

**ANALISIS KADAR KAFEIN DALAM BIJI KOPI ROBUSTA
(*Coffea canephora*) DAERAH LERENG GUNUNG KAWI KABUPATEN
MALANG BERDASARKAN TIGA PROFIL SANGRAI (TERANG,
COKELAT, GELAP) DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi



Oleh:

Yuniati Elisabeth

NIM 155070501111035

PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2019

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**Analisis Kadar Kafein dalam Biji Kopi Robusta (*Coffea Canephora*)
daerah Lereng Gunung Kawi Kabupaten Malang Berdasarkan Tiga
Profil Sangrai (Terang, Cokelat, Gelap) dengan Metode
Spektrofotometri UV-Vis**

Oleh:

Yuniati Elisabeth

NIM: 155070501111035

Telah diuji pada:

Hari : Senin

Tanggal : 1 April 2019

dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji-I,

Ika Putri Nurhayati, S.Farm.,M.Sc.,Apt.
NIP. 2013048909152001

Pembimbing-I/Penguji-II,

Pembimbing-II/Penguji-III,

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

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

Mengetahui,
Ketua Program Studi Sarjana Farmasi,

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

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Yuniati Elisabeth

NIM : 155070501111035

Program Studi : Program Studi Farmasi

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar 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 menyatakan pernyataan,

(Yuniati Elisabeth)
NIM.155070501111035

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yesus Kristus atas berkat dan anugerah-Nya sehingga penulis dapat melaksanakan dan menyelesaikan penyusunan Tugas Akhir yang berjudul “Analisis Kadar Kafein dalam Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) daerah Lereng Gunung Kawi Kabupaten Malang Berdasarkan Tiga Profil Sangrai (Terang, Cokelat, Gelap) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis”

Ketertarikan penulis terhadap topik yang dibahas di dalam penelitian ini didasarkan pada tingginya tingkat konsumsi minuman kopi. Oleh karena itu diperlukan pemantauan kualitas dari mutu biji kopi tersebut. Salah satu parameter syarat mutu kopi yaitu penetapan kadar kafein dalam bubuk kopi tersebut dengan metode Spektrofotometri UV-Vis. Sehingga kadar kafein yang terkandung dalam bubuk kopi dapat diketahui .

Dengan selesainya Tugas Akhir ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih 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 memberikan pengarahan, 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 memberikan pengarahan, bimbingan dan saran-saran yang membangun selama penulisan Tugas Akhir ini.
3. Ika Putri Nurhayati, S.Farm.,M.Sc.,Apt., sebagai penguji yang telah memberi masukan dan wawasan untuk menyempurnakan Tugas Akhir ini.

4. Hananditia Rachma Pramestutie, S.Farm.,M.Farm.Klim.,Apt., selaku ketua tim Tugas Akhir Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
5. Kedua orang tua penulis, Bapak (Maruji Manullang) dan Mama (Asni Hutabarat) tercinta yang selalu menaruh harapan, dukungan, doa dan motivasi sehingga Tugas Akhir ini dapat terselesaikan dengan baik.
6. Saudara-saudara penulis yang senantiasa memberikan dukungan, semangat dan doa kepada penulis.
7. Segenap admin dan PLP yang telah membantu melancarkan urusan administrasi Pak Atmari, Mbak Septi, Bu Tri, Mas Nur, Mas Dani dan yang lainnya sehingga penulis dapat melaksanakan Tugas Akhir dengan lancar.
8. Sahabat-sahabat penulis (Luciana, Karunia, Jovana, Saffana, Shafira) yang selalu mendukung dan membantu dalam penyusunan Tugas Akhir dan hal lainnya selama perkuliahan.
9. Teman-teman Farmasi UB angkatan 2015 yang telah bersama berjuang di farmasi selama proses perkuliahan berlangsung.
10. Pak Menel dan Pak Firman yang telah membantu dan memberikan informasi terkait pengambilan sampel penelitian.
11. Semua Pihak yang telah membantu dan tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa karya ilmiah ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun. Semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Malang, 12 April 2019

Penulis

ABSTRAK

Elisabeth, Yuniati. 2019. **Analisis Kadar Kafein dalam Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) daerah Lereng Gunung Kawi Kabupaten Malang Berdasarkan Tiga Profil Sangrai (Terang, Cokelat, Gelap) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis.** Tugas Akhir, Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Bachtiar Rifai Pratita Ikhsan, S.Farm., M.Farm., Apt. (2) Alvan Febrian Shalas, S.Farm., M.Farm., Apt.

Kopi merupakan salah satu sumber kafein yang banyak dikonsumsi masyarakat untuk memperoleh efek yang dapat meningkatkan aktivitas mental. Namun, konsumsi kafein secara berlebihan dapat memberikan efek negatif bagi tubuh. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui kadar kafein dari biji kopi pada masing-masing profil sangrai terkait syarat mutu kopi yang sesuai dengan SNI Kopi Bubuk 01-3542-2004 sebesar 0,45 - 2 %b/b. Sampel pada penelitian ini diambil dengan metode sampling *purposive* yang didasarkan atas beberapa pertimbangan peneliti. Proses sangrai pada biji kopi menjadi salah satu proses yang mempengaruhi tinggi rendahnya kadar kafein. Metode penetapan kadar kafein dalam sampel biji kopi yang digunakan pada penelitian ini adalah metode Spektrofotometri UV-Vis. Rata-rata kadar kafein pada masing-masing sampel profil sangrai secara berturut-turut yaitu $8,80\% \pm 0,633$ (terang), $7,42\% \pm 0,276$ (cokelat) dan $5,71\% \pm 0,209$ (gelap). Analisa data hasil penelitian secara statistik dilakukan dengan metode *one-way* ANOVA yang kemudian dilanjutkan dengan uji *post hoc* Tukey HSD. Dengan data diatas, maka disimpulkan bahwa hasil penelitian terdapat perbedaan makna yang signifikan antara kadar kafein dengan masing-masing profil sangrai terang, cokelat dan gelap.

Kata kunci: Kopi robusta, kafein, profil sangrai, Spektrofotometri UV-Visibel

ABSTRACT

Elisabeth, Yuniati. 2019. **Analysis of Caffeine in Robusta Coffee Beans (*Coffea canephora*) of Kawi Mountainside, Malang Regency Based on Three Roast Profile (Light, Medium, Dark) With UV-Vis Spectrophotometry**. Final Assignment, Pharmacy Program, Faculty of Medicine, Universitas Brawijaya. Supervisors: (1) Bachtiar Rifa'i Pratita Ikhsan, S.Farm., M.Farm., Apt. (2) Alvan Febrian Shalas, S.Farm., M.Farm., Apt.

Coffee is one of the sources of caffeine that is consumed by many people to obtain the effects that can increase their mental activity. However, excessive consumption of caffeine can cause a negative effect on the body. The purpose of this study is to find out the contents of coffee beans's caffeine in each roast profile regarding to the quality requirements of coffee based on Indonesian National Standard 01-3542-2004 amounting to 0.45 – 2 % b/b. In this study, the samples were taken by purposive sampling method based on researcher's considerations. Roasting process in coffee beans is one of the processes that will affect the caffeine contents. Determination method of caffeine contents in coffee beans which used in this study is UV-Vis spectrophotometry method. The average of caffeine contents in each roast profile sample were 8.80% \pm 0.633 (light), 7.42% \pm 0.276 (medium) and 5.71% \pm 0.209 (dark), respectively. Data analysis was statistically carried out using One-Way ANOVA, then followed by the post hoc Tukey HSD test. From the results, we can conclude that that there are significant differences between caffeine contents from each roast profile (light, medium and dark).

Keywords: Robusta coffee, caffeine, roast profile, UV-Visible Spectrophotometry

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT.....	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Akademis	4
1.4.2 Manfaat Praktis	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Kopi	6
2.2 Kafein	7
2.3 Proses Pengolahan Biji Kopi.....	9
2.4 Proses Ekstraksi	11

2.5	Pelarut.....	12
2.6	Spektrofotometri UV-Visible	14
2.7	Verifikasi Metode Analisis	16

BAB 3. KERANGKA KONSEP

3.1	Kerangka Konsep.....	21
3.2	Deskripsi Kerangka Konsep.....	22
3.3	Hipotesis Penelitian.....	23

BAB 4. METODE PENELITIAN

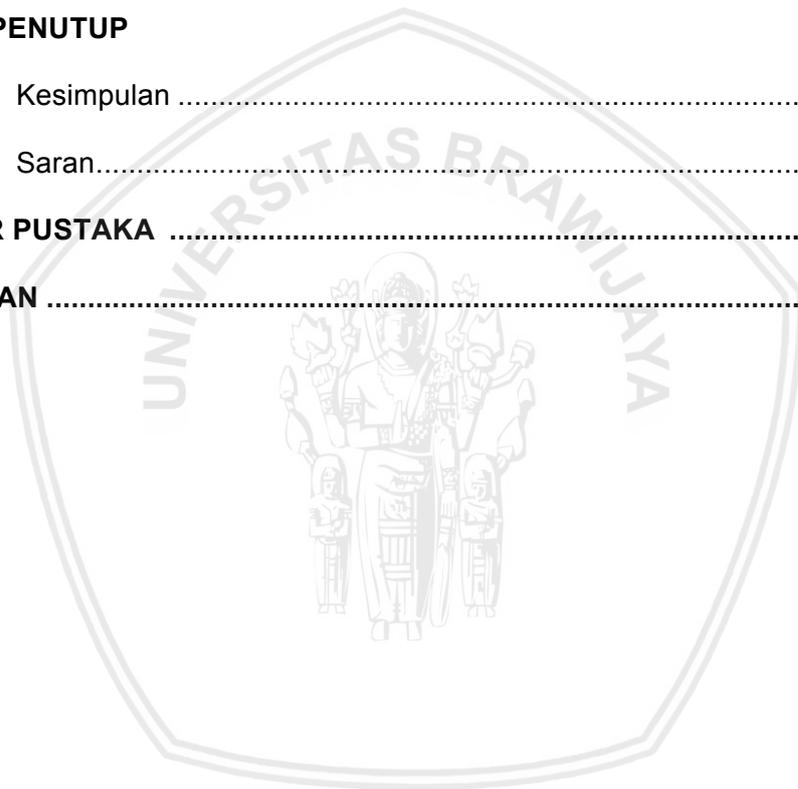
4.1	Rancangan Penelitian	24
4.2	Populasi dan Sampel	24
4.3	Variabel Penelitian	25
4.4	Lokasi dan Waktu Penelitian.....	26
4.5	Bahan dan Alat.....	26
4.6	Definisi Operasional	27
4.7	Prosedur Penelitian.....	28
4.8	Analisis Data	34

BAB 5. HASIL DAN ANALISA DATA

5.1	Penyagraian Sampel.....	38
5.2	Ekstraksi Sampel	38
5.3	Persamaan Kurva Baku	39
5.4	Verifikasi Metode Analisis	40
5.4.1	Spesifitas	40
5.4.2	Linieritas	42
5.4.3	LOD dan LOQ.....	44
5.4.4	Akurasi dan Presisi.....	44



5.5	Penetapan Kadar Kafein	46
5.6	Analisis <i>One-Way</i> ANOVA	46
BAB 6. PEMBAHASAN		
6.1	Pembahasan Hasil Penelitian	49
6.2	Implikasi terhadap Bidang Kefarmasian.....	59
6.3	Keterbatasan Penelitian	59
BAB 7. PENUTUP		
7.1.	Kesimpulan	60
7.2.	Saran.....	60
DAFTAR PUSTAKA		61
LAMPIRAN		69



DAFTAR TABEL

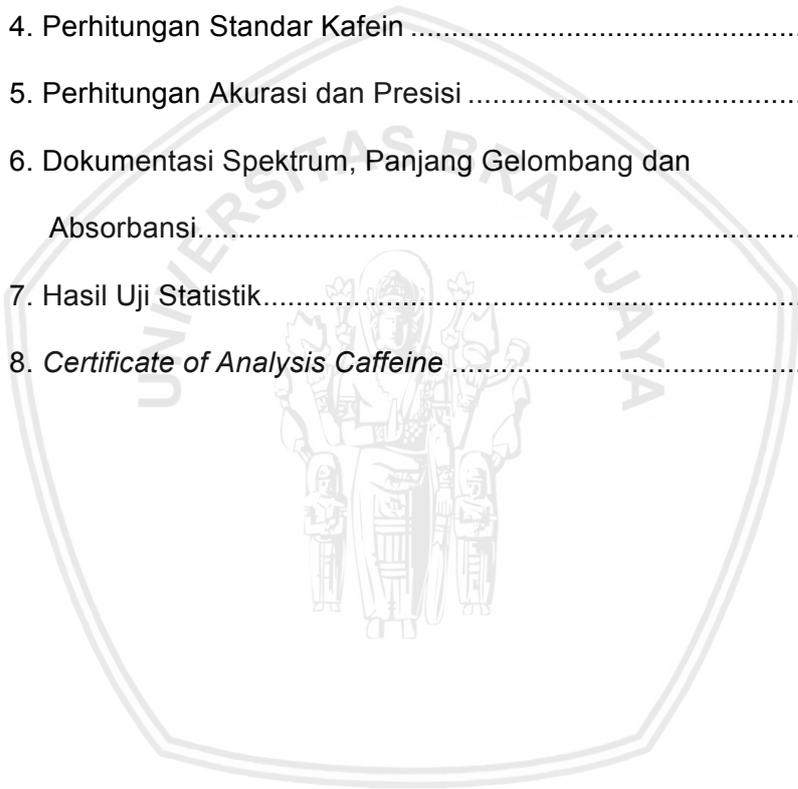
	Halaman
Tabel 2.1 Kandungan Kimia Pada Kopi Robusta	7
Tabel 2.2 Kriteria Rentang Akurasi	18
Tabel 2.3 Kriteria Rentang Presisi.....	19
Tabel 5.1 Hasil Absorbansi Larutan Standar Kafein (10-50 ppm).....	39
Tabel 5.2 Hasil Absorbansi Larutan Standar Kafein (5-40 ppm).....	42
Tabel 5.3 Nilai % <i>Recovery</i> dan %RSD	45
Tabel 5.4 Nilai Kadar Kafein (%b/b) Bubuk Kopi Robusta Kawi	46
Tabel 5.5 Hasil Uji Normalitas	47
Tabel 5.6 Hasil Uji Homogenitas	47
Tabel 5.7 Hasil Uji <i>One-Way</i> ANOVA	48
Tabel 5.8 Hasil Uji <i>Post Hoc</i> Tukey HSD	48

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Struktur Senyawa Kafein.....	8
Gambar 2.2 Profil Sangrai Kopi.....	11
Gambar 2.3 Cara Kerja UV-Vis Spektrofotometri.....	15
Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konsep	21
Gambar 4.1 Prosedur Penelitian	28
Gambar 5.1 Sampel Bubuk Kopi Robusta	38
Gambar 5.2 Ekstraksi Sampel dan Hasil Ekstrak Sampel	39
Gambar 5.3 Kurva Baku Kafein (10-50 ppm).....	40
Gambar 5.4 Spektrum Standar Kafein dan Sampel Kopi.....	41
Gambar 5.5 Spektrum Standar Kafein dengan Sampel Kopi Tiap Profil....	42
Gambar 5.6 Kurva Baku Kafein (5-40 ppm).....	43
Gambar 6.1 Gugus Kromofor Kafein.....	52

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Dokumentasi Preparasi Sampel.....	69
Lampiran 2. Dokumentasi Proses Uji Akurasi dan Presisi	71
Lampiran 3. Perhitungan Kadar Kafein Sampel Kopi Kawi	72
Lampiran 4. Perhitungan Standar Kafein	74
Lampiran 5. Perhitungan Akurasi dan Presisi	76
Lampiran 6. Dokumentasi Spektrum, Panjang Gelombang dan Absorbansi.....	78
Lampiran 7. Hasil Uji Statistik.....	90
Lampiran 8. <i>Certificate of Analysis Caffeine</i>	9



HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**Analisis Kadar Kafein dalam Biji Kopi Robusta (*Coffea Canephora*)
daerah Lereng Gunung Kawi Kabupaten Malang Berdasarkan Tiga
Profil Sangrai (Terang, Cokelat, Gelap) dengan Metode
Spektrofotometri UV-Vis**

Oleh:

Yuniati Elisabeth

NIM: 155070501111035

Telah diuji pada:

Hari : Senin
Tanggal : 1 April 2019
dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji-I,



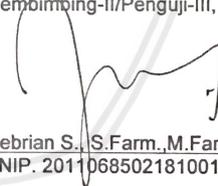
Ika Putri Nurhayati, S.Farm., M.Sc., Apt.
NIP. 2013048909152001

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

Elisabeth, Yuniati. 2019. **Analisis Kadar Kafein dalam Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) daerah Lereng Gunung Kawi Kabupaten Malang Berdasarkan Tiga Profil Sangrai (Terang, Cokelat, Gelap) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis.** Tugas Akhir, Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Bachtiar Rifai Pratita Ikhsan, S.Farm., M.Farm., Apt. (2) Alvan Febrian Shalas, S.Farm., M.Farm., Apt.

Kopi merupakan salah satu sumber kafein yang banyak dikonsumsi masyarakat untuk memperoleh efek yang dapat meningkatkan aktivitas mental. Namun, konsumsi kafein secara berlebihan dapat memberikan efek negatif bagi tubuh. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui kadar kafein dari biji kopi pada masing-masing profil sangrai terkait syarat mutu kopi yang sesuai dengan SNI Kopi Bubuk 01-3542-2004 sebesar 0,45 - 2 %b/b. Sampel pada penelitian ini diambil dengan metode sampling *purposive* yang didasarkan atas beberapa pertimbangan peneliti. Proses sangrai pada biji kopi menjadi salah satu proses yang mempengaruhi tinggi rendahnya kadar kafein. Metode penetapan kadar kafein dalam sampel biji kopi yang digunakan pada penelitian ini adalah metode Spektrofotometri UV-Vis. Rata-rata kadar kafein pada masing-masing sampel profil sangrai secara berturut-turut yaitu $8,80\% \pm 0,633$ (terang), $7,42\% \pm 0,276$ (cokelat) dan $5,71\% \pm 0,209$ (gelap). Analisa data hasil penelitian secara statistik dilakukan dengan metode *one-way* ANOVA yang kemudian dilanjutkan dengan uji *post hoc* Tukey HSD. Dengan data diatas, maka disimpulkan bahwa hasil penelitian terdapat perbedaan makna yang signifikan antara kadar kafein dengan masing-masing profil sangrai terang, cokelat dan gelap.

Kata kunci: Kopi robusta, kafein, profil sangrai, Spektrofotometri UV-Visibel

ABSTRACT

Elisabeth, Yuniati. 2019. **Analysis of Caffeine in Robusta Coffee Beans (*Coffea canephora*) of Kawi Mountainside, Malang Regency Based on Three Roast Profile (Light, Medium, Dark) With UV-Vis Spectrophotometry**. Final Assignment, Pharmacy Program, Faculty of Medicine, Universitas Brawijaya. Supervisors: (1) Bachtiar Rifa'i Pratita Ikhsan, S.Farm., M.Farm., Apt. (2) Alvan Febrian Shalas, S.Farm., M.Farm., Apt.

Coffee is one of the sources of caffeine that is consumed by many people to obtain the effects that can increase their mental activity. However, excessive consumption of caffeine can cause a negative effect on the body. The purpose of this study is to find out the contents of coffee beans caffeine in each roast profile regarding the quality requirements of coffee based on Indonesian National Standard 01-3542-2004 amounting to 0.45 – 2 % b/b. In this study, the samples were taken by purposive sampling method based on the researcher's considerations. Roasting process in coffee beans is one of the processes that will affect the caffeine contents. Determination method of caffeine contents in coffee beans which used in this study is the UV-Vis spectrophotometry method. The average of caffeine contents in each roast profile sample were 8.80% ± 0.633 (light), 7.42% ± 0.276 (medium) and 5.71% ± 0.209 (dark), respectively. Data analysis was statistically carried out using One-Way ANOVA, then followed by the post hoc Tukey HSD test. From the results, we can conclude that there are significant differences between caffeine contents from each roast profile (light, medium, and dark).

Keywords: Robusta coffee, caffeine, roast profile, UV-Visible Spectrophotometry

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Kopi merupakan salah satu minuman yang digemari oleh masyarakat Indonesia di berbagai lapisan dan berbagai kalangan usia. Hal ini dapat dilihat dari peningkatan produksi kopi di Indonesia dengan rata-rata pertumbuhan produksi kopi mencapai 2,44% pada periode 1980-2016. Salah satu provinsi yang memproduksi kopi di Indonesia adalah Jawa Timur. Berdasarkan data rata-rata selama 5 tahun (2012-2016), produksi kopi di Jawa Timur berkontribusi sebesar 7,38%. Sentra produksi kopi di Jawa Timur berpusat pada 5 kabupaten, dimana kabupaten dengan produsen kopi terbesar adalah kabupaten Malang yang kontribusinya mencapai 30,60% (Kementerian Pertanian, 2016). Salah satu daerah penghasil kopi robusta terbesar di Kabupaten Malang terdapat di Lereng Gunung Kawi yang memproduksi biji kopi robusta seberat 274 ton pada tahun 2017 (Badan Pusat Statistik, 2018).

Menurut data dari Asosiasi Eksportir Kopi Indonesia (2016), konsumsi kopi di Indonesia mengalami peningkatan sebesar 36% selama periode tahun 2010-2014. Biasanya penikmat kopi mengonsumsi kopi sebanyak 3 - 4 cangkir setiap harinya dengan penyajian sekitar 3 gram dalam satu cangkir kopi (Maramis dkk., 2013). Kopi memiliki beberapa senyawa yang terkandung didalamnya, salah satunya adalah kafein. Kafein merupakan senyawa alkaloid xantina yang berbentuk kristal, berwarna putih dan berasa pahit. Kafein mempunyai efek yang menguntungkan maupun merugikan bagi tubuh. Efek menguntungkan

yang dapat diperoleh yaitu dapat menstimulasi sistem syaraf pusat yang menghasilkan peningkatan aktivitas mental sehingga dapat tetap terjaga atau bangun, relaksasi otot polos terutama otot polos bronkus dan stimulasi otot jantung. Sedangkan efek merugikan dari kafein bila dikonsumsi berlebihan antara lain palpitasi, insomnia, nyeri kepala, tremor, gelisah, mual dan muntah (Bawazeer dan Alsobahi, 2013). Untuk keamanan dalam mengonsumsi kopi, maka kadar kafein harus sesuai dengan syarat mutu SNI Kopi Bubuk 01-3542-2004 yang menyebutkan bahwa kadar kafein untuk kopi yaitu sebesar 0,45 - 2 %b/b.

Mutu biji kopi dipengaruhi oleh proses penyangraian. Penyangraian biji kopi merupakan proses mengeluarkan air dalam biji kopi, mengeringkan dan memberikan aroma pada biji kopi. Ketika biji kopi disangrai terdapat reaksi kimia yang menyertai sehingga karakter dari biji kopi dapat berubah. Terdapat tiga tingkatan dalam penyangraian biji kopi yaitu *light roast* (sangrai terang) yang disangrai hingga suhu 180°C, *medium roast* (sangrai coklat) yang disangrai hingga suhu 210°C dan *dark roast* (sangrai gelap) yang disangrai hingga suhu 240°C (Vosloo, 2017). Waktu penyangraian biji kopi bervariasi mulai dari 7 hingga 30 menit tergantung pada jenis alat dan mutu kopi yang diinginkan. Cara penyangraian biji kopi yang berlainan ini akan berpengaruh terhadap warna bubuk kopi dan kadar kafein yang dihasilkan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Thomas (2016), diperoleh hasil bahwa semakin lama dilakukan proses sangrai maka kadar kafein akan semakin rendah.

Salah satu metode yang dapat dilakukan untuk menganalisis kadar kafein dalam kopi adalah metode Spektrofotometri UV-Vis. Analisis kadar kafein pada biji kopi dengan metode Spektrofotometri UV-Vis telah banyak dilakukan oleh peneliti terdahulu, diantaranya penelitian Demissie (2016), Dobrinas (2013) dan Wondimkun (2016) yang melakukan analisis kadar kafein dengan Spektrofotometri UV-Vis pada sampel biji kopi. Dari penelitian tersebut diperoleh hasil yang akurat, presisi dan sensitif untuk penetapan kadar kafein dalam biji kopi. Metode Spektrofotometri UV-Vis juga menjadi metode yang paling banyak dilakukan karena metode ini relatif cepat, murah dan mudah dalam pengerjaannya. Selain itu, berdasarkan hasil dari penelitian Navarra (2017), diperoleh bahwa kadar kafein yang dianalisis dengan metode Spektrofotometri UV-Vis dan HPLC memberikan hasil yang tidak berbeda secara signifikan.

Berdasarkan latar belakang diatas, maka perlu dilakukan analisis kadar kafein dengan tiga profil sangrai (terang, coklat, gelap) untuk memastikan keamanan kadar kafein yang terkandung dalam biji kopi robusta di daerah Lereng Gunung Kawi, Kabupaten Malang yang kemudian akan dibandingkan dengan syarat mutu kadar kafein pada SNI Kopi Bubuk 01-3542-2004 yaitu 0,45-2% b/b. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai sumber informasi kepada masyarakat mengenai kadar kafein dalam biji kopi robusta daerah Lereng Gunung Kawi, Kabupaten Malang dan dapat digunakan sebagai acuan bagi masyarakat dalam konsumsi kopi yang terjamin mutu dan keamanannya bagi kesehatan.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah terdapat perbedaan bermakna secara statistik kadar kafein pada biji kopi robusta daerah Lereng Gunung Kawi, Kabupaten Malang dalam tiga profil sangrai yang dianalisis dengan metode Spektrofotometri UV-Visible ?
2. Apakah kadar kafein pada biji kopi robusta daerah Lereng Gunung Kawi, Kabupaten Malang yang dibedakan dalam tiga profil sangrai sesuai persyaratan mutu SNI Kopi Bubuk 01-3542-2004 ?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui ada tidaknya perbedaan bermakna secara statistik kadar kafein pada biji kopi robusta daerah Lereng Gunung Kawi, Kabupaten Malang dalam tiga profil sangrai dengan menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis.
2. Mengetahui kesesuaian kadar kafein dari biji kopi robusta daerah Lereng Gunung Kawi, Kabupaten Malang dalam memenuhi persyaratan mutu SNI Kopi Bubuk 01-3542-2004.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademis

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi salah satu rujukan dan dapat memberikan informasi bagi penelitian selanjutnya dalam menetapkan kadar kafein.

1.4.2 Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi dan pengetahuan bagi penikmat kopi tentang kadar kafein yang sesuai dalam konsumsi kopi.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kopi

Kopi merupakan komoditas tropis utama yang diperdagangkan dengan kontribusi setengah dari total ekspor komoditas tropis di seluruh dunia (Ayelign, 2013). Berdasarkan data FAO tahun 2013, Indonesia tercatat sebagai produsen kopi terbesar ketiga di dunia setelah Brazil dan Vietnam. Produksi kopi di Indonesia mengalami peningkatan produksi pada periode 1980–2016 dengan rata-rata pertumbuhan produksi kopi mencapai 2,44%. Menurut jenis kopi yang diusahakan, produksi kopi didominasi oleh kopi dari jenis robusta. Produksi kopi robusta lebih tinggi setiap tahunnya dibandingkan dengan kopi arabika. Pada tahun 2001- 2016, rata-rata kontribusi kopi robusta terhadap produksi kopi nasional mencapai 82,49% setiap tahunnya (Kementerian Pertanian, 2016).

Produksi kopi robusta dari perkebunan rakyat di Provinsi Jawa Timur (2014) sebagian besar berasal dari Kabupaten Malang dengan kontribusi mencapai 30,60% atau produksi kopi sebesar 8.393 ton. Sentra produksi lainnya di Provinsi Jawa Timur antara lain; Kabupaten Banyuwangi dengan kontribusi sebesar 13,58% atau 3.724 ton, Kabupaten Bondowoso dengan kontribusi 10,88% (2.985 ton), Kabupaten Lumajang berkontribusi sebesar 9,50% (2.605%) dan Kabupaten Jember berkontribusi sebesar 9,23% (2.532 ton) (Kementerian Pertanian, 2016).

Kopi robusta (*Coffea canephora*) berada di Indonesia pada tahun 1900. Kopi ini memerlukan syarat tumbuh dan pemeliharaan yang ringan, namun produksinya jauh lebih tinggi dibandingkan dengan kopi arabika. Oleh karena itu, kopi ini cepat berkembang dan mendesak kopi-kopi lainnya. Areal perkebunan kopi robusta di Indonesia relatif luas karena dapat tumbuh baik pada daerah yang lebih rendah. Kopi robusta memiliki karakteristik fisik biji agak bulat, lengkungan tebal dan memiliki garis tengah dari atas kebawah hampir rata (Prastowo, 2010). Kandungan kimia pada kopi robusta adalah sebagai berikut:

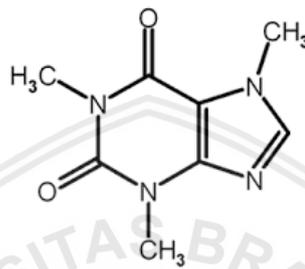
Tabel 2.1 Kandungan Kimia Pada Kopi Robusta (Yashin, 2017)

No	Senyawa	Kadar
1	Asam Klorogenat	9 - 11%
2	Kafein	1,8 - 3%
3	Trigonelin	0,6 - 0,7%
4	Karbohidrat	>12%
5	Tanin	2,2 - 6,6%
6	Mineral	3 - 4,5%
7	Protein	1,36 - 1,72%
8	Asam Amino	>1,6%

2.2. Kafein

Kafein adalah senyawa alkaloid xantina yang berbentuk kristal, berwarna putih, berasa pahit, tidak berbau serta jika dipanaskan akan menyublim tanpa penguraian pada suhu 178 - 180 °C dan pada tekanan 1 atm. Kelarutan kafein dibedakan berdasarkan jenis pelarut, kafein akan larut dalam 50 bagian air, 6 bagian air suhu 80°C, 1.5 bagian air mendidih, 75 bagian alkohol, 25 bagian alkohol suhu 60°C, 6 bagian kloroform dan 600 bagian eter. Kafein memiliki kepolaran hampir sama dengan diklorometana, sehingga kelarutan kafein cukup

besar dalam diklorometan (140mg/ml). Kafein memiliki struktur kimia yang bersifat basa lewis, dimana basa lewis merupakan basa organik yang memiliki pasangan elektron bebas. Kafein dengan rumus kimia $C_8H_{10}N_4O_2$ memiliki berat molekul 194,19 dan pH 6,9 (Novianty, 2008).



Gambar 2.1 Struktur Senyawa Kafein (Novita, 2017).

Kafein memiliki daya kerja sebagai stimulan sistem syaraf pusat, stimulan otot jantung, meningkatkan aliran darah melalui arteri koroner, relaksasi otot polos bronki, dan sebagai diuretika dengan tingkatan yang berbeda. Daya kerja sebagai stimulan sistem saraf pusat dari kafein sangat menonjol sehingga umumnya digunakan sebagai stimulan sentral. Pada sistem saraf pusat terutama pusat-pusat yang lebih tinggi, kafein berpengaruh dalam menghasilkan peningkatan aktivitas mental dan tetap terjaga atau bangun (Wilson, 1982). Secara umum, kafein diproduksi dengan diekstraksi dan diproduksi secara sintesis. Kebanyakan produksi kafein bertujuan dalam memenuhi kebutuhan industri minuman (Misra dkk., 2009).

Kafein dapat mengakibatkan ketagihan ringan, namun bagi orang yang tidak terbiasa minum kopi akan merasakan sakit kepala pada pagi hari atau kira-kira 12-16 jam setelah dari waktu terakhir kali

mengonsumsi kopi. Selain itu, jika terlalu banyak mengonsumsi kafein dapat menyebabkan sakit maag, insomnia, diuresis, pusing, dan gemetar. Jika konsentrasi mencapai 10 nmol/mL dalam darah, kafein dapat menstimulasi sistem saraf pusat (Wijaya, 2015). Berdasarkan SNI Kopi Bubuk 01-3542-2004, syarat mutu kadar kafein yang telah ditetapkan yaitu sebesar 0,45% - 2% b/b.

2.3. Proses Pengolahan Biji Kopi

Pada dasarnya minuman kopi bersumber dari buah kopi yang dipetik ketika buahnya berubah warna menjadi warna merah matang, maka baru dapat diproses secara basah maupun kering, sehingga diperoleh biji kopi yang siap untuk dilakukan penyangraian. Buah kopi yang baru dipanen akan mengalami proses pengupasan paska panen. Terdapat dua jenis proses paska panen yaitu proses basah dan proses kering. Proses basah atau *wet process* dikelompokkan menjadi dua yaitu *full wash* dan *semi wash*. Sementara proses kering atau *natural process* dikelompokkan menjadi *natural* dan *natural pulp*. Setelah berbentuk biji kopi, biji kopi akan memasuki tahap sangrai (*roasting*). Inti dari penyangraian biji kopi adalah menguapkan air, mengeringkan, mengembangkan bijinya dan mengurangi beratnya hingga dua puluh persen dalam biji kopi (Lestari dkk., 2016). Penyangraian biji kopi menjadi proses yang penting dalam pengolahan kopi, karena akan menentukan warna dan rasa kopi yang dihasilkan. Penyangraian sendiri merupakan proses pemanasan biji kopi dengan udara panas atau gas pembakaran. Alat penyangraian biji kopi umumnya

menggunakan drum horizontal yang berputar (Nasriati, 2006). Selama penyangraian beberapa senyawa salah satunya senyawa kafein yang terkandung dapat menurun karena tersublimasi dan terbawa dengan uap (Severini, 2018). Selain itu, senyawa gula pada biji kopi akan mengalami karamelisasi sehingga menimbulkan aroma khas sedangkan senyawa yang menimbulkan rasa asam seperti tanin dan asam asetat akan menguap dan sebagian lainnya akan bereaksi dengan asam amino membentuk senyawa melanoidin yang memberikan warna coklat (Franca *et al*, 2005).

2.3.1 Profil Sangrai Kopi

1) *Light Roast*/ Sangrai Terang

Pada tahapan ini, biji kopi disangrai dalam waktu yang relatif singkat. Umumnya biji kopi disangrai pada suhu 170°C hingga 190°C. Biasanya warna biji kopi terang seperti coklat kekuningan-kuningan. Pada tahapan ini, proses sangrai akan diberhentikan sebelum biji kopi mencapai tahap "*first crack*" (retakan pertama) (Vosloo, 2017).

2) *Roasting Medium*/ Sangrai Cokelat

Pada tahapan ini, suhu yang digunakan berkisar 200°C dan 210°C. Sangrai coklat ini akan selesai setelah fase retakan pertama, namun biji kopi belum sampai pada fase retakan kedua. Pada tahapan inilah biasanya rasa dari kopi mulai keluar (Vosloo, 2017).

3) *Roasting Dark*/ Sangrai Gelap

Suhu yang digunakan pada tahapan ini berkisar 220°C hingga

240°C, dimana tidak semua biji kopi bisa sampai pada tahap ini. Hal ini dikarenakan pada beberapa biji kopi yang memiliki kepadatan rendah akan pecah atau hancur sebelum sampai pada level ini (Vosloo, 2017).



Gambar 2.2 Profil Sangrai Kopi (Copan, 2016).

2.4 Proses Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan satu atau lebih komponen dari suatu campuran homogen menggunakan pelarut cair (*solvent*) sebagai separating agen. 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 atau tidak larut air. Faktor yang mempengaruhi ekstraksi ini yaitu koefisien distribusi dan rasio distribusi analit dalam pelarut organik atau air. Ekstraksi padat-cair merupakan 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).

Prinsip dasar ekstraksi cair-cair (corong pisah) yaitu pengontakan suatu larutan dengan pelarut (*solvent*) lain yang tidak saling melarut dengan pelarut asal yang mempunyai densitas yang berbeda sehingga

akan terbentuk dua fasa beberapa saat setelah penambahan solvent. Hal ini menyebabkan terjadinya perpindahan massa dari pelarut asal ke pelarut pengestrak (solvent). Perpindahan zat terlarut ke dalam pelarut baru yang diberikan, disebabkan oleh adanya daya dorong yang muncul akibat adanya beda potensial kimia antara kedua pelarut. Sehingga proses ekstraksi cair-cair merupakan proses perpindahan massa yang berlangsung secara difusional (Laddha dan Degaleesan, 1978).

Ekstraksi cair-cair terutama digunakan bila pemisahan campuran dengan cara destilasi tidak mungkin dilakukan (misal karena pembentukan azeotrop atau karena kepekaannya terhadap panas atau karena kurang ekonomis). Ekstraksi cair-cair terdiri dari sedikitnya dua tahap yaitu pencampuran secara intensif bahan ekstraksi dengan pelarut dan pemisahan kedua fase cair sesempurna mungkin. Proses ekstraksi cair-cair berlangsung pada suatu alat yang dirancang sedemikian rupa sehingga mempunyai luas permukaan yang mencukupi untuk terjadinya kontak antar fasa-fasa yang terlibat (fasa kontinyu yang berisi zat terlarut dan fasa dispersi) sehingga distribusi komposisi dalam kedua fasa menjadi lebih sempurna dan berhasil dengan baik (Ariono dkk., 2006).

2.5 Pelarut

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 (Djamal, 2010).

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. Diklorometana juga memiliki titik didih yang relatif rendah yaitu $39,75^{\circ}\text{C}$ jika dibandingkan dengan titik didih kloroform yang berkisar antara $60,5 - 61,5^{\circ}\text{C}$, sehingga lebih mudah menguap dan memisah dari zat. FDA mengizinkan sisa pelarut ekstraksi yang diperbolehkan yaitu 10 mg residu/kg kopi panggang. Menurut laporan industri, konsentrasi residu diklorometana biasanya 100 kali lebih rendah dari batas-batas ini (Chu, 2012). Berdasarkan penelitian lanjutan pada kafein oleh Maramis (2013), yaitu analisis kafein dalam kopi bubuk di kota Manado diperoleh bahwa ekstraksi kafein dengan menggunakan pelarut

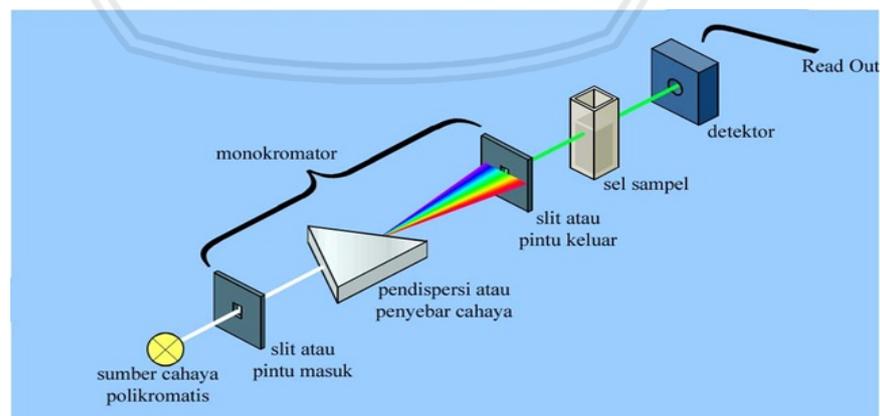
diklorometana lebih efektif dari pelarut kloroform. Efisiensi diklorometana untuk mengekstrak kafein dari biji kopi adalah 98–99%, dimana kelarutan kafein dalam diklorometana sebesar 140 mg/ml dan kelarutan kafein di dalam air (22 mg/ml) (Demissie, 2016).

2.6 Spektrofotometri UV-Visible

Spektrofotometri merupakan instrumen yang digunakan untuk mengukur absorbansi dengan cara melewatkan cahaya dengan panjang gelombang tertentu pada kuvet yang terbuat dari kaca atau kuarsa. Sebagian dari cahaya tersebut akan di serap dan sisanya akan dilewatkan. Nilai absorbansi dari cahaya yang di serap sebanding dengan konsentrasi larutan didalam kuvet (Sastrohamidjojo, 2007). Spektrofotometri dapat digunakan untuk melakukan pengukuran absorbansi pada daerah ultraviolet (panjang gelombang 200 nm – 400 nm) atau pada daerah cahaya tampak (panjang gelombang 400 nm – 750 nm). Zat dapat dideteksi oleh Spektrofotometri apabila memiliki gugus kromofor di dalam molekul atau zat tersebut. Kromofor; merupakan gugus tak jenuh (pada ikatan kovalen) yang bertanggung jawab terhadap terjadinya absorpsi elektronik (misalnya C=C, C=O, dan NO₂). Gugus kromofor ini merupakan gugus fungsional yang akan menyerap radiasi ultraviolet dan tampak jika diikat oleh gugus auksokrom yang akan mempengaruhi panjang gelombang dan intensitas absorban. Gugus auksokrom adalah gugus fungsional yang memiliki elektron bebas seperti -OH, NH₂, NO₂, -X (Harmita, 2006). Gugus ini akan memperlebar sistem kromofor dan menggeser

maksimum absorpsi ke arah panjang gelombang yang lebih panjang. Gugus auksokrom tidak menyerap pada panjang gelombang 200 - 800 nm, namun mempengaruhi spektrum kromofor dimana auksokrom tersebut terikat (Wiryawan, 2008).

Prinsip kerja dari Spektrofotometri UV-Vis adalah apabila cahaya monokromatik melalui suatu media (larutan), maka sebagian cahaya tersebut diserap (I), sebagian dipantulkan (I_r), dan sebagian lagi dipancarkan (I_t). Aplikasi rumus tersebut dalam pengukuran kuantitatif dilaksanakan dengan cara komparatif menggunakan kurva kalibrasi dari hubungan konsentrasi deret larutan alat untuk analisa suatu unsur yang berkadar rendah baik secara kuantitatif maupun secara kualitatif. Pada penentuan secara kualitatif berdasarkan puncak-puncak yang dihasilkan spektrum dari suatu unsur tertentu pada panjang gelombang tertentu, sedangkan penentuan secara kuantitatif berdasarkan nilai absorbansi yang dihasilkan dari spektrum dengan adanya senyawa pengompleks sesuai unsur yang dianalisisnya (Yanlinastuti, 2016).



Gambar 2.3 Cara Kerja UV-Vis Spectrophotometer (Edwind, 2013).

Cahaya yang diserap diukur sebagai absorbansi (A) sedangkan cahaya yang dihamburkan diukur sebagai transmittansi (T), dinyatakan dengan hukum Lambert-Beer yang berbunyi: “Jumlah radiasi cahaya tampak (ultraviolet, inframerah dan sebagainya) yang diserap atau ditransmisikan oleh suatu larutan merupakan suatu fungsi eksponen dari konsentrasi zat dan tebal larutan”. Dimana I adalah intensitas cahaya pada panjang gelombang yang melewati sampel (Edwind, 2013). Rumus yang diturunkan dari Hukum Beer dapat ditulis sebagai:

$$A = a \cdot b \cdot c \text{ atau } A = \varepsilon \cdot b \cdot c$$

A = Absorbansi

b / l = Tebal larutan (tebal kuvet diperhitungkan juga umumnya 1 cm)

c = Tebal larutan (tebal kuvet diperhitungkan juga umumnya 1 cm)

ε = Tetapan absorptivitas molar (jika konsentrasi larutan yang diukur dalam molar)

a = Tetapan absorptivitas (jika konsentrasi larutan yang diukur dalam ppm)

2.7 Verifikasi Metode Analisis

Verifikasi metode analisis bertujuan untuk memastikan bahwa analis dapat menerapkan metode analisis dengan baik dan menjamin mutu hasil pengujian. Verifikasi perlu dilakukan oleh suatu laboratorium analisis apabila terjadi pergantian instrumen yang digunakan untuk analisis rutin. Instrumen dengan spesifikasi berbeda akan memiliki

hasil analisis yang berbeda pula. Metode yang telah digunakan dalam waktu yang cukup lama juga perlu dilakukan verifikasi. Parameter uji untuk verifikasi metode hampir sama dengan parameter uji validasi. Namun, pada percobaan hanya sebagian parameter yang digunakan dalam verifikasi yaitu linieritas, akurasi, presisi, limit deteksi, dan limit kuantitasi (Harmita 2004).

a. Spesifitas

Spesifitas merupakan parameter yang menunjukkan bahwa metode dapat mengukur analit target dari zat yang berpotensi mengganggu. Metode spesifitas ditentukan dengan membandingkan hasil analisis sampel yang mengandung cemaran, hasil urai, senyawa sejenis, senyawa asing lainnya atau pembawa plasebo dengan hasil analisis sampel tanpa penambahan bahan-bahan tadi (Harmita, 2004)

b. Linieritas

Linieritas merupakan parameter untuk menunjukkan hasil uji yang secara langsung dengan grafik atau secara perhitungan matematis proporsional atau sebanding dengan kenaikan konsentrasi analit dalam sampel pada beberapa sampel atau pada rentang tertentu. Minimal jumlah konsentrasi atau sampel yang dibutuhkan adalah 4 sampel untuk menghasilkan nilai resolusi agar data perbandingan konsentrasi dan hasil respon dari instrumen dapat terlihat perbedaannya. Linieritas digambarkan dalam bentuk persamaan regresi linier yaitu $y=bx+a$. Hasil slope

(b), intersep (a) dan resolusi (r) menggambarkan informasi linieritas. Intersep menunjukkan tingkat kepekaan analisis instrumen yang digunakan (Harmita, 2004). Nilai koefisien yang diterima yaitu sebesar 0,999, jika nilai koefisien kurang dari 0,999 maka perlu dilakukan perhitungan parameter lain yaitu $V_{xo} \leq 2\%$ (AOAC, 2002).

c. Akurasi (Ketepatan)

Ketepatan adalah parameter yang menandakan metode dapat memberikan kedekatan antara hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Ketepatan dinyatakan dalam persen perolehan kembali (%recovery). Terdapat faktor-faktor yang mempengaruhi tingkat ketepatan, seperti kalibrasi alat, pelarut yang tidak menimbulkan residual atau kontaminan, kontrol suhu, dan pelaksanaan praktikan yang handal (Harmita, 2004).

Tabel 2.2 Kriteria Rentang Akurasi (AOAC, 2002)

Konsentrasi Analit (%)	Akurasi (%Recovery)
100	98-101
10	95-102
1	92-105
0,1	90-108
0,01	85-110
10 µg/g (ppm)	80-115
1 µg/g	75-120
10 µg/kg (ppb)	70-120

d. Presisi (Ketelitian)

Presisi dari suatu prosedur analitik menunjukkan kedekatan antara hasil pengujian individual bila prosedur

diterapkan berulang kali untuk beberapa sampel. Tujuannya yaitu untuk melihat prosedur yang dilakukan bisa diulang atau tidak. Presisi biasanya dinyatakan sebagai standar deviasi (SD) atau standar deviasi relatif (%RSD) dari rata-rata serangkaian pengukuran (Hansen, 2012).

Presisi terdiri dari 3 macam, yaitu:

- *Reproducibility* adalah keseksamaan metode bila analisis dikerjakan di laboratorium yang berbeda.
- *Intermediate precision* adalah keseksamaan metode jika analisis dikerjakan di laboratorium yang sama pada hari yang berbeda atau analis yang berbeda atau peralatan yang berbeda.
- *Repeatability* adalah keseksamaan metode jika analisis dilakukan oleh analis yang sama dengan peralatan yang sama pada interval waktu yang pendek. Berikut adalah kriteria penerimaan presisi berdasarkan kadar analit.

Tabel 2.3 Kriteria Rentang Presisi (AOAC, 2002).

Konsentrasi Analit (%)	Batas %RSD
100	1%
10	1,5%
1	2%
0,1	3%
0,01	5%
10 µg/g (ppm)	6%
1 µg/g	8%
10 µg/kg (ppb)	15%

e. *Limit of Detection* (LOD)

Batas deteksi prosedur analitik individual adalah jumlah analit terendah dalam sampel yang dapat dideteksi, namun tidak perlu dihitung sebagai nilai pasti. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui batas yang membuktikan bahwa jumlah analit berada diatas atau dibawah tingkat tertentu. Batas deteksi biasanya dinyatakan sebagai konsentrasi analit dalam sampel (Hansen, 2012).

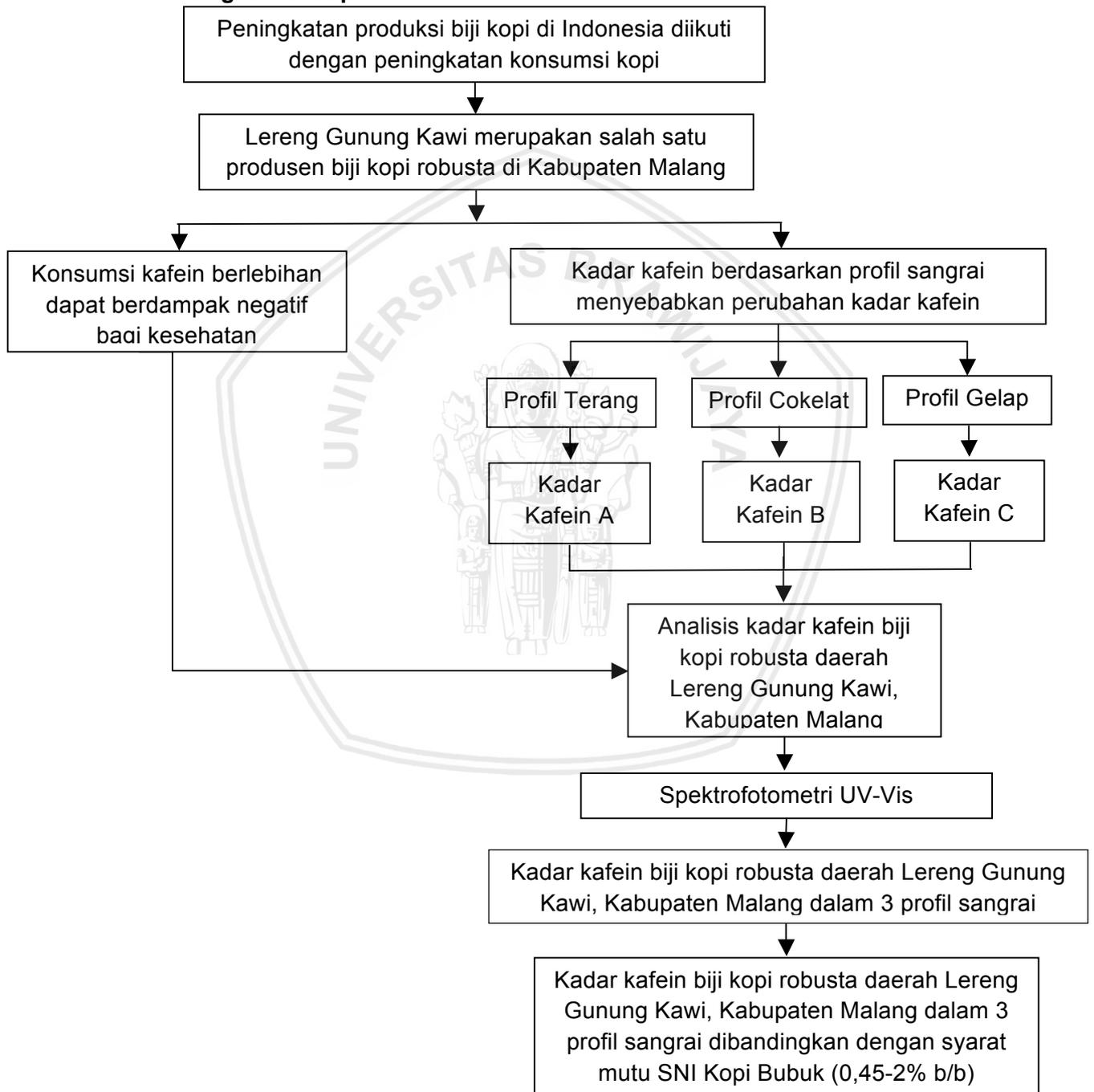
f. *Limit of Quantitation* (LOQ)

Batas kuantitasi adalah batas dari jumlah analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan secara kuantitatif dengan akurasi dan ketepatan yang sesuai. Batas kuantifikasi merupakan parameter penentuan kuantitatif tingkat rendah senyawa dalam sampel. Tujuan penentuan batas kuantifikasi adalah untuk penentuan produk pengotor atau degradasi bahan aktif dan produk formulasi dan bioanalisis untuk penentuan kuantitatif kadar rendah zat obat dalam matriks biologis (Hansen, 2012).

BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1. Bagan Kerangka Konsep

3.2 Deskripsi Kerangka Konsep

Selama periode 1980-2016 terdapat peningkatan produksi biji kopi di Indonesia yang mencapai 2,44%. Dengan meningkatnya produksi kopi di Indonesia, konsumen kopi juga mengalami peningkatan sebesar 36% selama periode 2010-2014. Lereng Gunung Kawi merupakan salah satu daerah yang memproduksi biji kopi robusta di Kabupaten Malang. Biji kopi memiliki banyak senyawa didalamnya, salah satunya adalah kafein. Konsumsi kafein yang berlebihan dapat memberikan dampak negatif bagi kesehatan tubuh seperti palpitasi, insomnia, nyeri kepala maupun tremor. Sehingga perlu dilakukan analisis kadar kafein terkait dengan syarat mutu kopi terhadap kesehatan.

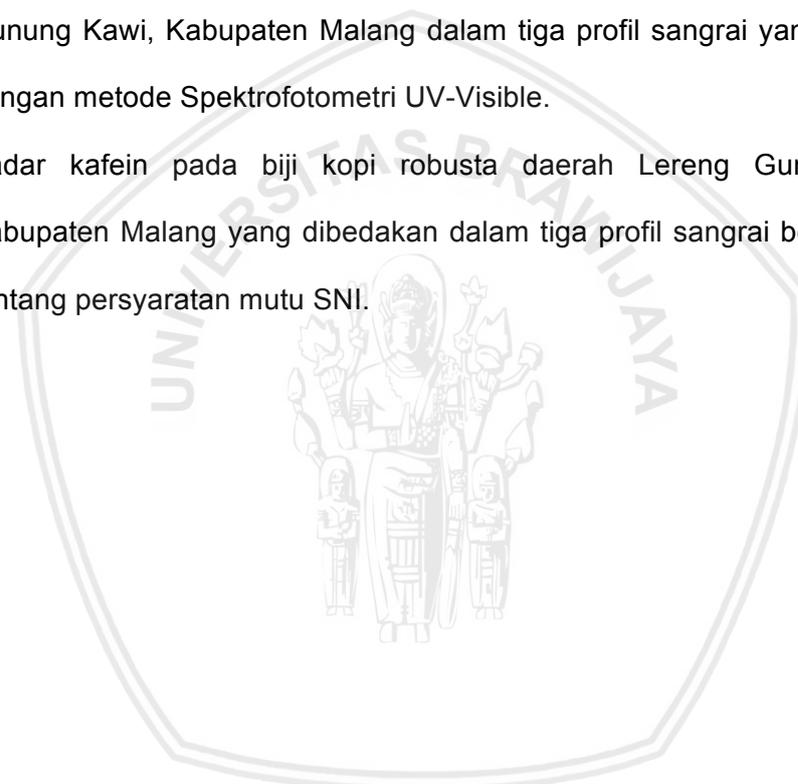
Berdasarkan proses pengolahan jenis biji kopi, kadar kafein dibedakan menjadi tiga profil sangrai yaitu sangrai terang, cokelat dan gelap. Dimana penyangraian merupakan salah satu proses yang dapat menyebabkan perubahan pada kadar senyawa kafein yang terkandung dalam biji kopi. Dengan perbedaan profil sangrai tersebut, maka diperlukan analisis untuk mengetahui kadar kafein biji kopi robusta daerah Lereng Gunung Kawi, Kabupaten Malang dari masing-masing profil sangrai. Analisis kadar kafein pada biji kopi robusta daerah Lereng Gunung Kawi dilakukan dengan metode Spektrofotometri UV-Visible, karena berdasarkan peneliti terdahulu diperoleh hasil yang akurat, presisi dan sensitif untuk penetapan kadar kafein dalam biji kopi dengan metode tersebut.

Hasil kadar kafein biji kopi robusta daerah Lereng Gunung Kawi, Kabupaten Malang yang diperoleh pada masing-masing profil sangrai kemudian dibandingkan dengan syarat mutu SNI Kopi Bubuk 01-3542-2004 yaitu 0,45-2% b/b, sehingga diketahui kesesuaian kadar kafein pada biji kopi

robusta daerah Lereng Gunung Kawi terhadap persyaratan mutu SNI Kopi Bubuk dan diketahui perbedaan bermakna secara statistik kadar kafein pada biji kopi robusta daerah Lereng Gunung Kawi, Kabupaten Malang.

3.3 Hipotesis Penelitian

1. Terdapat perbedaan kadar kafein pada biji kopi robusta daerah Lereng Gunung Kawi, Kabupaten Malang dalam tiga profil sangrai yang dianalisis dengan metode Spektrofotometri UV-Visible.
2. Kadar kafein pada biji kopi robusta daerah Lereng Gunung Kawi, Kabupaten Malang yang dibedakan dalam tiga profil sangrai berada diluar rentang persyaratan mutu SNI.



BAB IV

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 penetapan kadar kafein biji kopi robusta Lereng Gunung Kawi, Kecamatan Kromengan, Kabupaten Malang. Kafein diperoleh dari proses ekstraksi kopi yang telah disangrai dengan tiga profil sangrai dan kemudian akan dianalisis dengan Spektrofotometri UV-Vis.

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah biji kopi robusta yang diproduksi di daerah Lereng Gunung Kawi, Kecamatan Kromengan, Kabupaten Malang.

4.2.2 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah biji kopi robusta daerah Lereng Gunung Kawi, Kecamatan Kromengan, Kabupaten Malang yang dipanen pada bulan Agustus 2018 dan kemudian dilakukan tiga perlakuan sangrai yaitu terang, coklat, gelap.

4.2.3 Cara Pengambilan Sampel

Pada penelitian ini, peneliti menggunakan metode sampling *purposive* sebagai teknik pengambilan sampel. Sampling *purposive*

merupakan teknik penentuan sampel yang didasarkan atas 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 desa dengan penghasil biji kopi terbesar di daerah Lereng Gunung Kawi, Kecamatan Kromengan, Kabupaten Malang yaitu Desa Jambuwer.
2. Biji kopi robusta yang ditanam petani pada setiap desa di daerah Lereng Gunung Kawi, Kecamatan Kromengan, Kabupaten Malang berasal dari bibit yang sama.
3. Biji kopi robusta dari daerah Lereng Gunung Kawi, Kecamatan Kromengan, Kabupaten Malang yang dipanen pada bulan Agustus 2018.

4.3 Variabel Penelitian

Variabel pada penelitian ini dibagi menjadi tiga, yaitu :

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas yang diteliti pada penelitian ini adalah suhu akhir sangrai biji kopi yaitu 180°C (profil terang), 210°C (profil coklat) dan 240°C (profil gelap) pada biji kopi robusta yang diperoleh dari daerah Lereng Gunung Kawi, Kecamatan Kromengan, Kabupaten Malang.

4.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini yaitu kadar kafein pada biji kopi robusta daerah Lereng Gunung Kawi dengan tiga profil sangrai (terang, coklat, gelap).

4.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini yaitu jenis pelarut, teknik ekstraksi, waktu pemanasan sampel, jumlah ekstraksi dan jumlah replikasi.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

4.4.1 Lokasi Penelitian

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

4.4.2 Waktu Penelitian

Penelitian berlangsung pada bulan September 2018 – Februari 2019.

4.5 Bahan dan Alat

4.5.1 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain; biji kopi hijau jenis robusta daerah Lereng Gunung Kawi, Desa Jambuwer, Kecamatan Kromengan, Kabupaten Malang, Jawa Timur; aquadest; pelarut diklorometana *pro analysis* (Sigma-Aldrich) dan standar kafein (Tokyo Chemical Industry).

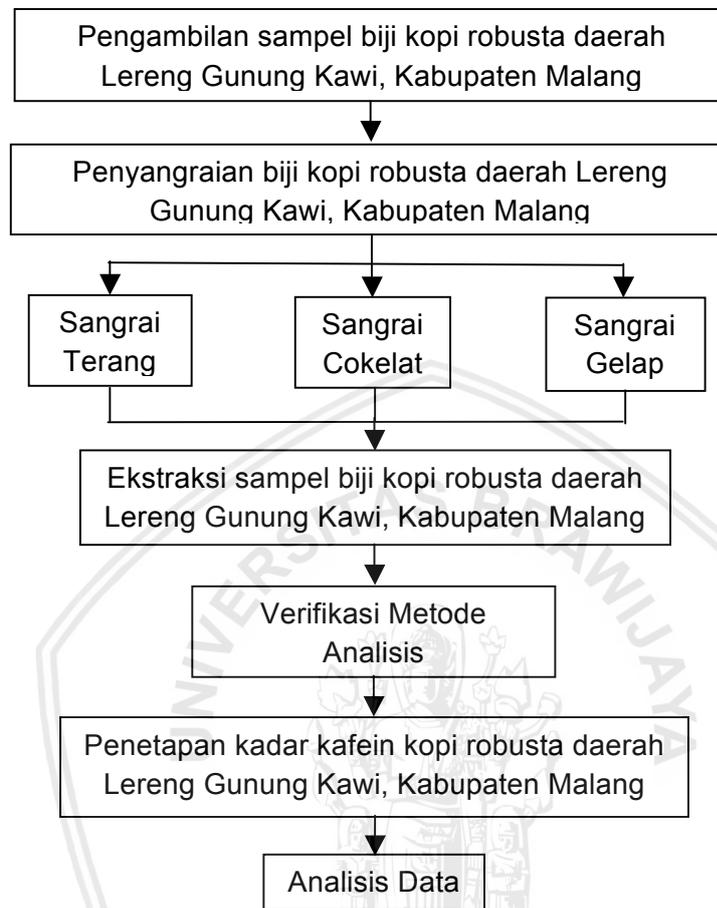
4.5.2 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain; neraca analitik (Shimadzu AUE220), mesin sangrai kopi (Global Agro model C03J3), mesin penggiling kopi (Bartex Tipe JY09A-4), ayakan mesh no 60, *hotplate* (IKA C MAG HS 7) dan Spektrofotometri UV-Vis Shimadzu UV-1800.

4.6 Definisi Istilah/ Operasional

1. Biji kopi merupakan biji dari tumbuhan kopi dan merupakan sumber dari minuman kopi.
2. Biji kopi robusta diperoleh dari perkebunan kopi yang berada di Lereng Gunung Kawi, Desa Jambuwer, Kecamatan Kromengan, Kabupaten Malang, Jawa Timur yang dipanen pada bulan Agustus 2018.
3. Penyangraian kopi merupakan proses mengeluarkan air dalam kopi, mengeringkan dan memberikan aroma pada kopi tersebut.
4. Profil sangrai dibagi menjadi 3 kelompok yaitu sangrai terang (disangrai hingga suhu 180°C), sangrai coklat (disangrai hingga suhu 210°C), dan sangrai gelap (disangrai hingga suhu 240°C).
5. Ekstraksi adalah pemisahan satu atau beberapa bahan dari suatu padatan atau cairan dengan bantuan pelarut.
6. Spektrofotometri sinar tampak (UV-Vis) adalah metode pengukuran energi cahaya oleh suatu sistem kimia pada panjang gelombang tertentu.

4.7 Prosedur Penelitian



Gambar 4.1. Prosedur Penelitian

4.7.1 Proses Sangrai Biji Kopi

1. Sampel biji kopi hijau robusta ditimbang seberat 20 gram (Gebeyehu dan Solomon, 2015) dengan modifikasi penimbangan pada penelitian seberat 320 gram menggunakan neraca digital untuk masing-masing profilnya (terang, cokelat, gelap).
2. Sampel biji kopi hijau disangrai dengan mesin sangrai hingga suhu 180°C, 210°C dan 240°C untuk menghasilkan profil sangrai terang, cokelat dan gelap (Vosloo, 2017).

3. Masing-masing sampel pada tiap suhu digiling menjadi bentuk bubuk dengan menggunakan mesin penggiling biji kopi.
4. Bubuk sampel diayak dengan ayakan 250 μ m (no mesh 60) sehingga diperoleh ukuran bubuk kopi yang homogen (Gebeyehu dan Solomon, 2015).

4.7.2 Ekstraksi Sampel (Gebeyehu dan Solomon, 2015)

1. Bubuk kopi ditimbang sebesar 50 mg dengan neraca analitik pada gelas arloji dan dilarutkan dalam 100 ml aquadest pada erlenmeyer 100 ml yang kemudian ditutupi dengan aluminium foil.
2. Larutan kopi dipanaskan pada suhu 90°C dengan *hotplate* dan dilakukan pengadukan selama 30 menit menggunakan pengaduk magnet.
3. Larutan kopi disaring dengan kertas saring ke dalam labu ukur 100 ml dan ditambahkan aquadest hingga tanda batas.
4. Larutan kopi yang telah disaring diambil 25 ml dengan pipet volume 25 ml dan diekstraksi dengan diklorometana 25 ml menggunakan corong pisah.
5. Diperoleh fase organik (kafein) terpisah dari fase air.
6. Fase air diekstraksi kembali sebanyak tiga kali dengan 25 ml diklorometana yang diambil dengan pipet volume 25 ml untuk setiap ekstraksinya.
7. Fase organik dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml dan ditambahkan diklorometana hingga tanda batas.
8. Prosedur ekstraksi sampel di replikasi sebanyak 4 kali untuk masing-masing profil sangrai.

4.7.3 Pembuatan Larutan Baku Kafein (AOAC, 1995)

1. Standar kafein (TCI) ditimbang seberat 25 mg dengan neraca analitik pada gelas arloji.
2. Dilarutkan ke dalam labu ukur 25 ml dengan diklorometana dan tepatkan sampai tanda batas.
3. Pipet larutan sebanyak 5 ml dengan pipet volume 5 ml dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml.
4. Lakukan pengenceran dengan diklorometana dan tepatkan sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan baku kafein 100 ppm.
5. Larutan baku kafein dipipet sebanyak 1 ml; 2 ml; 3 ml; 4 ml dan 5 ml dengan pipet volume 1 ml; 2 ml; 3 ml; 4 ml dan 5 ml dan dilarutkan masing-masing dalam labu ukur 10 ml dengan diklorometana dan tepatkan sampai tanda batas untuk mendapatkan larutan standar 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm.
6. Larutan standar diukur panjang gelombang dengan Spektrofotometri UV-Vis dalam rentang 200 – 400 nm.
7. Larutan standar diperoleh panjang gelombang maksimum (275,2 nm) dan diukur absorbansinya dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang yang telah diperoleh sebelumnya (275,2 nm).
8. Dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi larutan standar 10, 20, 30, 40 dan 50 ppm.

4.7.4 Verifikasi Metode Analisis

4.7.4.1 Spesifitas

1. Dilakukan *scanning* panjang gelombang serapan maksimum standar kafein dan panjang gelombang serapan maksimum sampel kopi dalam rentang 200-400 nm.
2. Dilakukan pengamatan terhadap hasil spektrum yang dihasilkan dan dibandingkan.

4.7.4.2 Linieritas

1. Standar kafein (TCI) ditimbang seberat 25 mg dengan neraca analitik pada gelas arloji.
2. Dilarutkan ke dalam labu ukur 25 ml dengan diklorometana dan tepatkan sampai tanda batas.
3. Pipet larutan sebanyak 5 ml dengan pipet volume 5 ml dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml.
4. Lakukan pengenceran dengan diklorometana dan tepatkan sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan baku kafein 100 ppm.
5. Larutan baku kafein dipipet sebanyak 0,5 ml; 1 ml; 2 ml; 3 ml dan 4 ml dengan pipet volume 0,5 ml; 1 ml; 2 ml; 3 ml dan 4 ml dan dilarutkan masing-masing dalam labu ukur 10 ml dengan diklorometana dan tepatkan sampai tanda batas untuk mendapatkan larutan standar 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm dan 40 ppm.
6. Larutan standar 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm dan 40 ppm diukur absorbansi dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

pada panjang gelombang yang telah diperoleh sebelumnya (275,2 nm).

7. Dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi larutan standar 5, 10, 20, 30 dan 40 ppm.

4.7.4.3 Akurasi dan Presisi

1. Standar kafein ditimbang sebesar 50 mg dengan neraca analitik pada gelas arloji.
2. Dilarutkan dalam 50 ml aquadest yang diambil dengan pipet volume 50 ml ke dalam erlenmeyer 100 ml (Kelarutan kafein dalam air adalah 1:50)
 - Massa untuk 100% = massa awal x kadar tertinggi
 = 50 mg x 9%
 = 4,5 mg = 5 mg setara dengan 5 ml
 - Massa untuk 80% = 80% x 5 mg
 = 4 mg setara dengan 4 ml
 - Massa untuk 120% = 120% x 5 mg
 = 6 mg setara dengan 6 ml
3. Larutan standar pada erlenmeyer 50 ml diambil dengan pipet volume yang sesuai sebanyak:
 - 4 ml untuk konsentrasi 80%
 - 5 ml untuk konsentrasi 100%
 - 6 ml untuk konsentrasi 120%
4. Dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml dan ditambahkan aquadest hingga tanda batas.

5. Larutan standar pada labu ukur 100 ml dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 ml dan ditutup dengan aluminium foil.
6. Dipanaskan pada suhu 90°C dengan *hotplate* dan dilakukan pengadukan selama 30 menit menggunakan pengaduk magnet.
7. Larutan standar disaring dengan kertas saring ke dalam labu ukur 100 ml dan ditambahkan aquadest hingga tanda batas.
8. Larutan standar yang telah disaring diambil 25 ml dengan pipet volume 25 ml dan diekstraksi dengan diklorometana 25 ml menggunakan corong pisah.
9. Diperoleh fase organik (kafein) terpisah dari fase air.
10. Fase air diekstraksi kembali sebanyak tiga kali dengan 25 ml diklorometana yang diambil dengan menggunakan pipet volume 25 ml untuk setiap ekstraksinya.
11. Fase organik dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml dan ditambahkan diklorometana hingga tanda batas.
12. Prosedur ekstraksi di replikasi sebanyak 2 kali untuk masing-masing larutan konsentrasi 80%, 100% dan 120%.
13. Larutan konsentrasi 80%, 100% dan 120% diukur absorbansinya pada panjang gelombang yang telah diperoleh sebelumnya (275,2 nm).
14. Ditentukan besarnya kadar terukur (x) dengan memasukkan nilai serapan yang dihasilkan (y) pada persamaan regresi linier kurva baku ($y = bx + a$).
15. Nilai kadar terukur tersebut dibandingkan dengan kadar teoritis untuk mendapatkan nilai % *recovery* sampel.

16. Ditentukan nilai %RSD

17. Perlakuan yang sama dilakukan untuk masing-masing replikasi tiap konsentrasi.

4.7.5 Penetapan Kadar Kafein Kopi Robusta

1. Masing-masing ekstrak sampel tiap profil sangrai (terang, coklat, gelap) diukur absorbansinya pada panjang gelombang yang telah diperoleh sebelumnya (275,2 nm).

2. Hitung masing-masing kadar ekstrak yang diperoleh dengan menggunakan persamaan kurva baku.

4.8 Analisis Data

4.8.1 Spesifitas

Pada penelitian ini spesifitas ditentukan dengan mengamati spektrum hasil *scanning* standar kafein dan spektrum sampel kopi tiap profil sangrai (terang, coklat, gelap)

4.8.2 Linieritas

Linieritas diukur dengan melakukan pengukuran pada konsentrasi yang berbeda-beda. Data yang diperoleh selanjutnya dapat ditentukan slope (b) intersep (a) dan koefisien korelasi (r). Hasil koefisien korelasi yang tinggi (> 0,99), menjadi penentu linieritas yang baik. Selain itu, nilai koefisien variasi (V_{x0}) berada dibawah 2% juga dapat menentukan linieritas yang baik (AOAC, 2002).

4.8.3 LOD dan LOQ

Batas deteksi dan batas kuantitasi dapat dihitung melalui garis regresi linier dari kurva kalibrasi yang dirumuskan sebagai berikut:

$$LOD = \frac{3S_y}{b} \qquad LOQ = \frac{10S_y}{b}$$

Dimana S_y adalah simpangan baku residual dan b adalah slope (Harmita, 2004).

4.8.4 Akurasi dan Presisi

Akurasi metode analisis dinyatakan dengan nilai % *recovery* yang dihitung dengan cara sebagai berikut:

$$\% \text{Recovery} = \frac{\text{Kadar terukur}}{\text{Kadar sebenarnya}} \times 100\%$$

Metode analisis dikatakan memiliki akurasi yang baik bila %*recovery* berada pada rentang 95-102% (AOAC, 2002).

Presisi metode analisis dinilai berdasarkan RSD yang dihitung dengan cara sebagai berikut:

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

Dalam penelitian ini digunakan persyaratan presisi pada konsentrasi analit 10%, sehingga batas nilai RSD yang digunakan adalah 1,5% (AOAC, 2002).

4.8.5 Penetapan Kadar

Kadar kafein diperoleh melalui rumus:

$$\text{Kadar Kafein (\%b/b)} = \frac{\text{Massa kafein yang diperoleh (100 ml)}}{\text{Massa sampel}} \times 100\%$$

Kadar kafein biji kopi robusta pada tiga profil sangrai (terang, coklat, gelap) yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan

kriteria penerimaan kadar kafein berdasarkan SNI 01-3542-2004 yaitu 0,45 - 2 %b/b.

4.8.6 Analisis Data Statistik (ANOVA)

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji beda nyata *One-Way Analysis of Variance* (ANOVA). Analisis data diawali dengan dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas.

a. Uji Normalitas

Tujuan dari uji normalitas yaitu untuk mengetahui apakah suatu variabel terdistribusi normal atau tidak. Data yang memiliki distribusi normal merupakan salah satu syarat dilakukannya uji parametrik. Data dengan distribusi normal berarti mempunyai sebaran yang normal pula, sehingga data tersebut dianggap dapat mewakili populasi. Signifikansi dari tes ini antara lain: signifikan ($p < 0,05$) yaitu distribusi data tidak normal, sedangkan Tidak signifikan ($p > 0,05$) yaitu distribusi data normal. Jika $p > 0,05$ yaitu distribusi data normal, maka tes yang dilakukan adalah parametrik, sedangkan jika $p < 0,5$ yaitu distribusi data tidak normal maka tes yang dilakukan adalah non parametrik (Mulyatiningsing, 2011).

b. Uji Homogenitas

Uji homogenitas bertujuan untuk mengetahui apakah kedua kelompok data memiliki varians yang homogen atau tidak. Untuk menguji homogenitas variansi maka dilakukan uji Lavene. Uji Lavene dilakukan dengan bantuan software SPSS

versi 17.0 dengan kriteria pengujian adalah jika nilai sig lebih besar dari $\alpha = 0,05$, maka hipotesis nol diterima (Trihendradi, 2005).

c. Uji *One-Way* ANOVA

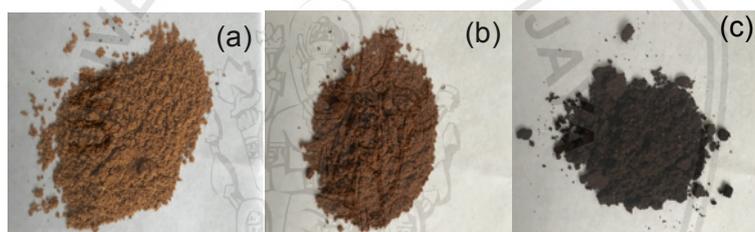
Uji *one-way* ANOVA dilakukan untuk mengetahui perbedaan profil sangrai (terang, coklat, gelap) pada kopi terhadap kadar kafein yang dihasilkan. *Analysis of variance* atau ANOVA merupakan salah satu teknik analisis multivariate yang berfungsi untuk membedakan rerata lebih dari dua kelompok data dengan cara membandingkan variansinya (Ghozali, 2009). Untuk menghitung statistik data menggunakan *one-way* ANOVA, dengan tingkat kebermaknaan 0,05 ($p = 0.05$) dan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0.05$). Jika $p > 0.05$ artinya H_0 diterima, tidak ada perbedaan atau pengaruh yang signifikan. Dan jika $p < 0.05$ artinya H_0 ditolak, ada perbedaan atau pengaruh yang signifikan (Trihendradi,2005).

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Penyangraian Sampel

Sampel biji kopi hijau robusta daerah Lereng Gunung Kawi yang telah disangrai dan digiling menjadi bentuk bubuk menghasilkan bubuk kopi dengan profil terang, coklat dan gelap. Bubuk kopi profil terang terlihat berwarna coklat muda, profil coklat berwarna coklat tua dan profil gelap berwarna coklat kehitaman. Sampel bubuk kopi robusta tercantum pada Gambar 5.1.

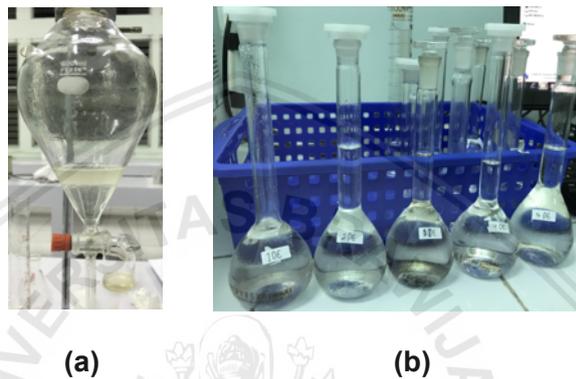


Gambar 5.1 Sampel Bubuk Kopi Robusta Pada Profil Terang (a); Cokelat (b); Gelap (c)

5.2 Ekstraksi Sampel

Proses ekstraksi yang dilakukan pada penelitian ini yaitu ekstraksi cair-cair. Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan air terlebih dahulu yang kemudian diekstraksi kembali dengan diklorometana sebagai pelarut untuk memisahkan senyawa kafein dari larutan kopi, sehingga kafein dapat larut dalam diklorometana karena diklorometana mempunyai sifat non polar yang sama dengan kafein. Ekstraksi cair-cair menghasilkan terbentuknya 2 fase yaitu fase air dan fase organik yang ditunjukkan pada Gambar 5.2 (a).

Fase organik (diklorometana) berada dibawah karena memiliki massa jenis yang lebih besar daripada air yaitu sebesar $1,33 \text{ g/cm}^3$ dibandingkan dengan massa jenis air 1 g/cm^3 (berada diatas). Proses ekstraksi direplikasi sebanyak 3 kali untuk mengambil senyawa kafein yang terdapat dalam larutan kopi secara maksimal. Hasil ekstraksi sampel tercantum pada Gambar 5.2 (b).



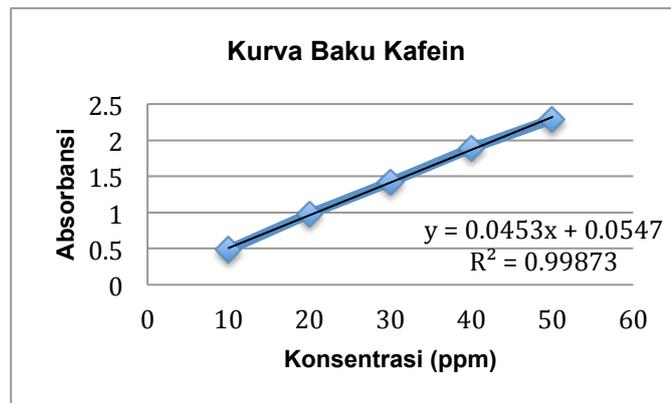
Gambar 5.2 (a) Ekstraksi Sampel; (b) Hasil Ekstrak Sampel

5.3 Persamaan Kurva Baku Kafein

Persamaan kurva baku kafein diperoleh dengan menggunakan 5 konsentrasi yaitu 10, 20, 30, 40 dan 50 ppm. Grafik kurva baku tercantum pada Gambar 5.3 dan hasil absorbansi larutan standar kafein konsentrasi 10 - 50 ppm tercantum pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1 Hasil Absorbansi Larutan Standar Kafein (10-50 ppm)

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
10	0,482
20	0,979
30	1,426
40	1,892
50	2,291



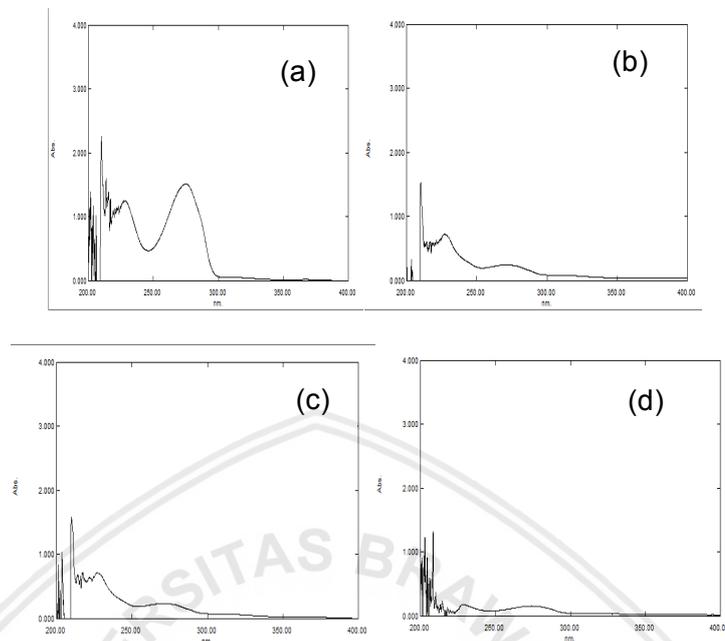
Gambar 5.3 Kurva Baku Kafein (10-50 ppm)

5.4 Verifikasi Metode Analisis

Verifikasi metode analisis di determinasi dengan beberapa parameter yaitu spesifitas, linieritas, LOD, LOQ, akurasi dan presisi.

5.4.1 Spesifitas

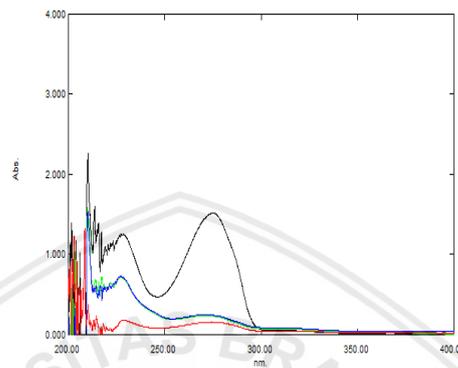
Uji ini dilakukan dengan mengukur spektrum dalam rentang 200 - 400 nm. Hasil spektrum larutan standar kafein dan sampel kopi profil terang, coklat dan gelap tercantum pada Gambar 5.4-5.5.



Gambar 5.4 Spektrum Standar Kafein (30 ppm) (a); Sampel Kopi Profil Terang (b); Sampel Kopi Profil Cokelat (c); Sampel Kopi Profil Gelap (d)

Pada Gambar 5.4 (a), terlihat bahwa spektrum larutan standar kafein memiliki bentuk yang menurun seperti lembah sampai panjang gelombang 250 nm, kemudian naik tidak terlalu tinggi membentuk puncak lalu menurun. Puncak yang terbentuk memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 275,2 nm. Spektrum pada sampel kopi profil terang terdapat puncak pada panjang gelombang 271,50 nm dengan absorbansi sebesar 0,251; spektrum pada sampel kopi profil coklat terdapat puncak pada panjang gelombang 271,10 nm dengan absorbansi sebesar 0,239 dan spektrum pada sampel kopi profil gelap terdapat puncak pada panjang gelombang 274,20 nm dengan absorbansi sebesar 0,159. Spektrum sampel kopi tiap profil sangrai (terang, coklat, gelap) dapat dilihat pada Gambar 5.4 (b) - 5.4 (d). Pada Gambar 5.5,

dapat dilihat spektrum gabungan sampel bubuk kopi pada tiga profil sangrai (terang, coklat dan gelap) dengan standar kafein pada konsentrasi 30 ppm.



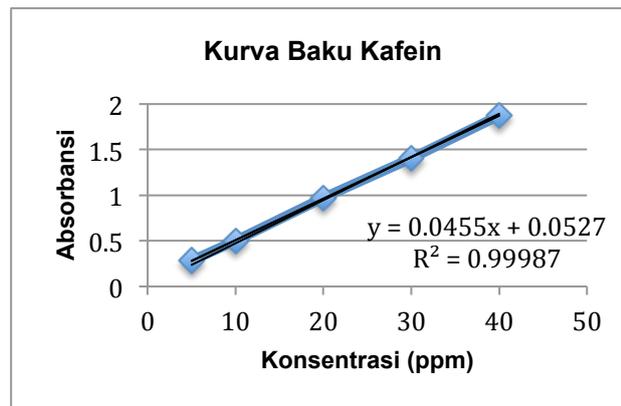
Gambar 5.5 Spektrum standar kafein dengan sampel kopi tiap profil
(terang, coklat, gelap)

5.4.2 Linieritas

Pengujian linieritas dilakukan dengan menggunakan 5 kadar yang berbeda yaitu 5, 10, 20, 30 dan 40 ppm yang kemudian dilihat apakah memberikan respons yang linier atau tidak. Persamaan kurva larutan baku linier diperoleh dengan $y = 0,0455x + 0,0527$ dan r^2 sebesar 0,99987. Hasil absorbansi larutan standar kafein konsentrasi 5 - 40 ppm tercantum pada Tabel 5.2 dan grafik kurva baku tercantum pada Gambar 5.6.

Tabel 5.2 Hasil Absorbansi Larutan Standar Kafein (5-40 ppm)

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
5	0,282
10	0,503
20	0,972
30	1,408
40	1,877



Gambar 5.6 Kurva Baku Kafein (5-40 ppm)

Dilihat dari hasil koefisien regresi linieritas persamaan kurva baku diatas, berdasarkan persyaratan ($r^2 > 0,999$) diperoleh bahwa pengujian yang dilakukan dinilai baik dan dapat diterima. Selain itu, parameter lainnya yang dapat dilihat untuk uji linieritas yaitu nilai koefisien variasi dari fungsi (V_{xo}), standar deviasi dari fungsi (S_{xo}) dan simpangan baku residual (S_y) yang diperoleh dengan rumus sebagai berikut:

$$\begin{aligned}
 S_y &= \frac{\sqrt{\sum(y-y_1)^2}}{n-2} & S_{xo} &= S_y/b \\
 &= \frac{\sqrt{2.2E-04}}{5-2} & &= 0,00865/ 0.0455 \\
 &= 0,00865 & &= 0,190 \\
 V_{xo} &= (S_{xo}/x) \times 100\% \\
 &= (0,190/21) \times 100\% \\
 &= 0,905\%
 \end{aligned}$$

Dari nilai V_{xo} diatas, dinyatakan bahwa nilai V_{xo} sesuai dengan persyaratan yaitu dibawah 2% (AOAC, 2002). Sehingga dinyatakan bahwa uji linieritas memenuhi persyaratan.

5.4.3 LOD dan LOQ

LOD merupakan jumlah analit terendah dalam sampel yang dapat dideteksi. Sedangkan LOQ atau batas kuantitasi merupakan batas dari jumlah analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan secara kuantitatif (Hansen, 2012). LOD dan LOQ dihitung dengan menggunakan persamaan kurva baku linier $y = 0,0455x + 0,0527$. LOD dan LOQ pada penelitian ini diperoleh dengan rumus:

$$\begin{aligned} \text{LOD} &= 3 \times \text{Sy}/b & \text{LOQ} &= 10 \times \text{Sy}/b \\ &= (3 \times 0,00865) / 0,0455 & &= (10 \times 0,00865) / 0,0455 \\ &= 0,570 \text{ ppm} & &= 1,901 \text{ ppm} \end{aligned}$$

Keterangan :

Sy = Simpangan baku residual

b = Slope

Dari hasil perhitungan diatas, diperoleh nilai LOD sebesar 0,570 ppm dan LOQ sebesar 1,901 ppm.

5.4.4 Akurasi dan Presisi

Akurasi dalam penelitian perlu dilakukan untuk mengetahui kedekatan antara hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya, sedangkan presisi dilakukan untuk menunjukkan kedekatan antara hasil pengujian individual bila prosedur diterapkan berulang kali untuk beberapa sampel, sehingga dapat diketahui apakah prosedur yang dilakukan bisa diulang atau tidak (Hansen, 2012). Nilai %*recovery* dan %RSD diperoleh dengan rumus:

$$\% \text{Recovery} = \frac{\text{Kadar terukur}}{\text{Kadar sebenarnya}} \times 100\%$$

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

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

Nilai %recovery dan %RSD tercantum pada Tabel 5.3.

Tabel 5.3 Nilai % Recovery dan %RSD

Kons.	Absorbansi	Massa diperoleh (mg)	Massa Teoritis (mg)	%Rec.	Rata-Rata %Rec.	SD	%RSD
80%	0,500	3,93	4,02	97,9	98,6	0,092	0,924
	0,508	4,00		99,7			
	0,502	3,95		98,4			
100%	0,605	4,86	5,02	96,7	97,9	0,129	1,05
	0,614	4,94		98,3			
	0,616	4,95		98,7			
120%	0,737	6,02	6,02	99,9	99,6	0,137	0,915
	0,728	5,94		98,6			
	0,740	6,04		100			
Rata-rata	0,616	4,96	5,02	98,7	98,7	0,119	0,962

Akurasi pada penelitian ini dinilai baik apabila berada pada rentang 95%-102% untuk konsentrasi 10% (AOAC, 2002), sedangkan presisi yang baik ditandai dengan nilai %RSD dibawah 1,5% untuk konsentrasi 10% (AOAC, 2002). Pada penelitian diperoleh nilai akurasi dari setiap konsentrasi yaitu sebesar 98,6%; 97,9% dan 99,6% dengan rata-rata %recovery sebesar 98,7%. Sedangkan presisi yang baik ditandai dengan nilai RSD dibawah 1,5% (AOAC, 2002) dan pada penelitian diperoleh nilai RSD dari setiap konsentrasi yaitu sebesar 0,924%; 1,05% dan 0,915% dengan rata-rata sebesar 0,962%.

5.5 Penetapan Kadar Kafein

Perhitungan kadar kafein (%b/b) dilakukan dengan menggunakan rumus:

$$\text{Kadar Kafein (\%b/b)} = \frac{\text{Massa kafein yang diperoleh (100 ml)}}{\text{Massa sampel}} \times 100\%$$

yang diperoleh dengan melakukan perhitungan pengenceran $M_1V_1 = M_2V_2$.

Nilai kadar kafein (%b/b) pada sampel bubuk kopi masing-masing profil tercantum pada Tabel 5.4.

Tabel 5.4 Nilai Kadar Kafein (%b/b) Bubuk Kopi Robusta Kawi

Profil Sangrai	Berat Sampel (g)	Absorbansi	Konsentrasi (ppm)	Kadar (%b/b)	Rata-Rata Kadar (%b/b)
Terang	0,0501	0,556	11,1	8,84	8,80±0,633
	0,0500	0,536	10,6	8,50	
	0,0500	0,515	10,2	8,13	
	0,0501	0,588	11,8	9,40	
	0,0500	0,571	11,4	9,12	
Cokelat	0,0500	0,485	9,50	7,60	7,42±0,276
	0,0500	0,469	9,15	7,32	
	0,0502	0,484	9,48	7,55	
	0,0500	0,482	9,43	7,55	
	0,0501	0,456	8,86	7,07	
Gelap	0,0502	0,382	7,23	5,76	5,71±0,209
	0,0500	0,370	6,69	5,57	
	0,0501	0,384	7,27	5,80	
	0,0501	0,367	6,89	5,50	
	0,0501	0,389	7,38	5,89	

5.6 Analisis One-Way ANOVA

Analisis *one-way* ANOVA dilakukan menggunakan software SPSS 20 dengan menggunakan data kadar kafein pada tiap profil sangrai. Analisis statistik dimulai dengan uji normalitas dengan menggunakan tes Shapiro Wilk dikarenakan jumlah data yang kurang dari 50 data. Uji normalitas dilakukan untuk mengukur apakah data memiliki distribusi normal sehingga dapat dipakai dalam statistik parametrik. Signifikansi dari uji normalitas yaitu jika $p <$

0,05 memiliki distribusi data tidak normal, sedangkan jika $p > 0,05$ memiliki distribusi data normal. Hasil dari uji normalitas tercantum pada Tabel 5.5.

Tabel 5.5 Hasil Uji Normalitas

No	Data	Nilai Signifikansi (p)	Keterangan
1	Profil Terang	0,961 > 0,05	Berdistribusi Normal
2	Profil Cokelat	0,168 > 0,05	Berdistribusi Normal
3	Profil Gelap	0,593 > 0,05	Berdistribusi Normal

Dari tabel diatas diperoleh hasil uji normalitas pada masing-masing profil sangrai yaitu $> 0,05$, hal ini menunjukkan sampel berasal dari populasi yang terdistribusi normal. Selanjutnya, dilakukan uji homogenitas dengan menggunakan tes Lavene untuk mengetahui apakah kelompok data memiliki varians yang homogen atau tidak, kriteria pengujian adalah jika nilai sig. lebih besar dari $\alpha = 0,05$. Hasil uji homogenitas tercantum pada Tabel 5.6.

Tabel 5.6 Hasil Uji Homogenitas

No	Data	Nilai Signifikansi (p)	Keterangan
1	Kadar	0,066	Varians Data Homogen

Berdasarkan tabel diatas, didapatkan hasil uji homogenitas 0.066 dimana $p > 0,05$, hal ini menunjukkan sampel berasal dari kelompok data sampel yang homogen (varian data homogen). Dari kedua uji statistik yaitu uji normalitas dan homogenitas dinyatakan memenuhi kriteria uji parametrik, sehingga analisis statistik dapat dilanjutkan dengan metode *one-way* ANOVA. Uji *one-way* ANOVA dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan yang bermakna antara profil sangrai (terang, cokelat, gelap) pada kopi terhadap kadar kafein yang dihasilkan secara statistika. Kriteria pengujian yaitu jika nilai signifikansi $< 0,05$ maka memiliki rata-rata yang berbeda, sedangkan jika nilai signifikansi $> 0,05$ maka memiliki rata-rata sama. Berikut

merupakan hasil uji *One-Way ANOVA* pada Tabel 5.7.

Tabel 5.7 Hasil Uji *One-Way ANOVA*

No	Data	Nilai Signifikansi (p)	Keterangan
1	Kadar	0,000	Berbeda secara bermakna

Setelah dilakukan uji *one-way ANOVA*, dilanjutkan dengan uji *post hoc* Tukey HSD untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara makna. Kelompok data yang berbeda makna yaitu kelompok yang memiliki nilai $p < 0,05$ dapat dilihat pada Tabel 5.8.

Tabel 5.8 Hasil Uji *Post Hoc* Tukey HSD

Kelompok 1	Kelompok 2	Nilai Signifikansi (p)
Terang	Cokelat	0,000
	Gelap	0,000
Cokelat	Terang	0,000
	Gelap	0,000
Gelap	Terang	0,000
	Cokelat	0,000

Berdasarkan hasil uji *post hoc* Tukey HSD diatas, diperoleh bahwa terdapat perbedaan makna yang signifikan dari kadar kafein dengan masing-masing sampel kopi robusta pada profil sangrai terang, cokelat dan gelap.

BAB VI

PEMBAHASAN

6.1 Pembahasan Hasil Penelitian

Kopi merupakan salah satu minuman yang mengandung kafein yang banyak digemari oleh masyarakat di berbagai kalangan. Kafein banyak dikonsumsi oleh masyarakat karena memiliki efek untuk menstimulasi sistem syaraf pusat yang menghasilkan peningkatan aktivitas mental. Namun, jika kafein dikonsumsi secara berlebihan maka dapat menimbulkan efek yang merugikan bagi tubuh seperti palpitasi, insomnia, nyeri kepala, mual dan muntah (Bawazeer dan Alsobahi, 2013). Untuk mengetahui keamanan dalam mengonsumsi kopi, maka kadar kafein harus sesuai dengan syarat mutu SNI Kopi Bubuk 01-3542-2004 yang menyebutkan bahwa kadar kafein untuk kopi yaitu sebesar 0,45 - 2 %b/b.

Penelitian dimulai dengan menentukan sampel biji kopi. Sampel biji kopi robusta daerah Lereng Gunung Kawi dipilih sebagai sampel penelitian karena Lereng Gunung Kawi merupakan salah satu wilayah yang memiliki tingkat produksi kopi robusta terbesar di Kabupaten Malang seberat 274 ton pada tahun 2017 (Badan Pusat Statistik, 2018). Pengambilan sampel biji kopi tersebut diambil dengan metode sampling *purposive* yang didasarkan atas pertimbangan peneliti.

Setelah dilakukan pemilihan sampel biji kopi, selanjutnya biji kopi tersebut disangrai dengan suhu berbeda sehingga dihasilkan tiga profil sangrai. Penyangraian terbagi menjadi tiga profil secara umum yaitu profil sangrai terang yang disangrai hingga suhu 180°C, profil sangrai cokelat yang disangrai hingga suhu 210°C dan profil sangrai gelap yang disangrai

hingga suhu 240 ° C (Vosloo, 2017). Dengan dilakukannya proses penyangraian, maka akan mempengaruhi warna bubuk kopi dan kadar kafein yang dihasilkan.

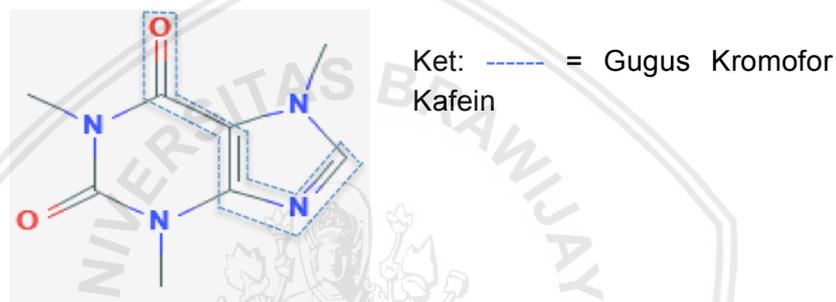
Untuk memisahkan senyawa kafein dari kopi, maka perlu dilakukan proses ekstraksi. Proses ekstraksi dilakukan dengan melarutkan sampel bubuk kopi dalam air pada suhu 90°C selama 30 menit. Proses ini dilakukan dengan air panas karena air panas lebih cepat melarutkan kafein daripada air dingin (kelarutan air dingin adalah 22 mg/ml pada 25 °C; 180 mg/ml pada 80 °C, dan 670 mg/ml pada 100°C). Proses ekstraksi sampel bubuk kopi dengan air bertujuan untuk menarik senyawa alkaloid yang terdapat dalam bubuk kopi (kafein) yang kemudian basa bebas diekstraksi dengan pelarut organik, sehingga senyawa asam dan netral yang mudah larut dalam air tertinggal dalam air (Padmawinata, 1995). Selain itu, dilakukan pelarutan dengan air sebelum diekstraksi dengan pelarut yaitu untuk mengatasi efek matriks terhadap spektrum penyerapan UV yang dapat menyebabkan *overlapping* zat penyerap UV dalam matriks sederhana (Belay dkk., 2008). Selanjutnya, larutan kopi disaring terlebih dahulu untuk memisahkan larutan dari komponen kopi yang tidak larut yang kemudian dilakukan ekstraksi dengan diklorometana. Penambahan diklorometana dalam corong pisah bertujuan untuk mengikat kafein dari larutan agar kafein benar-benar terpisah dari zat-zat lain dalam larutan. Diklorometana merupakan salah satu pelarut yang sering digunakan untuk analisis kafein karena memiliki kelarutan kafein sebesar 140 mg/ml (Demissie, 2016) dan berdasarkan USP 40 tentang *residual solvents*, diklorometana termasuk dalam kelas 2 yang penggunaannya masih diperbolehkan namun dibatasi. Selain itu,

diklorometana juga dinilai lebih efektif dibandingkan dengan pelarut kloroform dalam melakukan ekstraksi kafein (Maramis dkk., 2013).

Ekstraksi dari tiap profil sangrai ini dilakukan pengulangan ekstraksi sebanyak 3 kali untuk menarik secara maksimal senyawa kafein yang berada dalam larutan kopi. Setelah diperoleh hasil ekstraksi dari tiap profil sangrai, selanjutnya dianalisis dengan Spektrofotometri UV-Vis. Metode Spektrofotometri UV-Vis dipilih sebagai metode untuk analisis kadar kafein karena berdasarkan beberapa peneliti terdahulu seperti Demissie (2016), Dobrinas (2013) dan Wondimkun (2016) diperoleh hasil yang akurat, presisi dan sensitif untuk penetapan kadar kafein dalam biji kopi menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis. Metode Spektrofotometri UV-Vis juga menjadi metode yang paling banyak dilakukan karena metode ini relatif cepat, murah dan mudah dalam pengerjaannya. Selain itu, berdasarkan hasil dari penelitian Navarra (2017), diperoleh bahwa kadar kafein yang dianalisis dengan metode Spektrofotometri UV-Vis dan HPLC memberikan hasil yang tidak berbeda secara signifikan.

Verifikasi metode analisis merupakan metode untuk memastikan bahwa analis dapat menerapkan metode analisis dengan baik dan menjamin mutu hasil pengujian. Parameter yang digunakan untuk melakukan verifikasi metode yaitu spesifitas, linieritas, LOD, LOQ akurasi, dan presisi. Uji spesifitas dilakukan untuk mengukur zat tertentu saja secara cermat dan seksama dengan adanya komponen lain yang mungkin ada dalam matriks sampel (Harmita, 2004). Uji ini dilakukan dengan mengamati panjang gelombang maksimum yang terdeteksi melalui spektrum dalam rentang 200 - 400 nm. Pemilihan panjang gelombang di daerah ultraviolet (200 – 400

nm) ini dikarenakan senyawa kafein menunjukkan serapan panjang gelombang maksimum pada rentang 272 – 276 nm (Egan, 1981). Senyawa yang akan ditetapkan kadarnya secara Spektrofotometri UV-Vis harus memiliki gugus kromofor pada strukturnya agar dapat menyerap radiasi elektronik sehingga dapat mempengaruhi panjang gelombang dan intensitas absorbansi yang dihasilkan (Kumar, 2006). Gugus kromofor yang terdapat pada senyawa kafein dapat dilihat pada Gambar 6.1.



Gambar 6.1 Gugus Kromofor Kafein (Pubchem, 2019)

Berdasarkan peneliti terdahulu seperti Demissie (2016), Dobrinas (2013) dan Maramis (2013) yang melakukan analisis terhadap kafein, diperoleh hasil bahwa kafein memiliki serapan maksimum pada panjang gelombang 277 nm, 273,5 nm dan 275 nm. Pada penelitian ini diperoleh panjang gelombang maksimum dari larutan standar sebesar 275,2 nm. Begitu pula dengan sampel kopi yang diukur spektrumnya dan didapatkan spektrum pada sampel kopi profil terang terdapat puncak pada panjang gelombang 271,50 nm dengan absorbansi sebesar 0,251; spektrum sampel kopi profil coklat terdapat puncak pada panjang gelombang 271,10 nm dengan absorbansi sebesar 0,239 dan spektrum sampel kopi profil gelap terdapat puncak pada panjang gelombang 274,20 nm dengan absorbansi sebesar 0,159. Dari hasil spektrum standar kafein dan sampel kopi yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa uji spesifitas dinilai baik yang

ditandakan dengan kemiripan spektrum maupun panjang gelombang standar kafein dengan sampel kopi.

Linieritas merupakan parameter yang menandakan metode dapat memberikan respon yang seimbang terhadap konsentrasi analit dalam sampel pada rentang tertentu (USP, 2017a). Uji ini dilakukan dengan menggunakan 5 kadar yang berbeda dan dilihat apakah memberikan respons yang linier atau tidak yang ditunjukkan dengan nilai $r^2 \geq 0,999$ (AOAC, 2002). Pada penelitian ini, pembuatan kurva baku dilakukan 2 kali yaitu dengan rentang konsentrasi 10 – 50 ppm dan dengan rentang 5 - 40 ppm dalam waktu yang berbeda. Kurva baku konsentrasi 10 - 50 ppm dibuat bersamaan dengan dilakukannya proses ekstraksi sampel. Berdasarkan Barwick (2003), penentuan kadar sampel dapat diperoleh dari persamaan kurva baku yang dibuat pada hari maupun kondisi yang sama saat pembuatan sampel. Lalu, pada hari yang berbeda dilakukan pembuatan kurva baku konsentrasi 5 – 40 ppm untuk melakukan uji akurasi dan presisi karena perkiraan konsentrasi hasil uji akurasi dan presisi pada konsentrasi 80% mendekati 10 ppm, sehingga rentang konsentrasi dibuat lebih lebar yaitu pada konsentrasi 5 – 40 ppm supaya hasil uji mencakup rentang kerja. Menurut UNODC (2009), dalam memperkirakan akurasi dapat dilakukan analisis sampel pada tiga konsentrasi yang berbeda (rendah, sedang, tinggi) yang mencakup rentang kerja dan konsentrasi standar harus berbeda dari kurva kalibrasi yang telah digunakan serta harus disiapkan dari larutan standar yang berbeda. Oleh karena itu, penentuan untuk uji akurasi dan presisi digunakan persamaan kurva baku konsentrasi 5 - 40 ppm sedangkan penentuan kadar sampel digunakan persamaan kurva baku konsentrasi 10 -

50 ppm. Pada uji linieritas dapat digunakan salah satu dari persamaan kurva baku tersebut yang menghasilkan linieritas terbaik dan dipilih kurva baku konsentrasi 5 – 40 ppm dengan persamaan kurva larutan baku linier $y = 0,0455x + 0,0527$ dan r^2 sebesar 0,9999. Berdasarkan hasil koefisien regresi linieritas persamaan kurva baku tersebut, diperoleh bahwa pengujian yang dilakukan dinilai baik dan dapat diterima. Selain dilihat dari hasil koefisien regresi linieritas, uji linieritas dapat dilihat dari nilai koefisien variasi dari fungsi (V_{xo}). Diperoleh nilai V_{xo} sesuai dengan persyaratan yaitu 0,905% (dibawah 2%) (AOAC, 2002), sehingga dinyatakan bahwa uji linieritas memenuhi persyaratan.

Parameter selanjutnya yaitu LOD dan LOQ. Dilakukannya LOD dan LOQ bertujuan untuk mengetahui batasan terhadap data yang didapat sehingga data berada diatas batas dan dapat diamati dengan persamaan linieritas yang telah ditentukan. Nilai LOD yang diperoleh sebesar 0,570 ppm dan LOQ sebesar 1,901 ppm. Jika dibandingkan dengan peneliti lain seperti Dobrinas (2013), nilai perolehan LOD dan LOQ tidak berbeda jauh yaitu LOD sebesar 0,85 ppm dan LOQ sebesar 1,52 ppm.

Uji akurasi dan presisi dilakukan dengan menggunakan 3 konsentrasi yang berbeda dengan pengulangan 2 kali. Akurasi yang dinyatakan dalam *%recovery* dikatakan memenuhi persyaratan jika nilai *%recovery* diantara 95 - 102% (AOAC, 2002). Pada penelitian diperoleh nilai akurasi dari setiap konsentrasi yaitu sebesar 98,6%; 97,9% dan 99,6% dengan rata-rata *%recovery* sebesar 98,7%. Sedangkan presisi yang baik ditandai dengan nilai RSD dibawah 1,5% (AOAC, 2002) dan pada penelitian diperoleh nilai RSD dari setiap konsentrasi yaitu sebesar 0,924%; 1,05% dan 0,915%

dengan rata-rata sebesar 0,962%. Hasil ini memenuhi kriteria penerimaan uji akurasi dan presisi yang ditentukan AOAC (2002), sehingga metode analisis dinyatakan dapat memberikan hasil yang akurat dan tepat.

Penetapan kadar kafein pada masing-masing profil sangrai biji kopi robusta dilakukan dengan melakukan pengukuran absorbansi pada sampel biji kopi yang dihitung konsentrasinya dengan menggunakan persamaan $y = 0,0453x + 0,0547$, sehingga diperoleh kadar kafein (%b/b) yang tercantum pada Tabel 5.4. Pada Tabel 5.4 menunjukkan bahwa absorbansi berbanding lurus dengan nilai kadar kafein pada sampel kopi, dimana dengan semakin besarnya absorbansi yang dihasilkan, maka akan semakin banyak molekul yang menyerap cahaya pada panjang gelombang tersebut. Sehingga nilai absorbansi akan berbanding lurus dengan konsentrasi zat yang terkandung dalam suatu sampel. Dari hasil penelitian diperoleh bahwa kadar kafein dari profil terang ke profil coklat dan ke profil gelap semakin menurun. Berdasarkan peneliti Thomas (2016), diperoleh kadar kafein pada sampel dengan suhu penyangraian 190°C, 200°C dan 210°C sebesar 1,31%; 1,15% dan 0,94%. Penurunan kadar kafein berdasarkan profil sangrai ini dapat terjadi karena adanya proses sublimasi (Severini, 2018). Rata-rata kadar kafein (%b/b) yang diperoleh pada sampel kopi untuk tiap profil sangrainya yaitu profil terang ($8,80\% \pm 0,633$), profil coklat ($7,42\% \pm 0,276$) dan profil gelap ($5,71\% \pm 0,209$). Dimana kadar yang diperoleh berada diatas persyaratan SNI Kopi Bubuk 01-3542-2004 yang menyebutkan bahwa syarat mutu kadar kafein untuk kopi yaitu sebesar 0,45 - 2 %b/b.

Perolehan kadar kafein yang lebih tinggi ini dapat disebabkan karena kandungan biji kopi hijau yang bervariasi tergantung dari jenis atau

varietasnya serta lokasi penanaman (McCusker, 2003). Berdasarkan Skowron (2016), diperoleh kadar kafein pada biji kopi hijau robusta di Indonesia sebesar 8,17%. Dimana kadar kafein ini lebih tinggi dibandingkan dengan kadar biji kopi hijau robusta dari negara lain seperti Vietnam, India dan Uganda yang memiliki kadar kafein pada kisaran 3 – 7,4%. Selain itu, proses penyangraian dapat mempengaruhi kadar kafein dalam biji kopi. Semakin lama waktu dan semakin tinggi suhu penyangraian, maka kadar kafein yang ada pada biji kopi akan semakin kecil atau sedikit. Hal ini sama seperti sifat kimia kafein, dimana kafein akan meleleh pada suhu 236°C dan mendidih pada suhu 178°C di atmosfer (Mumin, 2006). Umumnya, suhu penyangraian berkisar antara 200 hingga 230°C dan waktu penyangraian berkisar antara 12 hingga 20 menit. Nilai-nilai tersebut sangat bervariasi tergantung dari tingkat sangrai yang dibutuhkan maupun jenis alat sangrai yang digunakan (Jokanovic dkk., 2012). Penyebab lain dari kadar kafein yang tinggi yaitu karena adanya kemungkinan gangguan dari senyawa asam klorogenat yang ikut terambil saat proses ekstraksi berlangsung. Menurut Belay (2008), Esquivel (2011) dan Navarra (2017), proses ekstraksi kafein pada kopi memungkinkan untuk terdapat gangguan dari senyawa asam klorogenat yang terdapat dalam kopi. Kafein terbagi menjadi 2 kondisi yaitu kafein dalam kondisi basa bebas dengan kafein dalam kondisi terikat sebagai senyawa alkaloid dalam bentuk senyawa garam kompleks kalium klorogenat dengan ikatan ionik. Perlakuan panas selama proses penyangraian maupun pemanasan dalam air seharusnya dapat melepaskan ikatan asam klorogenat dari kafein sehingga kafein berada dalam kondisi basa bebas dan terjadi penurunan kadar kafein dalam biji kopi. Oleh sebab

itu, pengontrolan lama waktu dan suhu sangrai menjadi faktor penting dalam mempengaruhi kadar kafein yang akan dihasilkan biji kopi. Selain itu, berdasarkan hasil dari Wondimkun (2016), Belay (2008) dan Navarra (2017), diperoleh kadar kafein dalam rentang 0,5 – 3%. Dimana pada proses preparasi sampel penelitian tersebut menggunakan reagen tambahan seperti Na_2CO_3 dan H_2SO_4 sebelum diekstraksikan dengan pelarut organik untuk menghilangkan senyawa pengganggu seperti asam klorogenat maupun tanin saat proses ekstraksi kafein, sehingga kafein yang diperoleh merupakan kafein basa bebas. Namun, demikian pada penelitian Navarra (2017), hasil analisis kadar kafein pada metode Spektrofotometri UV-Vis dengan metode HPLC diperoleh nilai kadar yang tidak berbeda makna.

Agar kadar kafein pada biji kopi robusta Lereng Gunung Kawi, Malang sesuai dengan syarat mutu SNI, maka sebelum dilakukan penyangraian dapat dilakukan proses dekafeinasi terlebih dahulu untuk menurunkan kadar kafein. Proses dekafeinasi dilakukan dengan perebusan atau pengukusan biji kopi, yang selanjutnya diikuti proses pelarutan dengan menggunakan berbagai jenis pelarut seperti bahan kimia sintetis, bahan kimia alami, air atau gas (Mulato, 2004). Perlakuan perebusan atau pengukusan dapat memperlebar pori-pori jaringan pada biji kopi, sehingga pelarut mudah mendifusi ke dalam jaringan dan melarutkan kafein yang ada (Maramis, 2013). Uap panas juga dapat berperan untuk memutus ikatan antara kafein dan asam klorogenat yang semula merupakan garam kompleks kalium-klorogenat-kafein sehingga molekul kafein pada biji kopi menjadi bebas dan mudah terserap/terbawa ke dalam pelarut (Suharman, 2017).

Dari data kadar kafein yang telah diperoleh, selanjutnya diuji secara statistik menggunakan uji beda nyata *One-Way Analysis of Variance* (ANOVA) dengan software SPSS 20. Data yang digunakan yaitu data kadar kafein pada tiap profil sangrai (terang, coklat, gelap). Dari hasil uji statistik, diketahui bahwa data yang didapatkan telah berdistribusi normal ($p > 0,05$) dan memiliki varians data yang homogen ($\alpha > 0,05$), sehingga dapat dinyatakan memenuhi kriteria uji parametrik. Selanjutnya, analisis statistik dilanjutkan dengan metode *one-way* ANOVA untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan yang bermakna antara tiap profil sangrai (terang, coklat, gelap) pada kopi terhadap kadar kafein yang dihasilkan secara statistika. Dari hasil uji *one-way* ANOVA tersebut, diperoleh bahwa memiliki rata-rata yang berbeda karena nilai signifikansi yang diperoleh sebesar 0,000 dengan persyaratan $< 0,05$, yang berarti H_0 ditolak yang sehingga terdapat pengaruh perbedaan profil sangrai (terang, coklat, gelap) terhadap kadar kafein yang dihasilkan pada biji kopi.

Selanjutnya dilakukan uji *post hoc* Tukey HSD untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara makna. Dari uji yang dilakukan didapatkan hasil signifikansi sebesar 0,000. Sehingga dapat diartikan bahwa profil sangrai terang akan memberikan hasil kadar kafein yang berbeda signifikan dengan profil sangrai coklat dan profil sangrai gelap. Pada profil sangrai coklat akan menghasilkan kadar kafein yang berbeda signifikan dengan profil sangrai terang dan profil sangrai gelap. Pada profil sangrai gelap akan menghasilkan kadar kafein yang berbeda signifikan dengan profil sangrai terang dan coklat. Berdasarkan hasil diatas, maka sesuai dengan

hipotesis bahwa terdapat perbedaan kadar kafein pada biji kopi robusta daerah Lereng Gunung Kawi, Kabupaten Malang dalam tiga profil sangrai.

6.2 Implikasi Terhadap Bidang Kefarmasian

Penelitian ini dapat dikembangkan menjadi rekomendasi terhadap pihak produsen biji kopi untuk menghasilkan kopi yang berkualitas baik dengan kadar kafein yang sesuai syarat mutu SNI sebesar 0,45 - 2 %b/b, sehingga kopi bubuk yang beredar di pasaran dapat terjamin mutu dan keamanannya bagi kesehatan masyarakat.

6.3 Keterbatasan Penelitian

Keterbatasan dari penelitian ini yaitu terdapat variabel-variabel lain pada proses penyangraian yang dapat mempengaruhi kadar kafein yang dihasilkan pada biji kopi yaitu pengaturan waktu serta suhu penyangraian.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan dari hasil penelitian dan pembahasan dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Berdasarkan uji statistik *one-way* ANOVA, diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,000 yang berarti terdapat perbedaan makna yang signifikan antara kadar kafein sampel kopi robusta daerah Lereng Gunung Kawi, Kabupaten Malang pada profil sangrai terang, cokelat dan gelap dengan persyaratan nilai signifikansi $< 0,05$.
2. Nilai rata-rata kadar kafein (%b/b) pada sampel kopi robusta daerah Lereng Gunung Kawi berdasarkan profil sangrai terang ke gelap berturut-turut sebesar $8,80\% \pm 0,633$; $7,42\% \pm 0,276$ dan $5,71\% \pm 0,209$, dimana kadar ini berada diluar rentang persyaratan SNI Kopi Bubuk 01-3542-2004 sebesar 0,45 – 2 %b/b.

7.2 Saran

Saran yang dapat diberikan dari penelitian ini antara lain:

1. Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut terkait analisis kadar kafein dengan melihat perbandingan hasil penetapan kadar kafein dalam biji kopi robusta menggunakan metode HPLC.
2. Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut dengan membandingkan hasil kadar kafein yang diperoleh dengan menggunakan perbedaan pelarut selain diklorometana.

DAFTAR PUSTAKA

- Ariono, D., Sasongko, D., Kusumo, P. Dinamika Tetes Dalam Kolom Isian. *Seminar Nasional Teknik Kimia Indonesia*, 2006, 14: 1–5.
- Asosiasi Eksportir Kopi Indonesia (AEKI). 2016. Konsumsi Kopi Indonesia, (Online), (<http://aeki-aice.org>, diakses tanggal 18 Oktober 2018).
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1995. *Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists, Washington.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2002. *AOAC International Methods Committee Guidelines for Validation of Qualitative and Quantitative Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists, Washington.
- Ayeln, A. 2013. Determination of Chlorogenic Acids (CGA) in Coffee Beans Using HPLC. *American Journal of Research Communication*. Vol 1 (2): 78-91.
- Badan Pusat Statistik (BPS), 2016, *Luas dan Produksi Kopi Robusta Rakyat Menurut Kecamatan di Kabupaten Malang*, Kabupaten Malang.
- Badan Standarisasi Nasional (BSN), 2004, *SNI 01-3542-2004 Kopi Bubuk*, Jakarta.

Bawazeer, N.A., Alsobahi, N.A. Prevalence and Side Effects of Energy Drink Consumption Among Medical Students at Umm Al-Qura University, Saudi Arabia. *International Journal of Medical Students*, 2013, 1(3): 104-108.

Barwick, Vicki. 2003. *Preparation of Calibration Curves: A Guide to Best Practice*. LGC, United Kingdom.

Belay A., Ture K., Redi M., Asfaw A. Measurement of Caffeine in Coffee Beans with UV/Vis Spectrometer. *Food Chemistry*, 2008, 108: 310-315.

Chu, Yi-Fang. 2012. *Coffee: Emerging Health Effects and Disease Prevention*, 1st Ed. John Wiley & Sons, Inc., USA.

Copan Trade. 2016. *Coffee Roasting*, (Online), (<https://copantrade.com/product/coffee-roasting-services/>), diakses tanggal 1 September 2018).

Demissie, Ephram G., Girma W Woyessa., Arayaselassie Abebe. UV/Vis Spectrometer Determination of Caffeine in Green Coffee Beans From Hararghe, Ethiopia, Using Beer-Lambert's Law and Integrated Absorption Coefficient Techniques. *Chemistry & Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry*, 2016, 17(2): 109-123.

Djamal, R. 2010. *Prinsip-Prinsip Dasar Isolasi dan Identifikasi*, Universitas Baiturrahmah, Padang.

Dobrinan, S., A. Soceanu., V. Popescu. Optimization of A UV-Vis Spectrometric Method For Caffeine Analysis in Tea, Coffee and Other Beverages.

Chemistry & Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry, 2013, 14(2): 71-78.

Edwind. 2013. *Spektrofotometri UV-Vis*. Universitas Hasanuddin, Makassar.

Egan, H. Krik., S. Sawyer. 1981. *Person's Chemical Analisis of Food. Eight Edition*. Longman Scientific & Technical, London.

Esquivel, P. and Victor M. Jimenez. Functional Properties of Coffee and Coffee By-Productcts. *Food Research International*, 2012, 46: 488-495.

Franca A.S., Mendonca J.C.F., Oliveira, S.D. Composition of Green and Roasted Coffees of Different Cup Qualities. *LWT*, 2015, 38: 709–715.

Gebeyehu, Belete Tewabe dan Solomon L. B. Determination of Caffeine Content and Antioxidant Activity of Coffee. *American Journal of Applied Chemistry*, 2015, 3(2): 69-76.

Ghozali, Imam. 2009. *Aplikasi Analisis Multivariate dengan Program SPSS*. UNDIP, Semarang.

Hansen, S., Stig P., Knut R. 2012. *Introduction to Pharmaceutical Chemical Analysis*. John Wiley & Sons Ltd. West Sussiex.

Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 1 (3). 117-134. Universitas Indonesia, Jakarta.

Harmita. 2006. *Analisis Kuantitatif Bahan Baku dan Sediaan Farmasi*. Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia, Jakarta.

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*, Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian Sekretariat Jendral, 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, Subodh. 2006. *Spectroscopy of Organic Compounds*. Guru Nanak Dev University, Amritsar.

Laddha, G.S. and Degaleesan, T.E. 1976. *Transfort Phenomena in Liquid Extraction*. Tata Mc-Graw Hill Publishing Co. Ltd, New Delhi.

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

Lestari, E.W. 2016. *Penyutradaraan Program Feature Inside My Drinks Episode: Manual Brewing Coffee*. Skripsi Karya Seni, Program Studi Televisi dan Film, Fakultas Seni Media Rekam, Institut Seni Indonesia Yogyakarta, Yogyakarta.

- 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.
- McCusker, R. R., Goldberger, B. a, and Cone, E. J. Caffeine Content of Specialty Coffees. *Journal of Analytical Toxicology*, 2003, 27(7): 520–522.
- Misra, HD., Mehta BK., Mehta M Soni., DC Jain. Study of Extraction and HPTLC – UV Method for Estimation of Caffeine in Marketed Tea (*Camellia sinensis*) Granules. *International Journal of Green Pharmacy*, 2009, 47-51.
- Mulato, S. Pelarutan Kafein Biji Kopi Robusta Dengan Kolom Tetap Menggunakan Pelarut Air. *Jurnal Pelita Perkebunan*, 2004, 20(2): 97-109.
- Mulyatiningsing, Endang. 2011. *Riset Terapan Bidang Pendidikan dan Teknik*. UNY Press, Yogyakarta.
- Mumin, Abdul. Determination and Characterization of Caffeine in tea, Coffee and Soft Drinks by Solid Phase Extraction and High Performance Liquid Chromatography (SPE-HPLC). *Malaysian Journal of Chemistry*, 2006, 8(1): 045-051.
- Nasriati. 2006. *Analisis Usaha Tani Kopi Pada Sistem Usaha Tani Konservasi Lahan Kering Berbasis Tanaman Kopi di Kabupaten Lampung Barat*. Laporan Tahunan BPTP Lampung, Bandar Lampung.

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.

Novianty, Syah Fitri. 2008. *Pengaruh Berat dan Waktu Penyeduhan Terhadap
Kadar Kafein dari Bubuk Teh*. Universitas Sumatera Utara, Medan.

Novita, Lenny. Penetapan Kadar Kafein Pada Minuman Berenergi Sediaan
Sachet yang Beredar di Sekitar Pasar Petisah Medan. *Jurnal Kimia
Saintek dan Pendidikan*, 2017, 1(1): 37-42.

Padmawinata, K. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Penerbit ITB,
Bandung.

Prastowo, Bambang. 2010. *Budidaya dan Pasca Panen Kopi*, Pusat Penelitian
dan Pengembangan Perkebunan, Jakarta.

Pubchem. 2019. *Caffeine Compound*, (Online),
(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/caffeine>, diakses tanggal 8
April 2019).

Sastrohamidjojo, Hardjono. 2007. *Spektroskopi*. Liberty, Yogyakarta.

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, Magdalena Jeszka., Aleksandra S., Krystyna P., Maria P. Chlorogenic Acids, Caffeine Content and Antioxidant Properties of Green Coffee Extracts: Influence of Green Coffee Bean Preparation. *Euro Food Res Technol*, 2016, 242: 1403-1409.

Suharman. Teknologi Dekafeinasi Kopi Robusta Untuk Industri Kecil dan Menengah (IKM). *Jurnal Dinamikan Penelitian Industri*, 2017, 28(2): 87-93.

Thomas, Bukhori. Pengaruh Jenis dan Lama Penyangraian Pada Mutu Kopi Robusta (*Coffea robusta*). *Jurnal Agro Industri Perkebunan*, 2016, 4(1): 31-40.

Trihendradi, Cornelius. 2013. *Step By Step IBM SPSS 21 : Analisis Data Statistik*. CV. Andi Offset, Yogyakarta.

United States Pharmacopoeial Convention, 2007, *United State Pharmacopoeia*, Edisi 30 (Monograph on CD-ROM), United States Pharmacopoeial Convention, Inc.

United States Pharmacopeia (USP), 2017a, First Supplement to USP 40-NF 35, Validation of Compendial Procedures, MD: U.S. Pharmacopoeial Convention, Inc., Rockville.

- 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, Vienna.
- Vosloo, J. 2017. Heat and Mass Transfer Model For a Coffee Roasting Process, Diss. (M. E. Ch. E), North-West University.
- Wijaya, Dhira Ananta. Pengaruh Lama Pengukusan dan Konsentrasi Etil Asetat Terhadap Karakteristik Kopi Pada Proses Dekafeinasi Kopi Robusta. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 2015, 3(4): 1560-1566.
- Wilson dan Gisvold. 1982. *Textbook of Organic Medical and Pharmaceutical Chemistry*. Lippincolt Company, Philadelphia.
- Wiryawan, A. 2008. *Kimia Analitik*. Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan, Jakarta.
- Wondimkun, Zewdu Tadesse. The Determination of Caffeine Level of Wolaita Zone, Ethiopia Coffee Using UV-Visible Spectrophotometer. *American Journal of Applied Chemistry*, 2016, 4(2): 59-63.
- Yanlinastuti. 2016. Pengaruh Konsentrasi Pelarut Untuk Menentukan Kadar Zirkonium Dalam Paduan U-Zr Dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Pusat Teknologi Bahan Bakar Nuklir*, 17. ISSN: 1979-2409.
- Yashin, Alexander. Chromatographic Methods for Coffee Analysis: A Review. *Journal of Food Research*, 2017, 6(4): 60-82.

LAMPIRAN

Lampiran 1

Dokumentasi Preparasi Sampel



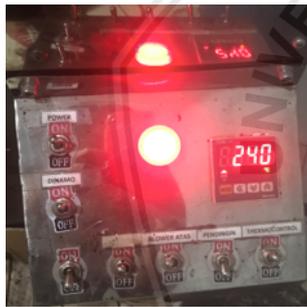
(1)



(2)



(3)



(4)



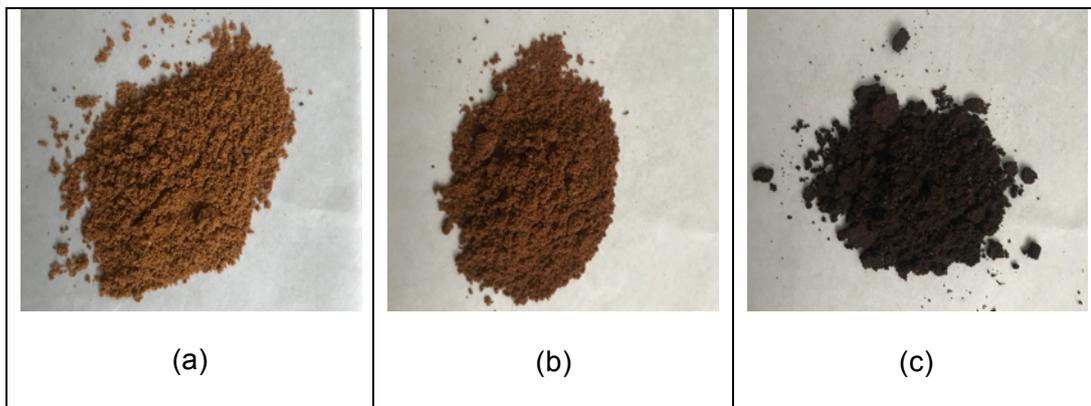
(5)



(6)



(7)



(8)

Keterangan :

Gambar 1. Biji kopi robusta daerah Lereng Gunung Kawi

Gambar 2. Suhu profil terang

Gambar 3. Suhu profil cokelat

Gambar 4. Suhu profil gelap

Gambar 5. Proses penyangraian

Gambar 6. Hasil penyangraian biji kopi (terang, cokelat, gelap)

Gambar 7. Proses penggilingan biji kopi menjadi bubuk

Gambar 8. Hasil bubuk kopi robusta daerah Lereng Gunung Kawi Profil Terang (a), Cokelat (b), Gelap (c)

Lampiran 2

Dokumentasi Proses Uji Akurasi dan Presisi



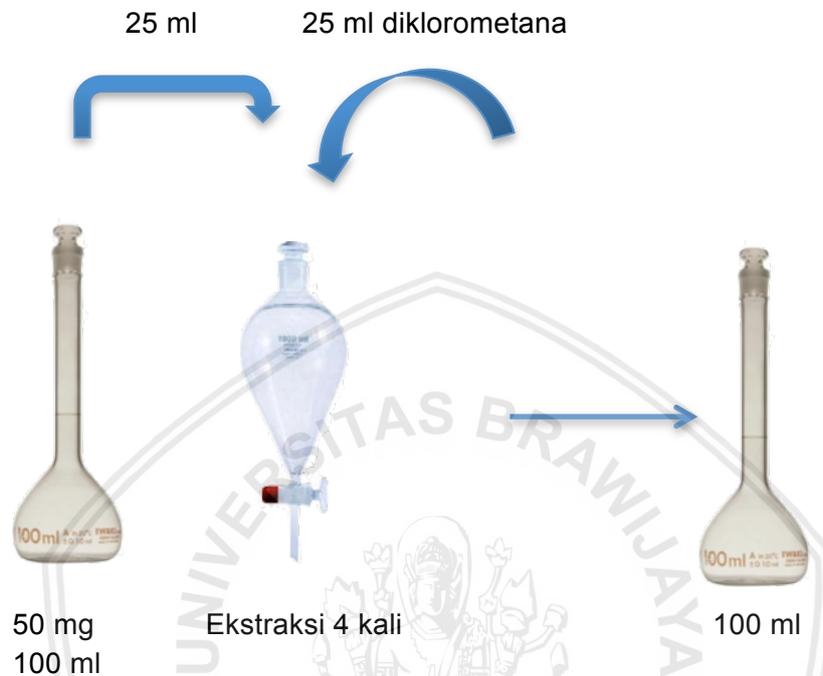
Gambar 1. Ekstraksi 25 ml larutan standar kafein (atas) dengan 25 ml diklorometana (bawah)



Gambar 2. Hasil ekstrak larutan kafein konsentrasi 80%, 100% dan 120%

Lampiran 3

Perhitungan Kadar Kafein Sampel Kopi Kawi (%b/b)



Profil Terang

Replikasi	Absorbansi	Konsentrasi (ppm)	Kadar (%b/b)
1	0,556	11,066	8,853
2	0,536	10,625	8,500
3	0,515	10,161	8,129
4	0,588	11,773	9,399
5	0,571	11,397	9,118
Rata-rata	0,553	11,004	8,796

Konsentrasi replikasi 1 $y = bx+a$ $0,556 = 0,0453x + 0,0547$ $x = 11,066$	Konsentrasi replikasi 4 $y = bx+a$ $0,88 = 0,0453x + 0,0547$ $x = 11,773$
Konsentrasi replikasi 2 $y = bx+a$ $0,536 = 0,0453x + 0,0547$ $x = 10,625$	Konsentrasi replikasi 5 $y = bx+a$ $0,571 = 0,0453x + 0,0547$ $x = 11,397$
Konsentrasi replikasi 3 $y = bx+a$ $0,515 = 0,0453x + 0,0547$ $x = 10,161$	

Contoh perhitungan kadar kafein sampel biji kopi robusta:

$$M_1V_1 = M_2V_2$$

$$11,066 \text{ ppm} \times 100 \text{ ml} = M_2 \times 25 \text{ ml}$$

$$M_2 = 44,264 \text{ ppm} = 44,265 \text{ mg}/1000 \text{ ml}$$

$$\text{Massa dalam 100 ml} = 4,4265 \text{ mg}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar (\%b/b)} &= \frac{\text{massa kafein yang diperoleh (100 ml)}}{\text{massa sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{4,4265}{50,1} \times 100\% \\ &= 8,853\% \end{aligned}$$



Lampiran 4

Perhitungan Standar Kafein (5 – 40 ppm)

Konsentrasi	Absorbansi	$y_1(bx+a)$	$(y-y_1)^2$
5	0,282	0,2802	3,24E-06
10	0,503	0,5077	2,209E-05
20	0,972	0,9627	8,649E-05
30	1,408	1,4177	0,000094
40	1,877	1,8727	0,000018
$\bar{x} = 21$	1,0084	Total	2,24E-04

$$r^2 = 0,99987$$

$$y = 0,0455 X + 0,0527$$

Konsentrasi 5 ppm $y = bx+a$ $y = 0,0455(5) + 0,0527$ $y_1 = 0,2802$	Konsentrasi 30 ppm $y = bx+a$ $y = 0,0455(30) + 0,0527$ $y_1 = 1,4177$
Konsentrasi 10 ppm $y = bx+a$ $y = 0,0455(10) + 0,0527$ $y_1 = 0,5077$	Konsentrasi 40 ppm $y = bx+a$ $y = 0,0455(40) + 0,0527$ $y_1 = 1,827$
Konsentrasi 20 ppm $y = bx+a$ $y = 0,0455(20) + 0,0527$ $y_1 = 0,9627$	

$$S_y = \frac{\sqrt{\sum(y-y_1)^2}}{n-2}$$

$$= \frac{\sqrt{2,24E-04}}{5-2}$$

$$= 0,00865$$

$$S_{x_0} = S_y/b$$

$$= 0,00865 / 0,0455$$

$$= 0,190$$

$$LOQ = 10 \times S_y/b$$

$$= (10 \times 0,00865) / 0,0455$$

$$= 1,901$$

$$V_{x_0} = (S_{x_0}/\bar{x}) \times 100\%$$

$$= (0,190/21) \times 100\%$$

$$= 0,905$$

$$LOD = 3 \times S_y/b$$

$$= (3 \times 0,00865) / 0,0455$$

$$= 0,570$$

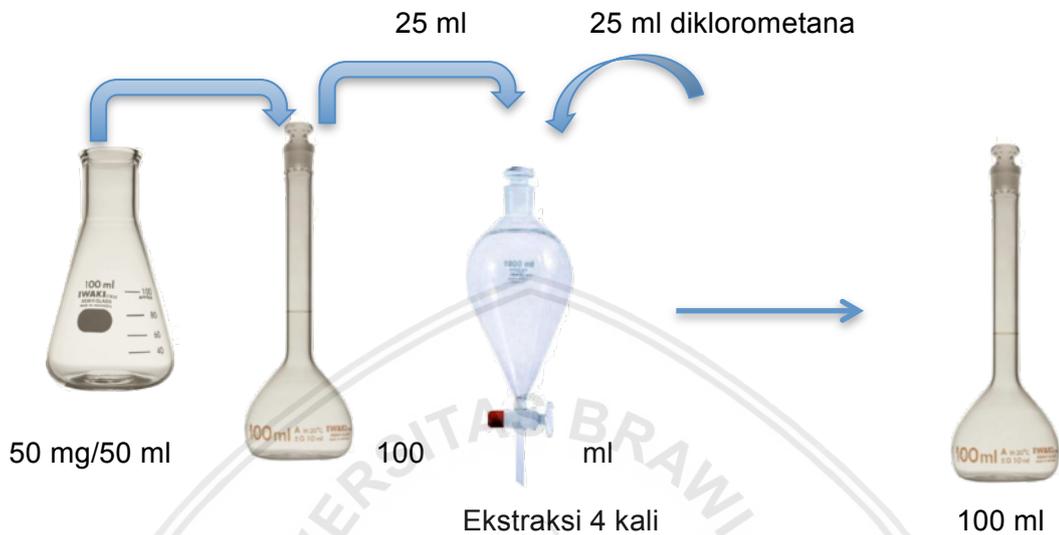
Perhitungan Standar Kafein (10 - 50 ppm)

Konsentrasi	Absorbansi	$y_1 (bx+a)$	$(y-y_1)^2$
10	0,482	0,508	6,60E-04
20	0,979	0,961	0,00033489
30	1,426	1,414	0,00015129
40	1,892	1,867	0,00064009
50	2,291	2,320	0,00082369
$\bar{x} = 30$	1,0084	Total	2,61E-03

Konsentrasi 10 ppm $y = bx+a$ $y = 0,0453(10) + 0,0547$ $y_1 = 0,508$	Konsentrasi 40 ppm $y = bx+a$ $y = 0,0453(40) + 0,0547$ $y_1 = 1,867$
Konsentrasi 20 ppm $y = bx+a$ $y = 0,0453(20) + 0,0547$ $y_1 = 0,961$	Konsentrasi 50 ppm $y = bx+a$ $y = 0,0453(50) + 0,0547$ $y_1 = 2,320$
Konsentrasi 30 ppm $y = bx+a$ $y = 0,0453(30) + 0,0547$ $y_1 = 1,414$	

Lampiran 5

Perhitungan Akurasi dan Presisi



- Kelarutan kafein dalam air = 1:50 = 1 g/50 ml
- Massa awal x kadar tertinggi = 50 mg x 9% = 4,5 mg = 5 mg
- Massa untuk 100% = 5 mg setara dengan 5 ml dengan replikasi 3 kali = 15 ml
- Massa untuk 80% = 4 mg setara dengan 4 ml dengan replikasi 3 kali = 12 ml
- Massa untuk 120% = 6 mg setara dengan 6 ml dengan replikasi 3 kali = 18 ml
- Total massa yang digunakan untuk uji akurasi dan presisi = 15 mg + 12 mg + 18 mg = 45 mg dibulatkan menjadi 50 mg
- Massa standar terukur = 50.2 mg dalam 50 ml = 1004 ppm

Dari 50 ml larutan standar kafein diambil:

80% = 4 ml

100% = 5 ml

120% = 6 ml

Konsentrasi	Absorbansi	X	Massa diperoleh (mg)	Massa Teoritis (mg)	%Recovery	SD	%RSD
80%	0,5	9,831	3,932	4,016	97,916	0,092	0,924
	0,508	10,007	4,003		99,667		
	0,502	9,875	3,950		98,354		
RATA-RATA	0,503	9,904	3,962		98,646		

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

$$r^2 = 0,99987$$

Konsentrasi 80% replikasi 1

$$y = bx + a$$

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

$$x = 9,831$$

Konsentrasi 80%

$$M_1V_1 = M_2V_2$$

$$1004 \text{ ppm} \times 4 \text{ ml} = M_2 \times 100 \text{ ml}$$

$$M_2 = 40,16 \text{ ppm}$$

$$M_1V_1 = M_2V_2$$

$$40,16 \text{ ppm} \times 25 \text{ ml} = M_2 \times 100 \text{ ml}$$

$$M_2 = 10,04 \text{ ppm}$$

$$\% \text{Recovery} = \frac{\text{kadar terukur}(x)}{\text{kadar sebenarnya}} \times 100\%$$

$$= \frac{9,831}{10,04} \times 100\%$$

$$= 97,916\%$$

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

$$= \frac{\sqrt{0,017}}{3-1}$$

$$= 0,092$$

$$\% \text{RSD} = \text{SD} / \bar{X} \times 100\%$$

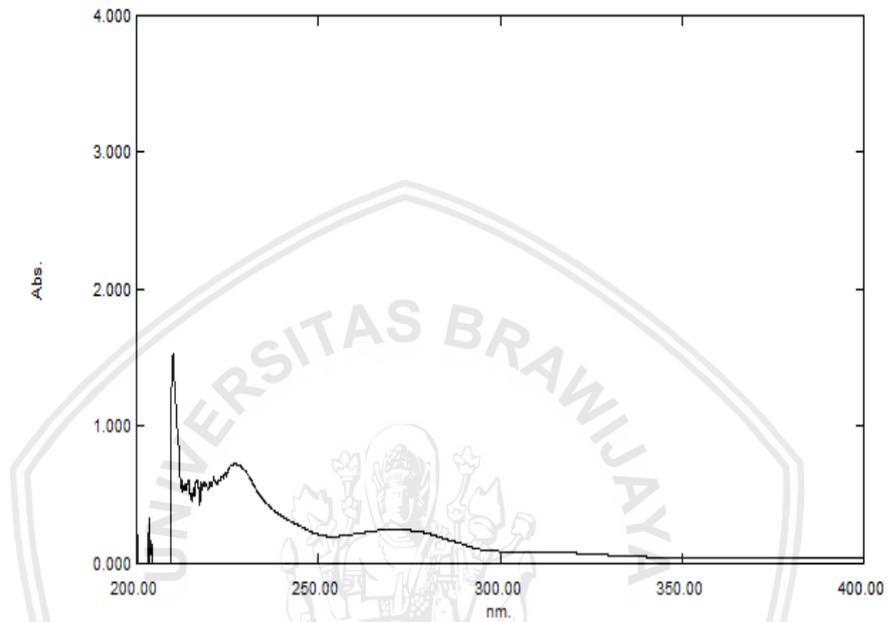
$$= 0,092 / 9,904 \times 100\%$$

$$= 0,924\%$$

Lampiran 6

Dokumentasi Spektrum, Panjang Gelombang dan Absorbansi

a. Profil Terang



Gambar 1. Spektrum sampel kopi profil terang

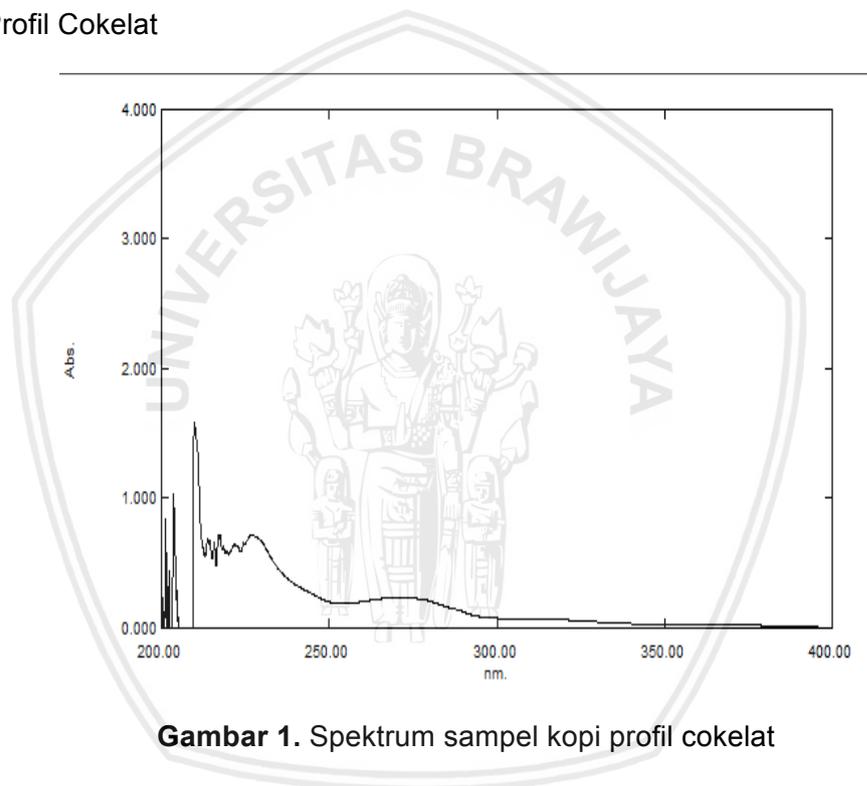
No.	P/V	Wavelength nm.	Abs.	Description
1	⬆️	365.10	0.047	
2	⬆️	305.40	0.088	
3	⬆️	271.50	0.251	
4	⬆️	226.90	0.728	
5	⬆️	210.10	1.531	
6	⬆️	203.50	0.333	
7	⬇️	364.50	0.044	
8	⬇️	254.00	0.197	
9	⬇️	217.40	0.430	
10	⬇️	207.70	-4.000	

Gambar 2. Panjang gelombang sampel kopi profil terang

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL275.20	Comments
1	001_0001	Unknown		0.000	0.556	imported from UV-1800
2	002_0002	Unknown		0.000	0.536	imported from UV-1800
3	003_0003	Unknown		0.000	0.515	imported from UV-1800
4	004_0004	Unknown		0.000	0.588	imported from UV-1800
5	005_0005	Unknown		0.000	0.571	imported from UV-1800
6						

Gambar 3. Absorbansi sampel kopi profil terang

b. Profil Cokelat



Gambar 1. Spektrum sampel kopi profil coklat

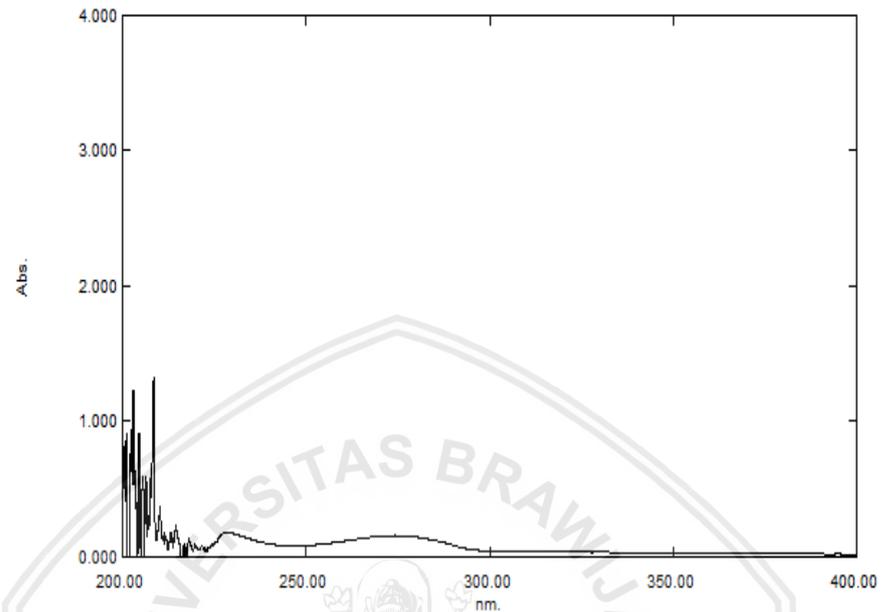
No.	P/V	Wavelength nm.	Abs.	Description
1	↑	365.10	0.030	
2	↑	309.10	0.073	
3	↑	305.30	0.075	
4	↑	271.10	0.239	
5	↑	227.00	0.723	
6	↑	221.80	0.653	
7	↑	217.50	0.713	
8	↑	215.80	0.664	
9	↑	213.80	0.693	
10	↑	209.80	1.590	
11	↑	203.70	1.036	
12	↓	364.50	0.027	
13	↓	342.10	0.027	
14	↓	305.90	0.072	
15	↓	254.40	0.187	
16	↓	253.30	0.187	
17	↓	223.70	0.587	
18	↓	220.00	0.566	
19	↓	216.30	0.488	
20	↓	215.20	0.532	
21	↓	212.90	0.552	
22	↓	207.70	-4.000	
23	↓	202.80	-0.939	

Gambar 2. Panjang gelombang sampel kopi profil coklat

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL275.20	Comments
1	001_0001	Unknown		0.000	0.485	imported from UV-1800
2	002_0002	Unknown		0.000	0.469	imported from UV-1800
3	003_0003	Unknown		0.000	0.484	imported from UV-1800
4	004_0004	Unknown		0.000	0.482	imported from UV-1800
5	005_0005	Unknown		0.000	0.456	imported from UV-1800
6						

Gambar 3. Absorbansi sampel kopi profil coklat

c. Profil Gelap



Gambar 1. Spektrum sampel kopi profil gelap

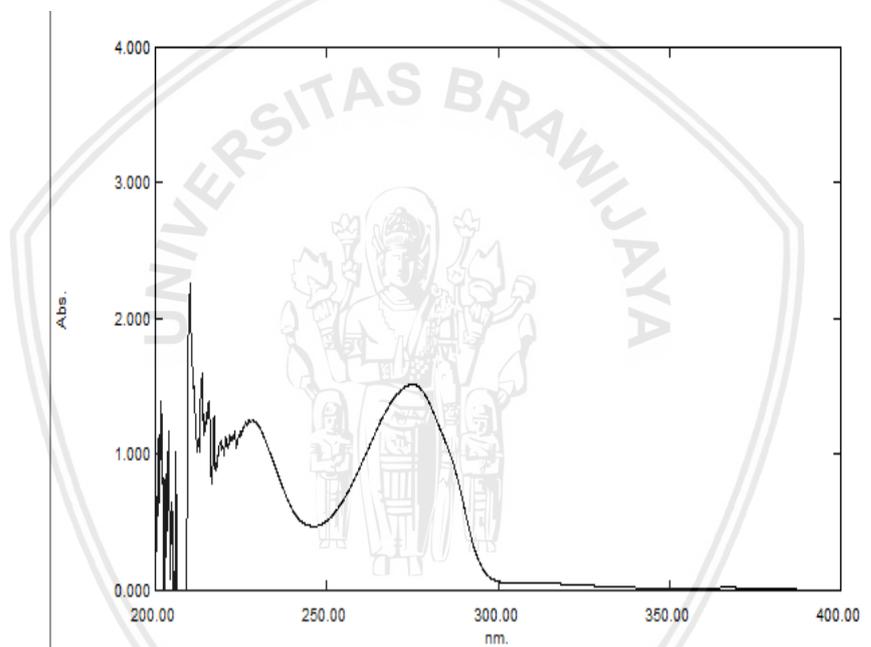
No.	P/V	Wavelength nm.	Abs.	Description
1	●	365.10	0.023	
2	●	330.90	0.039	
3	●	305.30	0.042	
4	●	274.20	0.159	
5	●	228.20	0.180	
6	●	221.60	0.083	
7	●	214.60	0.236	
8	●	210.20	0.378	
9	●	208.50	1.320	
10	●	364.60	0.022	
11	●	327.90	0.034	
12	●	304.80	0.040	
13	●	246.90	0.082	
14	●	222.70	0.039	
15	●	216.20	-0.024	
16	●	212.40	0.051	
17	●	209.30	0.121	
18	●	205.90	-0.031	

Gambar 2. Panjang gelombang sampel kopi profil gelap

	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	0.370	imported from UV-1800
3	003_0003	Unknown		0.000	0.384	imported from UV-1800
4	004_0004	Unknown		0.000	0.367	imported from UV-1800
5	005_0005	Unknown		0.000	0.389	imported from UV-1800
6						

Gambar 3. Absorbansi sampel kopi profil gelap

d. Standar Kafein (10-50 ppm)



Gambar 1. Spektrum standar kafein konsentrasi 30 ppm

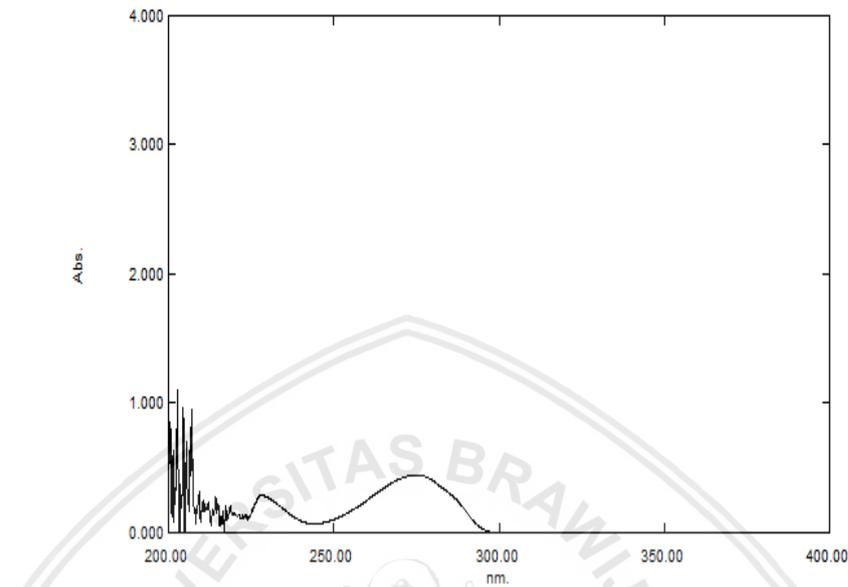
No.	P/V	Wavelength nm.	Abs.	Description
1	●	365.10	0.022	
2	●	312.00	0.051	
3	●	305.30	0.054	
4	●	275.20	1.519	
5	●	228.20	1.257	
6	●	223.10	1.172	
7	●	219.10	1.101	
8	●	213.70	1.598	
9	●	210.20	2.268	
10	●	203.80	1.176	
11	●	364.50	0.018	
12	●	342.10	0.014	
13	●	304.90	0.053	
14	●	246.20	0.472	
15	●	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 2. Panjang gelombang standar kafein konsentrasi 30 ppm

	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
6						

Gambar 3. Absorbansi standar kafein konsentrasi 10 - 50 ppm

e. 80%



Gambar 1. Spektrum standar kafein konsentrasi 80%

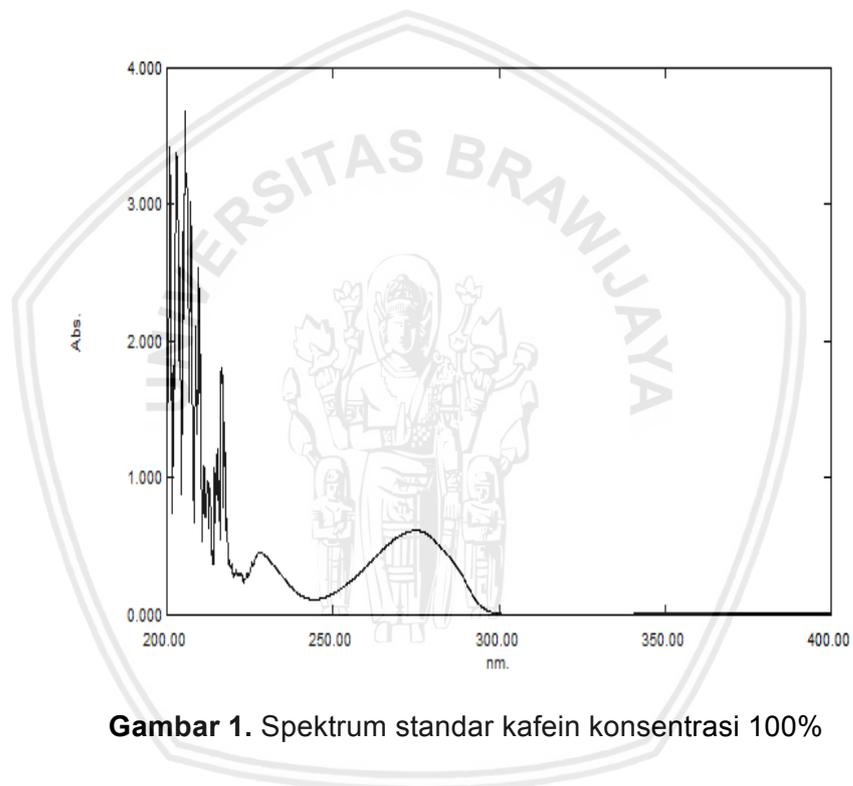
No.	P/V	Wavelength nm.	Abs.	Description
1	⬆	365.10	-0.000	
2	⬆	305.30	-0.008	
3	⬆	275.00	0.446	
4	⬆	227.90	0.286	
5	⬆	223.30	0.144	
6	⬆	218.80	0.206	
7	⬆	214.20	0.273	
8	⬆	207.10	0.950	
9	⬆	204.40	0.968	
10	⬆	200.40	0.853	
11	⬇	364.50	-0.002	
12	⬇	305.90	-0.010	
13	⬇	303.10	-0.009	
14	⬇	243.90	0.069	
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 2. Panjang gelombang standar kafein konsentrasi 80%

	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
4						

Gambar 3. Absorbansi standar kafein konsentrasi 80%

f. 100%



Gambar 1. Spektrum standar kafein konsentrasi 100%

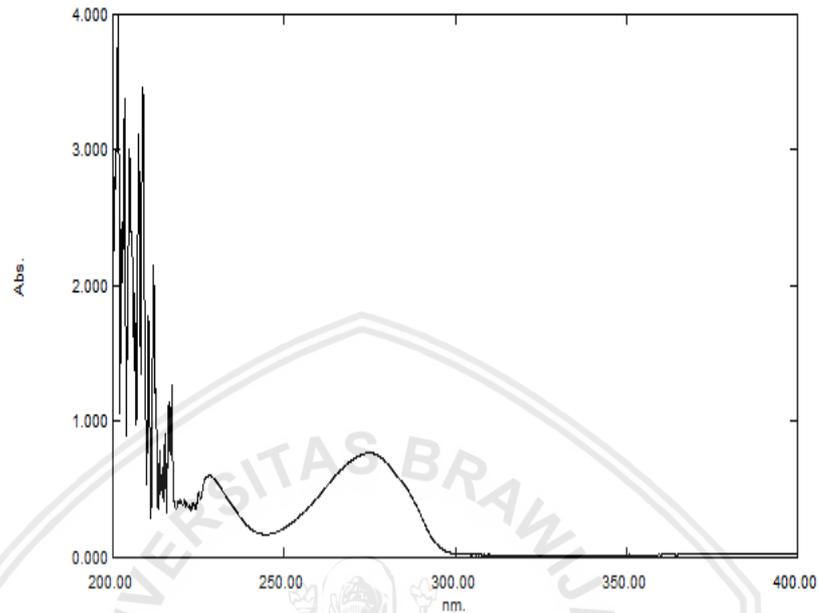
No.	P/V	Wavelength nm.	Abs.	Description
1	⬆️	305.30	0.005	
2	⬆️	275.00	0.617	
3	⬆️	228.00	0.459	
4	⬆️	225.60	0.380	
5	⬆️	220.90	0.325	
6	⬆️	216.40	1.812	
7	⬆️	214.30	1.073	
8	⬆️	209.60	2.537	
9	⬆️	207.20	3.023	
10	⬆️	205.50	3.676	
11	⬆️	202.70	3.382	
12	⬆️	200.90	3.420	
13	⬇️	364.50	0.009	
14	⬇️	305.90	-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 2. Panjang gelombang standar kafein konsentrasi 100%

	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
4						

Gambar 3. Absorbansi standar kafein konsentrasi 100%

g. 120%



Gambar 1. Spektrum standar kafein konsentrasi 120%

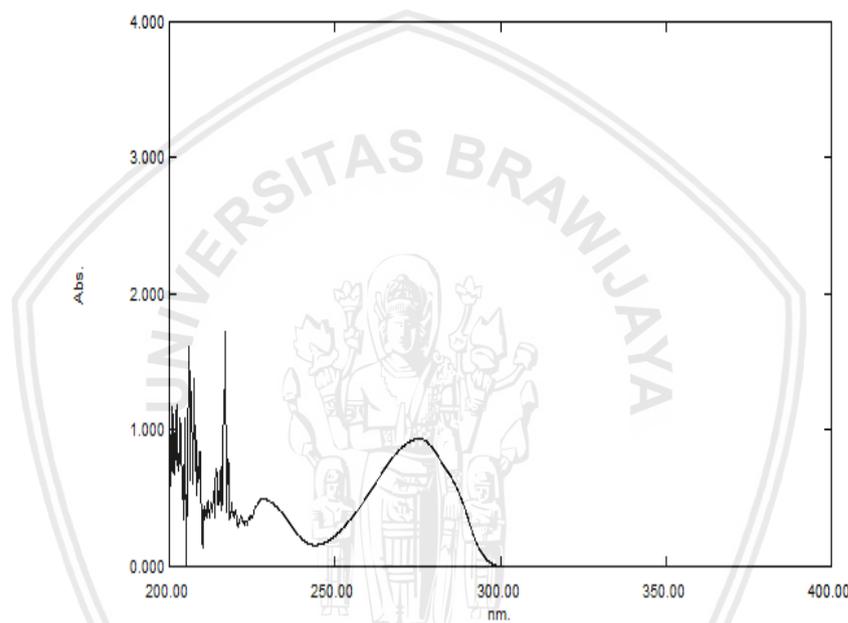
No.	P/V	Wavelength nm.	Abs.	Description
1	⬆	365.10	0.021	
2	⬆	363.80	0.021	
3	⬆	305.40	0.022	
4	⬆	274.90	0.769	
5	⬆	228.10	0.604	
6	⬆	225.10	0.482	
7	⬆	211.90	2.147	
8	⬆	208.60	3.464	
9	⬆	207.40	3.119	
10	⬆	204.80	3.013	
11	⬆	203.40	3.385	
12	⬆	201.50	4.000	
13	⬇	364.50	0.019	
14	⬇	305.90	0.020	
15	⬇	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 2. Panjang gelombang standar kafein konsentrasi 120%

	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
4						

Gambar 3. Absorbansi standar kafein konsentrasi 120%

h. Standar Kafein (5 - 40 ppm)



Gambar 1. Spektrum standar kafein konsentrasi 20 ppm

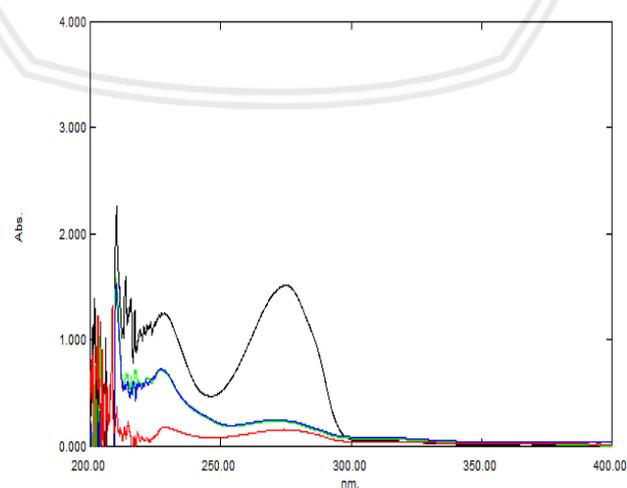
No.	P/V	Wavelength nm.	Abs.	Description
1	↑	332.00	-0.004	
2	↑	305.30	-0.009	
3	↑	275.30	0.940	
4	↑	228.50	0.499	
5	↑	221.60	0.377	
6	↑	220.00	0.411	
7	↑	216.80	1.719	
8	↑	213.40	0.547	
9	↑	207.60	1.383	
10	↓	364.50	-0.004	
11	↓	305.90	-0.012	
12	↓	304.80	-0.010	
13	↓	244.00	0.157	
14	↓	223.50	0.304	
15	↓	220.70	0.292	
16	↓	219.50	0.365	
17	↓	213.80	0.352	
18	↓	210.10	0.132	

Gambar2. Panjang gelombang standar kafein konsentrasi 20 ppm

	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
6						

Gambar 3. Absorbansi standar kafein konsentrasi 5 - 40 ppm

i. Standar Kafein (30 ppm) dengan Sampel Kopi



Gambar 1. Spektrum standar kafein konsentrasi 30 ppm dengan sampel

kopi tiap profil (**terang**, **cokelat**, **gelap**)

Lampiran 7

Hasil Uji Statistik

Tests of Normality

	kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
	terang	.140	5	.200 [*]	.985	5	.961
kadar	cokelat	.320	5	.105	.841	5	.168
	gelap	.225	5	.200 [*]	.929	5	.593

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

a. Lilliefors Significance Correction

Tests of Normality

	kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kadar	1	.187	15	.167	.916	15	.168

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

kadar

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.444	2	12	.066

ANOVA

kadar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	23.981	2	11.991	110.342	.000
Within Groups	1.304	12	.109		
Total	25.285	14			

Descriptives

kadar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
terang	5	8.79620	.500330	.223754	8.17496	9.41744	8.129	9.399
cokelat	5	7.41720	.221392	.099009	7.14231	7.69209	7.073	7.599
gelap	5	5.70500	.163282	.073022	5.50226	5.90774	5.504	5.892
Total	15	7.30613	1.343910	.346996	6.56190	8.05037	5.504	9.399

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: kadar

	(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	terang	cokelat	1.379000*	.208488	.000	.82278	1.93522
		gelap	3.091200*	.208488	.000	2.53498	3.64742
	cokelat	terang	-1.379000*	.208488	.000	-1.93522	-.82278
		gelap	1.712200*	.208488	.000	1.15598	2.26842
	gelap	terang	-3.091200*	.208488	.000	-3.64742	-2.53498
		cokelat	-1.712200*	.208488	.000	-2.26842	-1.15598

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

Homogeneous Subsets

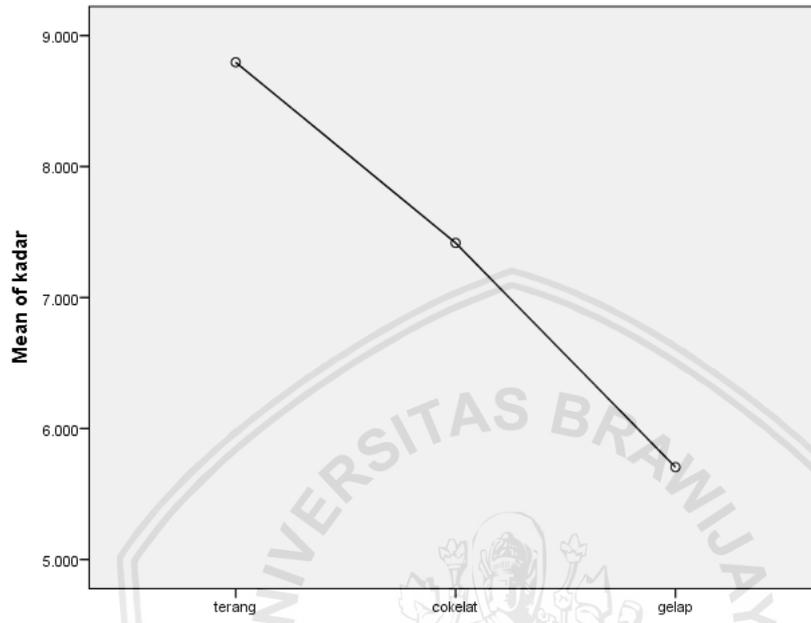
kadar

	kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
			1	2	3
Tukey HSD ^a	gelap	5	5.70500		
	cokelat	5		7.41720	
	terang	5			8.79620
	Sig.		1.000	1.000	1.000
Tukey B ^a	gelap	5	5.70500		
	cokelat	5		7.41720	
	terang	5			8.79620

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Means Plots



Lampiran 8

Certificate of Analysis Caffeine



Certificate of Analysis

Apr 10, 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) Purity(Nonaqueous Titration) Solubility in hot Methanol	100.0 area% 99.6 % transparency	min. 98.0 area% min. 98.0 % 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

