merupakan komoditas perkebunan yang banyak diperdagangkan seluruh dunia, termasuk di Indonesia. Produksi kopi di Indonesia mengalami rata-rata peningkatan sebesar 2,44% selama periode 1980-2016 (Kementerian Pertanian, 2016). Seiring dengan peningkatan tersebut, tingkat konsumsi kopi pun mengalami peningkatan. Menurut AEKI (2016) terjadi peningkatan konsumen kopi di Indonesia sebesar 36% selama periode tahun 2010-2014 dengan jumlah konsumsi 1.03 kg/kapita/tahun pada tahun 2014. Selain itu, estimasi konsumsi kopi pada tahun 2015-2016 juga mengalami peningkatan dengan berturut-turut 1.09 kg/kapita/tahun dan 1.15 kg/kapita/tahun.

Provinsi Jawa Timur tercatat sebagai salah satu penyumbang kopi terbesar di Indonesia. Pada tahun 2014, produksi kopi di Jawa Timur tercatat mencapai 58.137 ton (BPS, 2018). Produksi kopi ini sebagian besar berasal dari Kabupaten Malang dengan kontribusi sebesar 8.393 ton atau 30,60% untuk jenis kopi robusta (Kementerian Pertanian, 2016). Namun, jenis kopi arabika masih terdata sedikit produksinya di Kabupaten Malang yaitu 245 ton dengan rata-rata produksi 692 kg/ha (Ditjen Perkebunan, 2016). Salah satu daerah penghasil kopi robusta terbesar di Kabupaten Malang terdapat di Kecamatan Dampit. Dampit terkenal dengan produksi biji kopinya sudah sejak masa penjajahan Belanda. Dampit

tercatat pada tahun 2016 memiliki lahan perkebunan kopi robusta seluas 3.372,5 ha dengan produksi sebesar 2.280,30 ton (BPS, 2016).

Proses pengolahan biji kopi merupakan tahapan penting dalam menghasilkan olahan kopi dengan kualitas yang baik. Salah satu proses yang menentukan rasa dan aroma pada kopi yang dihasilkan yaitu proses penyangraian. Proses ini akan menyebabkan perubahan pada sifat fisik biji kopi, yaitu penurunan kadar air, peningkatan kerapuhan dan perubahan warna yang semakin gelap (Nugroho dkk., 2009). Selain sifat fisik, sifat kimia kopi juga dapat mengalami perubahan, yaitu pada komposisi senyawa kimia yang terkandung didalamnya. Kadar senyawa kafein yang terkandung dapat menurun karena sublimasi (Severini, 2018). Faktor yang mempengaruhi perubahan sifat kimia ini diantaranya adalah hilangnya kelembaban dan berbagai reaksi kimia yang terjadi. Reaksi kimia tersebut terdiri dari oksidasi, hidrolisis, dan beberapa perubahan kimia lainnya (Hernandez dkk., 2007).

Profil sangrai kopi diklasifikasikan menjadi *light roast* (terang), *medium roast* (cokelat) dan *dark roast* (gelap). Ketiga klasifikasi tersebut dibedakan melalui variasi suhu biji kopi saat proses penyangraian berlangsung. Variasi suhu tersebut yaitu 170 - 190°C untuk *light roast*, 200°C - 210°C untuk *medium roast*, dan 220°C - 240°C untuk *dark roast* (Vosloo, 2017). Karakteristik dari masing-masing profil yaitu profil terang cenderung memberikan warna biji yang tidak seragam dengan rasa asam dan *grassy*, profil cokelat memberikan rasa dan aroma yang seimbang, dan profil gelap memberikan rasa yang cenderung pahit dengan keasaman yang rendah dan permukaan biji yang berminyak (Lyman dkk., 2003).

Selain itu, kandungan kafein pada biji kopi profil *light* lebih tinggi dibandingkan dengan profil *medium* dan *dark* karena proses sangrai dapat mengurangi kandungan kafein biji kopi (Hecimovic dkk., 2011).

Kafein adalah salah satu kandungan senyawa yang terdapat dalam kopi. Kafein merupakan alkaloid alami yang terdapat pada biji kopi, daun teh, biji kakao dan biji guarana (Icen dan Guru, 2009). Kafein merupakan derivatif dari xantin yang memiliki efek farmakologi diantaranya stimulasi sistem saraf pusat, peningkatan sirkulasi darah dan respirasi (Belitz dkk., 2009). Konsumsi kafein dalam batas wajar dapat memberikan efek positif diantaranya meningkatkan tingkat kewaspadaan, kemampuan belajar, dan memperbaiki *mood*. Sebaliknya, konsumsi kafein yang berlebihan justru akan menimbulkan efek negatif seperti menyebabkan kecemasan, takikardi, dan insomnia (Chu, 2012). Namun, tidak semua produk berkafein seperti kopi mencantumkan kadar kafein pada kemasannya (Ingrouille, 2013). Menurut BSN (2004) dalam SNI 01-3542-2004, syarat mutu kafein dalam kopi bubuk yaitu 0,45 - 2 % b/b. Oleh karena itu, kadar kafein yang terkandung pada kopi perlu dianalisis sehingga dapat menjadi acuan masyarakat dalam konsumsi kopi yang terjamin mutu dan keamanannya bagi kesehatan.

Salah satu metode yang dapat dilakukan dalam menganalisis kadar kafein pada kopi adalah *spektrofotometri UV-Visible*. Beberapa penelitian terdahulu mengenai analisis kadar kafein menggunakan *spektrofotometri UV-Visible* diantaranya Gebeyehu dan Salomon (2015) melakukan analisis kadar kafein kopi dari daerah Wembera, Goncha, Zegie, dan Burie serta Demissie dkk. (2016) melakukan analisis kadar kafein pada biji kopi hijau

dari daerah Hararghe. Dari beberapa penelitian tersebut, diketahui bahwa metode spektrofotometri UV-Visible dapat memberikan hasil perolehan kadar kafein yang presisi, sensitif, dan linear. Selain itu, Navarra dkk. (2017) membandingkan kadar kafein yang dianalisis dengan menggunakan spektrofotometri UV-Visible dengan HPLC dan menunjukkan hasil yang tidak berbeda secara signifikan. Metode spektrofotometri UV-Visible memiliki kelebihan dalam hal sensitivitas, relatif cepat, biaya operasional lebih murah, dan mudah dalam perlakuannya (Navarra dkk., 2017).

Berdasarkan latar belakang diatas, maka perlu dilakukan analisis kadar kafein pada biji kopi robusta Dampit, Kabupaten Malang dengan tiga profil sangrai (terang, coklat, gelap) dan kadar kafein dibandingkan dengan SNI 01-3542-2004 terkait syarat mutu kafein dalam kopi bubuk yaitu 0,45 - 2 % b/b. Melalui penelitian ini, diharapkan dapat sebagai acuan bagi masyarakat dalam konsumsi kopi yang terjamin mutu dan keamanannya bagi kesehatan. Penetapan kadar kafein ini akan dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Visible.

1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Apakah ada perbedaan bermakna secara statistik kadar kafein biji kopi robusta di Kecamatan Dampit, Kabupaten Malang dalam tiga profil sangrai yang dianalisis dengan metode spektrofotometri UV-Visible?
- 1.2.2 Apakah kadar kafein biji kopi robusta di Kecamatan Dampit, Kabupaten Malang yang dibedakan berdasarkan profil sangrai memenuhi persyaratan SNI 01-3542-2004?

1.3 Tujuan

- 1.3.1 Mengetahui ada tidaknya perbedaan kadar kafein biji kopi robusta di Kecamatan Dampit, Kabupaten Malang dalam profil sangrai terang, coklat, gelap (dengan metode spektrofotometri UV-Visible)
- 1.3.2 Mengetahui kesesuaian kadar kafein dalam biji kopi robusta di Kecamatan Dampit, Kabupaten Malang memenuhi persyaratan SNI 01-3542-2004.

1.4 Manfaat

1.4.1 Manfaat Akademik

Penelitian ini dapat digunakan sebagai bahan referensi dalam pengembangan ilmu pengetahuan bagi penelitian-penelitian selanjutnya.

1.4.2 Manfaat Praktisi

Menambah pengetahuan, wawasan dan informasi bagi masyarakat mengenai kadar kafein yang sesuai dalam konsumsi kopi.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kopi

Kopi merupakan salah satu jenis tanaman perkebunan yang sudah banyak dibudidayakan karena memiliki nilai ekonomis yang tinggi, termasuk di Indonesia. Indonesia merupakan negara produsen dan eksportir kopi terbesar kedua di kawasan ASEAN, setelah Vietnam sedangkan importir termasuk urutan terbesar keempat setelah Filipina, Malaysia, dan Thailand. Produksi kopi di Indonesia mengalami peningkatan sebesar 2,44% selama periode 1980-2016 (Kementerian Pertanian, 2016). Selain itu, tingkat konsumsi kopi di Indonesia pun mengalami peningkatan sebesar 36% selama periode tahun 2010-2014 (AEKI, 2016).

Provinsi Jawa Timur merupakan salah satu daerah penghasil kopi terbesar di Indonesia. Pada tahun 2014, produksi kopi di Jawa Timur mencapai 58.137 ton (BPS, 2018). Produksi kopi ini sebagian besar berasal dari Kabupaten Malang dengan kontribusi sebesar 8.393 ton atau 30,60% untuk jenis kopi robusta (Kementerian Pertanian, 2016). Salah satu daerah penghasil kopi robusta terbesar di Kabupaten Malang terdapat di Kecamatan Dampit. Pada tahun 2016, produksi kopi Dampit telah mencapai 2.280,30 ton (BPS, 2016).

Berbagai metabolit primer dan sekunder terkandung dalam biji kopi. Metabolit primer yang terkandung dalam biji kopi diantaranya adalah karbohidrat, lipid, asam amino, dan protein sedangkan metabolit sekunder yaitu asam klorogenat, kafein, dan trigonelin (Preedy, 2015).

Tabel 2.1 Senyawa Kimia dalam Biji Kopi (Preedy, 2015)

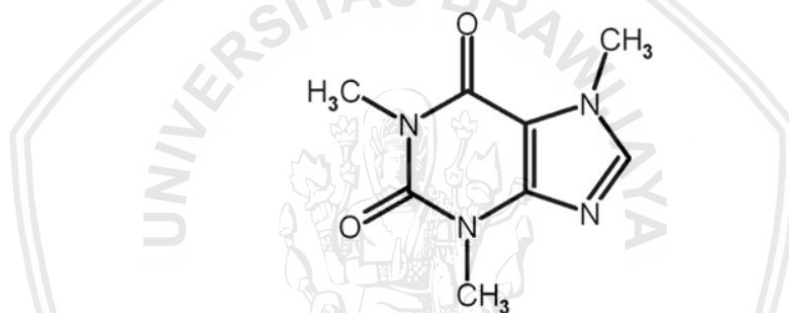
Kandungan	Kopi Arabika		Kopi Robusta	
	Biji Hijau (%)	Biji Setelah Roasting (%)	Biji Hijau (%)	Biji Setelah Roasting (%)
Polisakarida	50,0-55,0	24,0-39,0	37,0-47,0	-
Oligosakarida	6,0-8,0	0-3,5	5,0-7,0	0-3,5
Lipid	12,0-18,0	14,5-20,0	9,0-13,0	11,0-16,0
Asam Amino	2,0	0	2,0	0
Protein	11,0-13,0	13,0-15,0	11,0-13,0	13,0-15,0
Asam Klorogenat	5,5-8,0	1,2-2,3	7,0-10,0	3,9-4,6
Kafein	0,9-1,2	0-1,0	1,6-2,4	0-2,0
Trigonelin	1,0-1,2	0,5-1,0	0,6-0,8	0,3-0,6
Asam Lemak	1,5-2,0	1,0-1,5	1,5-2,0	1,0-1,5
Mineral	3,0-4,2	3,5-4,5	4,0-4,5	4,6-5,6
Melanoidin	-	16,0-17,0	-	16,0-17,0

2.1.1 Kopi Robusta

Kopi Robusta memiliki adaptasi yang baik karena dapat tumbuh di dataran rendah dengan ketinggian yang terbaik antara 500 sampai 700 meter di atas permukaan laut sedangkan kopi arabika beradaptasi baik pada ketinggian lebih dari 1000 meter di atas permukaan laut. Selain itu, kopi ini lebih toleransi terhadap hama dan penyakit, dan syarat tumbuh serta pemeliharaan yang ringan sehingga dalam pembudidayaannya lebih mudah. Hal ini yang menyebabkan kopi robusta memiliki produktivitas yang relatif tinggi (Prastowo dkk., 2010). Kopi robusta memiliki cita rasa yang lebih pahit, sedikit asam, dan mengandung kafein dalam kadar yang jauh lebih banyak (Purwanto dkk., 2015).

2.2. Kafein

Kafein merupakan senyawa organik sejenis alkaloid heterosiklik dalam golongan *methylxanthine* yang mengandung nitrogen dengan struktur dua-cincin atau dual-siklik. Kafein murni berbentuk seperti kristal tepung berwarna putih, tidak berbau, mempunyai rasa yang sangat pahit dan mengembang di dalam air. Kafein memiliki nama kimia 1,3,7-trimetil xantin atau 1,3,7-trimetil 2,6,dioksi purin dengan rumus molekul kafein yaitu $C_8H_{10}N_4O_2$. Struktur senyawa kafein ditunjukkan pada gambar 2.1.



Gambar 2.1 Struktur Senyawa Kafein (Yeboah and Oppong, 2013)

Kafein memiliki berat molekul sebesar 194.19 g/mol dengan titik leleh 235-237°C dan titik didih 178°C. Kelarutan kafein dalam beberapa pelarut diantaranya adalah dalam air (1:50), alkohol (1:75), dan kloroform (1:6) tetapi kurang larut dalam eter (Martono dan Udarno, 2015). Selain itu, kafein lebih larut dalam diklorometana (140 mg/ml) daripada di dalam air (22 mg/ml) (Abebe dkk., 2008).

Kafein merupakan salah satu senyawa penting yang terkandung dalam biji kopi. Efek farmakologi kafein diantaranya stimulasi sistem saraf pusat, peningkatan sirkulasi darah dan relaksasi otot polos bronkus (Belitz dkk, 2009). Konsumsi kafein dalam batas wajar dapat memberikan efek

positif diantaranya meningkatkan tingkat kewaspadaan, kemampuan belajar dan memperbaiki *mood* (Chu, 2012). Namun, konsumsi kafein yang berlebihan dapat menyebabkan sulit tidur, rasa gelisah, mengigau, takikardia, tremor otot, dan peningkatan produksi urin (Misra dkk., 2009). Berdasarkan BSN (2004) dalam SNI 01-3542-2004, syarat mutu kafein dalam kopi bubuk yaitu 0,45 - 2 % b/b.

2.3. Proses pengolahan biji kopi

Proses pengolahan biji kopi dibagi menjadi 2 teknik metode, yaitu pengolahan kering (*Dry Process*) dan pengolahan basah (*Wet Process*). Pengolahan basah menggunakan air sebagai media perendaman, pencucian maupun pengupasan sedangkan pengolahan kering tidak menggunakan air melainkan setelah masa panen biji kopi langsung dikeringkan (Asni dan Meilin, 2015).

Penyangraian biji kopi menjadi proses penting dalam pengolahan kopi karena sangat menentukan warna dan rasa kopi yang dihasilkan. Penyangraian merupakan proses pemanasan biji kopi dengan media udara panas atau gas pembakaran. Desain alat penyangraian disesuaikan dengan tipe penyangraian baik batch maupun *continuous* yaitu drum horizontal yang dapat berputar (Asni dan Meilin, 2015). Proses ini akan menyebabkan perubahan pada sifat fisik maupun kimia biji kopi. Faktor yang mempengaruhi perubahan ini diantaranya adalah hilangnya kelembaban, berbagai reaksi kimia yang terjadi (oksidasi, hidrolisis, dan beberapa perubahan kimia lainnya), perubahan besar (warna, volume, massa, bentuk, kepadatan) dan CO₂ yang dihasilkan (Hernandez dkk., 2007).

Menurut Vosloo (2017), profil biji kopi yang sudah disangrai terbagi menjadi 3 golongan yaitu *light roast* (terang), *medium roast* (Cokelat) dan *dark roast* (Gelap). *Light roast* merupakan biji kopi yang disangrai pada suhu 170 - 190°C, *medium roast* pada suhu 200°C - 210°C, dan *dark roast* pada suhu 220°C - 240°C. Selain itu, karakteristik dari masing-masing profil yaitu profil terang cenderung memberikan warna biji yang tidak seragam dengan rasa asam dan *grassy*, profil cokelat memberikan rasa dan aroma yang seimbang, dan profil gelap memberikan rasa yang cenderung pahit dengan yang keasaman yang rendah dan permukaan biji yang berminyak (Lyman dkk., 2003).



Gambar 2.2 Profil Sangrai Biji Kopi (Union Place Coffee Roasters, 2016)

2.4. Ekstraksi

Ekstraksi adalah metode untuk menarik senyawa kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari senyawa lain yang tidak larut dengan pelarut cair. Proses ekstraksi senyawa tergantung dari masing-masing senyawa kimia yang ingin dipisahkan dan disesuaikan dengan pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Depkes, 2000).

Ekstraksi terdiri dari 2 macam yaitu ekstraksi cair-cair dan ekstraksi padat-cair. Ekstraksi cair-cair digunakan untuk pemisahan senyawa yang dapat larut dalam air dan komponen matriks juga larut/tidak larut air.

Ekstraksi ini menggunakan pelarut organik yang tidak bercampur dengan air sehingga hasil akhir terjadi pemisahan senyawa. Faktor yang mempengaruhi ekstraksi ini yaitu koefisien distribusi dan rasio distribusi analit dalam pelarut organik atau air. Sedangkan ekstraksi padat-cair digunakan untuk pemisahan senyawa yang sukar larut dalam air tetapi dapat dilarutkan dengan pelarut organik yang tidak membutuhkan matriks. Faktor yang mempengaruhi ekstraksi ini adalah kelarutan zat dalam pelarut (Kristian dkk., 2016).

Pemilihan pelarut untuk ekstraksi merupakan parameter penting untuk proses ekstraksi yang sempurna. Sifat pelarut yang dapat mempengaruhi proses ekstraksi diantaranya perbedaan ion, polaritas, ikatan hidrogen, sifat hidrofobik dan hidrofilik (Lesley, 2002). Kriteria pelarut yang perlu dipertimbangkan diantaranya adalah tidak dapat bercampur dengan pelarut lain (biasanya air), memiliki titik didih yang relatif rendah sehingga mudah diuapkan/dihilangkan dari senyawa setelah ekstraksi, sedikit atau tidak ada pengotor dan senyawa lain, tidak beracun, tidak reaktif, mudah tersedia dan tidak mahal, serta memiliki polaritas atau kelarutan yang tinggi untuk senyawa organik (Shinde and Shinde, 2017). Pemilihan pelarut berdasarkan kepolaran zat dimana zat yang polar hanya larut dalam pelarut polar dan zat non polar hanya larut dalam pelarut non polar (Kristian dkk., 2016).

Secara umum, analisis kafein menggunakan pelarut kloroform sebagai pelarut pengekstraksi. Kloroform dapat melarutkan senyawa alkaloid dan dalam keadaan basa bebas kafein akan diikat oleh kloroform. Kloroform ini bersifat mudah menguap sehingga saat diuapkan akan

meninggalkan ekstrak kafein (Maramis dkk, 2013). Selain itu, juga dapat digunakan pelarut organik diklorometana. Kelarutan kafein dalam diklorometana adalah 140 mg/mL (Abebe dkk., 2008). Diklorometana juga memiliki titik didih yang relatif rendah yaitu 39,75°C (MSDS, 2013) jika dibandingkan dengan titik didih kloroform yang berkisar antara 60,5 – 61,5°C (MSDS, 2010) sehingga pelarut diklorometana lebih mudah menguap dan memisah dari zat. FDA mengizinkan sisa pelarut ekstraksi yang diperbolehkan yaitu 10 mg residu/kg kopi sangrai. Menurut laporan industri, konsentrasi residu diklorometana biasanya 100 kali lebih rendah dari batas-batas ini (Chu, 2012).

2.5. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri merupakan metode analisis berdasarkan pada nilai serapan atau absorbansi suatu zat terhadap radiasi sinar elektromagnetik. Prinsip kerja spektrofotometri adalah cahaya yang dihasilkan dari sumber cahaya (sinar ultraviolet dan sinar tampak) yang masih bersifat polikromatis diteruskan melalui lensa ke monokromator pada spektrofotometer dan filter cahaya pada fotometer. Reaksi cahaya yang terserap dengan senyawa akan membuat elektron-elektron ikatan dan elektron-elektron nonikatan (elektron bebas) tereksitasi dari keadaan dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Hasil eksitasi elektron ini akan direkam dalam bentuk spektrum yang dinyatakan sebagai panjang gelombang dan absorbansi. Oleh karena itu, besarnya panjang gelombang dan absorbansi suatu senyawa dipengaruhi oleh banyaknya elektron yang tereksitasi (Suhartati, 2017).

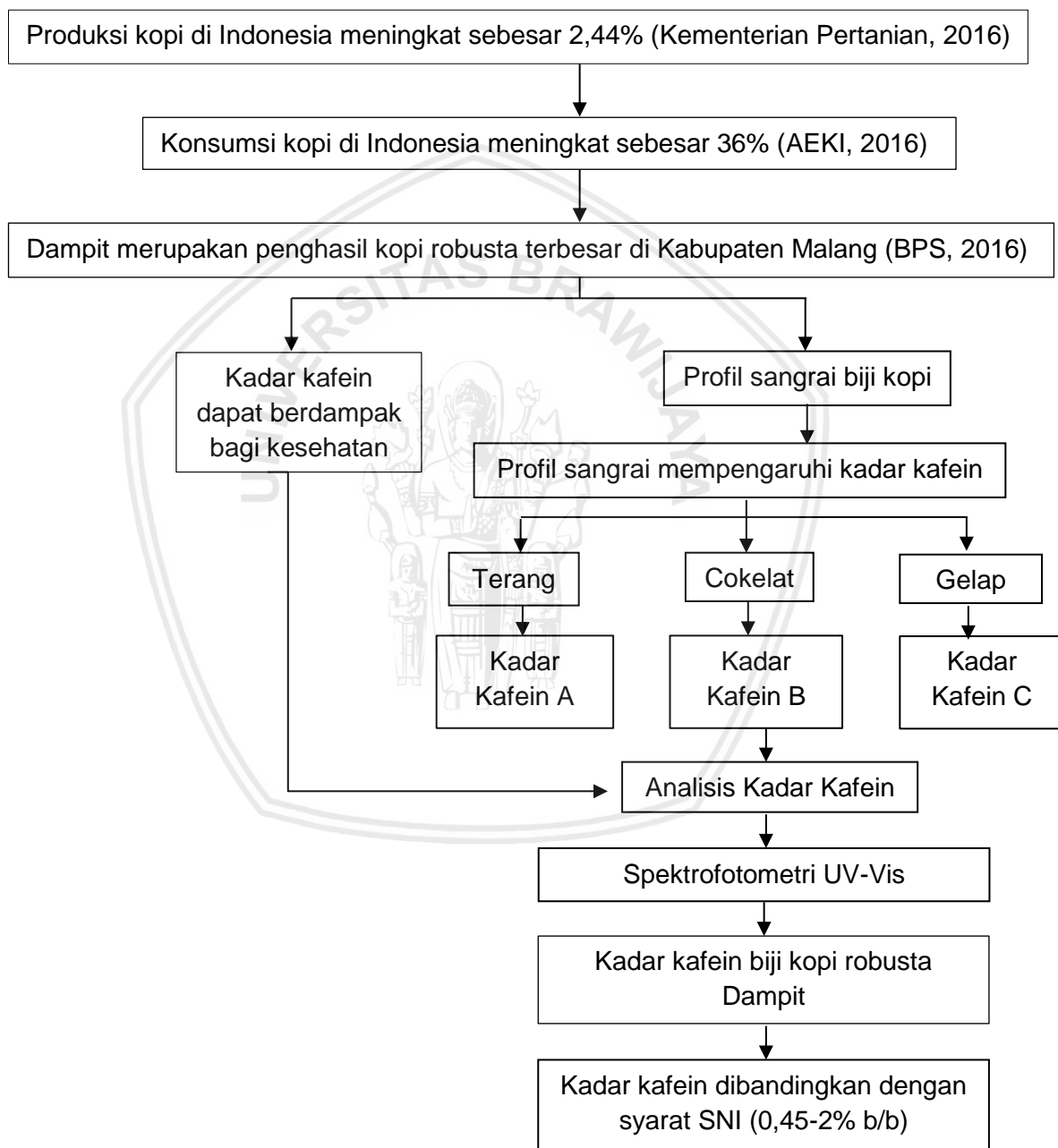
Instrumen spektrofotometri UV-Vis terdiri dari beberapa bagian yaitu sumber cahaya, monokromator, wadah sampel (kuvet), dektektor, dan *recorder*. Sumber cahaya yang biasa digunakan pada spektrofotometri ini adalah lampu deuterium (sinar UV) dan lampu wolfram (sinar visibel atau sinar tampak). Monokromator bertujuan untuk memecah cahaya polikromatis menjadi berkas-berkas cahaya monokromator (tunggal) dengan panjang gelombang tertentu. Kuvet sampel terbuat dari gelas atau kuarsa. Detektor berfungsi untuk mendeteksi sinar yang dilewatkan dan diubah menjadi sinyal listrik. *Recorder* berfungsi untuk membaca dan menerjemahkan sinyal listrik dari detektor dan ditampilkan dalam bentuk % transmittan maupun absorbansi (Suhartati, 2017).

Spektrofotometri UV-Visible dapat digunakan untuk melakukan pengukuran absorbansi pada daerah ultraviolet (panjang gelombang 200 nm – 400 nm) dan daerah cahaya tampak (panjang gelombang 400 nm – 750 nm). Zat dapat dideteksi oleh spektrofotometri apabila memiliki gugus kromofor di dalam molekul atau zat tersebut. Gugus kromofor ini merupakan gugus fungsional yang akan menyerap radiasi ultraviolet dan tampak jika diikat oleh gugus auksokrom serta memiliki ikatan rangkap terkonjugasi seperti C=C, C=O, NO₂ (Dachriyanus, 2004). Gugus auksokrom adalah gugus fungsional yang memiliki elektron bebas dan tidak menyerap radiasi namun apabila berikatan dengan gugus kromofor dapat meningkatkan serapan dan menggeser serapan panjang gelombang seperti hidroksil (-OH), amino (NH₂), dan halogen (-X) (Christian dkk., 2014).

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1. Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konsep



3.2. Deskripsi Kerangka Konsep

Berdasarkan data Kementerian Pertanian (2016), produksi kopi di Indonesia mengalami peningkatan sebesar 2,44% selama periode 1980-2016. Selain itu, konsumsi kopi di Indonesia juga mengalami peningkatan sebesar 36% selama periode 2010-2014. Salah satu daerah penghasil kopi tersebut adalah Dampit, Kabupaten Malang yang sudah terkenal dengan produksi biji kopinya sejak masa penjajahan Belanda. Dampit termasuk salah satu penghasil kopi robusta terbesar di Kabupaten Malang dan produksi kopinya pada tahun 2016 sudah mencapai 2.280,30 ton untuk jenis kopi robusta.

Salah satu senyawa yang terkandung pada biji kopi adalah kafein. Kafein dapat berefek positif maupun negatif bagi kesehatan. Efek positif kafein diantaranya meningkatkan tingkat kewaspadaan, kemampuan belajar, dan memperbaiki mood. Namun, konsumsi kafein yang berlebihan dapat berefek negatif bagi kesehatan yaitu menyebabkan kecemasan, takikardi, dan insomnia. Oleh karena itu, perlu dilakukan analisis kadar kafein kopi terkait dengan terjaminnya mutu dan keamanan bagi kesehatan.

Berdasarkan proses pengolahan biji kopi, penyangraian merupakan salah satu proses yang menentukan rasa dan aroma pada kopi. Proses ini dapat menyebabkan perubahan pada kadar senyawa kafein yang terkandung didalam biji kopi. Kadar kafein biji kopi robusta pada penelitian ini akan dianalisis berdasarkan tiga profil sangrai yaitu terang, coklat dan gelap dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Hasil perolehan kadar kafein akan dibandingkan dengan persyaratan mutu

kafein dalam kopi bubuk menurut SNI yaitu 0,45-2% b/b dan dianalisis perbedaan bermakna secara statistik kadar kafein tersebut dalam tiga profil sangrai dengan menggunakan metode *One-Way Analysis of Variance* (ANOVA).

3.3. Hipotesis Penelitian

Terdapat perbedaan kadar kafein biji kopi robusta di Kecamatan Dampit, Kabupaten Malang dalam tiga profil sangrai yang dianalisis dengan metode spektrofotometri UV-Visible.



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan menggunakan desain penelitian eksperimental murni (*true experimental design*) dimana ditentukan variabel bebas yang kemudian diukur efeknya pada variabel terikat. Pada penelitian ini akan dilakukan analisis kadar kafein dalam biji kopi robusta di Kecamatan Dampit, Kabupaten Malang dan dibandingkan dari tiga profil sangrai yaitu terang, coklat, dan gelap dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Visible.

4.2. Populasi dan sampel

4.2.1 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah biji kopi robusta yang diproduksi di Kecamatan Dampit, Kabupaten Malang.

4.2.2 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah biji kopi robusta di Kecamatan Dampit, Kabupaten Malang yang dipanen pada bulan Agustus 2018.

4.2.3 Pengambilan Sampel

Sampel penelitian didapatkan dengan metode *purposive sampling*. Teknik pengambilan sampel ini dilakukan atas dasar pertimbangan peneliti yang menganggap bahwa unsur-unsur yang dikehendaki telah ada dalam anggota sampel yang diambil (Surahman dkk., 2016). Adapun pertimbangan yang dijadikan sebagai sampel penelitian yaitu:

1. Biji kopi robusta yang akan diambil sebagai sampel diperoleh dari beberapa desa penghasil biji kopi di Kecamatan Dampit, Kabupaten Malang yaitu Desa Sukodono, Desa Srimulyo, dan Desa Baturetno.
2. Biji kopi robusta yang ditanam petani pada setiap desa di Kecamatan Dampit, Kabupaten Malang berasal dari bibit yang sama.
3. Biji kopi robusta dari Kecamatan Dampit, Kabupaten Malang yang dipanen pada bulan Agustus 2018.
4. Biji kopi robusta hasil tani Kecamatan Dampit, Kabupaten Malang dikumpulkan dalam satu wadah koperasi.

4.3. Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini yaitu profil sangrai terang, coklat, dan gelap pada biji kopi robusta yang diperoleh dari Kecamatan Dampit, Kabupaten Malang.

4.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini yaitu kadar kafein pada biji kopi dengan tiga profil sangrai (terang, coklat, dan gelap).

4.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali pada penelitian ini yaitu metode ekstraksi, suhu sangrai biji kopi (180°C, 210°C, 240°C), jenis pelarut, jumlah replikasi, dan pengulangan ekstraksi.

4.4. Lokasi dan Waktu Penelitian

4.4.1. Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.

4.4.2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2018 – Februari 2019.

4.5. Bahan dan Alat Penelitian

4.5.1. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah biji kopi hijau robusta dari Kecamatan Dampit, Kabupaten Malang, aquadest, larutan diklorometana *pro analysis* (Sigma Aldrich) dan standar kafein (Tokyo Chemical Industry).

4.5.2. Alat / Instrumen Penelitian

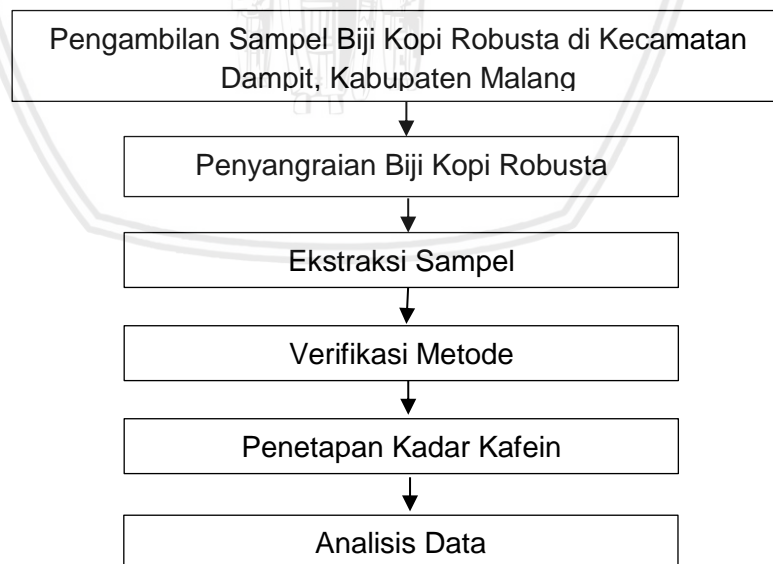
Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah neraca analitik Shimadzu AUW220, ayakan 250 μ m, *hotplate* IKA C-MAG HS 7, mesin penggiling biji kopi Bartex tipe JY09A-4, mesin sangrai Global Agro model C03J3, dan spektrofotometri UV-1800 Shimadzu.

4.6. Definisi Istilah / Operasional

1. Biji kopi robusta merupakan biji dari tanaman *Coffea sp.* dalam bentuk bugil dan belum disangrai.

2. Biji kopi robusta diperoleh dari perkebunan kopi yang berada di Kecamatan Dampit, Kabupaten Malang, Jawa Timur, yang dipanen pada bulan Agustus 2018.
3. Sangrai merupakan proses pemanasan biji kopi dengan media udara panas atau gas pembakaran.
4. Profil sangrai terdiri dari 3 yaitu terang (disangrai hingga suhu 180°C), coklat (disangrai hingga suhu 210°C), dan gelap (disangrai hingga suhu 240°C).
5. Spektrofotometri sinar tampak (UV-Vis) merupakan metode yang digunakan untuk menguji sejumlah cahaya yang diabsorbansi pada setiap panjang gelombang di daerah ultraviolet dan tampak.

4.7 Prosedur Penelitian



Gambar 4.1 Prosedur Penelitian

4.7.1 Penyangraian Biji Kopi

1. Biji kopi hijau robusta dari masing-masing sampel ditimbang sebesar 320 g dengan neraca digital untuk tiap profil sangrai (Gebeyehu and Solomon, 2015).
2. Sampel disangrai hingga suhu 180°C, 210°C dan 240°C secara bergiliran untuk menghasilkan profil sangrai terang, coklat dan gelap (Vosloo, 2017)
3. Masing-masing sampel pada tiap suhu digiling menjadi bentuk bubuk.
4. Bubuk sampel diayak dengan ayakan 250µm (Nomor mesh 60) sehingga diperoleh bubuk kopi yang homogen (Gebeyehu and Solomon, 2015).

4.7.2 Ekstraksi Sampel (Gebeyehu and Solomon, 2015)

1. Bubuk kopi ditimbang sebesar 50 mg dengan neraca analitik.
2. Aquadest diukur sebanyak 100 ml menggunakan labu ukur 100 ml.
3. Bubuk kopi dicampurkan dengan aquadest 100 ml menggunakan erlenmeyer 100 ml serta ditutup dan dipanaskan menggunakan *hotplate* pada suhu 90°C dengan pengadukan selama 30 menit menggunakan *magnetic stirrer*.
4. Larutan kopi disaring ke dalam labu ukur 100 ml menggunakan kertas saring dan ditambahkan aquadest sampai tanda batas.
5. Masing-masing larutan kopi dan diklorometana diambil 25 ml kemudian diekstraksi menggunakan corong pisah (perbandingan volume 25 : 25 ml).
6. Fase air diekstraksi 3 kali dengan 25 ml diklorometana

7. Ekstrak sampel dimasukkan kedalam labu ukur 100 ml dan ditambahkan diklorometana sampai tanda batas.
8. Replikasi prosedur sebanyak 4 kali.
9. Prosedur yang sama dilakukan untuk masing-masing profil sangrai.

4.7.3 Pembuatan Larutan Baku Kafein (AOAC, 1995)

1. Standar kafein (TCI) ditimbang sebesar 25 mg dengan neraca analitik.
2. Larutkan ke dalam labu ukur 25 ml dengan diklorometana dan tepatkan sampai tanda batas.
3. Larutan diambil sebanyak 5 ml dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml. Lakukan pengenceran dengan diklorometana dan tepatkan sampai tanda batas.
4. Larutan baku kafein dipipet sebanyak 1, 2, 3, 4, dan 5 ml lalu dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml serta ditambahkan larutan diklorometana sampai tanda batas.
5. Diperoleh larutan standar 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm.

4.7.4 Verifikasi Metode Analisis

4.7.4.1 Linieritas

1. Standar kafein (TCI) ditimbang sebesar 25 mg dengan neraca analitik.
2. Larutkan ke dalam labu ukur 25 ml dengan diklorometana dan tepatkan sampai tanda batas.
3. Larutan diambil sebanyak 5 ml dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml. Lakukan pengenceran dengan diklorometana dan tepatkan sampai tanda batas.

4. Larutan baku kafein dipipet sebanyak 0,5, 1, 2, 3, dan 4 ml lalu dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml serta ditambahkan larutan diklorometana sampai tanda batas.
5. Diperoleh larutan standar 5, 10, 20, 30, dan 40 ppm.
6. Larutan standar kafein diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh sebelumnya dan dibuat kurva baku hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi.

4.7.4.2 Spesifisitas

1. Larutan standar kafein konsentrasi 5, 10, 20, 30, atau 40 ppm diukur panjang gelombang dalam rentang 200-400 nm.
2. Diperoleh panjang gelombang maksimum yang akan digunakan untuk memastikan spesifik kafein dalam sampel dan penentuan kadar sampel.
3. Ekstrak sampel tiap profil diukur panjang gelombang dalam rentang 200-400 nm.

4.7.4.3 Akurasi dan Presisi

1. Standar kafein ditimbang sebesar 50 mg menggunakan gelas arloji dengan neraca analitik.
2. Larutkan dalam aquadest sebanyak 50 ml (Kelarutan kafein dalam air adalah 1:50)
3. Larutan standar diambil sebanyak:
 - 5 ml sebagai konsentrasi 100%.

Massa = massa awal x kadar sampel tertinggi

$$\text{Massa} = 50 \text{ mg} \times 9\%$$

$$\text{Massa} = 4,5 \text{ mg}; \text{ dibulatkan } 5 \text{ mg yang setara dengan } 5 \text{ ml}$$

- 4 ml sebagai konsentrasi 80%.

$$\text{Massa} = \text{massa awal} \times \text{kadar sampel tertinggi}$$

$$\text{Massa} = 5 \text{ mg} \times 80\%$$

$$\text{Massa} = 4 \text{ mg yang setara dengan } 4 \text{ ml}$$

- 6 ml sebagai konsentrasi 120%.

$$\text{Massa} = \text{massa awal} \times \text{kadar sampel tertinggi}$$

$$\text{Massa} = 5 \text{ mg} \times 120\%$$

$$\text{Massa} = 6 \text{ mg yang setara dengan } 6 \text{ ml}$$

4. Larutan standar dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml dan ditambahkan aquadest sampai tanda batas.
5. Larutan standar dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 ml serta ditutup dan dipanaskan menggunakan *hotplate* pada suhu 90°C dengan pengadukan selama 30 menit menggunakan *magnetic stirrer*.
6. Larutan standar disaring ke dalam labu ukur 100 ml menggunakan kertas saring dan ditambahkan aquadest sampai tanda batas.
7. Masing-masing larutan kopi dan diklorometana diambil 25 ml kemudian diekstraksi menggunakan corong pisah (perbandingan volume 25 : 25 ml).
8. Fase air diekstraksi 3 kali dengan 25 ml diklorometana.
9. Ekstrak standar kafein dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml dan ditambahkan diklorometana sampai tanda batas.
10. Replikasi prosedur sebanyak 2 kali.

11. Prosedur yang sama dilakukan untuk masing-masing larutan standar 80%, 100% dan 120%.
12. Masing-masing ekstrak standar kafein diukur panjang gelombang dalam rentang 200-400 nm dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh sebelumnya.
13. Hitung % recovery dan % RSD.

4.7.4.4 Penetapan Kadar Kafein Kopi Robusta

1. Ekstrak sampel tiap profil diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh sebelumnya.
2. Kadar ekstrak sampel tiap profil dihitung dengan menggunakan persamaan kurva baku.

4.7.5 Analisis data

Analisis data pada penelitian ini meliputi penetapan kadar kafein menggunakan spektrofotometri UV-Vis dan analisis statistik menggunakan metode *One-Way Analysis of Variance* (ANOVA).

4.7.5.1 Penetapan Kadar Kafein

Kadar kafein (% b/b) diperoleh melalui rumus:

$$\% \text{ b/b} = \frac{\text{Massa kafein yang diperoleh}}{\text{massa sampel}} \times 100\%$$

Perolehan kadar kafein dibandingkan dengan standar syarat mutu kafein dalam kopi bubuk menurut SNI 01-3542-2004 yaitu 0,45 - 2 % b/b.

4.7.5.2 Analisis Statistik

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji beda nyata *One-Way Analysis of Variance* (ANOVA). Sebelumnya dilakukan terlebih dahulu uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk test* dengan syarat distribusi data harus normal yaitu $p > 0,05$ dan uji homogenitas menggunakan *Levene test* dengan syarat varians data harus homogen yaitu $p > 0,05$. Selanjutnya dilakukan uji parametrik ANOVA dengan syarat $p < 0,05$ untuk menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna kadar kafein terhadap profil sangrai. Apabila syarat uji ANOVA tidak terpenuhi maka akan dilakukan uji statistika non-parametrik *Kruskal Wallis*. Analisis data tersebut dilakukan dengan menggunakan program *Statistical Product and Service Solution, IBM SPSS Statistic 20*, dengan nilai probabilitas 0,05 ($p=0,05$) dan taraf kepercayaan sebesar 95%.

BAB 5

HASIL DAN ANALISA DATA

5.1 Penyangraian Biji Kopi

Bubuk kopi yang disangrai pada profil terang terlihat berwarna kecokelatan, profil cokelat berwarna cokelat tua, dan profil gelap berwarna hitam. Bubuk kopi hasil penyangraian ditunjukkan pada Gambar 5.1.



Gambar 5.1 Bubuk Kopi Hasil Penyangraian Profil Terang (a); Cokelat (b); Gelap (c)

5.2 Ekstraksi Sampel

Larutan kopi yang diekstraksi dengan menggunakan diklorometana kelas p.a. (*pro analysis*) melalui metode ekstraksi cair-cair menghasilkan terbentuknya 2 fase yaitu fase air dan fase organik yang ditunjukkan pada Gambar 5.2. Fase organik (diklorometana) akan berada dibawah karena memiliki densitas yang lebih besar daripada air yaitu $1,3266 \text{ g/cm}^3$ sedangkan densitas air 1 g/cm^3 (MSDS, 2013).

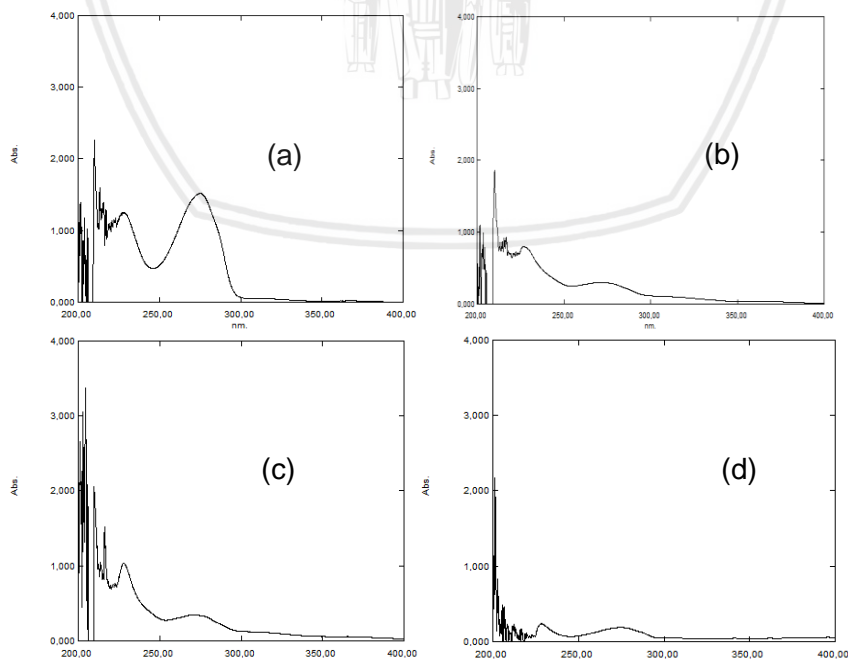


Gambar 5.2 Ekstraksi Sampel

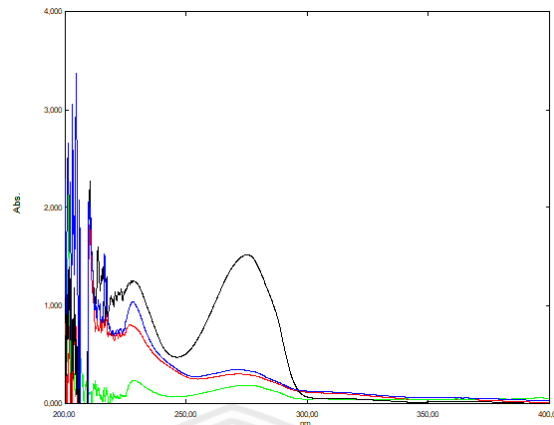
5.3 Verifikasi Metode Analisis

5.3.1 Spesifisitas

Hasil uji spesifisitas menunjukkan panjang gelombang maksimum standar kafein sebesar 275,20 nm, sampel profil terang sebesar 271,80 nm, sampel profil coklat sebesar 272,00 nm, dan sampel profil gelap sebesar 275,60 nm yang dapat dilihat pada Lampiran 2. Jika dibandingkan dengan literatur AOAC (1995), panjang gelombang maksimum kafein adalah 276 nm sehingga perbedaan panjang gelombang yang diperoleh masih dalam rentang dan tidak terlalu berbeda. Selain itu, spektrum yang terbentuk dari sampel biji kopi robusta pada 3 profil sangrai memiliki kemiripan dengan spektrum standar kafein. Hasil ini menunjukkan bahwa metode yang dilakukan dapat mendeteksi analit target (kafein) dari pengotor yang terkandung dalam sampel biji kopi robusta. Hasil uji spesifisitas dapat dilihat pada Gambar 5.3 dan Gambar 5.4.



Gambar 5.3 Spektrum Standar Kafein Konsentrasi 30 ppm (a); Sampel Kopi Profil Terang (b); Sampel Kopi Profil Cokelat (c); Sampel Kopi Profil Gelap (d)



Gambar 5.4 Spektrum Gabungan Standar Kafein (Hitam), Profil Terang (Merah), Profil Cokelat (Biru), Profil Gelap (Hijau)

5.3.2 Linearitas

Linearitas dilakukan dengan pembuatan larutan baku kafein 5 konsentrasi yaitu 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, dan 40 ppm sehingga diperoleh persamaan kurva baku $y = 0,0455x + 0,0527$ dengan nilai r^2 sebesar 0,9999. Nilai r^2 memenuhi persyaratan AOAC (2002) yaitu $r^2 > 0,99$ yang bermakna respon instrumen y (absorbansi) berhubungan linier dengan konsentrasi larutan baku kafein. Selain itu, nilai koefisien variasi (V_{xo}) diperoleh sebesar 0,9051% sehingga memenuhi persyaratan AOAC (2002) yaitu $V_{xo} < 2\%$. Standar deviasi fungsi dapat diperoleh dengan menggunakan rumus dibawah ini:

$$S(y/x) = \sqrt{\frac{\sum(y - y_i)^2}{N - 2}} = \sqrt{\frac{0,000224}{3}}$$

$$S(y/x) = 0,00865$$

- S_{xo} :

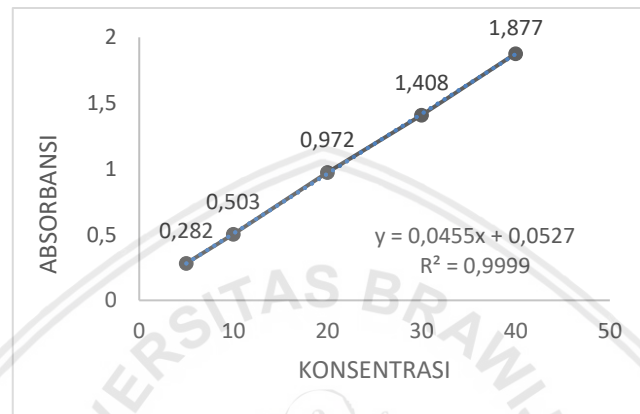
$$S_{xo} = \frac{S_y}{b} = \frac{0,00865}{0,0455}$$

$$S_{xo} = 0,1901$$

- V_{x0} :

$$V_{x0} = \frac{S_{x0}}{\bar{x}} \times 100\% = \frac{0,1901}{21} \times 100\%$$

$$V_{x0} = 0,9051\%$$



Gambar 5.5 Kurva Baku Kafein

5.3.3 Akurasi dan Presisi

Pengukuran akurasi dan presisi dilakukan melalui ekstraksi standar kafein dengan konsentrasi 80%, 100%, dan 120%. Akurasi dinyatakan sebagai % perolehan kembali (% *recovery*) yang didapatkan melalui perbandingan konsentrasi uji dengan konsentrasi sesungguhnya yang dinyatakan dalam persen (%) sedangkan presisi dinyatakan sebagai % RSD. Rumus untuk mendapatkan % RSD adalah sebagai berikut:

$$\% \text{ RSD} = \frac{\text{standar deviasi (SD)}}{\text{rata - rata}} \times 100\%$$

Hasil uji akurasi dan presisi menunjukkan bahwa konsentrasi 80% memiliki % *recovery* sebesar 98,6% dengan % RSD sebesar 0,924%, konsentrasi 100% memiliki % *recovery* sebesar 97,9% dengan % RSD sebesar 1,05%, dan konsentrasi 120% memiliki % *recovery* sebesar 99,6% dengan % RSD sebesar 0,915% yang dapat dilihat pada Tabel 5.1,.

Perolehan hasil ini memenuhi persyaratan AOAC untuk % *recovery* yaitu dalam rentang 95 - 102% dan % RSD yaitu kurang dari 1,5% (AOAC, 2013).

Tabel 5.1 Hasil Uji Akurasi dan Presisi

	Massa Kons. Teoritis (mg)	Absorbansi	Kons. Terukur (ppm)	Massa Terukur (mg)	% Rec.	Rata-Rata % Rec.	SD	% RSD
80%	4,02	0,500	9,83	3,93	97,9	98,6	0,092	0,924
		0,508	10,0	4,00	99,7			
		0,502	9,88	3,95	98,4			
100%	5,02	0,605	12,1	4,86	96,7	97,9	0,129	1,05
		0,614	12,3	4,94	98,3			
		0,616	12,4	4,95	98,7			
120%	6,02	0,737	15,0	6,02	99,9	99,6	0,137	0,915
		0,728	14,8	5,94	98,6			
		0,740	15,1	6,04	100			

5.3.4 LOD dan LOQ

Untuk menentukan LOD dan LOQ dapat menggunakan rumus sebagai berikut:

$$LOD = \frac{3 \cdot SD}{b} \quad LOQ = \frac{10 \cdot SD}{b}$$

Dengan nilai SD dapat diperoleh melalui rumus sebagai berikut:

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(y - \bar{y})^2}{N - 2}}$$

Sehingga didapatkan nilai LOD sebesar 0,5702 ppm dan LOQ sebesar 1,9008 ppm.

5.3.5 Penetapan Kadar Kafein pada Biji Kopi Robusta

Rata-rata kadar kafein dalam % b/b pada sampel kopi robusta profil sangrai terang, cokelat, dan gelap berturut-turut adalah $8,19 \pm 0,389$, $7,36 \pm 0,287$, dan $5,65 \pm 0,105$. Hasil perhitungan kadar kafein dicantumkan pada Tabel 5.2.

Tabel 5.2 Hasil Perhitungan Kadar Kafein Sampel Kopi Robusta

No	Profil Sangrai Sampel	Berat Sampel (g)	Absorbansi (y)	Konsentrasi (ppm)	Kadar (%b/b)	Rata-Rata Kadar (%b/b)
1	Terang	0,0506	0,528	10,4	8,26	$8,19 \pm 0,389$
		0,0506	0,502	9,87	7,81	
		0,0504	0,558	11,1	8,82	
		0,0504	0,509	10,0	7,96	
		0,0505	0,519	10,2	8,12	
2	Cokelat	0,0502	0,484	9,48	7,55	$7,36 \pm 0,287$
		0,0501	0,446	8,64	6,90	
		0,0501	0,477	9,32	7,44	
		0,0502	0,488	9,57	7,62	
		0,0504	0,472	9,21	7,31	
3	Gelap	0,0500	0,382	7,23	5,78	$5,65 \pm 0,105$
		0,0500	0,373	7,03	5,62	
		0,0502	0,379	7,16	5,70	
		0,0501	0,374	7,05	5,63	
		0,0500	0,366	6,87	5,50	

5.4 Analisis Statistik

Untuk mengetahui adanya perbedaan bermakna kadar kafein biji kopi robusta berdasarkan tiga profil sangrai (terang, cokelat, gelap) dapat dilakukan uji statistik menggunakan uji beda nyata *One-Way Analysis of Variance* (ANOVA). Uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk test* karena jumlah data kurang dari 50. Nilai signifikansi kadar kafein berdasarkan tiga profil sangrai memenuhi persyaratan normalitas yaitu $p > 0,05$, sehingga

menunjukkan data terdistribusi normal. Hasil dari uji normalitas dapat dilihat pada Tabel 5.3.

Tabel 5.3 Hasil Uji Normalitas

Data	Profil	Nilai Signifikansi (p)
Kadar	Terang	0,512
	Cokelat	0,340
	Gelap	0,902

Kemudian, selanjutnya dilakukan uji homogenitas dengan *Levene Test*. Uji homogenitas memiliki nilai signifikansi $p = 0,207$ yang memenuhi persyaratan homogenitas yaitu $p > 0,05$, sehingga menunjukkan varians data homogen. Hasil dari uji homogenitas dapat dilihat pada Tabel 5.4.

Tabel 5.4 Hasil Uji Homogenitas

Data	Nilai Signifikansi (p)
Kadar	0,207

Setelah uji normalitas dan homogenitas terpenuhi, maka dapat dilanjutkan uji parametrik *One-Way Analysis of Variance* (ANOVA) untuk mengetahui adanya perbedaan bermakna secara statistik kadar kafein biji kopi robusta di Kecamatan Dampit, Kabupaten Malang dalam tiga profil sangrai. Uji ANOVA memiliki nilai signifikansi $p = 0,000$ yang memenuhi persyaratan adanya perbedaan bermakna yaitu $p < 0,05$ sehingga menunjukkan adanya perbedaan kadar kafein biji kopi robusta yang disangrai berdasarkan profil sangrai terang, cokelat dan gelap. Hasil dari uji ANOVA dapat dilihat pada Tabel 5.5.

Tabel 5.5 Hasil Uji ANOVA

Data	Nilai Signifikansi (p)
Kadar	0,000

Kemudian, dapat dilakukan uji lanjut *Post Hoc Tukey HSD* untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda makna. Uji *Post Hoc Tukey HSD* memiliki nilai signifikansi $p < 0,05$ sehingga menunjukkan perbedaan yang bermakna dari kadar kafein biji kopi robusta pada tiap profil sangrai.

Tabel 5.6 Hasil Uji Post Hoc Tukey HSD

Kelompok A	Kelompok B	Nilai Signifikansi (p)
Terang	Cokelat	0,002
	Gelap	0,000
Cokelat	Terang	0,002
	Gelap	0,000
Gelap	Terang	0,000
	Cokelat	0,000

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Pembahasan

Proses ekstraksi sampel menggunakan metode ekstraksi cair-cair karena senyawa kafein dapat larut dalam air dan kondisi sampel yang berupa larutan (cairan) sehingga sesuai untuk dilakukan ekstraksi cair-cair (Snyder dkk., 2010). Metode ekstraksi ini menggunakan pelarut organik yang tidak bercampur dengan air sehingga pada hasil akhir terjadi pemisahan senyawa. Pemilihan pelarut yang tepat menjadi paramater penting pada proses ekstraksi. Pelarut yang digunakan adalah diklorometana karena kafein lebih larut dalam diklorometana (140 mg/ml) daripada di dalam air (22 mg/ml) (Belay dkk., 2008). Selain itu, diklorometana merupakan pelarut yang paling efisien dalam ekstraksi kafein dari kopi (98 - 99%) (Gebeyehu dan Salomon, 2015).

Terdapat senyawa turunan xantin selain kafein yaitu teofilin dan teobromin namun kandungannya dalam biji kopi sangat rendah bahkan tidak terdeteksi (Monteiro dkk., 2016). Senyawa alkaloid lain dalam biji kopi yaitu trigonelin yang bersifat sangat larut dalam air dan sedikit larut dalam pelarut organik seperti kloroform dan diklorometana (Clarke dan Macrae, 1985). Oleh karena itu, dapat diketahui bahwa senyawa trigonelin tidak ikut tertarik dengan diklorometana. Sebelum diekstraksi dengan diklorometana, terlebih dahulu sampel dilarutkan dalam air untuk mengatasi efek matriks terhadap spektrum penyerapan UV yang dapat menyebabkan *overlapping* zat penyerap UV dalam matriks sederhana (Belay dkk., 2008). Pelarut lain yang juga biasa digunakan adalah kloroform. Berdasarkan USP 40 (2017a) tentang *residual*

solvents, kloroform dan diklorometana termasuk kelas 2 yang penggunaannya masih diperbolehkan tetapi dibatasi. Titik didih diklorometana adalah 39,75°C (MSDS, 2013) sedangkan kloroform berkisar antara 60,5 – 61,5°C (MSDS, 2010). Titik didih diklorometana yang lebih rendah dari kloroform akan membuat pelarut diklorometana lebih mudah menguap dan memisah dari zat.

Spektrofotometri UV-Visible dipilih untuk analisis kadar kafein pada penelitian ini karena berdasarkan penelitian terdahulu (Gebeyehu dan Salomon, 2015; Demissie dkk., 2016) menunjukkan bahwa metode spektrofotometri UV-Visible dapat memberikan hasil yang presisi, sensitif, dan linear. Navarra dkk. (2017) membandingkan kadar kafein yang dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Visible dengan HPLC dan menunjukkan hasil yang tidak berbeda secara signifikan. Selain itu, spektrofotometri UV-Visible memiliki kelebihan dalam hal sensitivitas, relatif cepat, biaya operasional lebih murah, dan mudah dalam perlakuannya (Navarra dkk., 2017).

Verifikasi metode analisis merupakan penilaian apakah metode dapat digunakan untuk tujuan yang dimaksud dalam kondisi penggunaan yang sesungguhnya. Parameter verifikasi metode analisis terdiri dari spesifisitas, linieritas, akurasi, dan presisi (USP, 2017c). Spesifisitas merupakan parameter yang menunjukkan bahwa metode dapat mengukur analit target dari zat yang berpotensi mengganggu (AOAC, 2013). Spesifisitas dapat diamati melalui panjang gelombang maksimum yang terdeteksi melalui spektrum pada spektrofotometri UV-Vis. Uji spesifisitas menunjukkan spektrum standar kafein menyerap pada panjang gelombang maksimum

275,20 nm, sampel profil terang pada panjang gelombang maksimum 271,80 nm, sampel profil coklat pada panjang gelombang maksimum 272,00 nm, dan sampel profil gelap pada panjang gelombang maksimum 275,60 nm. Selain itu, standar kafein dan sampel ketiga profil memiliki profil spektrum yang mirip yang dapat dilihat pada Gambar 5.3 dan Gambar 5.4. Kumar (2006) menyatakan bahwa batas pergeseran panjang gelombang maksimum adalah ± 20 nm. Jika dibandingkan dengan literatur AOAC (1995), panjang gelombang maksimum kafein adalah 276 nm sehingga panjang gelombang analisis yang diperoleh memiliki kemiripan dan tidak jauh berbeda. Hasil uji spesifisitas ini menandakan metode analisis yang digunakan memberikan respon secara spesifik terhadap kandungan analit (kafein) pada sampel.

Linieritas merupakan parameter yang menandakan metode dapat memberikan respon yang seimbang terhadap konsentrasi analit dalam sampel dalam rentang tertentu (USP, 2017b). Linieritas bertujuan untuk mengetahui peningkatan konsentrasi baku kafein akan sebanding (linear) dengan peningkatan absorbansinya melalui persamaan kurva baku yang didapatkan. *International Council for Harmonisation* (ICH) merekomendasikan penggunaan minimal lima konsentrasi untuk penentuan linieritas (USP, 2017b). Pada penelitian ini dilakukan pembuatan kurva baku sebanyak 2 kali, yaitu pertama dengan rentang konsentrasi 10 – 50 ppm dan kedua dengan rentang 5 - 40 ppm dalam waktu yang berbeda. Kurva baku konsentrasi 10 - 50 ppm dibuat terlebih dahulu bersamaan dengan proses ekstraksi sampel. Menurut Barwick (2003), penentuan kadar sampel dapat diperoleh dari persamaan kurva baku yang dibuat pada hari maupun kondisi yang sama saat pembuatan sampel. Kemudian pada hari yang berbeda,

dilakukan pembuatan kurva baku konsentrasi 5 – 40 ppm untuk melakukan uji akurasi presisi karena perkiraan konsentrasi hasil uji akurasi presisi dari konsentrasi 80% mendekati 10 ppm sehingga rentang konsentrasi dibuat lebih lebar dari konsentrasi 5 – 40 ppm supaya hasil uji mencakup rentang kerja. Konsentrasi standar ini harus berbeda dari yang digunakan untuk kurva kalibrasi dan harus disiapkan dari larutan stok standar yang berbeda (UNODC, 2009). Oleh karena itu, penentuan akurasi presisi menggunakan persamaan kurva baku konsentrasi 5 - 40 ppm sedangkan penentuan kadar sampel menggunakan persamaan kurva baku konsentrasi 10 - 50 ppm. Untuk uji linieritas, dapat digunakan salah satu dari persamaan kurva baku tersebut yang menghasilkan linieritas terbaik yaitu kurva baku konsentrasi 5 – 40 ppm dengan persamaan kurva baku $y = 0,0455x + 0,0527$ dan r^2 sebesar 0,9999 serta V_{xo} sebesar 0,9051%. Nilai ini memenuhi persyaratan linieritas yaitu nilai $r^2 > 0,99$ dan nilai $V_{xo} < 2\%$ (AOAC, 2002).

Akurasi merupakan parameter yang menandakan metode dapat memberikan kedekatan hasil uji dengan nilai sebenarnya sedangkan presisi merupakan parameter yang menandakan metode dapat memberikan kesesuaian hasil uji jika perlakuan dilakukan secara berulang pada beberapa sampel yang homogen (USP, 2017b). Akurasi dinyatakan dengan % perolehan kembali (% *recovery*) melalui perbandingan konsentrasi uji dengan konsentrasi sesungguhnya sedangkan presisi dinyatakan dalam standar deviasi relatif (% RSD) melalui perbandingan standar deviasi dengan rata-rata konsentrasi yang diperoleh. Tujuannya adalah untuk mendapatkan nilai yang representatif sehingga perlu dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. ICH merekomendasikan replikasi dilakukan minimum sembilan penentuan yang

mencakup rentang yang ditentukan yaitu tiga konsentrasi dan tiga replikasi dari setiap konsentrasi atau minimum enam penentuan pada konsentrasi 100% (USP, 2017b). Hasil uji akurasi dan presisi yaitu konsentrasi 80% dengan % *recovery* sebesar 98,6% dan % RSD sebesar 0,924%, konsentrasi 100% dengan % *recovery* sebesar 97,9% dan % RSD sebesar 1,05%, dan konsentrasi 120% dengan % *recovery* sebesar 99,6% dan % RSD sebesar 0,915%. Hasil ini memenuhi kriteria penerimaan uji akurasi dan presisi yang ditentukan AOAC (2013) yaitu % *recovery* dalam rentang 95 - 102% dan % RSD < 1,5% sehingga metode analisis dinyatakan dapat memberikan hasil yang akurat dan tepat.

LOD (*Limit of Detection*) bertujuan untuk menentukan jumlah terkecil analit pada sampel yang dapat dideteksi instrumen sedangkan LOQ (*Limit of Quantitation*) bertujuan untuk menentukan konsentrasi terkecil analit pada sampel yang terkuantitasi (USP, 2017b). Nilai LOD yang didapatkan pada penelitian ini yaitu 0,5702 ppm dan LOQ yaitu 1,9008 ppm. Hasil perolehan LOD dan LOQ tidak jauh berbeda dengan hasil perolehan LOD dan LOQ yang dilakukan Dobrinis dkk. (2013) yaitu 0,85 mg/L dan 1,52 mg/L.

Penetapan kadar kafein biji kopi robusta dalam masing-masing profil (terang, coklat, gelap) dilakukan dengan replikasi sebanyak 5 kali. Perolehan rata-rata kadar kafein dalam % b/b pada biji kopi robusta profil sangrai terang sebesar $8,19 \pm 0,389$, profil sangrai coklat sebesar $7,36 \pm 0,287$, dan profil sangrai gelap sebesar $5,65 \pm 0,105$. Hasil ini menunjukkan adanya penurunan kadar kafein dengan peningkatan suhu yang ditunjukkan melalui ketiga profil sangrai. Hal ini disebabkan karena terjadi berbagai reaksi kimia seperti sublimasi (Severini, 2018). Edvan dkk. (2016) melakukan analisis kadar kafein

berdasarkan variasi suhu sangrai (190°C, 200°C, 210°C) dan lama waktu sangrai (10, 16, 22 menit) yang menunjukkan penurunan kadar kafein kopi robusta pada 2 perlakuan tersebut. Selain itu, Hecimovic dkk. (2011) melakukan analisis kadar kafein kopi Cherry (robusta) dengan lama waktu sangrai konstan 10 menit tetapi pada 3 suhu sangrai yang berbeda dan diperoleh hasil kadar kafein sebesar $2,55 \pm 0,21$ pada suhu 185°C (*light*), $2,52 \pm 0,19$ pada suhu 195°C (*medium*), dan $2,37 \pm 0,13$ pada suhu 205°C (*dark*). Casal dkk. (2000) melakukan 2 model penelitian dalam analisis kadar kafein biji kopi arabika Brasil dan biji kopi robusta Ivory Coast. Model pertama dilakukan variasi suhu sangrai dalam rentang 140 - 240°C dengan lama waktu sangrai konstan selama 15 menit dan menunjukkan penurunan kadar kafein dari 22,12 mg/kg menjadi 19,25 mg/kg. Model kedua dilakukan variasi lama waktu penyangraian (5, 8, 12, 15, 20 menit) dengan suhu penyangraian konstan 240°C dan menunjukkan sedikit penurunan kadar kafein setelah 10 menit penyangraian (Casal dkk., 2000). Berdasarkan beberapa penelitian ini, diketahui bahwa terdapat pengaruh suhu dan lama waktu sangrai terhadap kadar kafein. Walaupun kafein bersifat *heat stable* namun sublimasi mungkin terjadi pada tingkat suhu yang lebih tinggi ketika suhu sublimasinya tercapai (185°C). Degradasi senyawa kimia dalam biji kopi memerlukan beberapa waktu untuk mulai bereaksi (Casal dkk., 2000). Secara umum, suhu proses penyangraian berkisar antara 200 hingga 230°C, dan waktu proses berkisar antara 12 hingga 20 menit. Namun, nilai-nilai ini dapat sangat bervariasi tergantung pada tingkat sangrai yang dibutuhkan (*light, medium, dark*) maupun jenis alat *roasting* yang digunakan (Jokanovic dkk., 2012). Menurut Badan Standarisasi Nasional (2004) dalam SNI 01-3542-2004, syarat mutu

kafein dalam kopi bubuk berada pada rentang 0,45 - 2 % b/b. Kadar kafein dalam masing-masing sampel berada diatas persyaratan yang seharusnya. Perolehan kadar kafein yang tinggi dapat disebabkan karena kandungan kafein dari kopi hijau (*green bean*) sangat bervariasi pada spesies yang berbeda maupun dalam satu spesies (Belay, 2011). Menurut Belitz dkk. (2009) kandungan kafein dalam biji kopi robusta hijau dapat mencapai 4%. Varietas biji kopi dapat mempengaruhi kadar kafein yang terkandung didalamnya misalnya kadar kafein kopi robusta yang tumbuh di Indonesia, Kamerun, maupun Vietnam akan berbeda. Hal ini dapat disebabkan oleh faktor lingkungan, iklim, dan pertanian serta faktor genetik terkait tingginya keragaman genotip robusta (Salces dkk., 2009). Skowron dkk. (2016) melakukan analisis kafein dalam biji kopi robusta dan arabika dari beberapa negara yaitu Vietnam, India, Indonesia, Laos, Brasil, China, Rwanda, dan Uganda dengan menggunakan HPLC dan diperoleh kandungan kafein robusta dua kali lebih banyak daripada arabika serta kandungan kafein tertinggi dimiliki oleh kopi robusta Indonesia sebesar 8,17%. Selain itu, teknik ekstraksi sederhana dengan pelarut tidak dapat sepenuhnya menghilangkan gangguan yang mungkin terjadi dengan spektrum kafein yaitu kompleks asam klorogenat dengan kafein (Belay dkk., 2008). Kompleks ikatan asam klorogenat dan kafein diperkirakan disebabkan oleh gugus karboksilat, hidroksil dan melalui ikatan hidrogen (Belay dkk., 2015). Navarra dkk. (2017) menyatakan bahwa spektrum serapan ekstrak kopi hijau yang diperoleh pada suhu 25°C dalam rentang 220 - 400 nm terjadi *overlapping* senyawa kafein dan asam klorogenat (Navarra dkk., 2017). Oleh karena itu, tidak dilakukan pengontrolan lama waktu sangrai sampel menjadi faktor penting yang dapat

mempengaruhi perolehan kadar kafein sehingga hasil kadar kafein yang diperoleh tinggi. Namun demikian, metode spektrofotometri UV-Visible dengan HPLC menghasilkan kadar yang tidak berbeda makna dalam penelitian yang dilakukan oleh Navarra dkk. (2017).

Data kadar kafein yang diperoleh selanjutnya diuji secara statistik menggunakan uji beda nyata *One-Way Analysis of Variance* (ANOVA). Sebelum uji ANOVA, dilakukan terlebih dahulu uji normalitas dan uji homogenitas yang digunakan untuk mengetahui distribusi data normal dan varians data homogen sebagai persyaratan uji parametrik. Uji normalitas menghasilkan nilai signifikansi $p > 0,05$ dengan rincian profil sangrai terang $p = 0,512$, profil sangrai coklat $p = 0,340$, dan profil sangrai gelap $p = 0,902$. Hasil ini menunjukkan bahwa data terdistribusi normal. Uji homogenitas memiliki nilai signifikansi $p = 0,207$ yang juga memenuhi persyaratan homogenitas yaitu $p > 0,05$, sehingga menunjukkan varians data homogen. Dengan terpenuhinya kedua persyaratan uji parametrik ini, dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA untuk mengetahui adanya perbedaan bermakna secara statistik kadar kafein biji kopi robusta di dalam tiga profil sangrai. Uji ANOVA memiliki nilai signifikansi $p = 0,000$ yang memenuhi persyaratan adanya perbedaan bermakna yaitu $p < 0,05$ sehingga terdapat perbedaan kadar kafein biji kopi robusta yang disangrai berdasarkan profil sangrai terang, coklat dan gelap. Setelah itu, dilakukan uji *Post Hoc Tukey* untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda makna dan hasil didapatkan memenuhi persyaratan dengan nilai signifikansi $p < 0,05$ yang berarti perlakuan sangrai terang, coklat, dan gelap akan menghasilkan kadar kafein yang berbeda secara signifikan.

6.2 Implikasi Penelitian

Penelitian ini dapat dikembangkan menjadi sebuah rekomendasi terhadap pihak produsen biji kopi maupun pengusaha kedai kopi untuk menyediakan kopi yang berkualitas baik di masyarakat dengan mempertimbangkan kandungan kafein yang terkandung didalamnya yang merujuk pada syarat mutu kafein dalam kopi bubuk berdasarkan SNI 01-3542-2004 yaitu 0,45-2% b/b sehingga dapat terjamin mutu dan keamanannya bagi kesehatan.

6.3 Keterbatasan Penelitian

Keterbatasan dalam penelitian adalah terdapat variabel lain pada kondisi penyangraian yang dapat mempengaruhi kadar kafein biji kopi robusta yang diperoleh, yaitu lama waktu penyangraian.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik kadar kafein biji kopi robusta (*Coffea canephora*) di Kecamatan Dampit, Kabupaten Malang yang disangrai berdasarkan profil terang, coklat, dan gelap dengan perolehan %b/b secara berurutan yaitu $8,19 \pm 0,389$, $7,36 \pm 0,287$, dan $5,65 \pm 0,105$.
2. Kadar kafein biji kopi robusta di Kecamatan Dampit, Kabupaten Malang tidak memenuhi syarat mutu kafein dalam kopi bubuk berdasarkan SNI 01-3542-2004 karena berada diluar rentang 0,45 - 2 %b/b.

7.2 Saran

Saran yang dapat diberikan melalui penelitian ini antara lain:

1. Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut terkait variabel lain pada kondisi penyangraian yang dapat memberikan pengaruh terhadap kadar kafein dalam biji kopi seperti lamanya waktu penyangraian.
2. Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut dengan melihat perbandingan hasil penetapan kadar kafein dalam biji kopi menggunakan metode spektrofotometri UV-Visible dan HPLC.

DAFTAR PUSTAKA

- Asni N. dan Meilin A., 2015, Teknologi Penanganan Pascapanen dan Pengolahan Hasil Kopi Liberika Tungkal Komposit (LIBTIKOM), Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Jambi, Jambi.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC), 1995. *Caffeine in Roasted Coffee, Chromatographic-Spectrophotometric method*. 979.11.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC), 2002. AOAC International Methods Committee Guidelines for Validation of Qualitative and Quantitative Official Methods of Analysis. AOAC International. USA.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC), 2013, Guideline for dietary supplements and botanicals. Association of Official Analytical Chemists,3-9.
- Asosiasi Eksportir Kopi Indonesia (AEKI), 2016, Konsumsi Kopi Indonesia, (Online), (<http://aeki-aice.org>, diakses pada 27 September 2018).
- Badan Pusat Statistik (BPS), 2016. *Luas dan Produksi Kopi Robusta Rakyat Menurut Kecamatan Di Kabupaten Malang*, Kabupaten Malang.
- Badan Pusat Statistik (BPS), 2018, *Produksi Perkebunan Kopi Menurut Kabupaten/Kota di Jawa Timur Tahun 2006-2017*, Jawa Timur.
- Badan Standarisasi Nasional (BSN), 2004, *SNI 01-3542-2004 Kopi Bubuk*, Jakarta.
- Barwick V., 2003, *Preparation of Calibration Curves: A Guide to Best Practice*, LGC Limited, UK.
- Belay A., Ture K., Redi M., Asfaw A., Measurement of Caffeine in Coffee Beans with UV/Vis Spectrometer, *Food Chemistry*, 2008, 108: 310-315.

- Belay A., Some Biochemical Compounds in Coffee beans and Methods Developed for Their Analysis, *International Journal of the Physical Sciences*, 2011, 6 (28): 6373-6378.
- Belay A., Kim H. K., Hwang Y. H., Binding of caffeine with caffeic acid and chlorogenic acid using fluorescence quenching, UV/vis and FTIR spectroscopic techniques, *The Journal of Biological and Chemical Luminescence*, 2015, 31: 565-572.
- Belitz H.D., Grosch W., Schieberle P., 2009, *Food Chemistry*, 4th Ed., Springer-Verlag, Berlin. p. 938-70.
- Casal S., Oliveira M. B., Ferreira M. A., HPLC/Diode-Array Applied to The Thermal Degradation of Trigonelline, Nicotinic Acid and Caffeine in Coffee, *Food Chemistry*, 2000, 68: 481-485.
- Christian G. D., Dasgupta P. K., Schug H. A., 2014, *Analytical Chemistry*, 7th Ed., John Wiley & Sons, Inc., USA.
- Chu, Yi-Fang, 2012, *Coffee: Emerging Health Effects and Disease Prevention*, 1st Ed., John Wiley & Sons, Inc., USA.
- Clarke R. J. dan Macrae R., 1985, *Coffee: Chemistry*, Vol. 1, Elsevier Science Publisher Ltd, England..
- Dachriyanus, 2004, *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*, Andalas University Press, Padang.
- Demissie E. G., Girma W. W., Arayaselassie A., UV/Vis Spectrometer Determination of Caffeine in Green Coffee Beans From Hararghe, Ethiopia, Using Beer-Lambert's and Integrated Absorption Coefficient Techniques, *Scientific Studi & Research*, 2016, 17 (2): 109-123.

- Depkes, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Ditjen POM, Jakarta, 9-12.
- Ditjen Perkebunan, 2016, *Statistik Perkebunan Indonesia Tahun 2015-2017: Kopi*, Direktorat Jendral Perkebunan, Jakarta.
- Dobrinas S., Soceanu A., Popescu V., Stanciu G., Smalberger S., Optimization of a UV-Vis Spectrometric Method for Caffeine Analysis in Tea, Coffee, and Other Beverages, *Scientific Studi & Research*, 2013, 14 (2): 71-78.
- Edvan B. T., Rachmad E., Made S., Pengaruh Jenis dan Lama Penyangraian pada Mutu Kopi Robusta (*Coffea robusta*), *Jurnal Agro Industri Perkebunan*, 2016, 4 (1): 31-40.
- Gebeyehu B. T. and Solomon L. B, Determination of Caffeine Content and Antioxidant Activity of Coffee, *American Journal of Applied Chemistry*, 2015, 3 (2): 69-76.
- Hecimovic I., Ana B.C., Dunja H., Drazenka K., Comparative Study of Polyphenols and Caffeine in Different Coffee Varieties Affected by The Degree of Roasting, *Food Chemistry*, 2011, 129: 991-1000.
- Hernandez J. A., B. Heyd, Irlas C., Trystram G., Color (Gray-Level) Estimation During Coffee Roasting, *European Congress of Chemical Engineering*, 2007, 1-15.
- Icen H. dan Guru M., Extraction of Caffeine From Tea Stalk and Fiber Wastes Using Supercritical Carbon Dioxide, 2009, *Journal of Supercritical Fluids*, 50 (3):225–228.
- Ingrouille K., 2013, *Effect of Caffeinated Beverages Upon Breakfast Meal Consumption of University of Wisconsin-Stout Undergraduate Students*, Thesis (M. Sc.), University of Wisconsin-Stout's.

Jokanovic M. R., Dzinic N. R., Cvetkovic B. R., Grujic S., Odzakovic B., Changes of Physical Properties of Coffee Beans During Roasting, *APTEFF*, 2012, 43: 21-31.

Kementerian Pertanian, 2016, *Outlook Kopi*, Kementerian Pertanian, Jakarta.

Kristian J., Zain S., Nurjanah S., Widyasanti A., Putri S. H., Pengaruh Lama Ekstraksi terhadap Rendemen dan Mutu Minyak Bunga Melati Putih menggunakan Metode Ekstraksi Pelarut Menguap (*Solvent Extraction*), *Jurnal Teknotan*, 2016, 10 (2): 34-43.

Kumar S., 2006, *Spectroscopy of Organic Compounds*, Guru Nanak Dev University, India.

Lesley S, 2002, *The Molecular World. Separation, Purification, and Identification*, The Open University, Cambridge.

Lyman D. J., Benck R., Dell S., Merle S., Wijelath, J. M., FTIR-ATR Analysis Of Brewed Coffee: Effect of Roasting Conditions, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51 (11): 3268-3272.

Maramis R.K., Gayatri C., Frenly W., Analisis Kafein Dalam Kopi Bubuk di Kota Manado Menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis, *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2013, 2 (4): 122-128.

Martono B. dan Udarno L., Kandungan Kafein dan Karakteristik Morfologi Pucuk Enam Genotipe Teh, *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar*, 2015, 2 (2): 69-76.

Material Safety Data Sheet (MSDS), 2010, *Chloroform*, Fisher Scientific, USA.

Material Safety Data Sheet (MSDS), 2013, *Methylene Chloride*, Sciencelab.com, Inc., Texas.

- Misra H., Mehta D., Mehta B.K., Soni M., Jain D.C., Study of Extraction and HPTLC-UV Method For Estimation of Caffeine In Marketed Tea (*Camellia Sinensis*) Granules, *International Journal of Green Pharmacy*, 2009, 3: 47–51.
- Monteiro J. O., Alves M. G., Oliveira P. F., Silva B. M., Structure-Bioactivity Relationships of Methylxanthines: Trying to Make Sense of All the Promises and the Drawbacks, *Molecules*, 2016, 21: 1-32.
- Navarra, G., M. Moschetti., V. Guarrasi., M. R. Mangione., V. Militello., M. Leone, Simultaneous Determination of Caffeine and Chlorogenic Acids in Green Coffee by UV/Vis Spectroscopy, *Journal of Chemistry*, 2017, 1-8.
- Nugroho J., Juliaty L., Sri R., *Pengaruh Suhu dan Lama Penyangraian terhadap Sifat Fisik-Mekanis Biji Kopi Robusta*, Makalah disajikan dalam Seminar Nasional dan Gelar Teknologi, PERTETA, Mataram, 8 - 9 Agustus 2009.
- Prastowo B., Kamawati E., Rubijo, Siswanto, Indrawanto C., Munarso S. J., 2010, *Budidaya dan Pasca Panen Kopi*, Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan, Bogor.
- Preedy V. R., 2015, *Coffee in Health and Disease Prevention*, Elsevier Inc., London.
- Purwanto E. H., Rubiyo, Towaha J., Karakteristik Mutu dan Citarasa Kopi Robusta Klon BP 42, BP 358 dan BP 308 Asal Bali dan Lampung, *SIRINOV*, 2015, 3 (2): 67-74.
- Salces R. M. A., Serra F., Raniero F., Heberger K., Botanical and Geographical Characterization of Green Coffee (*Coffea arabica* and *Coffea canephora*): Chemometric Evaluation of Phenolic and Methylxanthine Contents, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57: 4224-4235.

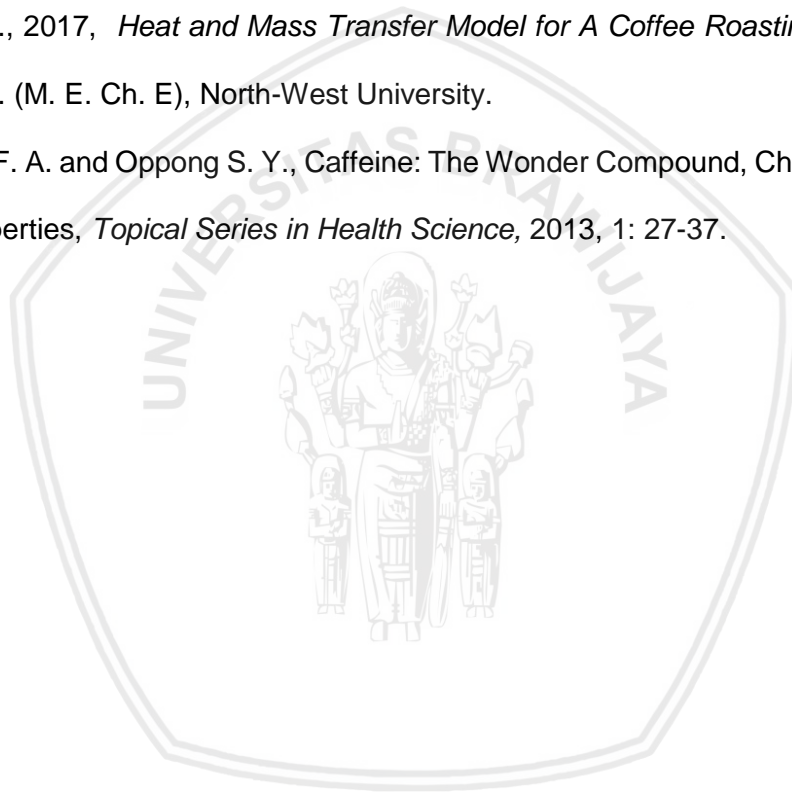
- Severini C., Antonio D., Ilde R., Rossella C., Anna F., Roasting Conditions, Grinding Level and Brewing Method Highly Affect the Healthy Benefits of A Coffee Cup, *International Journal of Clinical Nutrition & Dietetics*, 2018, 4: 1-6.
- Shinde R.R. and Shinde N. H., Extraction of Caffeine from Coffee and Preparation of Anacin Drug, *International Journal of Engineering Research and Technology*, 2017, 10 (1): 236-239.
- Skowron M. J., Sentkowska Aleksandra, Pyszynska K., Pena M. P. D., Chlorogenic Acids, Caffeine Content and Antioxidant Properties of Green Coffee Extracts: Influence of Green Coffee Bean Preparation, *European Food Research and Technology*, 2016, 242, 1403-1409.
- Snyder, L.R., Kirkland, J. J., Dolan, J.W., 2010, *Introduction to Modern Liquid Chromatography*, John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Suhartati T., 2017, *Dasar-Dasar Spektrofotometri UV-Vis dan Spektrofotometri Massa untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*, Aura, Bandar Lampung.
- Surahman, Rachmat M., Supardi S., 2016, *Metodologi Penelitian*, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Union Place Coffee Roasters, 2016, *Different Shades of Coffee*, (Online), (<https://unionplacecoffeeroasters.com/different-shades-of-coffee/>, diakses pada 12 September 2018).
- United States Pharmacopeia (USP), 2017a, USP 40-NF 35, Residual Solvent, MD: U.S. Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville.
- United States Pharmacopeia (USP), 2017b, First Supplement to USP 40-NF 35, Validation of Compendial Procedures, MD: U.S. Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville.

United States Pharmacopeia (USP), 2017c, Verification of Compendial Procedures, MD: U.S. Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville.

United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC), 2009, *Guidance for the Validation of Analytical Methodology and Calibration of Equipment used for Testing of Illicit Drugs in Seized Materials and Biological Specimens*, United Nations, New York.

Vosloo J., 2017, *Heat and Mass Transfer Model for A Coffee Roasting Process*, Diss. (M. E. Ch. E), North-West University.

Yeboah F. A. and Opong S. Y., Caffeine: The Wonder Compound, Chemistry and Properties, *Topical Series in Health Science*, 2013, 1: 27-37.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Penyangraian Biji Kopi



(1)



(2)



(3)



(4)



(5)



(6)



(7)



(8)

Keterangan:

Gambar 1. Biji kopi robusta hijau

Gambar 2. Suhu sangrai profil terang (hingga 180°C)

Gambar 3. Suhu sangrai profil coklat (hingga 210°C)

Gambar 4. Suhu sangrai profil gelap (hingga 240°C)

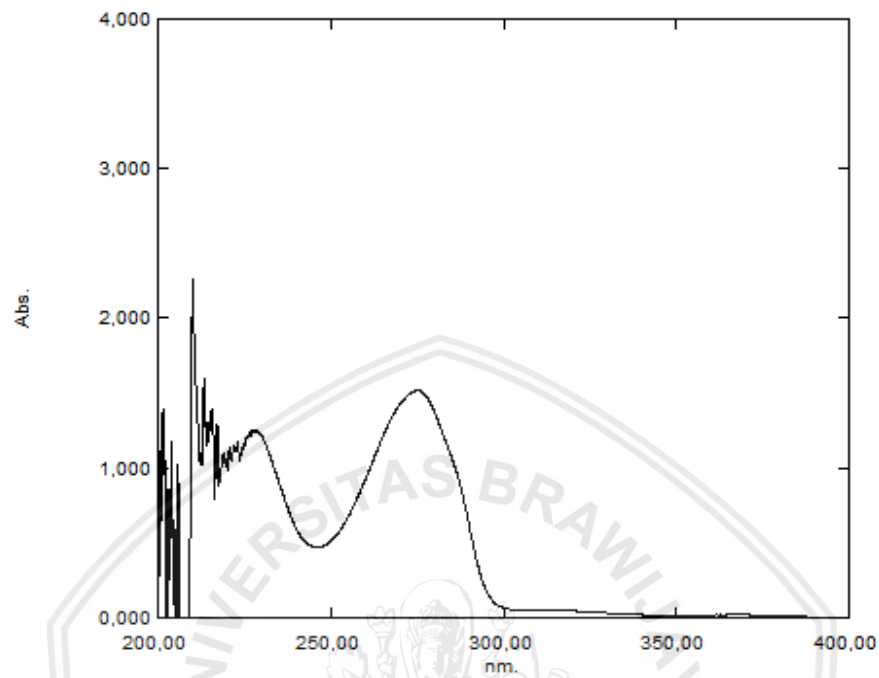
Gambar 5. Biji kopi robusta profil sangrai terang

Gambar 6. Biji kopi robusta profil sangrai coklat

Gambar 7. Biji kopi robusta profil sangrai gelap

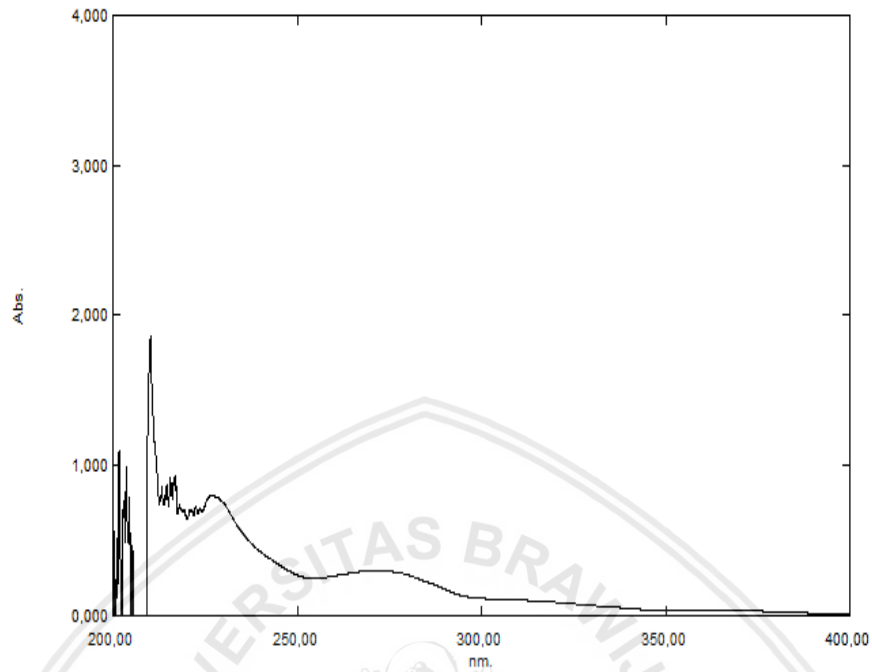
Gambar 8. Penggilingan biji kopi menjadi bubuk

Lampiran 2. Data Uji Spesifisitas



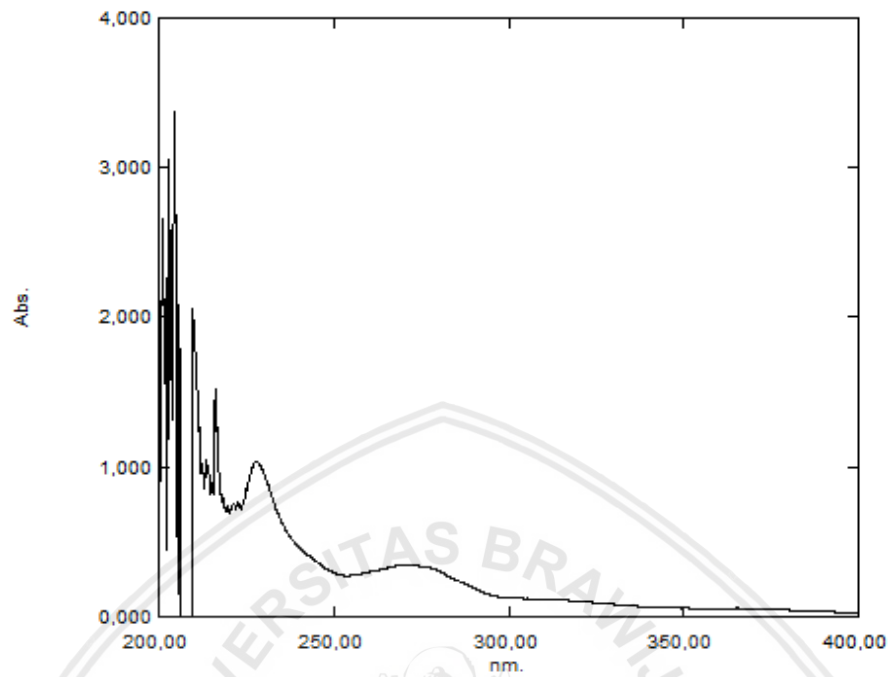
No.	P/V	Wavelength nm.	Abs.
1	↑	365,10	0,022
2	↑	312,00	0,051
3	↑	305,30	0,054
4	↑	275,20	1,519
5	↑	228,20	1,257
6	↑	223,10	1,172
7	↑	219,10	1,101
8	↑	213,70	1,598
9	↑	210,20	2,268
10	↑	203,80	1,176
11	↓	364,50	0,018
12	↓	342,10	0,014
13	↓	304,90	0,053
14	↓	246,20	0,472
15	↓	223,70	1,049
16	↓	220,00	0,989
17	↓	216,50	0,790
18	↓	212,20	1,019
19	↓	207,70	-4,000

Gambar 1. Spektrum Standar Konsentrasi 30 ppm



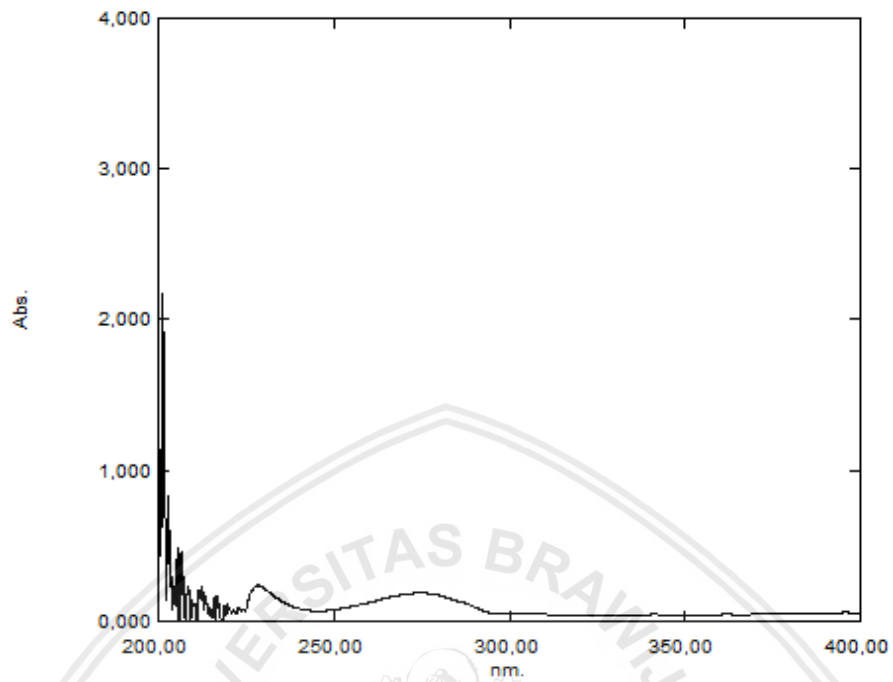
No.	P/V	Wavelength	Abs.
1	↑	365,10	0,040
2	↑	305,30	0,110
3	↑	271,80	0,301
4	↑	226,80	0,805
5	↑	222,50	0,728
6	↑	221,30	0,708
7	↑	218,20	0,735
8	↑	216,90	0,930
9	↑	210,20	1,867
10	↑	203,70	0,987
11	↓	364,20	0,036
12	↓	304,80	0,109
13	↓	254,70	0,249
14	↓	224,30	0,691
15	↓	221,80	0,664
16	↓	220,10	0,639
17	↓	217,60	0,683
18	↓	215,00	0,726
19	↓	207,70	-4,000
20	↓	202,20	-0,257

Gambar 2. Spektrum Sampel Profil Terang



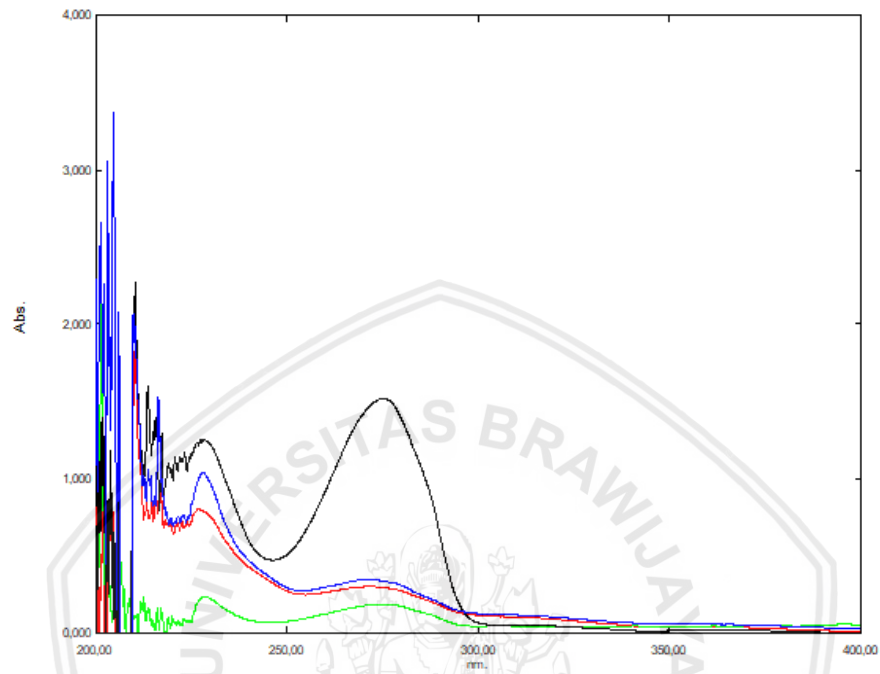
No.	P/V	Wavelength	Abs.
1	↑	365,30	0,058
2	↑	305,40	0,121
3	↑	272,00	0,346
4	↑	271,20	0,346
5	↑	227,70	1,041
6	↑	221,30	0,754
7	↑	216,20	1,524
8	↑	212,50	1,017
9	↑	209,80	2,062
10	↑	205,80	2,078
11	↑	204,50	3,368
12	↑	201,10	2,659
13	↓	364,50	0,055
14	↓	304,80	0,120
15	↓	254,20	0,274
16	↓	223,50	0,711
17	↓	220,10	0,696
18	↓	213,00	0,854
19	↓	212,10	0,953
20	↓	207,70	-4,000
21	↓	205,40	0,148
22	↓	202,40	0,447

Gambar 3. Spektrum Sampel Profil Cokelat

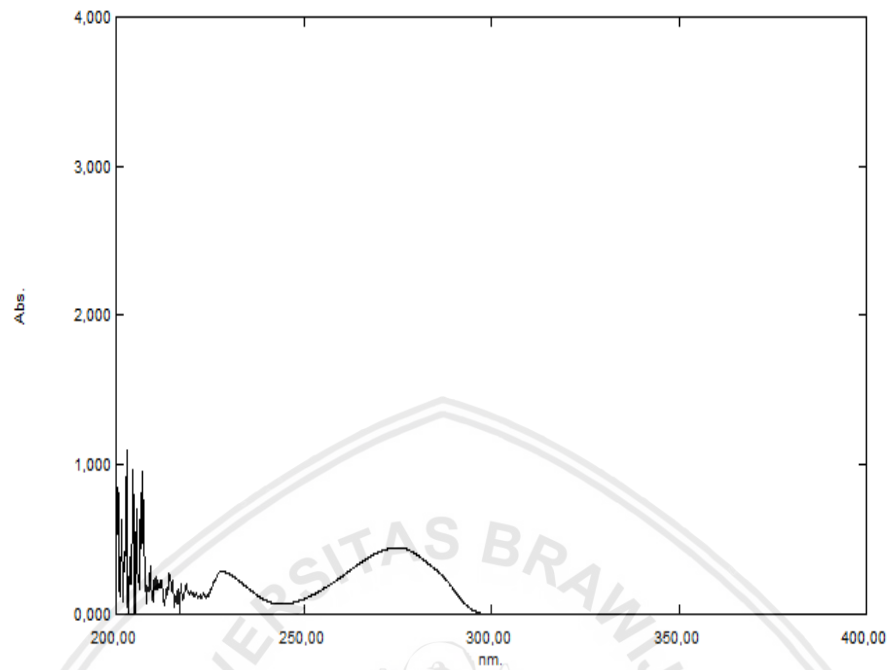


No.	P/V	Wavelength	Abs.
1	●	395,50	0,058
2	●	374,60	0,054
3	●	365,10	0,043
4	●	362,00	0,046
5	●	347,00	0,044
6	●	340,30	0,049
7	●	332,80	0,044
8	●	326,40	0,044
9	●	305,30	0,052
10	●	275,60	0,186
11	●	273,80	0,186
12	●	228,10	0,238
13	●	222,90	0,093
14	●	218,90	0,099
15	●	217,00	0,163
16	●	208,70	0,225
17	●	201,30	2,177
18	●	383,40	0,045
19	●	366,70	0,041
20	●	364,60	0,041
21	●	350,00	0,041
22	●	344,00	0,043
23	●	339,70	0,040
24	●	337,40	0,039

Gambar 4. Spektrum Sampel Profil Gelap

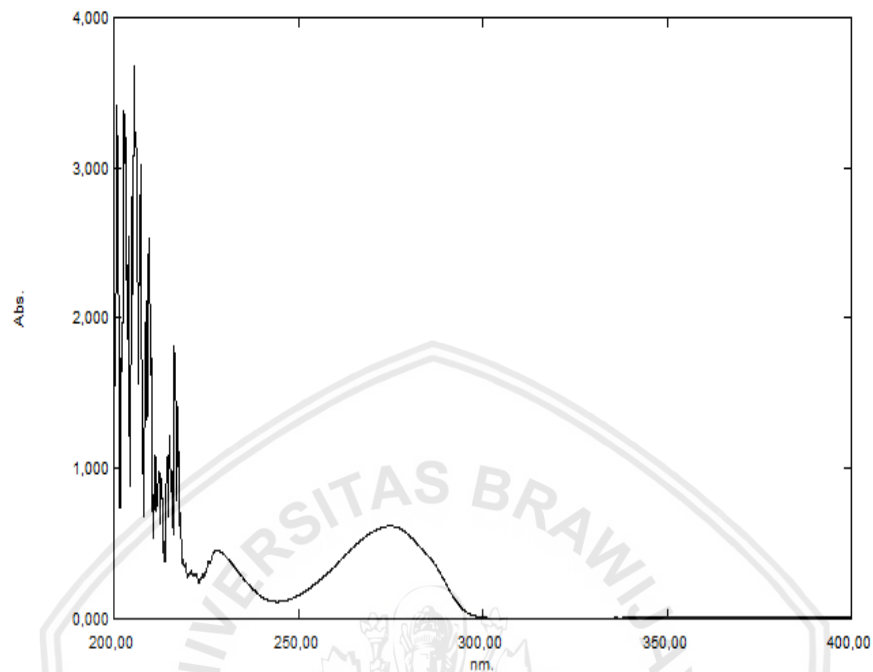


Gambar 5. Spektrum Gabungan dari Standar Kafein (Hitam), Profil Terang (Merah), Profil Cokelat (Biru), Profil Gelap (Hijau)



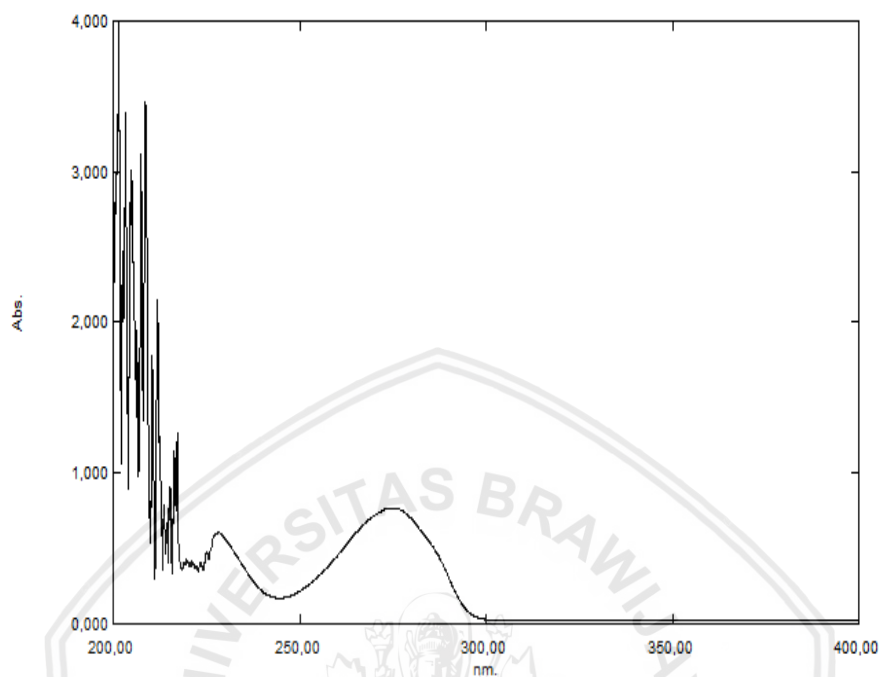
No.	P/V	Wavelength	Abs.
1	↑	365,10	-0,000
2	↑	305,30	-0,008
3	↑	275,00	0,446
4	↑	227,90	0,286
5	↑	223,30	0,144
6	↑	218,80	0,206
7	↑	214,20	0,273
8	↑	207,10	0,950
9	↑	204,40	0,968
10	↑	200,40	0,853
11	↓	364,50	-0,002
12	↓	305,90	-0,010
13	↓	303,10	-0,009
14	↓	243,90	0,069
15	↓	223,90	0,102
16	↓	221,80	0,106
17	↓	216,90	0,008
18	↓	212,90	0,062
19	↓	204,90	-0,015
20	↓	203,30	-0,010

Gambar 6. Spektrum Standar Kafein Konsentrasi 80%



No.	P/V	Wavelength	Abs.
1	⬆	305,30	0,005
2	⬆	275,00	0,617
3	⬆	228,00	0,459
4	⬆	225,60	0,380
5	⬆	220,90	0,325
6	⬆	216,40	1,812
7	⬆	214,30	1,073
8	⬆	209,60	2,537
9	⬆	207,20	3,023
10	⬆	205,50	3,676
11	⬆	202,70	3,382
12	⬆	200,90	3,420
13	⬇	364,50	0,009
14	⬇	305,90	-0,000
15	⬇	244,10	0,113
16	⬇	226,00	0,365
17	⬇	223,00	0,234
18	⬇	220,00	0,274
19	⬇	214,70	0,683
20	⬇	210,60	0,539
21	⬇	208,10	0,680
22	⬇	206,60	1,559
23	⬇	204,40	0,887
24	⬇	201,70	0,742

Gambar 7. Spektrum Standar Kafein Konsentrasi 100%



No.	P/V	Wavelength	Abs.
1	⬆️	365,10	0,021
2	⬆️	363,80	0,021
3	⬆️	305,40	0,022
4	⬆️	274,90	0,769
5	⬆️	228,10	0,604
6	⬆️	225,10	0,482
7	⬆️	211,90	2,147
8	⬆️	208,60	3,464
9	⬆️	207,40	3,119
10	⬆️	204,80	3,013
11	⬆️	203,40	3,385
12	⬆️	201,50	4,000
13	⬇️	364,50	0,019
14	⬇️	305,90	0,020
15	⬇️	304,80	0,021
16	⬇️	244,70	0,170
17	⬇️	225,70	0,427
18	⬇️	222,80	0,343
19	⬇️	211,00	0,296
20	⬇️	208,20	1,352
21	⬇️	206,80	0,981
22	⬇️	204,00	0,896
23	⬇️	202,10	1,062

Gambar 8. Spektrum Standar Kafein Konsentrasi 120%

Lampiran 3. Data Absorbansi

Tabel 1. Absorbansi Standar Kafein Konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50 ppm

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL275,20	Comments
1	001_0001	Unknown		0,000	0,482	imported from UV-1800
2	002_0002	Unknown		0,000	0,979	imported from UV-1800
3	003_0003	Unknown		0,000	1,426	imported from UV-1800
4	004_0004	Unknown		0,000	1,892	imported from UV-1800
5	005_0005	Unknown		0,000	2,291	imported from UV-1800

Tabel 2. Absorbansi Sampel Profil Terang Replikasi 1 - 5

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL275,20	Comments
1	001_0001	Unknown		0,000	0,528	imported from UV-1800
2	002_0002	Unknown		0,000	0,502	imported from UV-1800
3	003_0003	Unknown		0,000	0,558	imported from UV-1800
4	004_0004	Unknown		0,000	0,509	imported from UV-1800
5	005_0005	Unknown		0,000	0,519	imported from UV-1800

Tabel 3. Absorbansi Sampel Profil Cokelat Replikasi 1 - 5

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL275,20	Comments
1	001_0001	Unknown		0,000	0,484	imported from UV-1800
2	002_0002	Unknown		0,000	0,446	imported from UV-1800
3	003_0003	Unknown		0,000	0,477	imported from UV-1800
4	004_0004	Unknown		0,000	0,488	imported from UV-1800
5	005_0005	Unknown		0,000	0,472	imported from UV-1800

Tabel 4. Absorbansi Sampel Profil Gelap Replikasi 1 - 5

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL275,20	Comments
1	001_0001	Unknown		0,000	0,382	imported from UV-1800
2	002_0002	Unknown		0,000	0,373	imported from UV-1800
3	003_0003	Unknown		0,000	0,379	imported from UV-1800
4	004_0004	Unknown		0,000	0,374	imported from UV-1800
5	005_0005	Unknown		0,000	0,366	imported from UV-1800

Tabel 5. Absorbansi Standar Kafein Konsentrasi 5, 10, 20, 30, 40 ppm

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL275,20	Comments
1	001_0001	Unknown		0,000	0,282	imported from UV-1800
2	002_0002	Unknown		0,000	0,503	imported from UV-1800
3	003_0003	Unknown		0,000	0,972	imported from UV-1800
4	004_0004	Unknown		0,000	1,408	imported from UV-1800
5	005_0005	Unknown		0,000	1,877	imported from UV-1800

Tabel 6. Absorbansi Standar Kafein Konsentrasi 80%

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL275,20	Comments
1	001_0001	Unknown		0,000	0,500	imported from UV-1800
2	002_0002	Unknown		0,000	0,508	imported from UV-1800
3	003_0003	Unknown		0,000	0,502	imported from UV-1800

Tabel 7. Absorbansi Standar Kafein Konsentrasi 100%

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL275,20	Comments
1	001_0001	Unknown		0,000	0,605	imported from UV-1800
2	002_0002	Unknown		0,000	0,614	imported from UV-1800
3	003_0003	Unknown		0,000	0,616	imported from UV-1800

Tabel 8. Absorbansi Standar Kafein Konsentrasi 120%

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL275,20	Comments
1	001_0001	Unknown		0,000	0,737	imported from UV-1800
2	002_0002	Unknown		0,000	0,728	imported from UV-1800
3	003_0003	Unknown		0,000	0,740	imported from UV-1800

Lampiran 4. Data Kadar Kafein Sampel Biji Kopi Robusta

Tabel 9. Standar Kafein Konsentrasi 10, 20, 30, 40 dan 50 ppm

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (y)	Persamaan Kurva Baku ($y = bx + a$)	r^2
10	0,482	$y = 0,0453x + 0,0547$	0,9987
20	0,979		
30	1,426		
40	1,892		
50	2,291		

Tabel 10. Hasil Perhitungan Kadar Kafein Sampel Biji Kopi Robusta

No	Profil Sangrai Sampel	Berat Sampel (g)	Absorbansi (y)	Konsentrasi (ppm)	Kadar (%b/b)	Rata-Rata Kadar (%b/b)
1	Terang	0,0506	0,528	10,4	8,26	8,19 ± 0,389
		0,0506	0,502	9,87	7,81	
		0,0504	0,558	11,1	8,82	
		0,0504	0,509	10,0	7,96	
		0,0505	0,519	10,2	8,12	
2	Cokelat	0,0502	0,484	9,48	7,55	7,36 ± 0,287
		0,0501	0,446	8,64	6,90	
		0,0501	0,477	9,32	7,44	
		0,0502	0,488	9,57	7,62	
		0,0504	0,472	9,21	7,31	
3	Gelap	0,0500	0,382	7,23	5,78	5,65 ± 0,105
		0,0500	0,373	7,03	5,62	
		0,0502	0,379	7,16	5,70	
		0,0501	0,374	7,05	5,63	
		0,0500	0,366	6,87	5,50	

Contoh perhitungan konsentrasi (ppm) melalui persamaan linier:

$$y = 0,0453 (x) + 0,0547$$

$$0,528 = 0,0453 (x) + 0,0547$$

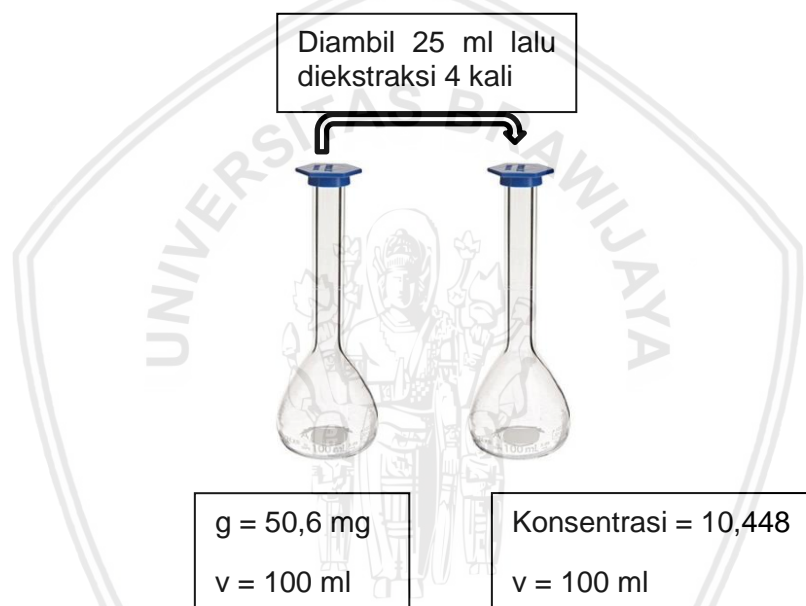
$$0,528 - 0,0547 = 0,0453 (x)$$

$$0,4733 = 0,0453 (x)$$

$$\frac{0,4733}{0,0453} = x$$

$$x = 10,448 \text{ ppm}$$

Contoh perhitungan kadar kafein sampel biji kopi robusta:



V1 = Volume Awal

M1 = Konsentrasi Awal

V2 = Volume Akhir

M2 = Konsentrasi Akhir

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$25 \text{ ml} \times M1 = 100 \text{ ml} \times 10,448 \text{ ppm}$$

$$M1 = 41,792 \text{ ppm}$$

$$\frac{41,792 \mu\text{g}}{\text{ml}} = \frac{4179,2 \mu\text{g}}{100 \text{ ml}} = \frac{4,1792 \text{ mg}}{100 \text{ ml}}$$

$$\% \text{ b/b} = \frac{4,1792 \text{ mg}}{50,6 \text{ mg}} \times 100\%$$

$$= 8,259 \%$$

Lampiran 5. Linieritas

Tabel 11. Standar Kafein Konsentrasi 5, 10, 20, 30, dan 40 ppm

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (y)	yi	(y-yi)^2	Sy	Sxo	Vxo	LOD	LOQ
5	0,282	0,2802	0,000003					
10	0,503	0,5077	0,000022					
20	0,972	0,9627	0,000086	0,0086	0,1901	0,9051	0,5702	1,9008
30	1,408	1,4177	0,000094					
40	1,877	1,8727	0,000018					

Contoh perhitungan yi melalui persamaan linier:

$$y = 0,0455 (x) + 0,0527$$

$$y_i = 0,0455 (5) + 0,0527$$

$$y_i = 0,2802$$

- **Sy:**

$$S_y = \sqrt{\frac{\sum (y - y_i)^2}{N - 2}} = \sqrt{\frac{0,000224}{3}} = 0,0086$$

- **Sxo:**

$$S_{x0} = \frac{S_y}{b} = \frac{0,0086}{0,0455} = 0,1901$$

- **Vxo:**

$$V_{x0} = \frac{S_{x0}}{\bar{x}} \times 100\% = \frac{0,1901}{21} \times 100\% = 0,9051$$

- **LOD:**

$$LOD = \frac{3 \times SD}{b} = \frac{3 \times 0,0086}{0,0455} = 0,5702$$

- **LOQ:**

$$LOQ = \frac{10 \times SD}{b} = \frac{10 \times 0,0086}{0,0455} = 1,9008$$

Lampiran 6. Akurasi dan Presisi

Tabel 12. Tabel Akurasi dan Presisi

	Massa Kons.	Massa Teoritis (mg)	Absorbansi	Kons. Terukur (ppm)	Massa Terukur (mg)	% Rec.	Rata-Rata % Rec.	SD	%RSD
80%	4,02	0,500	9,83	3,93	97,9	98,6	0,092	0,924	
		0,508	10,0	4,00	99,7				
		0,502	9,88	3,95	98,4				
100%	5,02	0,605	12,1	4,86	96,7	97,9	0,129	1,05	
		0,614	12,3	4,94	98,3				
		0,616	12,4	4,95	98,7				
120%	6,02	0,737	15,0	6,02	99,9	99,6	0,137	0,915	
		0,728	14,8	5,94	98,6				
		0,740	15,1	6,04	100				

Contoh perhitungan konsentrasi (ppm) melalui persamaan linier:

$$y = 0,0455 (x) + 0,0527$$

$$0,500 = 0,0455 (x) + 0,0527$$

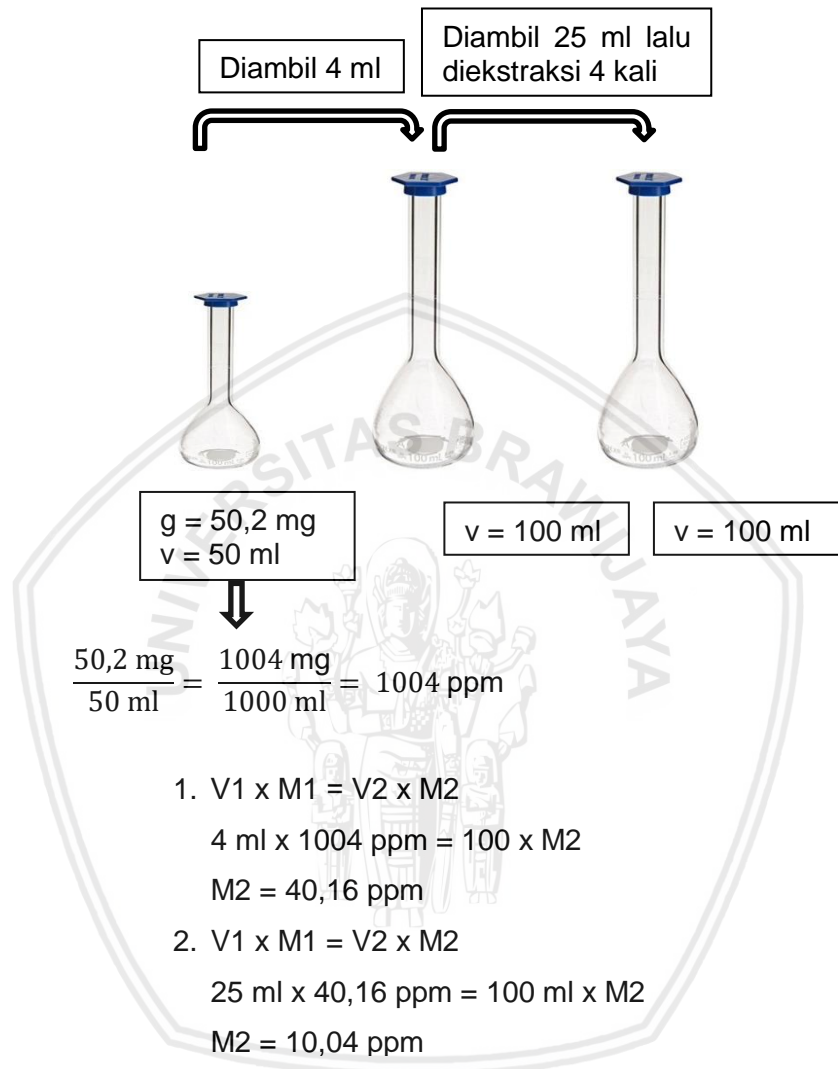
$$0,500 - 0,0527 = 0,0455 (x)$$

$$0,4473 = 0,0455 (x)$$

$$\frac{0,4473}{0,0455} = x$$

$$x = 9,831 \text{ ppm}$$

Contoh perhitungan % recovery, SD dan % RSD standar kafein menggunakan konsentrasi 80%:



- **%Recovery:**

$$\% \text{ Recovery} = \frac{9,831 \text{ ppm}}{10,04 \text{ ppm}} \times 100\% = 97,916 \%$$

- **SD:**

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n x_i - \bar{x}}{N - 1}} = \sqrt{\frac{0,017}{2}} = 0,092$$

- **% RSD:**

$$\% \text{ RSD} = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\% = \frac{0,092}{9,904} \times 100\% = 0,924 \%$$

Lampiran 7. Uji Statistik

Uji Normalitas

Tests of Normality

	kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
	terang	,232	5	,200 ⁺	,917	5	,512
kadar	cokelat	,226	5	,200 ⁺	,887	5	,340
	gelap	,205	5	,200 ⁺	,974	5	,902

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

kadar

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,798	2	12	,207

Uji One Way ANOVA

Descriptives

kadar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
terang	5	8,19200	,388949	,173943	7,70906	8,67494	7,806	8,818
cokelat	5	7,36480	,286648	,128193	7,00888	7,72072	6,897	7,622
gelap	5	5,64620	,105087	,046996	5,51572	5,77668	5,498	5,780
Total	15	7,06767	1,128934	,291489	6,44248	7,69285	5,498	8,818

ANOVA

kadar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	16,865	2	8,432	103,469	,000
Within Groups	,978	12	,081		
Total	17,843	14			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: kadar

Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
terang	cokelat	,827200*	,180552	,002	,34551	1,30889
	gelap	2,545800*	,180552	,000	2,06411	3,02749
cokelat	terang	-,827200*	,180552	,002	-1,30889	-,34551
	gelap	1,718600*	,180552	,000	1,23691	2,20029
gelap	terang	-2,545800*	,180552	,000	-3,02749	-2,06411
	cokelat	-1,718600*	,180552	,000	-2,20029	-1,23691

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

kadar

Tukey HSD

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
gelap	5	5,64620		
cokelat	5		7,36480	
terang	5			8,19200
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

Lampiran 8. Certificate of Analysis Caffeine

Certificate of Analysis

Apr 15, 2019 (JST)

TOKYO CHEMICAL INDUSTRY CO., LTD.
4-10-1 Nihonbashi-Honcho, Chuo-ku, Tokyo 103-0023 Japan

Chemical Name: Caffeine		
Product Number: C2042 CAS RN: 58-08-2	Lot: UKAMH	

Tests	Results	Specifications
Purity(HPLC)	100.0 area%	min. 98.0 area%
Purity(Nonaqueous Titration)	99.6 %	min. 98.0 %
Solubility in hot Methanol	transparency	almost transparency

TCI Lot numbers are 4-5 characters in length. Characters listed after the first 4-5 characters are control numbers for internal purpose only.
The contents of the specifications are subject to change without advance notice. The specification values displayed here are the most up to date values. There may be cases where the product labels display a different specification, however, the product quality still meets the latest specification.

Customer service:

TCI EUROPE N.V.
Tel: +32-3-735-0700
Fax: +32-3-735-0701
E-mail: Sales-EU@TCIchemicals.com

TCI Deutschland GmbH
Tel: +49 6196 64053-00
Fax: +49 6196 64053-01
E-mail: Sales-DE@TCIchemicals.com

Tokyo Chemical Industry UK Ltd
Tel: +44 1865 78 45 60
Fax: +44 1865 78 45 61
E-mail: Sales-UK@TCIchemicals.com



Ryo Ogawa
Quality Assurance Dep. Manager

