

**ANALISIS KADAR KAFEIN DENGAN METODE
KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI DARI SAMPEL
KOPI DI NUSA TENGGARA TIMUR**

LAPORAN TUGAS AKHIR

APRIANI HERLINA KAKA

13171007



PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS BHAKTI KENCANA

BANDUNG

2019

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi yang tidak dipublikasikan terdaftar dan tersedia di Perpustakaan Universitas Bhakti Kencana Bandung dan terbuka untuk umum.

Referensi kepustakaan diperkenankan di catat, tetapi pengutipan atau peringkasan hanya dapat dilakukan seijin pengarang dan harus disertai dengan kebiasaan ilmiah untuk menyebutkan sumbernya.

Memperbanyak atau menerbitkan sebagian atau seluruh skripsi haruslah seizin Dekan Program Studi di lingkungan Universitas Bhakti Kencana.

“Diberkatilah orang yang mengandalkan TUHAN, yang menaruh harapannya pada TUHAN.”

“ Yeremia 17:7 ”

Karena masa depan sungguh ada, dan harapanmu tidak akan hilang.

“ Amsal 23:18 ”

Dipersembahkan kepada kedua orangtua tercinta.

LEMBAR PENGESAHAN

**ANALISIS KADAR KAFEIN DENGAN METODE
KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI DARI SAMPEL
KOPI DI NUSA TENGGARA TIMUR**

LAPORAN TUGAS AKHIR II

Diajukan untuk memenuhi persyaratan Tugas Akhir II

Program Strata Satu

APRIANI HERLINA KAKA

13171007

Bandung, Juli 2019

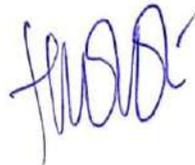
Menyetujui

Pembimbing I



(Emma Emawati, S.T, M.Si)

Pembimbing I



(Anne Yuliantini, M.Si)

ABSTRAK

ANALISIS KADAR KAFEIN DENGAN METODE KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI DARI SAMPEL KOPI DI NUSA TENGGARA TIMUR

Oleh :

Apriani Herlina Kaka

13171007

Kopi adalah salah satu komoditas penting di Provinsi NTT dan dikenal sebagai salah satu penghasil kopi arabika dan kopi robusta yang berkualitas tinggi di Indonesia. Berdasarkan SNI, kadar kafein pada kopi yang di konsumsi dibatasi 150 mg/hari dan 50 mg/sajian. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar kafein dari kopi arabika dan kopi robusta di lima kabupaten di Provinsi NTT. Metode yang digunakan untuk analisis kadar kafein adalah metode KCKT dengan menggunakan fase diam kolom C-₁₈, fase gerak yang digunakan yaitu campuran aquadestilata dan metanol pro KCKT (70:30) sedangkan pelarut yang digunakan adalah air panas dengan suhu 80°C, dengan volume injeksi 20 µL dan laju alir 1,0 mL/menit pada panjang gelombang 273 nm. Dari data validasi diperoleh linearitas (r) 0,9989, nilai BD dan BK berturut-turut yaitu 3,5961 bpj dan 11,9870 bpj, % perolehan kembali sebesar 95,13 – 102,87 %; dengan nilai SBR 1,04632 bpj. Dari hasil analisis diperoleh kadar kafein dari masing-masing sampel arabika Ende, Manggarai, Manggarai Timur, Nagakeo dan Ngada berturut-turut sebesar 1,35 %; 1,56 %; 1,50 %; 1,76 %, dan 2,48 %; sedangkan robusta Nagakeo, Ende, Manggarai, Ngada dan Manggarai Timur berturut-turut sebesar 1,98 %; 2,09 %; 2,34 %; 2,92 %; dan 4,19 %.

Kata kunci : *Kafein, KCKT, Kopi Arabika, Kopi Robusta.*

ABSTRACT

ANALYSIS OF CAFFEINE LEVELS WITH LIQUID CHROMATOGRAPHY METHODS HIGH PERFORMANCE FROM COFFEE SAMPLES IN NUSA TENGGARA TIMUR

By:

Apriani Herlina Kaka

13171007

Coffee is one of the important commodities in NTT Province and is known as one of the highest quality Arabica coffee and robusta coffee producers in Indonesia. Based on SNI, caffeine levels in coffee consumed are limited to 150 mg / day and 50 mg / serving. This study aims to determine caffeine levels from arabica coffee and robusta coffee in five districts in NTT Province. The method used to analyze caffeine content is the HPLC method using the C-18 column stationary phase, the mobile phase used is a mixture of aquadestilata and methanol pro HCC (70:30) while the solvent used is hot water with a temperature of 80°C, with injection volume 20 µL and flow rate of 1.0 mL / minute at a wavelength of 273 nm. From the validation data obtained linearity (r) 0.9989, BD and BK values respectively 3.5961 ppm and 11.9870 ppm, the% recovery was 95.13 - 102.87%; with SBR value of 1.04632 ppm. From the analysis results obtained caffeine levels from each sample of Ende, Manggarai, East Manggarai, Nagakeo and Ngada arabica by 1.35%; 1.56%; 1.50%; 1.76%, and 2.48%; while Robusta Nagakeo, Ende, Manggarai, Ngada and Manggarai Timur were 1.98%; 2.09%; 2.34%; 2.92%; and 4.19%.

Keywords: Caffeine, HPLC, Arabica Coffee, Robusta Coffee.

KATA PENGANTAR

Syalom, puji dan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas cinta kasih-Nya dan penyertaan-Nya yang begitu besar, sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan tugas akhir dengan judul “Analisis Kadar Kafein Dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) Dari Sampel Kopi di Nusa Tenggara Timur”. Laporan tugas akhir ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) pada Program Studi Strata Satu (S1) di Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana Bandung.

Penyusunan laporan tugas akhir ini tidak akan terwujud tanpa bantuan dan dorongan dari berbagai pihak. Maka dari itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Liska Ramdanawati, M.Si selaku pembimbing utama dan Bapak Wendi Andriatna, M,Si selaku pembimbing serta selama penyusunan proposal yang memberikan saran, arahan, bimbingan kepada penulis sehingga proposal dapat terselesaikan.
2. Ibu Emma Emawati, S.T, M.Si selaku pembimbing utama dan Ibu Anne Yuliantini, M.Si selaku pembimbing serta selama penyusunan laporan tugas akhir yang memberikan arahan, bimbingan, dukungan, saran, kepada penulis sehingga penyusunan laporan tugas akhir ini dapat terselesaikan dengan baik.
3. Seluruh dosen pengajar dan seluruh staf akademik Universitas Bhakti Kencana Bandung yang senantiasa memberikan dukungan moril, motivasi dan ilmu-ilmu pengetahuan selama proses perkuliahan.

4. Bapak Yusuf Eka Maulana, S.Si selaku instruktur Laboratorium Terpadu Poltekkes Bandung yang telah meluangkan waktu dan membimbing selama penelitian, serta Pak Aris, Pak Yuda, Teh Adit selaku asisten Laboratorium Terpadu Bandung.
5. Teman-teman FA 1 Matrikulasi angkatan 2017 dimana selalu memberikan saran, bertukar pikiran dalam menghadapi masalah yang terjadi selama perkuliahan, penelitian hingga penyelesaian laporan tugas akhir.
6. Kedua orang tua yang selalu memberi dukungan doa, materi dan moril.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan dan penyusunan laporan tugas akhir ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan ktitik yang bersifat membangun.

Bandung, Juli 2019

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	i
ABSTRAK	ii
<i>ABSTRACT</i>	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR LAMPIRAN	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	x
Bab I Pendahuluan	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	3
I.3 Tujuan Penelitian	3
I.4 Manfaat Penelitian	3
I.5 Waktu dan Tempat Penelitian	4
Bab II Tinjauan Pustaka	5
II.1 Pengertian Kopi	5
II.2 Morfologi Tanaman Kopi	6
II.3 Jenis-jenis Kopi	8
II.4 Kafein	12
II.5 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi	14
II.6 Validasi Metode Analisis	17
Bab III Metode Penelitian	20
Bab IV Alat dan Bahan	21
Bab V Prosedur Kerja	22
Bab VI Pembahasan	26
Bab VII Kesimpulan dan Saran	36

DAFTAR PUSTAKA	37
Lampiran	

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat ijin penelitian	43
Lampiran 2. Kromatogram sampel arabika Ende	44
Lampiran 3. Kromatogram sampel arabika Manggarai	45
Lampiran 4. Kromatogram sampel arabika Manggarai Timur	46
Lampiran 5. Kromatogram sampel arabika Nagakeo	47
Lampiran 6. Kromatogram sampel arabika Ngada	48
Lampiran 7. Kromatogram sampel robusta Ende	49
Lampiran 8.romatogram sampel robusta Manggarai	50
Lampiran 9. Kromatogram sampel robusta Manggarai Timur	51
Lampiran 10. Kromatogram sampel robusta Nagakeo	52
Lampiran 11. Kromatogram sampel robusta Ngada.....	53
Lampiran 12. Alat yang digunakan	54

DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1. Tanaman Kopi.....	6
Gambar II.2. Struktur Kafein.....	13
Gambar VI.1 Spektrum baku kafein dengan spektrofotometer ultraviolet	27
Gambar VI.2 Kromatogram baku kafein dengan KCKT	27
Gambar VI.3 Kurva baku Kafein	29

DAFTAR TABEL

Tabel VI.1 Tabel Hasil Uji Kesesuaian Sistem	28
Tabel VI.2. Konsentrasi dan Luas Area Baku Kafein	28
Tabel VI.3 Hasil Sensitivitas dan Linearitas	30
Tabel VI.4 Hasil Uji Akurasi	31
Tabel VI.5 Hasil Uji Presisi.....	32
Tabel VI.6 Kadar Kafein Sampel Kopi	34

Bab I Pendahuluan

I.1 Latar Belakang

Kondisi alam Indonesia sangat cocok untuk bercocok tanam karena memiliki suhu udara yang tidak terlalu panas, curah hujan yang cukup, tanah yang subur sehingga memiliki banyak manfaat, diantaranya kekayaan alam yang cukup melimpah dari bidang pertanian, kehutanan, dan perkebunan. Kondisi alam ini sangat cocok untuk membudidayakan tanaman kopi. Kopi sangat digemari oleh banyak orang, bahkan kopi dan kegiatannya sudah menjadi budaya bagi warga Indonesia. Jenis kopi dan yang paling banyak dibudidayakan adalah jenis kopi arabika dan jenis kopi robusta. Perbedaan yang mencolok antara kopi robusta dan arabika adalah dari segi harga, rasa, dan cara pengolahannya (Hasibuan, 2018).

Tanaman kopi dibudidayakan oleh rakyat sendiri (kopi rakyat) dan lembaga perkebunan besar milik pemerintah. Kopi di Indonesia diantaranya dibudidayakan di beberapa tempat seperti di Aceh, Sumatera Utara, Sumatera Barat, Sumatera Selatan, Lampung, Bengkulu, Jawa Timur, Bali, Sulawesi Selatan dan Nusa Tenggara Timur (Hasibuan, 2018).

Kopi adalah salah satu komoditas penting di Propinsi NTT, dan dikenal sebagai salah satu penghasil kopi arabika dan robusta yang berkualitas tinggi di Indonesia. Flores merupakan satu dari penghasil kopi arabika dan robusta berkualitas tinggi, yang di pasar dikenal sebagai kopi Flores. Wilayah penghasil kopi utama di Flores adalah Kabupaten Ngada dengan jumlah produksinya mencapai sebesar

3,301 ton/tahun (atau 51,53% dari total produksi arabika di Propinsi NTT), Kabupaten Ende dengan produksi sebesar 1,814 ton/tahun (25,50%), Kabupaten Manggarai Timur sebesar 1,258 ton/tahun (17,68%), Kabupaten Manggarai sebesar 614 ton/tahun (8,53%), dan Kabupaten Nagakeo sebesar 128 ton/tahun (1,80%) (Dirjen Perkebunan, 2014).

Kopi memiliki banyak kandungan kimia pada bijinya seperti karbohidrat, senyawa nitrogen (protein, asam amino bebas, kafein dan trigonelin), lemak (minyak kopi, dan diterpen), mineral, asam dan ester (asam klorogenat, asam kuinat). Senyawa-senyawa yang terkandung pada biji kopi memiliki manfaat tertentu seperti asam klorogenat, kafein, trigonelin, serat terlarut dan diterpen memiliki peran penting untuk menghasilkan aroma pada minuman kopi (Farah, 2012).

Kadar kafein yang terdapat dalam sampel biji kopi dari perkebunan Gates, Kecamatan Bawen, Kabupaten Semarang adalah pada biji kopi robusta 2,4730% dan pada biji kopi arabika 1,9949%. Kopi robusta memiliki kadar kafein lebih tinggi dibandingkan dengan kopi arabika (Hartono, 2012).

Berdasarkan FDA (Food Drug Administration, 2004), dosis kafein yang diizinkan 100 - 200 mg/hari, sedangkan menurut SNI 01-7152-2006 batas maksimum kafein dalam makanan dan minuman adalah 150 mg/hari dan 50 mg/sajian.

Berdasarkan uraian di atas, peneliti tertarik melakukan penelitian dengan judul “ Analisis Kadar Kafein Dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Dari Sampel Kopi di Nusa Tenggara Timur”.

I.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dari penelitian ini adalah berapakah kadar kafein dalam kopi Arabika dan kopi Robusta dari Kabupaten Ngada, Kabupaten Ende, Kabupaten Manggarai Timur, Kabupaten Manggarai, dan Kabupaten Nagakeo di Propinsi Nusa Tenggara Timur (NTT) dengan menggunakan metode KCKT ?

I.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar kafein dari kopi Arabika dan kopi Robusta dari Kabupaten Ngada, Kabupaten Ende, Kabupaten Manggarai Timur, Kabupaten Manggarai, dan Kabupaten Nagakeo di Propinsi Nusa Tenggara Timur (NTT) dengan menggunakan metode KCKT ?

I.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian adalah sebagai informasi kepada masyarakat bahwa kadar kafein yang terdapat dalam kopi jika dikonsumsi dalam jumlah yang berlebihan akan menyebabkan dampak negatif yaitu ketagihan, dan dapat menyebabkan gejala susah tidur, gangguan saluran pencernaan, gelisah, tangan gemetar, jantung berdebar tidak beraturan.

I.5 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari – Juni 2019 di Laboratorium Terpadu Poltekkes Kemenkes Bandung.

Bab II Tinjauan Pustaka

II.1 Pengertian Kopi

Kopi merupakan tanaman yang termasuk genus *coffea* dari jenis *Rubiaceae*. Kopi merupakan tanaman tropis yang dapat tumbuh dimana saja, kecuali pada tempat-tempat yang terlalu tinggi dengan temperatur yang sangat dingin atau daerah-daerah tandus yang memang tidak cocok bagi kehidupan tanaman (Hasibuan, dkk,2018).

Penggunaan kopi adalah sebagai penawar racun, penurun panas (antipiretik) dan peluruh air seni (diuretik). Kopi juga digunakan untuk kecantikan seperti penggunaan untuk scrub, untuk masker wajah, untuk body message dan juga untuk mengobati luka (Yuwono, 2013).

Kopi memiliki banyak kandungan kimia pada bijinya seperti karbohidrat, senyawa nitrogen (protein, asam amino bebas, kafein dan trigonelin), lemak (minyak kopi, dan diterpen), mineral, asam dan ester (asam klorogenat, asam kuinat). Senyawa-senyawa yang terkandung pada biji kopi memiliki manfaat tertentu seperti asam klorogenat, kafein, trigonelin, serat terlarut dan diterpen memiliki peran penting untuk menghasilkan aroma pada minuman kopi (Farah, 2012).

Taksonomi dari tanaman kopi adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Sub-kingdom	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Sub-kelas	: Sympetalae atau Metachlamydeae

Ordo : Rubiales
Famili : Rubiaceae
Genus : Coffea L.
Sub-genus : Eucoffea
Spesies : *Coffea arabica* L (kopi Arabica)
Coffea canephora (kopi Robusta)
Coffea liberica (kopi Liberika), dan lain-lain
(Hasibuan, dkk, 2018).



Gambar I.1. Tanaman Kopi

(<https://mpigkopibajawa.com/> di akses tanggal 10 Oktober 2018)

II.2 Morfologi Tanaman Kopi

Menurut Aak (1988), karakteristik morfologi tanaman kopi adalah sebagai berikut:

II.2 a Akar

Secara alami tanaman kopi berakar tunggang, lurus ke bawah, pendek dan kuat sehingga tidak mudah roboh. Panjang akar tunggang ini \pm 45-50 cm, yang ada as-nya terdapat 4-8 akar samping yang panjang 1-

2 m horizontal, sedalam ± 30 cm dan bercabang merata, masuk ke dalam tanah lebih dalam lagi.

II.2.b Batang dan cabang

Pohon kopi mempunyai bentuk batang berkayu, berbatang tegak lurus dan beruas-ruas, hampir pada setiap ruas tumbuh kuncup-kuncup. Kuncup-kuncup pada batang dan cabang susunannya agak rumit.

Pada batang tumbuh dua macam cabang yaitu cabang yang tegak lurus atau vertikal, yang dapat menggantikan batang bila dalam keadaan patah atau di penggal. Nama lainnya adalah cabang air; tunas air; wiwilan; atau biasa disebut juga dengan cabang orthotrop. Selanjutnya, cabang yang tumbuh kesamping atau horisontal. Cabang ini tumbuh pada batang orthotrop dan merupakan tempat tumbuhnya bunga dan buah. Cabang ini disebut cabang buah, dimana daun itu tumbuh dan tumbuh pada bidang yang sama, atau biasa disebut cabang plagiotrop.

II.2.c Daun

Kopi mempunyai daun bulat telur, ujungnya agak meruncing sampai bulat, tumbuh pada batang, cabang dan ranting-ranting, tersusun berdampingan. Pada batang atau cabang-cabang yang tumbuh tegak lurus, susunan pasangan-pasangan daun ini berselang-seling pada ruas-ruas berikutnya.

Permukaan daun ada yang datar, ada pula yang berbentuk seperti tulang ini tergantung jenisnya. Warna permukaan atas daun ini hijau gelap sedangkan bagian bawahnya lebih terang. Umur daun rata-rata satu tahun, setelah itu akan berguguran satu demi satu.

II.2.d Bunga dan buah

1. Bunga

Tumbuhnya bunga kopi pada ketiak cabang primer, tersusun berkelompok-kelompok, tiap kelompok terdiri atas 4-6 kuntum bunga atau lebih yang bertangkai pendek. Pada tiap ketiak daun dapat tumbuh 3-4 kelompok bunga maka pada tiap buku dapat tumbuh ± 30 kuntum bunga atau lebih. Dan pada musim berbunga 1 pohon berbunga 1 pohon dapat keluar sampai ribuan.

2. Buah

Buah kopi akan terbentuk setelah tangkai bunga terlihat makin merunduk. Buah ini bulatan kecil-kecil yang bergerombol. Awalnya, buah kopi berwarna hijau, lama kelamaan warnanya menjadi coklat kemudian berwarna merah. Kopi berwarna merah inilah yang siap untuk dipanen.

II.3 Jenis-jenis Kopi

Menurut Aak (1988), jenis-jenis tanaman kopi sebagai berikut:

a. Kopi Arabika

Kopi ini merupakan jenis kopi yang pertama dikenal dunia. Kopi ini dibawa oleh Belanda masuk ke pulau Jawa untuk diibudidayakan, dan tumbuh sangat baik di daerah dengan ketinggian 1.300-3.000 m di atas permukaan laut, dengan suhu rata-rata 15-25 °C. Semakin tinggi lokasi perkebunan kopi Arabika, citarasa biji kopi yang dihasilkan semakin baik. Jenis ini sangat tidak tahan terhadap penyakit Hemelia watarix.

Jenis Arabika mempunyai ciri-ciri :

- 1) Daun kecil, halus dan mengkilat, panjang daun \pm 12 sampai 15 cm, dan lebar \pm 6 cm.
- 2) Biji buah lebih besar, berbau harum dan rasanya lebih enak
- 3) Ujung biji mengkilap tetapi apabila dikeringkan secara berlebihan akan menjadi retak atau pecah.
- 4) Bila batang tidak dipangkas, tinggi pohon dapat mencapai 5 m dengan bentuk pohon yang ramping
- 5) Bentuk agak memanjang.
- 6) Bidang cembung tidak terlalu tinggi.
- 7) Lebih bercahaya dibanding jenis lain.
- 8) Celah tengah (center cut) dibagian datar (perut) tidak lurus memanjang ke bawah tetapi berlekuk.
- 9) Biji yang sudah dipanggang (roasting), celah tengah terlihat putih.
- 10) Setelah biji diolah, kulit ari kadang-kadang masih menempel di celah atau parit biji kopi.

Menurut Aak (1988), karena terjadinya mutasi kopi Arabika, maka banyak timbul jenis kecil yang masih termasuk golongan Arabika yaitu:

- 1) Kopi Arabika varietas Bourbon.
- 2) Jenis Catura.
- 3) Jenis Marago, asal dari Arabika.
- 4) Jenis pasumah, terdapat di Sumatera.
- 5) Jenis Congensis, asal dari Congo.

b. Kopi Liberika

Kopi Liberika berasal dari Liberia, Afrika Barat. Kopi dapat tumbuh setinggi 9 meter dari tanah. Pada abad ke-19 kopi ini didatangkan ke Indonesia untuk mengganti kopi Arabika yang terserang hama. Karakteristik kopi Liberika hampir sama dengan dengan jenis Arabika. Kelebihan kopi jenis Liberika adalah lebih tahan terhadap serangan karat daun (*Hemelia vastatrix*) dibanding kopi jenis Arabika. Jenis Liberika memiliki sifat-sifat:

- 1) Ukuran daun, cabang, bunga, buah dan pohon lebih besar dibanding kopi Arabika dan kopi Robusta.
- 2) Cabang primer dapat bertahan lebih lama dan dalam satu buku dapat keluar bunga atau buah lebih dari satu kali.
- 3) Berbuah sepanjang tahun.
- 4) Agak peka terhadap penyakit *Hemelia vastatrix*.
- 5) Ukuran buah tidak merata atau tidak seragam.
- 6) Tumbuh baik di dataran rendah

c. Kopi Robusta / *Coffea canephora*

Negara penghasil kopi robusta terbesar adalah Vietnam, Brasil dan Indonesia. Kopi ini disukai karena tidak butuh perawatan yang intens. Kopi robusta dikenal kopi yang tahan panas (robust) terhadap kondisi lingkungan yang tidak bersahabat dan berbagai penyakit (Hasibuan, 2018).

Jenis kopi ini berasal dari hutan khatulistiwa di Afrika, dari pantai Barat sampai Uganda dan dapat tumbuh dari permukaan laut sampai ketinggian 1.700 m. Karena terjadinya persilangan terus-menerus, maka jenis ini mudah menyesuaikan diri.

Ketinggian tempat yang optimal sekitar 300-400 m dengan curah hujan 1.250-2.500 mm.

Sifat-sifat khusus dari jenis Robusta:

- 1) Bau dan rasanya tidak se enak kopi Arabika, sehingga harganya lebih rendah, tetapi produksinya jauh lebih tinggi
- 2) Biji berbentuk agak bulat.
- 3) Lengkungan biji lebih tebal dibanding jenis Arabika.
- 4) Garis tengah (parit) dari atas ke bawah hampir rata.
- 5) Pada biji yang sudah diolah tidak terdapat kulit ari dilekukan atau bagian parit.
- 6) Daun dan bunganya lebih besar dari kopi arabika
- 7) Jenis tanaman ini tahan terhadap *Hameliae vastatrix*

Varietas lain yang masih termasuk dalam jenis Robusta antara lain:

- 1) Congesta
- 2) Uganda
- 3) Quillo .

d. Kopi Excelsa

Kopi ini ditemukan secara historis di Afrika Barat pada tahun 1905, kemudian menyebar ke Melayu. Kopi jenis ini tidak peka terhadap penyakit *Hemelia vastatrix* dan dapat ditanam di dataran rendah, juga daerah lembab.

Sifat-sifat khusus dari jenis Excelsa:

- 1) Memiliki daun bulat dengan pinggir agak halus.

- 2) Kopi ini berbatang kekar dan mampu mencapai 9 meter dengan cabang primer yang bisa bertahan lama dan berbunga pada batang tua.

Keunggulan kopi Excelsa antara lain:

- 1) Memiliki fisik yang lebih besar daripada kopi Arabika dan Robusta.
- 2) Cenderung berbuah sepanjang tahun, mudah dibudidayakan dan tahan terhadap hama penyakit.
- 3) Citarasa dan aroma kuat, dominan pahit.
- 4) Dapat ditanam di lahan gambut yang memiliki kesuburan rendah.

II.4 Kafein

Kafein merupakan salah satu derivat xantin yang memiliki karakteristik sebagai berikut:

Pemerian : serbuk atau hablur berbentuk jarum mengkilat biasanya menggumpal; putih; tidak berbau; dan rasa pahit (FI Edisi III, 1995).

Pemerian : serbuk putih atau bentuk jarum mengkilat putih; biasanya menggumpal; tidak berbau; rasa pahit. Larutan bersifat netral terhadap kertas lakmus (FI Edisi IV, 1997).

Berat molekul : 194,19 g/mol.

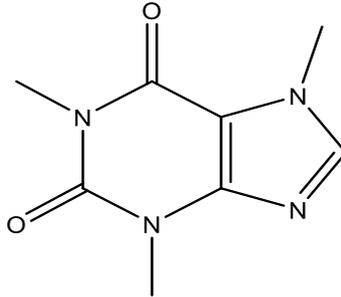
Rumus Kimia : $C_8H_{10}N_4O_2$

Titik didih : 178 °C

Jarak Lebur : 235 °C dan 237,5 °C

Titik Leleh : 234 °C

- Kelarutan : agak sukar larut dalam air dan etanol, mudah larut dalam kloroform, sukar larut dalam eter.
- Baku pembandingan : kafein BPFI, dilakukan pengeringan pada suhu 80°C selama 4 jam sebelum digunakan (FI Edisi IV, 1995).



Gambar 2. Struktur Coffeinum
1,3,7-Ttrimethylxanthina

Kafein merupakan senyawa kimia alkaloid yang terutama terdapat dalam teh, kopi dan biji kola. Kafein dapat berfungsi sebagai stimulant dan beberapa aktivitas biologis lainnya. Kandungan kafein dalam teh relatif lebih besar daripada yang terdapat dalam kopi, tetapi pemakaian teh dalam minuman juga lebih encer dibanding kopi. Kafein bekerja pada sistem saraf pusat, otot, termasuk otot jantung dan ginjal. Pengaruh pada sistem saraf pusat yang menghasilkan zat ini sering dikombinasikan dengan peningkatan aktivitas mental dan hasil kerja otot merangsang pusat pernafasan. Daya kerja sebagai diuretik dari kafein didapat dengan cara seperti meningkatkan aliran darah dalam ginjal dan kecepatan filtrasi glomerulus, tapi terutama sebagai

akibat pengurangan reabsorpsi tubuler normal (Tjay dan Kirana 2002).

Penggunaan kafein sebagai zat penyegar yang bila digunakan terlampau banyak (lebih dari 20 cangkir sehari) dapat bekerja adiktif, serta dapat meningkatkan kadar homosysteine dalam darah dan dengan demikian juga beresiko terhadap penyakit jantung dan pembuluh darah. Bila dihentikan sekaligus dapat mengakibatkan sakit kepala sebagai gejala penarikan. Zat ini sering dikombinasikan dengan paracetamol dan asetosal guna memperkuat efek analgetis, juga dengan ergotamine guna memperlancar. Efek yang timbul bila mengkonsumsi kafein dalam jumlah berlebih dapat berupa debar jantung, gangguan lambung, tangan gemetar, gelisah, dan sukar tidur (Tjay dan Kirana, 2002).

II.5 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Kemajuan Teknologi kolom, sistem pompa tekanan tinggi dan detektor yang sensitif telah menyebabkan perubahan kromatografi kolom cair menjadi suatu sistem pemisahan dengan kecepatan dan efisiensi yang tinggi yang disebut Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (FI, Edisi V, 1995).

KCKT adalah kromatografi cair yang dilakukan memakai fase diam yang terikat secara kimia pada penyangga halus yang sebaran ukurannya sempit dan fase gerak yang dipaksa mengalir dengan laju terkendali memakai tekanan tinggi. KCKT digunakan terutama untuk

golongan senyawa tidak atsiri, misalnya terpenoid tinggi, segala jenis senyawa fenol, alkaloid, lipid, dan gula Gritter (1991)

II.5.b Alat-alat pada KCKT

Menurut FI, Edisi IV (1995), alat-alat pada KCKT terdiri dari:

1. Sistem Pompa

Sistem pompa tekanan tinggi mengalirkan pelarut fase gerak dari bejana pelarut ke kolom melalui pipa tekanan tinggi

2. Tempat penyuntikan analit

Dua cara digunakan untuk memasukan analit ke dalam kolom, yakni injeksi ke dalam arus yang mengalir dan injeksi waktu aliran terhenti. Untuk teknik penyuntikan dengan alat suntik, dapat digunakan suatu septum apabila tekanan pada bagian kolom kurang dari 70 atmosfer.

3. Kolom Kromatografi

Kolom yang digunakan untuk pemisahan analitik umumnya mempunyai diameter dalam yang kecil (2 mm hingga 4 mm). Kolom yang berdiameter lebih besar digunakan untuk keperluan preparatif, kolom dapat dipanaskan agar dihasilkan pemisahan yang lebih efisien, akan tetapi suhu diatas 60°C jarang digunakan karena terjadi penguraian fase diam ataupun penguapan fase gerak pada suhu yang lebih tinggi.

4. Detektor

Detektor yang biasa dipakai mencakup fotometer ultraviolet, refraktometer diferensial dan fluorometer.

5. Penguat sinyal

Sinyal yang berasal dari detektor diperkuat terlebih dahulu sebelum disampaikan pada alat perekam otomatis yang sesuai, biasanya berupa sesuatu perekam potensiometrik. Dalam hal ini sinyal merupakan fungsi dari waktu.

Menurut Rohman (2007), sistem peralatan KCKT pada dasarnya terdiri atas delapan komponen pokok yaitu wadah fase gerak, sistem penghantaran fase gerak, alat untuk memasukkan sampel, kolom, detektor, wadah penampung buangan fase gerak, tabung penghubung, dan suatu komputer atau integrator atau perekam.

II.5.c Prosedur KCKT

Prosedur identifikasi senyawa dan teknik kalibrasi dan reduksi data yang digunakan dalam Kromatografi Cair Kinerja Tinggi pada dasarnya sama dengan yang digunakan dalam kromatografi gas. Untuk analisis kuantitatif yang akurat, detektor perlu mempunyai jangkauan rentang linear yang luas dan komponen yang diukur harus dapat dibedakan dari zat pengganggu. Detektor pada KCKT dikelompokkan menjadi dua golongan yaitu detektor universal (yang mampu mendeteksi zat secara umum, tidak bersifat spesifik, dan tidak bersifat selektif) seperti detektor indeks bias dan detektor spektrometri massa; dan golongan detektor yang spesifik yang hanya akan mendeteksi analit secara spesifik dan selektif, seperti detektor UV-VIS, detektor fluoresensi, dan detektor elektrokimia (Rohman, 2007).

Rentang dinamik linear adalah rentang ukuran contoh dari batas deteksi minimum sampai ukuran maksimum contoh yang masih memberikan respon puncak pada perekam berbanding lurus dengan kadar zat yang diuji. Respon detektor dapat dikalibrasi berdasarkan respon puncak dari baku pembanding yang kadarnya diketahui menggunakan prosedur standarisasi eksternal atau internal (FI, Edisi IV, 1995).

II. 6 Validasi Metode Analisis

Validasi metode analisis adalah suatu proses penilaian terhadap metode analisis tertentu berdasarkan percobaan laboratorium untuk membuktikan bahwa metode tersebut memenuhi persyaratan untuk digunakan. Validasi metode analisis bertujuan untuk memastikan dan mengkonfirmasi bahwa metode analisis sudah sesuai untuk peruntukannya. Parameter validasi metode analisis yaitu:

II.6.I Linearitas

Linearitas adalah kemampuan metode analisis yang memberikan respon yang secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Secara sistematis linearitas ditunjukkan dengan persamaan garis sebagai berikut:

$$y = bx + a$$

Dimana: b = slope

a = intersep atau perpotongan sumbu y .

Dari data yang diperoleh, nilai koefisien korelasi (r) yang baik atau yang memenuhi persyaratan yaitu yang mendekati 1 atau $r = 1$.

II.6.2 Batas Deteksi (Limit of Detection atau LOD)

Batas deteksi adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blangko. LOD merupakan yang dapat dipengaruhi oleh perubahan kecil dalam sistem analisis (misalnya suhu, kemurnian reagen, efek matriks). LOD dapat dihitung dari garis dan standar deviasi kurva standar yang diperoleh yaitu dengan menggunakan rumus:

$$\text{BD} = \frac{3 \times \text{SD}}{b}$$

Dimana: SD = standar Deviasi kurva standar (Sy/x)

b = slope

II.6.3 Batas Kuantitasi (Limit of Quantitasi atau LOQ)

Batas kuantitasi adalah konsentrasi terendah analit yang dapat ditentukan dengan akurasi yang bisa diterima. Batas kuantitasi dapat dihitung secara statistik melalui garis regresi linear dari kurva kalibrasi dengan rumus :

$$\text{BK} = \frac{10 \cdot \text{SD}}{b}$$

Dimana : SD = standar Deviasi kurva standar (Sy/x)

b = slope

II.6.4 Presisi

Presisi atau ketelitian adalah tingkat kesesuaian antara hasil analisis individual jika prosedur dilakukan berulang kali terhadap sampel ganda atau beberapa sampel yang homogen. Presisi diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (RSD) atau koefisien variasi (KV).

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(X-\bar{x})^2}{n-1}} \qquad \% RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\%$$

Keterangan :

RSD = Standar Deviasi relatif/ simpangan baku relatif

SD = Standar Deviasi/ Simpangan Baku

X = Kadar hasil pengukuran

\bar{x} = rata-rata kadar hasil pengukuran

n = jumlah pengujian

II.6.5 Akurasi

Akurasi atau ketepatan menunjukkan derajat kedekatan hasil dari analisis dengan analit yang sebenarnya. Akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (recovery). Akurasi dapat ditentukan dengan dua cara yaitu metode simulasi dan metode adisi (Riyanto,2014).

$$\% Rec = \frac{Ch}{Cs} \times 100 \%$$

Dimana : % Rec = % perolehan kembali

Ch = Kadar analit yang diperoleh

Cs = kadar analit teoritis

Bab III Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian deskriptif dengan menggunakan sampel bubuk kopi arabika dan kopi robusta sebagai objek penelitian, dari Kabupaten Ngada, Kabupaten Ende, Kabupaten Manggarai Timur, Kabupaten Manggarai, dan Kabupaten Nagakeo di Propinsi Nusa Tenggara Timur.

Tahapan penelitian ini, meliputi pengumpulan sampel kopi, pengolahan sampel atau penyangraian, penyiapan sampel bubuk kopi arabika (*Coffea arabica*) dan kopi robusta (*Coffea canephora*), optimasi kondisi analisis, uji kesesuaian sistem, validasi metode analisis, preparasi sampel dan penetapan kadar kafein.