

PENGGUNAAN SPEKTROFOTOMETER UV DAN HPLC PADA ANALISIS KANDUNGAN KAFEIN KOPI ARABIKA DAN ROBUSTA

APPLICATION OF UV SPECTROPHOTOMETER AND HPLC ON ANALYSIS OF CAFFEINE CONTENT IN ARABICA AND ROBUSTA COFFEES

Dedy Prasetyo*, Saibun Sitorus, dan Rahmat Gunawan

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman
Jalan Barong Tongkok No. 4 Kampus Gunung Kelua, Samarinda, 75123

*E-mail: dedy10desember@gmail.com

Received: 01 March 2019, Accepted: 20 June 2020

ABSTRACT

Analysis of caffeine content in Arabica coffee and Robusta coffee using *Ultra Violet (UV) spectrophotometers* and *High Performance Liquid Chromatography (HPLC)* was carried out. Coffee samples were soxhleted with 96% ethanol with the rotation variation used, namely 4, 6, 8, 10 and 12. The extract was dissolved in 96% ethanol and tested with a UV spectrophotometer. The results obtained caffeine content in arabica coffee for 4, 6, 8, 10 and 12 rotations are 1.347 mg/L, 1.631 mg/L, 1.953 mg/L, 2.868 mg/L and 3.764 mg/L respectively. While the caffeine content obtained by Robusta coffee for 4, 6, 8, 10 and 12 turns are 1.820 mg/L, 2.258 mg/L, 2.741 mg/L, 3.814 mg/L and 4.781 mg/L, respectively. Caffeine content in Arabica and Robusta coffee were analyzed by HPLC. The results obtained in Arabica coffee are retention time of 5.079 minutes, area of 1265348 and height of 56539 and in Robusta coffee the retention time is 5,083 minutes, the area is 1249273 and the height is 55700.

Keywords: Arabica Coffee, Robusta Coffee, 96% Ethanol, Soxhletation, Caffeine, UV Spectrophotometer, HPLC.

PENDAHULUAN

Di Indonesia tanaman kopi telah menjadi tanaman yang sangat banyak di perdagangan, karena kebutuhan dalam negeri terpenuhi dapat memberikan lapangan pekerjaan untuk masyarakat dan menghasilkan pemasukan bagi negara [1].

Kopi telah menjadi bagian penting bagi perkembangan masyarakat Indonesia. Berdasarkan data Asosiasi Eksportir dan Industri Kopi Indonesia (AEKI), sebanyak 350 ribu ton per tahun kopi di konsumsi di Indonesia. Varietas dari tumbuhan kopi banyak di ketahui dan paling banyak di budidayakan oleh petani yaitu kopi berjenis Arabika dan kopi varietas Robusta [2].

Kopi (*Coffea sp.*) merupakan spesies tanaman yang masuk ke dalam genus *Coffea* dan famili *Rubiaceae*. Tanaman kopi biasanya dapat tumbuh tegak mencapai 12 meter. Daunnya berbentuk oval dan bagian ujung yang tajam. Kopi yang paling terkenal yaitu *Coffea Canephora* (kopi Robusta) dan *Coffea Arabica* (kopi Arabika) [3].

Asam yang ada pada biji kopi merupakan asam klorogenat sebesar 8,3 % pada biji kopi dan 4,5 % pada kopi sangrai. Selama disangrai sebagian besar dari asam klorogenat berubah ke asam kuinat dan kafeat [4].

Kopi dapat sangat berguna bagi tubuh seperti meringankan sakit kepala, aroma khas pada kopi dapat menghilangkan stres dan kopi yang mengandung kafein dapat mengurangi gigi berlubang [5].

Kafein merupakan senyawa alkaloid turunan *xantine* (basa Purin) yang sangat banyak terkandung pada kopi berkisar antara 1-2,5% [4]. Dampak positif dari kafein seperti stimulasi otot jantung, peregangan otot polos dan merangsang kinerja syaraf pusat. Apabila kafein di konsumsi secara berlebihan maka ada efek negatif dari kafein yaitu tremor, hipertensi, mual, gugup, gelisah, insomnia dan kejang. Diketahui pada FDA (*Food Drug Administration*), dosis kafein yang disetujui untuk di konsumsi yaitu 100-200 mg/hari, sedangkan menurut SNI 01-7152-2006 dimana 150 mg/hari dan 50 mg/sajian merupakan

batas maksimum dari kafein dalam minuman ataupun makanan [6].

Sokletasi yaitu ekstraksi dengan pemanasan dan penyarian secara berulang dengan cara pelarut dipanaskan hingga uap terbentuk dan sampel telah dibasahi. Pelarut yang telah membasahi sampel nantinya masuk menuju labu yang akan dipanaskan kembali), untuk sampel yang akan diekstraksi dengan pelarut terbaik, pelarut tidak mengikat senyawa yang diinginkan, titik didih pelarut rendah, isolasi senyawa dengan sifat yang sesuai yaitu polar atau nonpolar [7].

Berdasarkan uraian di atas maka peneliti ingin melakukan penelitian kopi Robusta dan kopi Arabika terkait kafein yang terkandung di dalamnya sehingga dilakukan pengidentifikasian senyawa kafein yang ada di dalam kopi dengan HPLC dan dapat diketahui apakah kadar kafein yang terkandung didalam kopi tersebut masih termasuk dalam rentang standar menurut SNI 01-7152-2006 dimana penetapan kadar kafein pada kopi dilakukan dengan menggunakan instrumen spektrofotometer UV [8].

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu seperangkat alat sokletasi BUCHI B-811; tabung reaksi; gelas beaker; corong kaca; pipet tetes; pipet volume; wadah ekstrak; batang pengaduk; spatula; penggiling; labu erlenmeyer; seperangkat alat spektrofotometer *Ultra Violet; High Performance Liquid Chromatography* (HPLC); neraca analitik; labu ukur 10 mL; 25 mL; 50 mL dan 100 mL.

Bahan

Biji kopi Arabika Kintamani dan biji kopi Robusta Bengkulu, kafein, kertas saring, akuades, etanol 96%, tisu dan kertas label.

Prosedur Penelitian

Ekstraksi sampel

Alat sokletasi dinyalakan, kemudian sampel kopi yang telah dibungkus dengan kertas saring dimasukkan ke dalam tabung pada rangkaian alat sokletasi, pelarut etanol 96% dimasukkan sebanyak 150 mL ke dalam labu soklet. Sokletasi dilakukan dengan suhu 78°C sampai proses ekstraksi selesai. Kemudian dilakukan proses pemisahan antara etanol dengan ekstrak, dimana ekstrak yang dihasilkan dikering-anginkan hingga pelarut etanol 96% habis.

Pembuatan larutan standar kafein 1000 ppm

Dilakukan penimbangan serbuk kafein sebanyak 0,1 gram, kemudian dilarutkan dengan

etanol di dalam labu takar 100 mL, setelah itu diencerkan sampai tanda tera dan dihomogenkan.

Pembuatan larutan standar kafein 100 ppm

Sebanyak 10 mL larutan baku kafein 1000 ppm dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL dan diencerkan dengan etanol hingga batas tera lalu dihomogenkan.

Pembuatan larutan kerja

Pembuatan larutan kerja kafein yaitu dengan mengencerkan larutan baku 100 ppm yang diambil sebanyak 0 mL, 4 mL, 6 mL, 8 mL, 10 mL, 12 mL dan 14 mL. Kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan diencerkan dengan etanol hingga mencapai tanda tera lalu dihomogenkan. Setelah itu diperoleh larutan kerja kafein dengan konsentrasi 0 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm dan 14 ppm.

Penentuan panjang gelombang maksimum

Sebanyak 0,1 gram serbuk kafein ditimbang lalu dilarutkan dengan etanol dalam labu ukur 100 mL sampai tanda tera dan dihomogenkan. Kemudian absorbansi dapat diperoleh dari larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV dengan kisaran panjang gelombang 200-300 nm [9].

Penetapan kurva standar

Larutan standar kafein 0 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm dan 14 ppm di tentukan absorbansi pada panjang gelombang 282 nm menggunakan spektrofotometer UV. Kemudian dibuat kurva standar yang menunjukkan korelasi antara absorbansi dengan konsentrasi dari masing-masing larutan standar.

Penetapan kadar kafein

Ekstrak kopi sebanyak 0,1 gram dengan variasi rotasi 4, 6, 8, 10 dan 12 masing-masing ditimbang dan dilarutkan dalam 100 mL etanol. Kemudian masing-masing variasi dibaca absorbansi dengan spektrofotometer UV dengan blanko serapan aquades pada panjang gelombang 282 nm. Setelah itu dihitung kadar kafein dari masing-masing sampel menggunakan rumus regresi yang didapat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

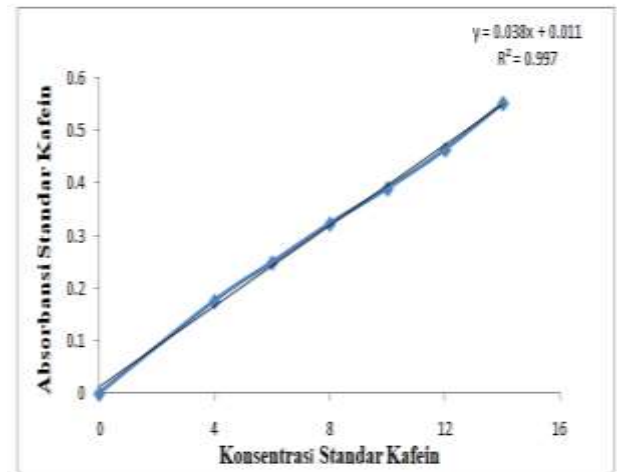
Pada penelitian ini digunakan sampel biji kopi Arabika dan biji kopi Robusta yang berupa biji kopi tersebut dihaluskan bertujuan untuk memperbesar luas permukaan sehingga interaksi penarikan kafein dalam kopi oleh etanol dapat terjadi secara maksimal.

Sampel kopi sebanyak 30 gram yang telah dibungkus dengan kertas saring dimasukkan ke

dalam alat sokletasi dan pada labu alat sokletasi dimasukkan masing-masing 150 mL etanol. Pemilihan pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi biasanya dengan prinsip *like dissolves like*, dimana senyawa yang non polar akan larut dalam pelarut yang non polar sedangkan senyawa yang polar akan larut dalam pelarut polar. Pada penelitian ini, etanol digunakan karena dapat melarutkan hampir semua senyawa baik polar ataupun non polar dan etanol mudah menguap sehingga mudah dipisahkan dari ekstrak. Pada tahap ekstraksi dilakukan pengaturan untuk suhu etanol sebesar 78°C karena merupakan suhu optimum untuk etanol agar tercapai titik didih sehingga etanol dapat menguap lebih sempurna.

Hasil ekstrak yang telah diperoleh dari proses sokletasi berwarna coklat kehitaman dan kental. Kemudian ekstrak yang telah diperoleh tersebut dikering-anginkan hingga pelarut etanol yang diperkirakan masih tersisa dapat menguap. Setelah ekstrak kental lalu ditimbang agar dapat mengetahui berapa banyak ekstrak yang telah diperoleh dari sokletasi yang nantinya akan digunakan untuk pengukuran pada spektrofotometer UV.

Tahap awal dari pengujian dengan spektrofotometer yaitu dengan pembuatan larutan standar. Pembuatan larutan standar yaitu dengan melarutkan kafein dan etanol dengan berbagai konsentrasi yaitu 0, 4, 6, 8, 10, 12 dan 14 ppm, rentang konsentrasi ini dipilih karena diharapkan dapat memenuhi hasil uji ekstrak sampel pada saat dilakukan pengujian. Setelah itu dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum untuk kafein dengan rentang antara 200-300 nm menggunakan larutan standar sehingga didapatkan data seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik absorbansi terhadap konsentrasi standar kafein.

Hasil ekstrak diambil sekitar 0.1 gram kemudian diencerkan menggunakan etanol 96% ke dalam labu takar sebanyak 100 mL, proses ini dilakukan supaya sampel mendapatkan perlakuan yang sama dengan larutan standarnya. Setelah itu larutan induk sampel ini diambil sebanyak 10 mL dan diencerkan ke dalam 100 mL etanol 96%. Lalu hasil pengenceran sebelumnya diambil lagi sebanyak 10 mL dan di encerkan kembali ke dalam etanol 96% sebanyak 100 mL. Pengenceran dilakukan sebanyak 2 kali ini karenapada saat pengujian dengan spektrofotometer UV diharapkan dapat diperoleh hasil absorbansi yang tidak terlalu tinggi agar dapat terbaca oleh spektrofotometer UV. Kemudian hasil pengenceran tersebut masing-masing diukur dengan spektrofotometer UV menggunakan panjang gelombang 282 nm dan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil data variasi rotasi terhadap konsentrasi kopi Arabika dan Robusta dari spektrofotometer UV.

Proses Rotasi Sokletasi	Absorbansi		Konsentrasi (mg/L)	
	Kopi Arabika	Kopi Robusta	Kopi Arabika	Kopi Robusta
4	0,595	0,679	15,368	17,578
6	0,612	0,685	15,815	17,736
8	0,647	0,689	16,736	17,842
10	0,658	0,692	17,026	17,921
12	0,664	0,697	17,184	18,052

Konsentrasi didapatkan berdasarkan pengukuran menggunakan spektrofotometer UV akan digunakan pada perhitungan kadar kafein menurut Nadhirah (2015) dengan rumus (1) berikut.

$$\text{Kadar Kafein} = \frac{\text{Berat Ekstrak} \times \text{FP} \times \text{Konsentrasi kopi}}{\text{Berat Sampel}}$$

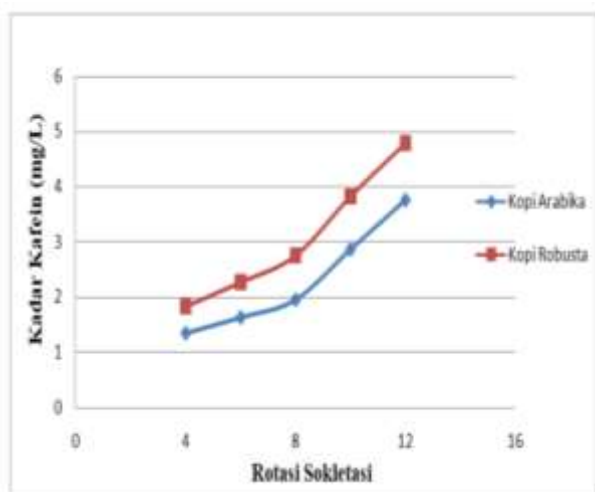
Berat ekstrak diperoleh dari hasil ekstraksi yang telah diambil sebanyak 0.1 gram, FP merupakan faktor pengenceran yaitu 100 kali, konsentrasi yang didapat dari hasil spektrofotometer UV dan berat sampel yaitu berat awal kopi 30 gram.

Pada hasil perhitungan yang telah dilakukan diperoleh kadar kafein yang terkandung di dalam kopi Arabika pada rotasi ke-4 yaitu 1,347 mg/L, pada

rotasi ke-6 yaitu 1,631 mg/L, pada rotasi ke-8 yaitu 1,953 mg/L, pada rotasi ke-10 yaitu 2,868 mg/L dan pada rotasi ke-12 yaitu 3,764 mg/L.

Pada hasil perhitungan pada kopi Robusta pada rotasi ke-4 yaitu 1,820 mg/L, pada rotasi ke-6 yaitu 2,258 mg/L, pada rotasi ke-8 yaitu 2,741 mg/L, pada rotasi ke-10 yaitu 3,814 mg/L dan pada rotasi ke-12 yaitu 4,781 mg/L.

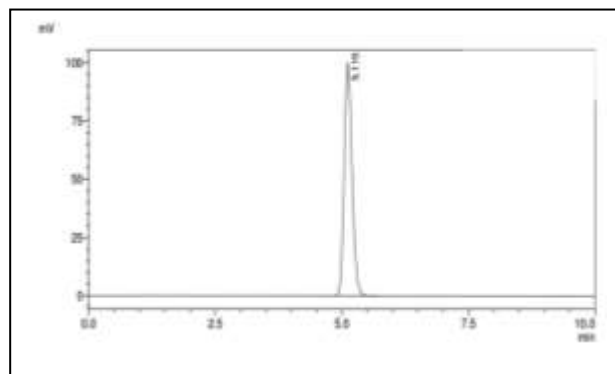
Berdasarkan grafik pada Gambar 2, dapat dijelaskan bahwa untuk penentuan kadar kafein pada kopi Arabika dan kopi Robusta yaitu memiliki kesamaan terdapat pada rotasi 8 sampai dengan 10 dimana pada rotasi tersebut merupakan rotasi yang konstan dan terjadi peningkatan yang signifikan. Peningkatan ini terjadi karena pada saat rotasi 8 sampai dengan 10 hasil kadar kafein yang didapat lebih tinggi kenaikannya dibandingkan dengan rotasi yang lainnya dan untuk rotasi selanjutnya peningkatan kadar kafein tidak terlalu signifikan bahkan stabil karena kafein yang didapat selama proses sokletasi kemungkinan akan tetap atau stabil.



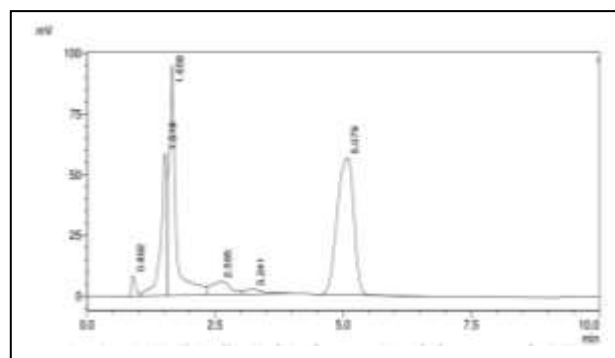
Gambar 2. Grafik kadar kafein terhadap rotasi pada kopi Arabika dan Robusta.

Kandungan kafein pada kopi Robusta lebih banyak dibandingkan kopi Arabika dapat disebabkan oleh komposisi senyawa lain seperti kandungan asam klorogenat yang tinggi sehingga menyebabkan rasa dari kopi tersebut menjadi lebih pahit, lalu penyebab yang lain adalah kandungan gula dan lemak pada kopi Robusta sangat rendah berbeda dengan kopi Arabika yang memiliki kandungan gula dan lemak tinggi [1].

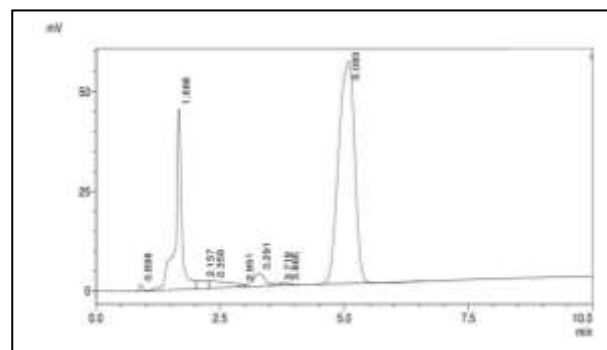
Kemudian senyawa kafein yang terkandung di dalam sampel kopi Arabika dan kopi Robusta dikarakterisasi dengan HPLC.



Gambar 3. Standar kafein.



Gambar 4. Hasil analisa (HPLC) pada sampel kopi Arabika.



Gambar 5. Hasil analisa (HPLC) pada sampel kopi Robusta.

Tabel 2. Hasil karakterisasi dengan HPLC.

Sampel	Waktu retensi	Area	Height
Standar Kafein	5,115	1079982	99960
Kopi Arabika	5,079	1265348	56539
Kopi Robusta	5,083	1249273	55700

Berdasarkan hasil kedua kromatogram tersebut antara senyawa kafein kopi Arabika dan senyawa kafein kopi Robusta dimana perbedaan waktu

retensinya tidak terlalu jauh dikarenakan waktu retensi dari senyawa kafein Robusta sedikit lebih tinggi, namun luas area dan tinggi peak dari senyawa kafein kopi Arabika masih lebih besar daripada kopi Robusta. Hal ini dapat disebabkan oleh perbedaan titik didih dikarenakan senyawa yang mendidih pada temperatur yang lebih tinggi daripada temperatur kolom akan menghabiskan hampir seluruh waktunya untuk berkondensasi sebagai cairan awal pada kolom. Selain itu kondisi dari fase diam juga dapat mempengaruhi lamanya waktu retensi karena sampel yang diuji memiliki beberapa ukuran partikel yang berbeda. Kelarutan dalam fase cair juga berpengaruh karena senyawa yang dapat lebih mudah larut dalam fasa cair memiliki waktu yang lebih singkat untuk dibawa oleh gas pembawa.

KESIMPULAN

Pada kopi Arabika diperoleh rotasi konstan yang digunakan dalam penentuan kadar kafein yaitu 8 sampai dengan 10 dimana kadar kafein yang didapatkan sebesar 1,953 mg/L sampai dengan 2,868 mg/L sedangkan pada kopi Robusta rotasi konstan yang digunakan dalam penentuan kadar kafein sama dengan kopi Arabika yaitu 8 sampai dengan 10 yaitu diperoleh kadar kafein sebesar 2,741 mg/L sampai dengan 3,814 mg/L.

Terdapat perbedaan yang terjadi pada senyawa kafein kopi Arabika dan kopi Robusta dimana setelah karakterisasi pada kopi Robusta memiliki waktu retensi 5,083 sedikit lebih besar daripada waktu retensi kopi Arabika yaitu 5,079. Namun kopi Arabika memiliki luas area 1265348 dan ketinggian puncak 56539 lebih besar daripada kopi Robusta yang memiliki luas area 1249273 dan ketinggian puncak 55700.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada kedua orang tua, keluarga, teman teman atas dukungannya. Selanjutnya, penulis berterima kasih kepada dosen pembimbing yang telah banyak memberikan masukan dan saran.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Gustomo R. 2018. *Perbedaan rasa kopi Arabika vs kopi Robusta*: Gordi Blog Resources.
- [2] Sairdama. 2013. Analisis pendapatan petani kopi Arabika (*Coffea Arabica*) dan margin pemasaran di Distrik Kamu Kabupaten Dogiyai. *Skripsi*. Universitas Satya Wiyata Mandala, Papua.
- [3] Prastowo B., E. Karmawati, Rubijo, Siswanto, C. Indrawanto, dan Munarso, S. J. 2010. *Budidaya dan pasca panen kopi. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan*.
- [4] Yusianto. 2014. Mutu fisik dan citarasa kopi arabika yang disimpan buahnya sebelum dipulping. Bogor: Bumi Aksara.
- [5] Sofiana N. 2011. *1001 Fakta tentang kopi*. Yogyakarta: Cahaya Atma Pustaka
- [6] Rahardjo P. 2012. *Panduan budidaya dan pengolahan kopi Arabika dan Robusta*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- [7] Istiqomah. 2013. *Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi terhadap kadar piperin buah cabe Jawa (Piperis retrofracti fructus)*. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- [8] Standar Nasional Indonesia. SNI 01-7152-2006: Bahan tambahan pangan – persyaratan perisa dan penggunaan dalam produk pangan. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta.
- [9] Maramis R. K., G. Citraningtyas dan Wehantouw, F. 2013. Analisis kafein dalam kopi bubuk di kota Manado menggunakan spektrofotometri UV-VIS. *Pharmakon Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT* 2(04):122.
- [10] Nadhirah, A. 2015. *Analisis Kandungan Kafein dalam Kopi Sumatera dan Kopi Flores dengan Variasi Siklus Menggunakan Spektrofotometer UV-VIS*.