

Jurnal Farmasi dan Herbal	Vol.6No.1	Edition: Oktober 2023
	http://ejournal.delihusada.ac.id/index.php/JPFH	
Received: 16 Oktober 2023	Revised: 23 Oktober 2023	Accepted: 30 Oktober 2023

ANALISIS KANDUNGAN KAFEIN PADA MINUMAN KOPI SIAP SAJI MENGGUNAKAN METODE KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS-GAMBAR DIGITAL

Ni Luh Ika Rahayu¹, M.A Hanny Ferry Fernanda²

Departemen Kimia Farmasi, Prodi Diploma Tiga Farmasi, Akademi Farmasi Surabaya, Surabaya, Indonesia
Email: ikaaluh@gmail.com

Abstract

Caffeine is a colorless, crystalline powder that has a slightly bitter taste. One of them is ready-to-drink coffee, which can help increase concentration and is much loved. This study aimed to develop a semi-qualitative analysis of caffeine compounds in ready-to-drink coffee using the TLC method. The mobile phase used was methanol: ethyl acetate: acetic acid (3:1:6) with a saturation time of the mobile phase in the chamber of 20 minutes, and the stationary phase used silica gel 60 F254. The results obtained have a linearity (r) of 0,991413. As for the caffeine content in ready-to-drink coffee brand A was 99,37 mg; brand B was 144,81 mg, and brand C was 96,42 mg. It can be concluded that digital image processing using the semi-quantitative TLC method of ready-to-drink coffee contains positive caffeine compounds

Keywords: *caffeine, ready-to-eat coffee drinks, thin-layer chromatography (TLC), digital images process*

1. PENDAHULUAN

Seiring perkembangan zaman, salah satu minuman yang banyak digemari masyarakat khususnya Kelurahan Margorejo yaitu kopi. Kopi telah dikonsumsi secara turun-temurun, dengan rasanya yang pahitnya, disukai banyak orang. Kopi sudah banyak ragamnya, umumnya minuman kopi dapat disajikan dalam panas maupun dingin. Negara Indonesia memiliki musim panas atau musim kemarau, orang mungkin lebih menyukai minuman dingin. Oleh karena itu minuman kopi siap saji dapat menjadi solusi tepat banyak orang.

Kopi merupakan minuman mengandung kafein tinggi. Kafein dapat bekerja sebagai antioksidan yang diperlukan oleh tubuh (Setyoningsih GI, 2019). Hal ini dapat membuat seseorang kecanduan terhadap kandungan kafein. Kafein merupakan jenis alkaloid yang sering ditemukan dalam biji kopi, daun teh, dan biji coklat (Rialita Kesia Maramis, Gayatri Citraningtyas, 2001).

Mengingat banyak orang yang menyukai kopi siap saji, khususnya para remaja. Mereka biasanya mengonsumsi saat mengerjakan tugas, bekerja, serta berkumpul

bersama teman. Hal ini karena efek kafein pada kopi dapat mencegah rasa kantuk sehingga membuat mereka tetap fokus. Konsumsi minuman kopi dalam batas wajar tidak ada salahnya, namun jika berlebihan tidak baik untuk kesehatan.

Terlalu banyak mengonsumsi kafein, selain membuat kecanduan, juga dapat meredakan sakit kepala sekaligus memicunya. Mengonsumsi kafein dalam dapat mengakibatkan penyempitan pembuluh darah sekitar otak dan mengurangi aliran darah ke otak, yang dapat mengatasi sakit kepala. Namun, jika seseorang menghentikan konsumsi kafein secara langsung, pembuluh darah akan mengalami dilatasi sehingga dapat menyebabkan peningkatan aliran basal ke otak, yang akhirnya menyebabkan sakit kepala (Putri, 2020).

Menurut SNI 01-7152-2006 batas maksimal kafein dalam makanan dan minuman adalah 150 mg/hari dan 50 mg/saji. Selain itu, dalam Keputusan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan RI Nomor : HK.00.05.23.3644 dijelaskan bahwa batas penggunaan kafein adalah 150 mg dibagi menjadi 3 kali (BPOM, 2005).

Untuk menentukan kadar pada kafein membutuhkan penelitian kualitatif dan kuantitatif. Identifikasi kafein secara kualitatif pada penelitian ini menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan membandingkan nilai R_f antara standar dan sampel.

Sedangkan analisis kuantitatif, dikembangkan dengan pengamatan hasil pemisahan noda pada plat KLT dengan pemrosesan gambar digital menggunakan aplikasi berupa website JustQuantify.com. yang dapat memberikan data yang lebih kuantitatif.

Adanya dua kombinasi metode ini sangat ekonomis karena dapat menentukan konsentrasi beberapa sampel secara bersamaan dalam waktu yang relative singkat.

2. METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan adalah Caffein, aquadestilasi, natrium karbonat (Na_2CO_3), kloroform, etanol 96 %, etil asetat, asam asetat dan kopi siap saji yang beredar di minimart (merek A), (merek B) dan (merek C).

Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Camera Digital, silika gel, Plat KLT, corong pisah, pipa kapiler, kertas saring, timbangan analitik, labu ukur, corong pisah, beaker glass, pengaduk, kotak UV, erlenmayer, cawan dan pipa ukur.

Pembuatan Larutan Baku Standar Kafein

Menimbang kafein sebanyak 100 mg. campurkan kafein 100 mg kedalam labu ukur 100 ml etanol 96% untuk baku induk ad tanda batas diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Kemudian dibuat larutan dengan konsentrasi 200, 400, 600,

800, dan 1000 ppm.

Penyiapan Bahan Sampel / Uji Kadar Kafein

Sampel diperoleh secara *Purposive sampling* dengan pemilihan minuman kopi siap saji di salah satu minimart di Margorejo, sampel tersebut diambil berdasarkan range harga minimum.

Ukur masing-masing sampel sebanyak 100 ml, kemudian masuk dalam beaker glass. Tambahkan Na_2CO_3 sebanyak 1 g, panaskan hingga setengah campuran, lalu masukkan ke dalam corong pisah hingga dingin. Ekstraksi tiga kali dengan 20 ml kloroform, hingga terdapat dua lapisan. Masukkan ekstraksi pertama ke dalam corong pisah ditambah kloroform lalu dikocok, tunggu dan diamkan hingga memisah, tampung lapisan bawah kedalam Erlenmeyer, lapisan atas tambahkan lagi kloroform diambil dan masukkan ke dalam erlenmeyer, ulangi hingga ekstraksi ketiga.

Persiapan Plat KLT

Potong sesuai ukuran, beri jarak tepi atas 1 cm dan tepi bawah 2 cm, ditandai dengan beberapa garis dengan pensil.

Pembuatan Fase Gerak (Eluen)

Masukkan plat KLT kedalam bejana pengembang yang berisi campuran fase gerak yang dijenuhkan dengan kertas saring, yaitu metanol : etil asetat : asam asetat dengan perbandingan 3:1:6 (Martono & Martono, 2012).

Kemudian dibiarkan mengelusi plat KLT dengan sempurna, lalu angkat plat KLT menggunakan pinset dan keringkan.

Pengujian KLT

Tempatkan plat KLT kedalam chamber dan tunggu hingga elusi tersebar di atas plat KLT. Lihat noda pada plat KLT dengan proses gambar digital scanner, lalu beri tanda pada noda. Kemudian otomatis muncul nilai Rf, nilai area dan volume dimana sampel yang positif mengandung kafein akan menghasilkan noda sampel yang tampak sejajar dengan noda standar kafein.

Analisis Kuantitatif dengan Gambar Digital

Menghitung kadar kafein yang telah terbaca pada plat KLT dengan panjang gelombang 254 nm kemudian gambar digital dimasukkan dalam aplikasi websiter JustQuantify.com. agar diketahui nilai *Integrated Intensity/Area Intensity*. Kemudian dilakukan analisis regresi linier untuk mendapatkan nilai persamaan kurva standar.

Analisis Data Uji Kualitatif KLT

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh zat terlarut}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak}}$$

Uji Kuantitatif dengan Proses Gambar Digital

Diukur menggunakan aplikasi website JustQuantify.com. dilihat nilai *Integrated Intensity/Area Intensity* dari setiap bercak yang

diperoleh pada plat KLT.

$$Y = a + bx$$

Kemudian masukkan kedalam konsentrasi yang dihasilkan ke dalam rumus uji.

3. HASIL

Penelitian ini memiliki tujuan untuk mengetahui kadar kandungan kafein pada minuman kopi siap saji menggunakan kromatografi lapis tipis analisis semikuantitatif dari hasil gambar digital dengan bantuan web justquantify.com. Pada penelitian ini dilakukan identifikasi tiga minuman kopi yang beredar di minimart Margorejo yang tercantum mengandung kafein (*Coffea*). Berdasarkan tujuan penelitian ini dilakukan untuk melihat perbedaan berdasarkan uji standar kafein dengan uji sampel kafein dengan menggunakan metode KLT, metode ini merupakan metode analitik yang dapat digunakan untuk menganalisis senyawa kafein dalam sampel dengan teknik pemisahan sederhana. Dibandingkan dengan HPLC, tidak ada batasan pada fase gerak yang digunakan pada KLT, sampel yang keruh dapat diukur dengan cepat, langsung dan mudah (Yuangsoi, 2008).

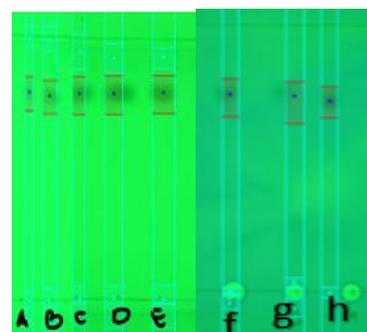
Disiapkan terlebih dahulu ekstrak sampel dan standar kafein. Selanjutnya yang dilakukan yaitu menentukan fase gerak yang akan digunakan selama penelitian dengan menotolkan standar dan sampel pada plat KLT silika gel 60 F254. Pada penelitian ini ada

terdapat fase gerak yaitu metanol:etil asetat:asam asetat (3:1:6) kedalam chamber. Tujuan dari penjuhan pada chamber untuk mengoptimalkan pertumbuhan fase gerak, mengurangi penguapan pelarut dan menghasilkan noda lebih bulat dengan kualitas yang lebih baik (Andiny, 2018). Penjuhan chamber dapat dicapai dengan menambahkan eluen ke dalam chamber dan menempatkan kertas saring di dalam chamber yang harus dibasahi dengan semua eluen. Dibuat standar kafein 1014 ppm dengan lima larutan baku seri.

Hasil penelitian ditampilkan pada tabel berikut ini:

Tabel 1. Hasil Uji Standar Kafein Pengamatan dari Proses Gambar Digital

Konsentrasi	Rf	Area <i>Integrated Intensity</i> (a.u)
202,8	0,732	2288
405,6	0,724	3840
608,4	0,74	4704
811,2	0,74	7068
1014	0,742	8288



(1)

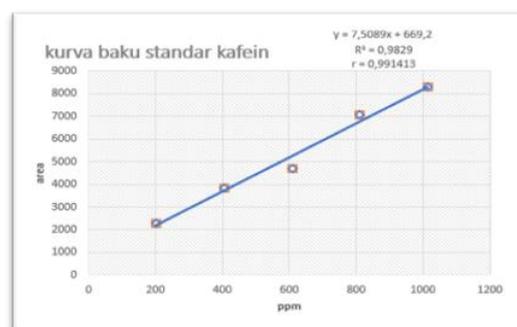
(2)

Gambar 1 Hasil Plat KLT Standar Kafein Gambar Digital (1); Hasil Plat KLT Sampel Kafein Gambar Digital (2)

Kemudian setiap sampel dan seri larutan baku standar kafein ditotolkan pada plat KLT dengan pipa kapiler 2 μL pada jarak 2 cm dari tepi bawah dan 1,5 cm antara titik (fase diam). Lajur A-E adalah seri larutan standar kafein sedangkan F-H merupakan sampel preparasi. Setelah ditotolkan, dibiarkan mengering beberapa saat kemudian masukkan ke dalam chamber. Kemudian dibiarkan sampai plat benar-benar terelusi hingga garis batas kemudian diangkat dan dikeringkan. Noda yang terpisah diamati dibawah sinar UV pada 254 nm. Sinar lampu UV memancarkan cahaya 254 nm yang dapat menghilangkan silika gel diplat atau sampel di permukaannya. Noda akan tampak berwarna gelap karena adanya daya interaksi antara sinar UV dan indikator fluoresensi (cahaya) yang terdapat pada plat dan dapat dilihat secara langsung. Fluoresensi yang terlihat adalah pancaran cahaya oleh komponen ketika elektron tereksitasi dari tingkat dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi dan kemudian kembali ke keadaan semula melepaskan energi (1).

Selain itu melakukan preparasi tiga sampel, masing-masing sampel tersebut diukur sebanyak 150 ml kemudian diekstraksi sebanyak tiga kali dengan menambahkan 20 ml kloroform. Ekstraksi adalah teknik pemisahan zat yang mengandung satu senyawa atau lebih senyawa

dari satu fase ke fase lainnya dan didasarkan pada prinsip kelarutan. Akibatnya minuman kopi dan kloroform, membentuk dua lapisan di corong pisah. Kafein memiliki polaritas yang sama dengan pelarut organik, sehingga lebih larut dalam pelarut organik dibandingkan air. Pelarut yang mampu menarik senyawa kafein seperti kloroform, merupakan senyawa yang bersifat semi polar. Fase kloroform akan terpisah sempurna dibagian bawah, fase air di bagian atas (Silviana & Santika, 2020).



Gambar 1 Grafik Kurva Baku Standar Kafein

Tabel 2. Hasil Kafein Pengamatan dari Proses Gambar Digital

No	Kode	Nilai Rf	Proses Gambar Digital			
			Y = $bx+a$	Integated Intensity/Area	Kadar (ppm)	Kadar minuman kopi siap saji dalam 1 porsi
1	Merek A	0,722	y	4400	496,85	99,37 mg
2	Merek B	0,716	$=7,5089x + 669,2$	5612	658,25	144,81 mg
3	Merek C	0,704		3960	438,3	96,42 mg

4. PEMBAHASAN

Salah satu minuman siap saji yang sering dikonsumsi masyarakat Indonesia yaitu kopi, minuman ini mengandung kafein. Kafein

berbentuk kristal dari senyawa alkaloida xantina yang memiliki rasa pahit dan dapat digunakan sebagai psioaktif dan diuretik ringan (Grosso & Bracken, 2005). Manfaat kafein bila dikonsumsi dengan benar akan bekerja dengan baik, namun konsumsi kafein secara berlebihan dapat membuat individu dapat tergantung kafein.

Pada penelitian sebelumnya oleh Maramis dkk, 2013 telah dilakukan penelitian mengenai analisis kafein pada bubuk kopi menggunakan spektrofotometri UV-vis (Rialita Kesia Maramis, Gayatri Citraningtyas, 2001). Namun pada penelitian ini, menunjukkan bahwa ada hubungan linier antara kadar senyawa yang diukur dengan luas area (Risthanti, 2020). Parameter memiliki hubungan linier menggunakan koefisien korelasi (r) dalam analisis regresi linier. Pada penelitian ini menghasilkan persamaan regresi $y = 7,5089x + 669,2$ dan nilai r sebesar 0,991413 dari hasil KLT gambar digital. Sehingga penelitian ini dianggap memenuhi persyaratan validasi dengan nilai koefisien kriteria linier yaitu $r \geq 0,99$ (Andiny, 2018).

Dilanjutkan dengan analisis tiga sampel kafein dimana hasil plat KLT pada pemrosesan gambar digital dengan menangkap gambar menggunakan kamera untuk menentukan kromatogramnya (Manthorpe & Lockley, 2013). Kemudian didapatkan nilai area 4400; 5612; dan 3960. Dengan demikian dari hasil tersebut diperoleh kadar tiga sampel (merek

A) 99,37 mg; (merek B) 144,81 mg; dan (merek C) 96,42 mg. Berdasarkan hasil yang diperoleh dengan metode pemrosesan hasil gambar digital ini masih belum cukup dikatakan sempurna karena belum melewati proses validasi yang lengkap.

Adapun hasil penelitian yang diperoleh dari ketiga sampel semuanya masih memenuhi syarat SNI yaitu 150 mg/hari. Namun, mengkonsumsi kafein hingga 100 mg per hari dapat membuat seseorang kecanduan kafein. Walaupun demikian diharapkan kepada masyarakat agar membatasi konsumsi minuman kopi siap saji maksimal hanya dua kali/hari/porsi, karena konsumsi berlebihan akan berdampak buruk bagi kesehatan.

Adapun faktor lainnya karena sampel minuman yang digunakan tidak murni atau campuran bahan lain. Adanya komposisi akan mempengaruhi rasa, khasiat dan kandungan kafein minuman kopi (Putri, D. D., & Ulfin, 2015).

Adanya keterbatasan pada penelitian ini yaitu waktu penelitian yang terbatas sehingga parameter validasi tidak dapat dilakukan. Akan tetapi metode KLT semikuantitatif hasil gambar digital dapat digunakan dengan baik.

5. KESIMPULAN

Dari hasil semikuantitatif proses gambar digital dengan metode KLT minuman kopi siap saji mengandung positif senyawa kafein, didapatkan nilai R_f merek A (0,722), merek B (0,716), dan

merek C (0,704). Nilai koefisien korelasi (r) 0,991413. Adapun hasil yang diperoleh, ada perbedaan pada tiga minuman kopi siap saji yaitu merek A (99,37 mg); merek B (144,81 mg); dan merek C (96,42 mg).

DAFTAR PUSTAKA

- Andiny, A. N. (2018). *Pengembangan Metode Penetapan Kadar Bromhexine Hcl dan Guaifenisin Pada Sediaan Tablet Kombinasi Menggunakan Metode KLT Video Densitometri*. 754, 2018.
- BPOM. (2005). *Keputusan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor HK.00.05.23.3644 tentang Ketentuan Pokok Pengawasan Suplemen Makanan*. 26.
- Grosso, L. M., & Bracken, M. B. (2005). Caffeine metabolism, genetics, and perinatal outcomes: a review of exposure assessment considerations during pregnancy. *Annals of Epidemiology*, 15(6), 460–466. <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2004.12.011>
- Manthorpe, D. P., & Lockley, W. J. S. (2013). Digitally enhanced thin layer chromatography: Further development and some applications in isotopic chemistry. *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*, 56(11), 544–552. <https://doi.org/10.1002/jlcr.3052>
- Martono, Y., & Martono, S. (2012). Analisis Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Untuk Penetapan Kadar Asam Galat, Kafein Dan Epigalokatekin Galat Pada Beberapa Produk Teh Celup. *AgriTECH*, 32(4), 362–369.
- Putri, D. D., & Ulfin, I. (2015). Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi Terhadap Kadar Kafein dalam Teh Hitam. *Jurnal Sains Dan Seni ITS*, 4(2), 2337–3520.
- Putri, G. S. (2020). Kafein Bisa Membantu Meredakan Sakit Kepala Migrain, Asal ...". *Kompas.Com*.
- Rialita Kesia Maramis, Gayatri Citraningtyas, F. W. (2001). Analisis Kafein dalam Kopi Bubuk di Kota Manado Menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Ilmiah Farmasi PHARMACON*, 2(4), 123.
- Risthanti, R. . (2020). Penetapan Kadar Kukurminoid Dalam Ekstrak Campuran *Curcuma domestica* Val dan *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. Sebagai Bahan Baku Jamu Saintifik Secara KLT-Densitometri. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 1(2020), 57–62.
- Setyoningsih GI. (2019). Penetapan Kadar Kafein Dalam Kopi Bubuk Murni Robusta Merek "X" Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KIT) - Densitometri. *Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta*, 1(1), 1–13.
- Silviana, E., & Santika, M. (2020). ANALISIS KANDUNGAN KAFEIN PADA KOPI SEDUHAN. 8(1), 1–12.
- Yuangsoi, B. (2008). Validated TLC-densitometri analysis for determination of carotenoids in fancy carp (*Cyprinus carpio*) serum and application for pharmacokinetic parameter assessment. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 6(30), 693–700.