

**PERBANDINGAN KADAR KAFEIN DENGAN VARIASI  
WAKTU PENYANGRAIAN PADA BIJI KOPI ASAL  
KAMPUNG KOPI LUWAK MARANGKAYU DENGAN  
METODE SPEKTROFOTOMETRI UV – VIS**

**Oleh :**

**EKA APRIANI**

**211148201157**

**SKRIPSI**

**Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Ujian**

**Guna Memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)**

**Program Studi Farmasi**



**PROGRAM STUDI S-1 FARMASI  
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN DIRGAHAYU SAMARINDA  
2025**

## LEMBAR PENGESAHAN

PERBANDINGAN KADAR KAFEIN DENGAN VARIASI WAKTU  
PENYANGRAIAN PADA BIJI KOPI ASAL KAMPUNG KOPI LUWAK  
MARANGKAYU DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

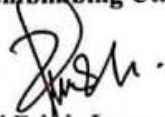
Dipersiapkan dan disusun oleh

**EKA APRIANI**

**211148201157**

Telah dipertahankan didepan Tim Penguji pada tanggal 16 Juli 2025

**Pembimbing Utama**




Nurillahi Febria Leswana, M. Sc  
NIK : 0322.A4.28



**Mengetahui**

**Ketua Program Studi S-1 Farmasi**

  
apt. Raymon Simanullang, M. Pharm  
NIK : 0924.A4.18

**Pembimbing Pendamping**



Risny Oklyan, M. Farm  
NIK :

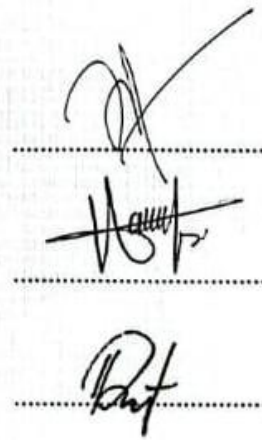
Tim Penguji :

**Ketua** : apt. Muh. Taufiqurrahman, M. Farm.

**Anggota** :

1. Maria Elvina Tresia Butar-Butar, M. Farm.

2. Risny Oklyan, M. Farm.



## **PEDOMAN PENGGUNAAN DAN PERBANYAKAN SKRIPSI**

Skripsi sarjana yang terdaftar dan tersedia di perpustakaan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda, dan terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada pengarang dengan mengikuti aturan HaKI yang berlaku di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda. Referensi keputusan diperkenankan dicatat, tetapi pengutipan atau peringkasan hanya dapat dilakukan seizin pengarang dan harus disertai dengan kebiasaan ilmiah untuk menyebutkan sumbernya

Memperbanyak atau menerbitkan sebagian atau seluruh isi skripsi haruslah seizin Ketua Prodi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda.

## **LEMBAR PERNYATAAN**

Dengan ini saya menyatakan bahwa :

1. Karya tulis saya, skripsi ini, adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar sarjana, baik di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda maupun perguruan tinggi lain.
2. Karya tulis ini adalah murni gagasan, rumusan, dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan dari pihak lain, kecuali arahan Tim Pembimbing dan masukan Tim Penelaah/ Tim Penguji.
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh karna karya ini, serta sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi ini.

Samarinda, Juli 2025  
Yang membuat pernyataan,

(Eka Apriani)

## **KUTIPAN**

Kutipan atau saduran baik  
Sebagian atau pun seluruh naskah,  
harus menyebut nama pengarang  
dan sumber aslinya, yaitu Sekolah  
Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu  
Samarinda.

## **PERSEMBAHAN**

Skripsi ini saya persembahkan kepada keluarga saya yang selalu memberikan dukungan, semangat, dan doa bagi saya selama ini. Kepada Sahabat -sahabat saya yang selalu memberikan semangat selama pembuatan skripsi ini. Dan terakhir kepada Teman – teman dekat saya Yurin, Natalia, Bela, dan Jennie yang telah menemani dalam pembuatan skripsi ini.

## ABSTRAK

Kopi luwak jenis liberika merupakan salah satu minuman yang dihasilkan di desa Perangat baru kecamatan Marangkayu. Kafein yang terdapat pada kopi dapat mempengaruhi sistem syaraf pusat, otot, dan ginjal. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi kandungan kafein dalam biji kopi dan menentukan kadar kafein pada biji kopi dengan variasi waktu lamanya penyangraian yaitu selama 26 menit, 31 menit dan 36 menit. Dalam penelitian ini menggunakan analisis kualitatif, yaitu dengan metode *parry* dan uji KLT (Kromatografi Lapis Tipis) dengan fase gerak kloroform : etil asetat : asam asetat (3 : 1 : 6). Penetapan kadar kafein dengan analisis kuantitatif menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Dalam penelitian ini juga dilakukan validasi metode yaitu linearitas, akurasi, presisi, LOD dan LOQ. Maka dari ini peneliti dapat menentukan kadar kafein yang ada dalam sampel. Hasil yang didapat pada penelitian ini menunjukkan panjang gelombang maksimum 289,0 nm. Kadar kafein kopi luwak liberika menurun seiring lamanya waktu penyangraian yaitu 26 menit 1,020% b/b, 31 menit 0,402% b/b, dan 36 menit 0,330% b/b, dengan perbedaan yang signifikan. Hasil uji validasi menunjukkan bahwa metode bersifat linear (nilai  $\geq 0,98$ ), akurasi 93,1537%-102,6527% dan presisi % RSD < 2%, serta Uji LOD dan LOQ menghasilkan nilai masing-masing 10,7205 ppm dan 12,8338 ppm.

**Kata kunci :** Kopi Liberika, Penyangraian, Kafein, Spektrofotometri UV-Vis

## **ABSTRACT**

*Liberica civet coffee is one of the drinks produced in Perangat Baru Village, Marangkayu District. Caffeine contained in coffee can affect the central nervous system, muscles, and kidneys. This study aims to identify the caffeine content in coffee beans and determine the caffeine content in coffee beans with variations in roasting time, namely for 26 minutes, 31 minutes and 36 minutes. In this study using qualitative analysis, namely the Parry method and TLC (Thin Layer Chromatography) test with a mobile phase of chloroform: ethyl acetate: acetic acid (3: 1: 6). Determination of caffeine levels by quantitative analysis using UV-Vis spectrophotometry. In this study, method validation was also carried out, namely linearity, precision, accuracy, LOD and LOQ. Therefore, researchers can determine the caffeine content in the sample. The results obtained in this study showed a maximum wavelength of 289.0 nm. The caffeine content of liberica civet coffee decreased with the length of roasting time, namely 26 minutes 1.020% w/w, 31 minutes 0.402% w/w, and 36 minutes 0.330% w/w, with significant differences. The results of the validation test showed that the method was linear (value  $\geq 0.98$ ), accuracy (accuracy 93.1537%-102.6527%) and precision % RSD <2%, and the LOD and LOQ tests produced values of 10.7205 ppm and 12.8338 ppm, respectively.*

**Keyword :** *Liberica Coffee, Roasting, Caffeine, UV-Vis Spektrofotometri*

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus yang telah memberkati dan menyertai sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Perbandingan Kadar Kafein Dengan Variasi Waktu Penyangraian Pada Biji Kopi Asal kampung Kopi Luwak Marangkayu Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis”**

Penulisan skripsi ini dilakukan untuk memenuhi salah satu syarat ujian untuk mendapatkan gelar sarjana pada jurusan farmasi di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda.

Penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada Dosen Pembimbing Ibu Nurillahi Febria Leswana, M. Sc. dan Ibu Risny Oklyan, M. Farm. atas bimbingan, nasihat, dukungan serta pengorbanan yang diberikan dalam penyelesaian skripsi penulis. Pada kesempatan ini, tidak lupa penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Ibu Ns. Andrea Theofrida Bone, S. Kep., MAN. Selaku ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda,
2. Bapak apt. Raymon Simanullang, M. Pharm. Selaku Ketua Program Studi S-1 Farmasi,
3. Ibu Nurillahi Febria Leswana, M. Sc Sebagai dosen pembimbing I yang telah memberikan bimbingan dan masukan dalam skripsi ini.
4. Ibu Risny Oklyan, M. Farm. selaku Pembimbing Akademik dan sekaligus Pembimbing II yang telah banyak membantu selama proses perkuliahan dan memberi masukan dalam skripsi ini,
5. Seluruh staf dosen, staf administrasi serta karyawan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda,
6. Orang tua saya tercinta, yang selalu mendukung, menguatkan, memberi semangat yang tiada henti dalam setiap langkah penulis, mendoakan, kasih sayang serta telah memenuhi segala kebutuhan penulis sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini hingga akhir,
7. Kakak dan adik-adik terkasih, selalu mendoakan dan memberi semangat serta mendukung penulis dalam penulisan skripsi ini.

8. Serta teman – teman seperjuangan, khususnya teman – teman dekat penulis selama proses menyelesaikan skripsi telah menjadi sumber motivasi, tempat bertukar pikiran, candaan penghilang stres, serta memberikan dukungan moral. Kehadiran kalian membuat proses ini menjadi lebih ringan dan bermakna.

Dalam penyusunan skripsi ini masih banyak kesalahan dan kekurangan karena pengetahuan yang masih sangat terbatas. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati diharapkan masukan kritik dan saran yang bersifat membangun untuk perbaikan di masa yang akan datang. Penulis berharap semoga skripsi ini akan memberikan manfaat bagi penulis sendiri dan juga bagi pihak lain yang berkepentingan.

Samarinda, Juli 2025

Eka Apriani

# DAFTAR ISI

Halaman

<b>LEMBAR PENGESAHAN .....</b>	<b>i</b>
<b>PEDOMAN PENGGUNAAN DAN PERBANYAKAN SKRIPSI .....</b>	<b>ii</b>
<b>LEMBAR PERNYATAAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>KUTIPAN .....</b>	<b>iv</b>
<b>PERSEMBAHAN.....</b>	<b>v</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>vi</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>vii</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xv</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Identifikasi Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
2.1 Kopi.....	5
2.2 Kopi Luwak.....	6
2.3 Kafein .....	7
2.4 Metode Parry .....	10
2.5 Penyangraian Biji Kopi .....	10
2.6 Kromatografi Lapis Tipis (Thin Layer Chromatography/TLC).....	11
2.7 Spektrofotometri UV-Vis .....	12
2.7.1 Definisi Spektrofotometri UV-Vis .....	12
2.7.2 Prinsip Kerja Spektrofotometri UV-Vis.....	14
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>15</b>
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	15
3.2 Alat dan Bahan .....	15
3.2.1 Alat.....	15

3.2.2	Bahan.....	15
3.3	Metode Penelitian.....	15
3.3.1	Jenis Penelitian.....	15
3.3.2	Definisi Operasional.....	16
3.3.3	Sampel Penelitian.....	16
3.3.4	Teknik Pengambilan Sampel.....	16
3.3.5	Teknik Pengambilan Data.....	16
3.3.6	Teknik Analisis Data.....	17
3.4	Prosedur Kerja.....	17
3.4.1	Penyangraian.....	17
3.4.2	Uji Organoleptis.....	18
3.4.3	Preparasi Sampel.....	18
3.4.4	Analisis Kualitatif Kafein Metode Parry.....	18
3.4.5	Optimasi Komposisi Eluen.....	19
3.4.6	Uji Kuantitatif.....	19
3.4.7	Validasi Metode.....	20
3.4.8	Analisis Data.....	22
<b>BAB IV</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>24</b>
4.1	Determinasi .....	24
4.2	Uji Organoleptis .....	24
4.3	Preparasi sampel.....	25
4.4	Analisis kualitatif .....	26
4.1.1	Metode parry.....	26
4.1.2	Pengujian Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	28
4.5	Uji Kuantitatif.....	30
4.5.1	Hasil Panjang Gelombang Maksimum.....	30
4.5.2	Hasil Penentuan Kurva Kalibrasi.....	31
4.5.3	Hasil Penetapan Kadar Kafein .....	31
4.6	Validasi Metode .....	34
4.6.1	Linearitas .....	34
4.6.2	Akurasi .....	36
4.6.3	Presisi .....	37

4.6.4 LOD Dan LOQ .....	38
4.6.4 Analisis data .....	38
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>40</b>
5.1 Kesimpulan.....	40
5.2 Saran .....	40
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>41</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>45</b>

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Perbandingan kandungan kimia pada kopi biasa dan kopi luwak .....	9
Tabel 4.1 Uji organoleptis serbuk kopi luwak liberika .....	24
Tabel 4.2 Hasil Uji Kualitatif Metode Parry .....	27
Tabel 4.3 Nilai RF Kopi Luwak Liberika .....	29
Tabel 4.4 Nilai Absorbansi Sampel Kopi Luwak Liberika .....	33
Tabel 4.5 Rentang Konsentrasi .....	35
Tabel 4.6 Persentase <i>Recovery</i> .....	36
Tabel 4.7 Hasil uji presisi baku kafein .....	37
Tabel 4.8 Hasil Validasi LOQ dan LOQ .....	38
Tabel 4.9 Hasil Uji ANOVA .....	38

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Tanaman Kopi Liberika .....	6
Gambar 2.2 Kopi Luwak Liar .....	7
Gambar 2.3 Struktur Kafein .....	8
Gambar 2.4 Struktur kimia asam klorogenat .....	10
Gambar 2.5 Reaksi pembentukan kompleks antara Co (II) dengan kafein .....	10
Gambar 3.1 Kerangka Penelitian .....	23
Gambar 4.1 Reaksi pembentukan kompleks antara Co (II) dengan kafein.....	28
Gambar 4.2 Hasil KLT.....	29
Gambar 4.3 Panjang Gelombang Maksimum .....	30
Gambar 4.4 Kurva Kalibrasi .....	31
Gambar 4.5 Linearitas Larutan Baku Kafein .....	35

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
LAMPIRAN 1 Surat Izin Penelitian .....	45
LAMPIRAN 2 Surat Determinasi .....	46
LAMPIRAN 3 Surat PA ( <i>Pro Analysis</i> ) Bahan .....	47
LAMPIRAN 4 Perhitungan Kadar Kafein Kopi Luwak Liberika .....	49
LAMPIRAN 5 Perhitungan Akurasi .....	55
LAMPIRAN 6 Perhitungan % <i>Recovery</i> .....	67
LAMPIRAN 7 Perhitungan Presisi .....	75
LAMPIRAN 8 Perhitungan % RSD dan Perhitungan LOD & LOQ .....	78
LAMPIRAN 9 Analisis Data .....	79
LAMPIRAN 10 Proses Penyangraian dan Penggilingan Biji Kopi Liberika .....	80
LAMPIRAN 11 Ekstraksi Kopi .....	81

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia terkenal mempunyai banyak jenis kopi yang berbeda, karena didukung oleh letak geografis setiap wilayah yang memungkinkan kopi memiliki kandungan senyawa kimia yang berbeda di setiap biji kopi. Kopi luwak terkenal dengan harganya yang mahal dan didapat keistimewaan dari kopi luwak yaitu rendah kafein, rendah kandungan asam, rendah lemak dan rendah rasa pahit serta memiliki cita rasa yang khas. Kopi luwak berasal dari feses luwak yaitu hewan yang suka makan kopi namun tidak sembarang biji kopi dimakan melainkan hanya memilih biji kopi yang mempunyai kadar kematangan yang sangat bagus. Kopi luwak diolah melalui proses penyangraian, penggilingan sehingga berbentuk bubuk yang siap diminum (Bowo *et al.*, 2022). Salah satu wilayah penghasil kopi luwak adalah desa Perangat Baru, kecamatan Marangkayu, kabupaten Kutai Kartanegara, Kalimantan Timur. Jenis kopi yang dipilih untuk ditanam dengan ketinggian lahan desa Perangat (400 – 700 mdpl) adalah jenis kopi liberika. Jenis liberika dipilih sesuai dengan kondisi iklim di lahan yang belum masuk dalam kategori dingin dan relatif lebih tahan hama dibandingkan jenis arabika dan robusta (Muhammad *et al.*, 2023).

Kopi luwak memiliki mutu yang sangat tinggi karena untuk mendapatkan kopi luwak tidaklah mudah. Metode fermentasi biji kopi liberika menggunakan bantuan hewan luwak, mampu memecahkan kadar protein dalam biji kopi, sehingga dapat menghasilkan sajian minuman kopi yang rendah asam (Muhammad *et al.*, 2023). Kopi luwak memiliki beberapa manfaat, diantaranya yaitu dapat mencegah penyakit saraf, karena terdapat kandungan antioksidan yang tinggi yang dapat mencegah kerusakan sel yang terhubung dengan penyakit Parkinson (Rezza & Dina, 2022). Kopi memiliki kandungan antioksidan dalam jumlah yang cukup banyak. Adanya antioksidan dapat membantu tubuh dalam menangkal efek perusakan oleh senyawa radikal bebas seperti kanker, diabetes dan penurunan respon imun. Beberapa senyawa antioksidan yang terdapat di dalam kopi adalah

polifenol, flavonoid, proantosianidin, kumarin, asam klorogenat dan tokoferol (Panji *et al.*, 2024).

Kafein (1,3,7-trimethylxantin) adalah sejenis purin psikostimulan alkaloid berbentuk serbuk putih atau bentuk jarum mengkilat, biasanya menggumpal, tidak berbau, rasa pahit, dan kafein memiliki titik lebur pada 235°-237°. Kafein agak sukar larut dalam air, etanol dan eter. Akan tetapi kafein mudah larut dalam kloroform dan lebih larut dalam asam encer (Elfariyanti *et al.*, 2020). Kafein memiliki efek farmakologis yang bermanfaat secara klinis, seperti menstimulasi susunan syaraf pusat, dengan efek menghilangkan rasa letih, lapar dan mengantuk, juga meningkatkan daya konsentrasi dan memperkuat kontraksi jantung (Ermi *et al.*, 2022). Kafein diketahui memiliki efek ketergantungan dan memiliki efek positif pada tubuh manusia dengan dosis rendah yaitu  $\leq 400$  mg, seperti peningkatan gairah, peningkatan kegembiraan, kedamaian, dan kesenangan (Wilson, 2018 ).

Cahyono dkk. (2022) melakukan penelitian analisis kandungan kafein pada variasi suhu sangrai kopi luwak robusta asal kebun garaham Jember dengan metode spektrofotometri UV-Vis . Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada kopi luwak robusta murni dengan suhu sangrai 190°C kandungan kafeinnya 1,10% dan pada suhu 240°C kandungan kafeinnya 0,94%. Pada kopi luwak robusta dengan penambahan beras 10% suhu sangrainya 190°C didapat kandungan kafeinnya 0,89% dan pada suhu 240°C kandungan kafeinnya 0,77%. Ini membuktikan bahwa baik suhu sangrai maupun persentase penambahan beras berperan penting dalam menentukan kadar kafein dalam kopi campuran. Hal ini karena pada suhu tinggi, kafein pada setiap sampel kopi yang diteliti dapat berbeda-beda.

Suci dkk. (2024) melakukan penelitian perbandingan variasi lamanya waktu penyangraian terhadap kadar kafein pada biji kopi robusta secara spektrofotometri UV-Vis. Berdasarkan hasil uji spektrofotometri UV-Vis diperolehnya hasil dari perhitungan kadar sampel ada perbedaan pada setiap sampel variasi penyangraian. Pada sampel robusta mentah (rata-rata 1,77 %), penyangraian 10 menit (rata-rata 1,62 %), penyangraian 15 menit (rata-rata 1,31 %), dan penyangraian 20 menit (rata-rata 1,10 %). Variasi suhu dan waktu pada saat penyangraian biji kopi dapat mempengaruhi kandungan kafein, semakin tinggi dan lama waktu sangrai maka

semakin rendah kandungan kafeinnya begitu pula sebaliknya semakin rendah suhu dan lama waktu penyangraian kandungan kafeinnya lebih tinggi.

Rismawati (2019) melakukan penelitian terhadap kandungan kafein pada kopi arabika dan robusta dengan variasi lama sangrai yaitu *light*, *medium* dan *dark* memiliki waktu sangrai yang berbeda berturut-turut yaitu 6,3 menit; 7,3 menit; dan 8,3 menit pada suhu 150°C. Hasil yang didapat adalah sampel kopi arabika berdasarkan variasi sangrai *light*, *medium*, dan *dark* didapatkan absorbansi berturut-turut sebesar 0,743; 0,451; dan 0,359. Sedangkan sampel kopi robusta dengan variasi sangrai yang sama didapatkan absorbansi sebesar 0,834; 0,616; dan 0,490. Kadar kafein kopi arabika dan robusta pada variasi sangrai (*light*, *medium*, *dark*) berbanding lurus dengan nilai absorbansi maksimum. Semakin tinggi kadar kafein maka semakin besar nilai absorbansi maksimumnya dan sebaliknya semakin rendah kadar kafein maka semakin kecil nilai absorbansi maksimumnya.

Berdasarkan latar belakang diatas sehingga perlu dilakukan penelitian mengenai perbandingan kadar kafein dengan variasi waktu penyangraian pada biji kopi asal kampung kopi luwak Marangkayu. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis. Spektrofotometri UV-Vis memiliki sistem optik dengan kemampuan menghasilkan sinar monokromatis dalam jangkauan panjang gelombang 200 – 800 nm (Panji *et al.*, 2024).

## **1.2 Identifikasi Masalah**

Berdasarkan latar belakang diatas, maka identifikasi masalah pada penelitian ini yaitu :

1. Apakah biji kopi luwak asal kampung kopi luwak Marangkayu mengandung kafein?
2. Berapakah kadar kafein yang terkandung pada biji kopi asal kampung kopi luwak Marangkayu dengan variasi waktu penyangraian?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

1. Menganalisa kandungan kafein pada biji kopi luwak asal kampung kopi luwak Marangkayu.
2. Mengetahui kadar kafein pada biji kopi luwak asal kampung kopi luwak Marangkayu.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

- 1.4.1 Bagi Masyarakat memberikan manfaat dalam menambahkan informasi tentang pengetahuan dan tindakan masyarakat.
- 1.4.2 Bagi institusi Pendidikan dan penelitian sebagai acuan dan masukan untuk penelitian.
- 1.4.3 Bagi peneliti meningkatkan pemahaman, pengetahuan dan wawasan peliti mengenai kandungan kafein pada kopi.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Kopi**

Pada umumnya, kopi dimanfaatkan sebagai produk olahan berupa minuman yang berasal dari proses pengolahan dan ekstraksi biji tanaman kopi. Kopi dikenal dengan minuman yang memiliki kandungan kafein yang berkadar tinggi. Kopi (*Coffea sp*) telah lama dikenal oleh masyarakat sejak berabad-abad silam, kopi dikenal sebagai komoditas bahan minuman yang paling akrab dengan masyarakat segala lapisan. Kopi dapat dihidangkan menjadi minuman yang lezat rasanya dalam berbagai suasana. Aromanya yang spesifik menggugah selera untuk meminumnya sebagai stimulan badan dan pikiran. Disamping rasa dan aromanya yang menarik, kopi juga dapat menurunkan risiko terkena penyakit kanker, diabetes, batu empedu, dan berbagai penyakit kardiovaskular (Ermi *et al.*, 2022).

Kopi terkenal akan kandungan kafeinnya yang tinggi. Kafein sendiri merupakan senyawa hasil metabolisme sekunder golongan alkaloid dari tanaman kopi dan memiliki rasa yang pahit. Berbagai efek Kesehatan dari kopi pada umumnya terkait dengan aktivitas kafein di dalam tubuh. Peranan utama kafein di dalam tubuh adalah meningkatkan kerja psikomotor sehingga tubuh tetap terjaga dan memberikan efek fisiologis berupa peningkatan energi. Kafein tidak hanya dapat ditemukan pada tanaman kopi, tetapi juga terdapat pada daun teh dan biji coklat (Ermi *et al.*, 2022). Varietas kopi paling umum digunakan di Indonesia adalah kopi arabica, robusta, dan liberika (Heriana *et al.*, 2023).

Di dalam biji kopi tidak hanya terkandung kafein, tetapi juga ada tanin, glukosa, lemak, protein dan selulosa. Pemisahan kafein dengan senyawa lainnya bergantung pada perbedaan kelarutan masing-masing senyawa tersebut. Jika tanin terisolasi kedalam air panas, maka akan terhidrolisis menghasilkan asam klorogenat. Asam hasil hidrolisis tanin ini akan menghasilkan endapan bila direaksikan dengan timbal asetat (Ade *et al.*, 2020).

Liberika adalah salah satu kopi yang sangat muda tumbuh dan mudah dipanen hal ini disebabkan karna tidak terlalu oleh iklim, yang berarti dapat dipanen

kapan saja sepanjang tahun dan memiliki keunggulan karena tahan terhadap karat daun (Heriana *et al.*, 2023). Kopi liberika memiliki *grade* lebih tinggi dari kopi robusta. Tanaman ini memiliki sistem akar yang dangkal dan tumbuh menjadi pohon perdu hingga mencapai ketinggian 10 meter. Masa berbunga tidak teratur dan membutuhkan sekitar 10-11 bulan bagi buahnya untuk masak, hingga menghasilkan biji kopi yang diinginkan. Kopi liberika menghasilkan panen lebih banyak daripada jenis arabika dan mengandung lebih banyak kafein (2,7% > 1,5%). Liberika juga lebih tahan terhadap serangan hama penyakit, sehingga hemat herbisida dan pestisida (Muhammad *et al.*, 2023).



Gambar 2.1 Tanaman Kopi Liberika (Dokumentasi pribadi)

## 2.2 Kopi Luwak

Kualitas Kopi Luwak yang luar biasa sebagian besar disebabkan oleh dua faktor: seleksi alami buah kopi terbaik oleh luwak (musang) dan perubahan pada sistem pencernaan jejak luwak, yang menghasilkan kopi aromatik dengan rasa yang bercirikan tanah, manis, apak, lembut, dan kaya dengan sedikit rasa coklat (Putri & Fukusaki, 2015).

Produksi kopi luwak terdiri dari produksi kopi luwak alami atau yang dikenal juga dengan sebutan kopi luwak liar, kopi luwak, dan budidaya kopi luwak (kopi luwak sangkar/kandang). Kopi luwak kopi pertama kali diproduksi secara alami dengan mengumpulkan kotoran luwak dari perkebunan kopi di dekat hutan. Karena terbatasnya jumlah kopi luwak yang dikandang, petani mulai membudidayakannya (Muzaifa *et al.*, 2019).

Kotoran musang sering terlihat di rumput di bawah pohon kopi, di atas kayu kering, di dahan kering, di atas batu atau tanah keras, dan bahkan di atas langit-langit rumah. Kopi yang terkumpul kemudian direndam dan dibersihkan dengan air mengalir sampai bersih sebelum dijemur. Kopi luwak dengan kulit tanduk kemudian diawetkan hingga siap dijual (Muzaifa *et al.*, 2016).



Gambar 2.2 Kopi Luwak Liar ( Dokumentasi pribadi)

### 2.3 Kafein

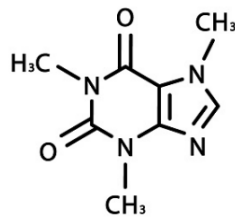
Kafein adalah salah satu jenis senyawa turunan alkaloid yang dapat ditemukan dalam kopi dan teh. Kafein memiliki efek farmakologis yang bermanfaat secara klinis, seperti menstimulasi susunan syaraf pusat, dengan efek menghilangkan rasa letih, lapar dan mengantuk, juga meningkatkan daya konsentrasi dan memperkuat kontraksi jantung. Karena efek farmakologis inilah seringkali kafein ditambahkan pada minuman-minuman berenergi dalam kemasan. Namun pada penggunaan kafein secara berlebihan dapat menyebabkan menimbulkan debar jantung, sakit kepala, munculnya perasaan was-was dan cemas, tangan gemetar, gelisah, ingatan berkurang, dan sukar tidur serta karena sifat senyawa yang asam dapat menimbulkan gangguan pada lambung dan pencernaan (Ermi *et al.*, 2022).

Kafein sendiri merupakan senyawa hasil metabolisme sekunder golongan alkaloid dari tanaman kopi dan memiliki rasa yang pahit. Berbagai efek Kesehatan dari kopi pada umumnya terkait dengan aktivitas kafein di dalam tubuh. Peranan utama kafein di dalam tubuh adalah meningkatkan kerja psikomotor sehingga tubuh tetap terjaga dan memberikan efek fisiologis berupa peningkatan energi. Kafein

tidak hanya dapat ditemukan pada tanaman kopi, tetapi juga terdapat pada daun teh dan biji cokelat (Ermi *et al.*, 2022).

Kafein merupakan stimulant tingkat sedang (*mild stimulant*) yang seringkali diduga sebagai penyebab kecanduan. Efek kecanduan ini hanya dapat timbul jika dikonsumsi dalam jumlah yang banyak dan rutin. Namun gejala kecanduan kafein akan hilang hanya dalam satu dua hari setelah konsumsi (Rintjap *et al.*, 2022). Oleh karenanya sangat dianjurkan untuk mengonsumsi kafein tidak melebihi batas yang diperbolehkan. FDA (*Food Drug Administration*) mengungkapkan 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 (Holuša *et al.*, 2021).

Kafein merupakan salah satu kandungan yang terdapat pada kopi (Fajriana *et al.*, 2018). Kafein adalah sejenis alkaloid heterosiklik dalam golongan methylxanthine, yang memiliki artian bahwa senyawa organik yang mengandung nitrogen dengan struktur dua cincin atau dual-siklik. Kafeina secara alami terdapat dalam banyak jenis tanaman sebagai metabolik sekunder. Kafeina dalam nama IUPAC adalah 1,3,7-trimethyl-1H- purine-2,6(3H,7H)- dione,3,7-dihydro-1,3,7-trimethyl-1H-purine-2,6-dione (Bowo *et al.*, 2022). Struktur kafein dapat dilihat pada Gambar 2.3



Gambar 2.3 Struktur Kafein (Bowo *et al.*, 2022)

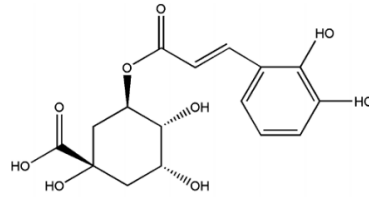
Kafein diserap dengan cepat melalui saluran gastrointestinal (GI) dan bergerak melalui membran sel dengan efisiensi yang sama seperti saat diserap dan diedarkan ke jaringan. Kafein dimetabolisme oleh hati dan menghasilkan metabolit seperti paraxantin (1,7-dimetil-xantin), teofilin (1,3-dimetil-xantin), dan teobromin (3,7-dimetil-xantin) melalui kerja enzim (Wachamo, 2017)

Tabel 2.1 Perbandingan kandungan kimia pada kopi biasa dan kopi luwak

(Rezza & Dina, 2022)

Kandungan Kimia	Konsentrasi (g/100g)	
	Kopi biasa	Kopi luwak
Kafein	1,1 - 2,5	0,358 - 0,363
Asam klorogenat	1,9 – 3,8	0,0544 – 0,0571
Protein	6,5 - 10	1,09 – 1,11
Polisakarida	31 - 37	69,16 ± 69,72
Lemak	17,37	19,76

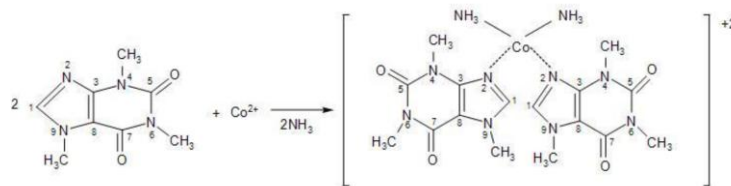
Tabel diatas menunjukkan beberapa kandungan kimia yang terdapat pada kopi luwak lebih rendah daripada kopi biasa. Salah satunya yaitu kandungan kafein, hal tersebut dikarenakan proses fermentasi yang memakan waktu cukup lama sehingga kandungan kafein yang semula terdapat pada biji kopi terdegradasi menjadi uric acid, 7- methylxanthine, dan xanthine. Selain dari itu, terjadi pula perubahan terhadap kandungan kafein menjadi kafeol yang berkaitan pada pembentukan aroma dan rasa dari kopi. Dengan adanya enzim pepsinogen pada saluran pencernaan luwak, makan pada saat fermentasi terjadi kadar kafein juga turut serta berkurang. Selain dari itu, turunnya kadar kafein disebabkan karena adanya kandungan protease dari bakteri proteolitik pada pencernaan luwak, dan kandungan protease tersebut juga berpengaruh dalam peningkatan kandungan asam amino bebas pada kopi. Dari beberapa kandungan yang telah disebutkan diatas, terdapat pula kandungan lainnya yaitu asam kloregenat yang berperan sebagai penentu kualitas kopi. Kandungan ini terbilang cukup sedikit pada kopi luwak dibandingkan dengan kopi biasa. Kandungan asam ini berpengaruh terhadap turunnya rasa pahit pada kopi, yang disebabkan karena asam ini akan terhidrolisis oleh klorogenat hidrolase dan menjadi asam kafeat dan asam ferulat pada saat fermentasi (Rezza & Dina, 2022).



Gambar 2.4 Struktur kimia asam klorogenat (Wachamo, 2017)

## 2.4 Metode Parry

Metode reaksi parry dilakukan menggunakan reagen parry untuk mengetahui keberadaan kafein dalam sampel kopi. Reagen parry dibuat dengan mereaksikan kobalt nitrat  $[\text{Co}(\text{NO}_3)_2]$  dengan metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ). Ion kobalt (Co) dalam reagen tersebut akan membentuk kompleks yang berwarna hijau. Ion kobalt bermuatan dua positif sehingga memungkinkan untuk mengikat gugus nitrogen yang terdapat pada senyawa kafein. Keberadaan kafein ditunjukkan dengan warna larutan, hasil positif mengandung kafein ditandai dengan terbentuknya warna hijau yang berasal dari senyawa kompleks yang dihasilkan antara kafein dengan logam Co (II) dalam suasana basa ( $\text{NH}_3$ ). Pada senyawa kompleks ini, Co (II) sebagai atom pusat dapat membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan kafein dan  $\text{NH}_3$  yang berperan sebagai ligan (Aprilia *et al.*, 2023). Reaksi pembentukan kompleks antara Co (II) dengan kafein dapat dilihat pada gambar 2.5



Gambar 2.5 Reaksi pembentukan kompleks antara Co (II) dengan kafein

(Aprilia *et al.*, 2023)

## 2.5 Penyangraian Biji Kopi

Salah satu proses penting pada pengolahan kopi adalah penyangraian biji. Penyangraian biji kopi merupakan proses pembentukan rasa dan aroma pada minuman kopi sehingga menjadi salah satu ciri kopi specialty (Winjaya, 2017). Apabila biji kopi memiliki keseragaman dalam ukuran, specific gravity, tekstur,

kadar air dan struktur kimia, maka proses penyangraian akan relatif lebih mudah untuk dikendalikan. Biji kopi setelah disangrai akan mengalami perubahan kimia seperti berkurangnya kadar kafein yang merupakan unsur cita rasa yang lezat bagi para konsumen. Kenyataannya, biji kopi memiliki perbedaan yang sangat besar, sehingga proses penyangraian merupakan seni dan memerlukan keterampilan dan pengalaman sebagaimana permintaan konsumen. Lama waktu menyangrai cukup bervariasi tergantung dari sistem dan alat penyangrai yang digunakan. Waktu yang diperlukan pada umumnya untuk proses penyangraian dibutuhkan waktu sekitar 15-30 menit yang bertujuan untuk menjaga kualitas kopi dari segi warna kopi dan yang paling penting dari segi rasa kopi yang diinginkan. Derajat penyangraian diidentifikasi dari sifat fisik- mekanis biji kopi meliputi warna, tekstur, dan densitas biji. Penyangraian kopi hingga pada saat sekarang ini masih banyak menggunakan peralatan manual ataupun yang disebut secara tradisional yaitu dengan menggunakan kuali dan pengadukannya pun menggunakan tenaga manusia (tangan) dan menggunakan kayu bakar sebagai bahan bakar (Panji *et al.*, 2024).

Suhu dan waktu penyangraian yang berbeda tidak banyak digunakan dalam penelitian, terutama untuk kopi liberika, masih sedikit data tentang cara menggunakan suhu dan waktu yang tepat untuk menghasilkan produk kopi yang berkualitas. Oleh karena itu kajian mengenai suhu penyangraian dan waktu penyangraian kopi liberika sangat perlu dilakukan untuk menghasilkan mutu kopi yang baik. Melihat saat ini kopi liberika yang sudah banyak dikembangkan sehingga mampu untuk bersaing dipasaran.

## **2.6 Kromatografi Lapis Tipis (Thin Layer Chromatography/TLC)**

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan salah satu analisis kualitatif dan semi kuantitatif yang menggunakan prinsip dasar pada kromatografi yaitu pemisahan campuran berdasarkan perbedaan adsorpsi dan distribusi senyawa pada dua fase yang berbeda yaitu fase diam dan fase gerak. Empat macam adsorben (fase diam) yang umum dipakai ialah silika gel (asam silikat), alumina (aluminium oksida), kieselguhr (diatomaceous earth), dan selulosa. Silika gel merupakan adsorben yang banyak dipakai dan masing-masing terdiri dari beberapa jenis yang mempunyai nama dagang macam-macam. Adsorben sebagai fase diam yang sering

digunakan dalam analisis insektida organofosfat adalah plat KLT silika gel F<sub>254</sub> (Syarifatul, 2016).

KLT secara luas digunakan dalam laboratorium, teknik ini mirip dengan kromatografi kertas. Namun pada KLT menggunakan fase diam dari lapisan adsorbent seperti silika gel, alumina, selulosa, atau juga substansi inert. Dibandingkan dengan kromatografi kertas, ini memiliki keunggulan pemisahan lebih cepat, pemisahan yang lebih baik, dan pilihan antara adsorben yang berbeda. KLT adalah salah satu alat yang paling berguna untuk mengikuti kemajuan reaksi kimia organik dan untuk pengujian kemurnian senyawa organik dalam fitokimia dan Bioteknologi. Seperti semua metode kromatografi, KLT mengambil keuntungan dari afinitas yang berbeda dari analit dengan fase gerak dan fase diam untuk mencapai pemisahan campuran dari molekul organik (Cristina, 2023).

Kromatografi lapis tipis dapat digunakan untuk menganalisis senyawa-senyawa organik dalam jumlah kecil (misalnya menentukan jumlah kumpulan dalam campuran), dan juga untuk mengidentifikasi komponen penyusun campuran melalui perbandingan dengan senyawa yang diketahui strukturnya. Penggunaan umum KLT adalah untuk menentukan banyak komponen dalam campuran, identifikasi senyawa, memantau berjalannya suatu reaksi, dan menentukan efektivitas pemurnian (Syarifatul, 2016).

## 2.7 Spektrofotometri UV-Vis

### 2.7.1 Definisi Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri merupakan suatu metoda analisa yang didasarkan pada pengukuran serapan sinar monokromatis oleh suatu lajur larutan berwarna pada panjang gelombang spesifik dengan menggunakan monokromator prisma atau kisi difraksi dengan *detector fototube*. Benda bercahaya seperti matahari atau bohlam listrik memancarkan spektrum yang lebar terdiri atas panjang gelombang. Panjang gelombang yang dikaitkan dengan cahaya tampak itu mampu mempengaruhi selaput pelangi mata manusia dan karenanya menimbulkan kesan subyektif akan ketampakan (*vision*). Dalam analisis secara spektrofotometri terdapat tiga daerah panjang gelombang elektromagnetik yang digunakan, yaitu daerah UV (200 – 380 nm), daerah visible (380 – 700 nm), daerah inframerah (700 – 3000 nm).

Spektrofotometer UV-Vis merupakan spektrofotometer yang digunakan untuk pengukuran didaerah ultra violet dan didaerah tampak. Semua metode spektrofotometri berdasarkan pada serapan sinar oleh senyawa yang ditentukan, sinar yang digunakan adalah sinar yang semonokromatis mungkin.

Spektrofotometer infrared dari namanya sudah bisa diketahui bahwa spektrofotometri ini berdasar pada penyerapan panjang gelombang infra merah. Cahaya infra merah terbagi menjadi infra merah dekat, pertengahan, dan jauh. Infra merah pada spektrofotometri adalah infra merah jauh dan pertengahan yang mempunyai panjang gelombang 2.5-1000  $\mu\text{m}$ .

Konsep radiasi infra merah diajukan pertama kali oleh Sir William Herschel (1800) melalui percobaannya mendispersikan radiasi matahari dengan prisma. Ternyata pada daerah sesudah sinar merah menunjukkan adanya kenaikan temperatur tertinggi yang berarti pada daerah panjang gelombang radiasi tersebut banyak kalori (energi tinggi). Daerah spektrum tersebut selanjutnya disebut infrared. Spektroskopi inframerah ditujukan untuk maksud penentuan gugus-gugus fungsi molekul pada analisa kualitatif, disamping untuk tujuan analisis kuantitatif (Ade *et al.*, 2020).

Spektrofotometri UV-Vis memiliki kelebihan yaitu panjang gelombang dari sinar putih dapat lebih terseleksi, caranya sederhana, dapat menganalisa larutan dengan konsentrasi yang sangat kecil dan spektrofotometri UV-Vis menyediakan metode sederhana untuk menentukan jumlah zat yang sangat kecil. Selain itu, hasil yang diperoleh cukup akurat sehingga angka yang terbaca langsung dicatat oleh detector dan tercetak dalam bentuk angka digital ataupun grafik yang sudah diregresi. Spektrofotometri UV-Vis juga memiliki kekurangan yaitu hanya dapat dipakai pada daerah ultraviolet yang panjang gelombangnya lebih dari 185 nm, absorbansi dipengaruhi oleh pH larutan suhu dan adanya zat pengganggu dan kebersihan dari kuvet, dan sinar yang dipakai harus monokromatis dan senyawa yang akan dianalisa harus memiliki gugus kromofon (gugus pembawa warna), dan memiliki ikatan rangkap terkonjugasi serta mempunyai panjang gelombang yang terletak pada daerah ultraviolet atau visible. Selain itu, hasil absorbansi yang terukur dapat dipengaruhi oleh pH

larutan, suhu, adanya zat pengganggu dan kebersihan dari kuvet (Cristina, 2023).

### **2.7.2 Prinsip Kerja Spektrofotometri UV-Vis**

Prinsip kerja spektrofotometer, Saat sumber cahaya dihidupkan, cahaya yang berasal dari sumber tersebut akan mengenai monokromator yang berfungsi mengubah sinar polikromatis menjadi sinar monokromatis sesuai yang dibutuhkan oleh pengukuran dan kemudian cahaya yang telah di filter memasuki sampel cell yang didalamnya terdapat sampel dan kemudian sampel akan menyerap cahaya tersebut atau mengalami absorpsi. Dimana energi cahaya yang diserap atom atau molekul tersebut digunakan untuk bereksitasi ke tingkat energi elektronik yang lebih tinggi. Absorpsi hanya terjadi jika selisih kedua tingkat energi elektronik tersebut bersesuaian dengan energi cahaya (foton) yang datang yakni  $\Delta E = E_{\text{foton}}$ . Kemudian cahaya yang melewati sampel akan sampai di *detector*, yang berupa transduser yang mengubah energi cahaya menjadi suatu isyarat listrik, dan kemudian dilanjutkan ke pengganda (*amplifier*), dan rangkaian yang berkaitan membuat isyarat listrik itu memadai untuk dibaca. Dan akhirnya sampai di suatu sistem baca (*piranti pembaca*) yang memperagakan besarnya isyarat listrik, menyatakan dalam bentuk % Transmittan (% T) maupun Absorbansi (A).

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Teknologi Farmasi STIKES Dirgahayu Samarinda yang berlangsung Januari 2025 – April 2025.

#### **3.2 Alat dan Bahan**

##### **3.2.1 Alat**

Spektrofotometri UV-Vis (LABSTAC), bejana chamber KLT, kuvet, pipet ukur, pipet mikro, timbangan analitik (Fujitsu®), corong pisah, corong gelas, gelas ukur (pirex®), labu ukur, batang pengaduk, tabung reaksi, gelas kimia (pirex®), erlenmeyer, alat penyangrai, *stopwatch*, cawan porselin, sendok tanduk, dan penangas air.

##### **3.2.2 Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel biji kopi luwak liberika asal kampung kopi luwak Marangkayu, akuades, amonia 21%, *reagen parry*, kalsium karbonat ( $\text{CaCO}_3$ ), etanol 96% pro analisis, kertas saring (Whatman®), plat KLT silika gel, kloroform, standar kafein pro analisis, etil asetat, dan asam asetat.

#### **3.3 Metode Penelitian**

##### **3.3.1 Jenis Penelitian**

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimen laboratorium dengan menguji sampel biji kopi luwak secara kualitatif dan kuantitatif. Uji kualitatif dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya kafein. Kemudian sampel kopi luwak diuji secara kuantitatif agar mengetahui kadar kafein yang terkandung dalam sampel.

### **3.3.2 Definisi Operasional**

1. Biji kopi luwak untuk percobaan ini adalah kopi jenis kopi liberika yang diperoleh dari perkebunan kampung kopi luwak Marangkayu.
2. Kafein merupakan salah satu turunan alkaloid yang dapat ditemukan dalam kopi.
3. Untuk penyangraian digunakan variasi waktu yaitu penyangraian selama 26 menit, 31 menit dan 36 menit.
4. Uji kualitatif adalah metode untuk menganalisis apakah kandungan kafein atau tidak di sampel biji kopi luwak menggunakan metode parry dan uji KLT (Kromatografi Lapis Tipis)
5. Uji kuantitatif adalah metode untuk menganalisis kadar dari kafein yang terkandung dalam biji kopi luwak dengan spektrofotometri UV-Vis.

### **3.3.3 Sampel Penelitian**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji kopi luwak liberika asal kampung kopi luwak Marangkayu. Penetapan kriteria sampel yang dipilih yaitu biji kopi yang dihasilkan dari perkebunan kopi yang ada di kampung kopi luwak Marangkayu.

### **3.3.4 Teknik Pengambilan Sampel**

Pengambilan sampel dilakukan dengan metode *purposive sampling* yaitu, teknik pemilihan subjek atau sampel berdasarkan pada karakteristik atau kriteria tertentu yang telah ditentukan (Aprilia *et al.*, 2023)

### **3.3.5 Teknik Pengambilan Data**

#### **1. Data Primer**

Pengumpulan data diperoleh dengan observasi langsung ke kampung kopi luwak Marangkayu kemudian diuji di labotarorium Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda dengan metode spektrofotometri UV-Vis untuk mengetahui kandungan kafein pada sampel biji kopi luwak liberika tersebut.

#### **2. Data Sekunder**

Data sekunder diperoleh dari jurnal, artikel, buku, dan literatur-literatur yang mendukung dan berkaitan sebagai acuan dalam pembuatan rancangan penelitian.

### 3.3.6 Teknik Analisis Data

Data yang akan disajikan dalam bentuk tabel, grafik, pembahasan. Hasil penelitian uji kuantitatif berupa nilai absorbansi dari sampel dan larutan standar kafein. Kadar sampel dapat diketahui dari hasil perhitungan kurva baku yang diperoleh dari  $y = bx + a$ , dimana  $y$  merupakan nilai absorbansi dan  $x$  adalah kadar terukur. Menurut Rismawati (2019) kadar kafein di hitung dengan menggunakan persamaan

$$\text{kandungan (mg)} = \frac{x \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right) \times V \left(\frac{\text{larutan}}{\text{L}}\right) \times fp}{\text{massa sampel (g)}} \quad (3.1)$$

Keterangan :

- X = Konsentrasi (mg/ml)
- V = Volume larutan sampel (L)
- Fp = Faktor pengenceran
- m = Massa sampel (g)

## 3.4 Prosedur Kerja

### 3.4.1 Penyangraian

Proses penyangraian biji kopi pada penelitian ini menggunakan mesin yang ada di kampung kopi luwak marangkayu, dengan mesin sangrai kapasitas 5 kg. Biji kopi luwak liberika dimasukkan ke dalam alat sangrai yang telah disiapkan, kemudian dilakukan penyangraian (*Roasting*) biji kopi dipanaskan pada waktu yang ditentukan yaitu selama 26 menit, 31 menit dan 36 menit. selama proses pemanggangan, biji kopi akan mengalami perubahan warna, tekstur, dan karakteristik kimia lainnya. Setelah selesai pemanggangan dilakukan pemisahan (*Cooling*) setelah selesai dipanggang, biji kopi kemudian dipindahkan ke dalam

tambah untuk didinginkan untuk mencegah *over-roasting* dan menghentikan proses pemanggangan. Setelah biji kopi sudah dingin kemudian digiling menjadi bubuk kopi sesuai dengan kebutuhan.

#### **3.4.2 Uji Organoleptis**

Bubuk kopi luwak liberika diambil sedikit, lalu dilakukan uji organoleptis yaitu bau, bentuk, dan warna.

#### **3.4.3 Preparasi Sampel**

Bubuk kopi luwak liberika dari masing-masing lama waktu penyangraian yaitu 26 menit, 31 menit, dan 36 menit ditimbang sebanyak 20 gram, setelah itu kertas saring dibasahi dengan air bersuhu 90-100 °C lalu bubuk kopi luwak liberika dimasukkan ke dalam kertas saring, kemudian dipasang corong kaca dan erlenmeyer dibawahnya. Air dituangkan ke bubuk kopi dengan 3 tahapan penuangan. Pertama, dituangkan sebanyak 60 ml dan ditunggu hingga 30 detik untuk ekstraksi, proses ini disebut *blooming*. Penuangan kedua, sebanyak 100 ml, ditunggu hingga setengah sisa air corong turun, dilanjutkan ke penuangan terakhir hingga 300 ml air (Kinasih *et al.*, 2021). Diambil masing – masing sebanyak 100 ml sampel minuman kopi luwak liberika, setelah itu ditambahkan 1 gram CaCO<sub>3</sub> lalu dimasukkan ke dalam corong pisah (pyrex<sup>®</sup> USA), selanjutnya dilakukan ekstraksi sebanyak 3 kali dengan masing-masing penambahan 25 mL kloroform. Setelah itu lapisan bawah (fase kloroform) diambil lalu diuapkan dengan menggunakan *waterbath* hingga kloroform menguap seluruhnya (Aprilia *et al.*, 2023).

#### **3.4.4 Analisis Kualitatif Kafein Metode Parry**

Analisis kualitatif kefein dilakukan dengan menambahkan 5 tetes amonia 21% dan 1-2 ml *reagen parry* ke dalam 1-2 ml ekstrak kafein sampel yang dilarutkan dalam etanol 96%. Hasil positif kafein ditandai dengan terbentuknya warna biru tua atau hijau (Aprilia *et al.*, 2023).

### 3.4.5 Optimasi Komposisi Eluen

Larutan standar kafein 100 ppm ditotolkan pada plat KLT silika gel F254 yang sudah diaktivasi dengan ukuran lebar 4 cm dan panjang 7 cm, menggunakan pipa kapiler dengan jarak 1 cm dari bawah plat, jarak masing – masing titik adalah 1 cm. Plat KLT dielusi menggunakan campuran kloroform : etil asetat : asam asetat dengan perbandingan volume 3:1:6 dalam bejana (*chamber*). Eluen didiamkan hingga berjalan melewati tanda batas 1 cm dari atas panjang plat. Plat diangkat dan diangin – anginkan, setelah itu plat disinari menggunakan sinar UV untuk melihat spot yang dihasilkan. Noda hasil pengukuran diukur nilai Rf (*Retention Factor*), dipilih komposisi eluen dengan nilai Rf 0,20-0,80 dan standar deviasi paling kecil. Analisis kualitatif pada KLT ditentukan dengan membandingkan nilai Rf (*Retardation Factor*) sampel dengan nilai Rf senyawa acuan standard untuk kondisi kromatografi yang sama dan plat yang sama. Definisi faktor retardasi (Rf) sebagai berikut: (Syarifatul, 2016).

$$Rf = \frac{\text{Jarak migrasi komponen}}{\text{Jarak migrasi fase gerak}} \quad (3.2)$$

### 3.4.6 Uji Kuantitatif

#### 1. Pembuatan Larutan Standar Kafein 100 ppm

Ditimbang 0,1 g kafein standar dilarutkan dengan 30 mL akuades dalam labu ukur 100 mL. Kemudian dicukupkan dengan akuades sampai tanda batas dan dihomogenkan sehingga didapatkan larutan induk 1000 ppm. Selanjutnya dibuat larutan standar kafein 100 ppm dengan dipipet sebanyak 10 mL larutan induk kafein 1000 ppm dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, lalu dicukupkan dengan akuades sampai tanda batas dan dihomogenkan (Elfariyanti *et al.*, 2020).

#### 2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Panjang gelombang maksimum dianalisis menggunakan larutan standar 100 ppm yang kemudian diukur serapan maksimumnya pada

rentang panjang gelombang 220-350 nm menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan akuades sebagai blanko (Aprilia *et al.*, 2023)

### 3. Penentuan Kurva Kalibrasi

Dipipet larutan standar kafein 100 ppm dengan masing-masing konsentrasi 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm dan 14 ppm. Kemudian masing-masing konsentrasi diukur pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan blanko aquades (Aprilia *et al.*, 2023)

### 4. Penetapan Kadar Kafein

Ekstrak kafein sampel dari masing-masing lama waktu penyangraian yaitu 26 menit, 31 menit, dan 36 menit dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dan dilarutkan dengan akuades sampai tanda batas. Selanjutnya ditentukan kadarnya dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan (Aprilia *et al.*, 2023).

## 3.4.7 Validasi Metode

### 1. Linearitas

Linearitas diukur menggunakan variasi konsentrasi larutan baku kafein dengan cara dipipet larutan baku kafein 100 ppm masing-masing sebanyak 0,6; 0,8; 1,0; 1,2; dan 1,4 mL ke dalam labu ukur 10 mL. setelah itu diencerkan menggunakan akuades hingga tanda batas. Pengukuran dengan spektrofotometri UV-Vis dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan. Hasil yang didapatkan kemudian diolah menggunakan Microsoft excel sehingga diperoleh kurva linear  $y = bx + a$  dengan  $r^2$  sebagai linearitas determinan (Ayuni, 2022).

### 2. Akurasi

Uji akurasi dilakukan dengan mengukur sejumlah sampel yang dianalisis kemudian sejumlah analit ditambahkan ke dalam sampel lalu dicampur dan dianalisis. Kemudian kedua hasil tersebut dibandingkan dengan kadar analit yang sebenarnya. Hasil persen

perolehan kembali dapat dinyatakan memenuhi persyaratan apabila berada pada rentang 80% -120% (Rupa *et al.*, 2023).

$$\% Recovery = \frac{\text{kadar sesungguhnya}}{\text{kadar teoritis}} \times 100\% \quad (3.2)$$

### 3. Presisi

Penentuan presisi dilakukan menggunakan larutan baku kafein dengan konsentrasi 10 ppm. Diukur serapannya menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum di hari yang sama dengan replikasi sebanyak 6, kemudian dihitung nilai *relative deviation* dengan rumus 3.3 (Ayuni, 2022).

$$\% RSD = \frac{\text{Standar Deviasi}}{\text{Rata-rata hasil pengujian}} \times 100\% \quad (3.3)$$

### 4. LOD dan LOQ

Larutan blanko diukur sebanyak 6 kali, kemudian dihitung simpangan baku hasil blanko. LOD dan LOQ dengan metode statistic dari hasil kurva kalibrasi yang didapat dari pengukuran linearitas. Rumus untuk perhitungan adalah sebagai berikut :

$$LOD = \frac{3 \frac{Sy}{x}}{b}$$

$$LOQ = \frac{10 \frac{Sy}{x}}{b}$$

Keterangan :

b : *slope* kurva kalibrasi

$\frac{Sy}{x}$  : simpangan baku blanko

$$Sy = \sqrt{\frac{\sum (y_1 - \hat{y}_1)^2}{N-2}}$$

$$\hat{y}_1 = a + bx$$

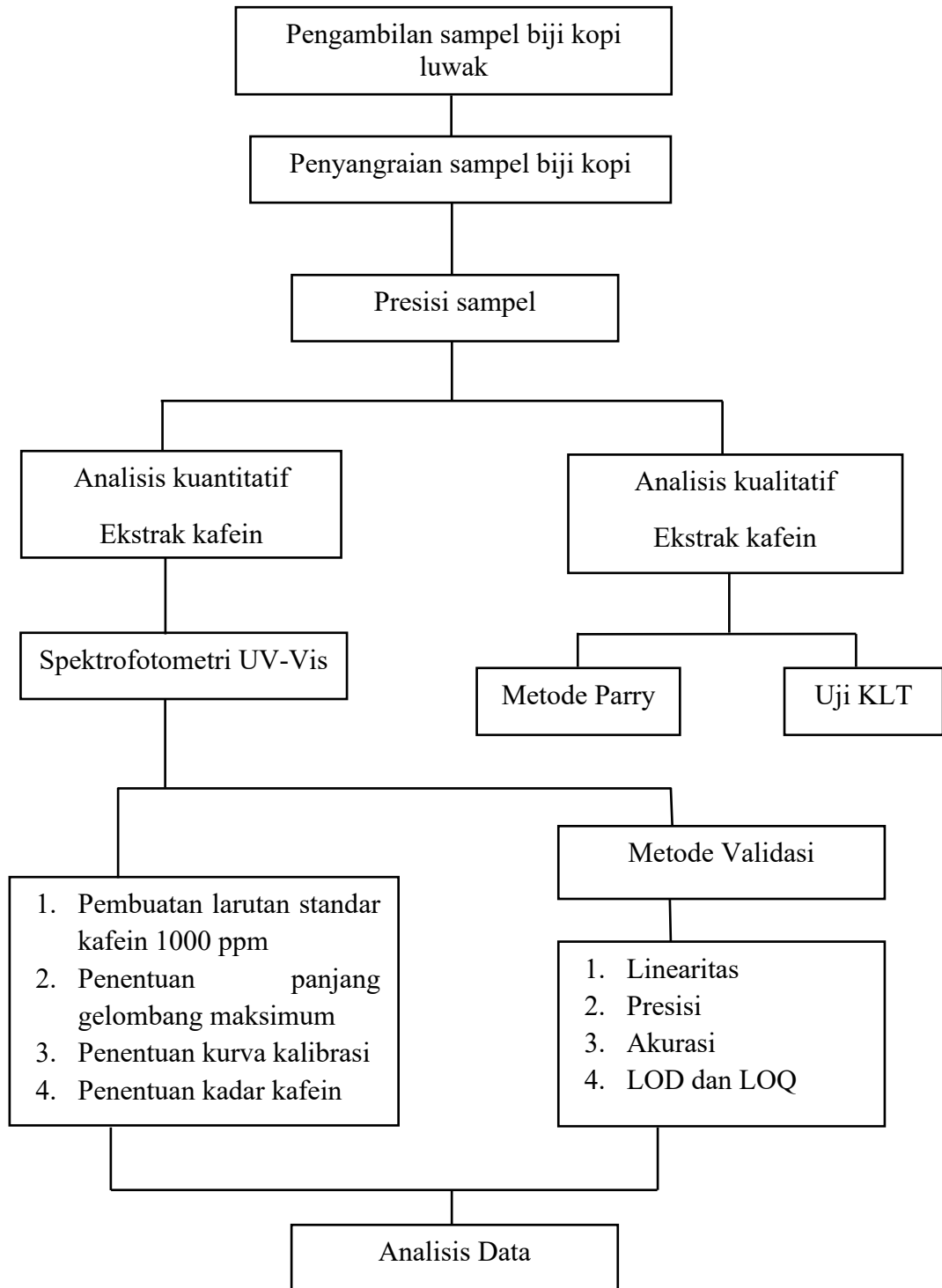
N = jumlah pengukuran (sampel)

Kurva kalibrasi linear, diasumsikan bahwa respon instrument  $y$  berhubungan linier dengan konsentrasi  $x$  standar untuk rentang yang terbatas konsentrasi. Hal ini dapat dinyatakan dalam persamaan  $y = bx + a$  (Syarifatul, 2016).

#### **3.4.8 Analisis Data**

Data yang diperoleh berupa nilai absorbansi, selanjutnya dihitung kadar kafein dengan persamaan regresi linear yang diperoleh dari kurva kalibrasi pada standar kafein. Analisis kadar kafein dilakukan secara statistik varian ANOVA satu arah, dimana analisis statistik menggunakan SPSS (Putri & Delima, 2022). Uji ANOVA satu arah digunakan untuk analisis data lebih dari 2 kelompok. Untuk mengetahui distribusi data digunakan uji *Shapiro-Wilk* dan uji *homogeneity of variances* untuk mengetahui homogenitas data yang diuji dan apakah data terdistribusi normal.

Gambar 3.1 Kerangka Penelitian



## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN




#### 4.1 Determinasi

Tumbuhan kopi liberika dilakukan determinasi di Laboratorium Ekologi dan Konservasi Biodiversitas Hutan Tropis Fakultas kehutanan Mulawarman Samarinda, hasil determinasi menyatakan bahwa sampel benar merupakan spesies *coffea liberica* W.Bull.

#### 4.2 Uji Organoleptis

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah kopi luwak liberika yang disangrai dengan variasi waktu penyangraian yaitu 26 menit, 31 menit, dan 36 menit. Setelah biji kopi luwak di sangrai dengan waktu yang ditentukan selanjutnya dilakukan penggilingan pada biji kopi luwak liberika, sehingga didapat bubuk kopi luwak liberika.

Tabel 4.1 Uji organoleptis serbuk kopi luwak liberika

Penyangraian	Bentuk	Bau	Warna	Foto
26 menit	Bubuk kasar	Berbau khas kopi	Cokelat	
31 menit	Bubuk kasar	Berbau khas kopi	Cokelat tanah	
36 menit	Bubuk kasar	Berbau khas kopi	Cokelat kehitaman	

Berdasarkan hasil uji organoleptis bubuk kopi liberika berbentuk bubuk kasar. Bubuk kopi liberika berbentuk kasar karena pada proses penghalusan menggunakan giling khusus untuk giling biji kopi, dan setelah digiling tidak dilakukan pengayakkan pada bubuk kopi sehingga menghasilkan bubuk kasar. Dengan perbedaan lama waktu penyangrai warna bubuk kopi juga ada sedikit perbedaan dimana pada lama waktu penyangraian 26 menit bubuk kopi berwarna cokelat, pada waktu penyangraian 31 menit bubuk kopi berwarna cokelat tanah dan waktu sangrai 36 menit bubuk kopi berwarna cokelat kehitaman. Pembentukan warna pada biji kopi pertama kali ditentukan oleh proses fermentasi, karena dalam proses fermentasi akan terjadi pembentukan calon warna akibat aktivitas mikroorganisme dan reaksi enzimatik. Setelah itu pembentukan warna ditentukan oleh suhu dan waktu proses penyangraian, dimana selama proses penyangraian berlangsung akan terjadi proses pirolisis (karamelisasi) dalam biji kopi tersebut. Dan secara kimiawi proses ini ditandai dengan evolusi gas CO<sub>2</sub> dalam jumlah yang banyak dari ruang sangrai sehingga diperoleh warna bubuk kopi dengan kategori cokelat kehitaman, jadi tahap ini sering disebut tahap pencoklatan (*Browning*).

### 4.3 Preparasi sampel

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar kafein dan perbedaan kadar kafein yang terdapat pada kopi luwak liberika asal kampung kopi luwak Marangkayu dengan menggunakan variasi waktu penyangraian menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis.

Pada saat preparasi sampel kopi luwak liberika ditimbang masing-masing dari sampel dengan waktu penyangraian yang berbeda yaitu 26 menit, 31 menit, dan 36 menit sebanyak 20 gr, setelah itu kertas saring dibasahi dengan air bersuhu 90-100°C lalu bubuk kopi luwak liberika dimasukkan ke dalam kertas saring, kemudian dipasangkan corong kaca dan erlenmeyer untuk menampung larutan kopi. Pertama, dituangkan sebanyak 60 ml dan ditunggu hingga 30 detik untuk ekstraksi, proses ini disebut *blooming*. Penuangan kedua, sebanyak 100 ml, ditunggu hingga setengah sisa air corong turun, dilanjutkan ke penuangan terakhir hingga 300 ml air. Larutan ekstrak kafein dimasukkan ke dalam corong pisah dengan penambahan kloroform 25 ml sebanyak 3 kali. Pada corong pisah terdapat dua fase yaitu fase air dan fase kloroform yang terbentuk akibat perbedaan kepolaran antara kopi dan

kloroform. Tujuan penambahan kloroform untuk mengikat atau menarik kafein dari larutan agar benar-benar terpisah dari zat-zat lain dan kloroform merupakan pelarut yang cocok untuk kafein karena sifatnya yang tidak bercampur dengan pelarut sebelumnya. Pemilihan kloroform sebagai pelarut juga dikarenakan kafein mudah larut dalam kloroform, sehingga mampu membuat kafein terekstraksinlebih banyak (Aprilia *et al.*, 2023). Kafein dapat terikat oleh kloroform karena kloroform merupakan zat nonpolar yang dapat terikat oleh zat nonpolar juga. Larutan dalam corong pisah digojok agar kloroform dapat terdistribusi dengan cepat dan keduanya dapat tercampur sempurna. Terpisahannya kafein dalam kopi ditandai dengan terbentuknya dua lapisan filtrat. Lapisan atas merupakan lapisan fase air (kopi), karena bersifat polar dan memiliki masa jenis yang lebih kecil. Sedangkan kloroform bersifat nonpolar mengikat kafein dari kopi dan berada pada lapisan bawah karena memiliki berat jenis yang lebih besar. Lapisan bawah inilah yang diambil untuk diekstraksi kembali.



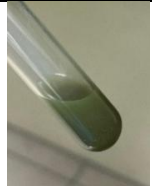

Setelah dilakukan pemisahan fase air dan fase kloroform, fase kloroform diambil dan dipindahkan pada cawan porselen untuk dilakukan penguapan menggunakan oven. Oven bertujuan untuk menguapkan kloroform yang masih tercampur dalam filtrat kafein. Kloroform dapat menguap pada oven karena sifatnya yang mudah menguap. Penguapan dilakukan sampai kloroform teruapkan seluruhnya yang ditandai dengan ekstrak yang dihasilkan awalnya berwarna coklat susu menjadi berwarna kuning keemasan.

#### **4.4 Analisis kualitatif**

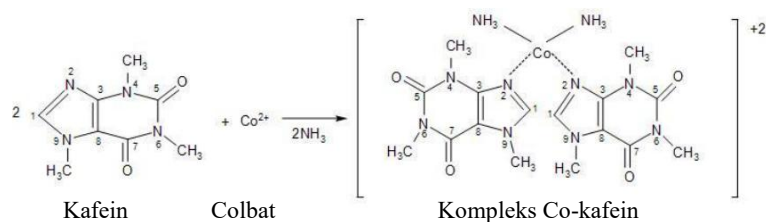
##### **4.4.1 Metode *Parry***

Uji kualitatif kafein dilakukan untuk mengidentifikasi ada tidaknya kandungan kafein pada 3 sampel kopi luwak liberika dimana ketiga sampel disangrai dengan variasi waktu penyangraian yaitu 26 menit, 31 menit, dan 36 menit. Pada metode *parry*, ekstrak kafein terlebih dahulu dilarutkan dengan etanol 96%. Kemudian ditambahkan amonia 21% untuk membuat larutan sedikit basa dan ditambahkan reagen *parry* untuk membentuk senyawa kompleks yang berwarna hijau atau biru kehijauan. Hasil uji kualitatif metode *parry* sampel dapat dilihat pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil Uji Kualitatif Metode Parry

No	Sampel	Hasil	Hasil (+/-)
1	Baku kafein	 Hijau	+
2	26 menit	 Hijau	+
3	31 menit	 Hijau	+
4	36 menit	 Hijau	+

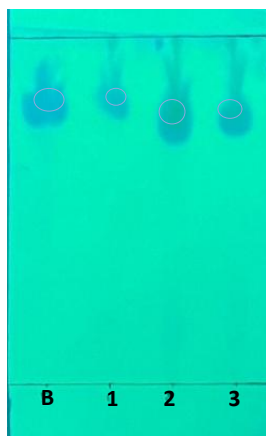
Berdasarkan Tabel 4.1 di atas dapat diketahui bahwa 3 sampel dinyatakan positif mengandung kafein. Hasil positif mengandung kafein ditandai dengan terbentuknya warna hijau yang berasal dari senyawa kompleks yang dihasilkan antara kafein dengan logam Co (II) dalam suasana basa ( $\text{NH}_3$ ). pada senyawa kompleks ini, Co (II) sebagai atom pusat dapat membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan kafein dan  $\text{NH}_3$  yang berperan sebagai ligan. Reaksi pembentukan kompleks antara Co (II) dengan kafein dapat dilihat pada gambar 4.1



Gambar 4.1 Reaksi pembentukan kompleks antara Co (II) dengan kafein Sumber (Aprilia et al., 2023)

#### 4.4.1 Pengujian Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pengujian kromatografi lapis tipis merupakan salah satu analisis kualitatif dari suatu sampel dengan memisahkan komponen senyawa sampel berdasarkan kepolarannya. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui apakah sampel benar-benar mengandung kafein atau tidak. Sifat kafein yang nonpolar akan lebih cenderung berinteraksi dengan fase gerak nonpolar, oleh karena itu pada penelitian ini menggunakan komposisi eluen nonpolar yaitu kloroform dan etil asetat serta eluen polar yaitu asam asetat. Sehingga proses pemisahan senyawa kafein pada KLT akan lebih mudah dengan tampak pada bentuk spot pada plat. Eluen yang dipilih adalah campuran kloroform : etil asetat : asam asetat 3:1:6. Dimana kloroform bersifat nonpolar, etil asetat bersifat semi polar, dan asam asetat bersifat polar. Jadi campuran eluen yang digunakan bersifat polar. Lempeng KLT yang sudah dimasukkan dalam chamber dan dilakukan proses elusi sampai eluen melewati tanda batas elusi kemudian lempeng KLT dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Kemudian lempeng plat KLT dideteksi melalui sinar uv 254 nm dan setelah itu ditentukan Rf.



Gambar 4.2 Hasil KLT

Keterangan : B = Baku standar kafein

1 = Sampel 26 menit

2 = Sampel 31 menit

3 = Sampel 36 menit

Hasil lempeng KLT dideteksi melalui sinar UV maka didapat bercak noda baku (kafein) dan sampel dari masing-masing waktu yaitu 26 menit, 31 menit dan 36 menit bersinar biru di bawah sinar uv 254 nm. Sinar lampu UV memancarkan cahaya 254 nm yang dapat menghilangkan silika gel yang ada diplat atau sampel permukaan. Dan 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 (Rahayu & Fernanda, 2023).

Tabel 4.3 Nilai RF kopi luwak liberika dengan variasi waktu 26 Menit, 31 menit, dan 36 menit

	<b>Rf</b>	<b>Kesimpulan</b>
Baku	Rf = 0,781	
Sampel 26 menit	Rf = 0,8	Positif
Sampel 31 menit	Rf = 0,763	Positif
Sampel 36 menit	Rf = 0,763	Positif

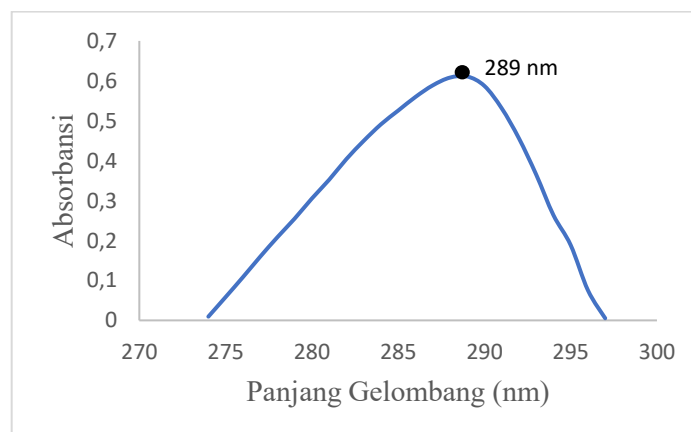
Table 4.2 menunjukkan hasil uji KLT diperoleh nilai RF baku 0,781, nilai RF sampel 26 menit diperoleh 0,8, nilai RF sampel 31 menit diperoleh 0,763 dan nilai RF sampel 36 menit diperoleh 0,763. Hasil tersebut menandakan bahwa hasil yang didapat identik dengan kafein dan nilai Rf ketiganya baik karena nilainya

masuk pada rentang 0,20-0,80. Setelah didapatkan bercak dan nilai RF kafein selanjutnya dilakukan perhitungan selisih nilai RF antara baku dan sampel. Setelah dilakukan perhitungan selisih didapat nilai selisih  $\leq 0,2$  yang menunjukkan sampel teridentifikasi mengandung kafein. Nilai RF dikatakan positif jika antara sampel dan standar memiliki nilai Rf yang sama atau memiliki selisih nilai RF  $\leq 0,2$  (Maulinda dkk., 2024).

## 4.5 Uji Kuantitatif

### 4.5.1 Hasil Panjang Gelombang Maksimum

Tujuan dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum adalah agar sensitivitas yang dimiliki juga maksimum (Pratiwi & Nandiyanto, 2021). Pelarut yang digunakan pada penetapan panjang gelombang maksimum ini adalah akuades, dimana selain digunakan sebagai pelarut akuades juga digunakan sebagai blanko untuk mengkalibrasi spektrofotometri UV-Vis dengan tujuan meminimalisir terjadi kesalahan penggunaan alat dalam penetapan panjang gelombang maksimum. Kelebihan dari metode spektrofotometri adalah memiliki ketelitian yang tinggi dalam mengabsorbansi kadar sampel yang kecil sekalipun. Selanjutnya dalam penentuan panjang gelombang maksimum digunakan dari larutan standar kafein 100 ppm dengan serapan tertinggi. Pengukuran panjang gelombang maksimum larutan standar kafein 100 ppm dilakukan pada rentang panjang gelombang 220-350 nm. Data hasil pengukuran panjang gelombang dapat dilihat pada Gambar 4.3.



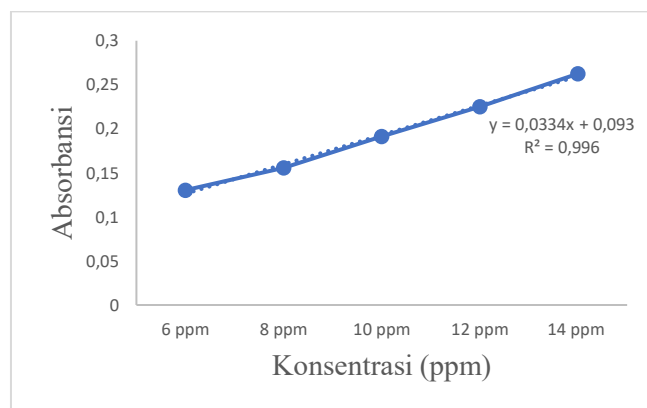
Gambar 4.3 Panjang Gelombang Maksimum Kafein dengan konsentrasi 100 ppm

Berdasarkan hasil penentuan panjang gelombang maksimum pada rentang panjang gelombang 220-350 nm. Diperoleh panjang gelombang maksimum 289,0 nm dengan absorbansi 0,611.

#### 4.5.2 Hasil Penentuan Kurva Kalibrasi

Kurva kalibrasi merupakan persamaan garis yang menghubungkan antara konsentrasi dan absorbansi suatu zat (Aprilia *et al.*, 2023). Kurva kalibrasi diukur menggunakan variasi konsentrasi larutan standar kafein 100 ppm dengan masing-masing konsentrasi 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm, dan 14 ppm pada panjang gelombang maksimum 289,0 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Dilakukan penentuan linearitas kurva kalibrasi kafein standar dengan menggunakan pelarut akuades serta akuades sebagai larutan blanko.

Hasil pengukuran nilai absorbansi larutan kafein dapat dilihat pada gambar 4.4 kurva kalibrasi berikut ini.



Gambar 4.4 Kurva Kalibrasi

Pada Gambar 4.4 dapat diketahui bahwa kurva kalibrasi kafein yang dihasilkan memiliki hubungan linear antara konsentrasi dan absorbansi dengan korelasi  $y = 0,0334x + 0,093$ , nilai  $r^2 = 0,996$ . Menurut (Depkes RI, 2020), suatu persamaan dikatakan linier jika nilai  $r^2 \geq 0,98$ . Hal ini menandakan adanya hubungan signifikan antara konsentrasi dengan absorbansi kafein baku karena memenuhi persyaratan yang ditentukan.

#### 4.5.3 Hasil Penetapan Kadar Kafein

Pada penelitian ini kopi yang digunakan adalah kopi luwak liberika asal kampung kopi luwak Marangkayu. Di kecamatan Marangkayu terutama di desa

Prangat Baru mayoritas penduduk berprofesi sebagai petani kebun. Pemberdayaan kelompok tani Kampung Kopi Luwak di desa Prangat Baru melalui budidaya tanaman kopi luwak liberika dengan fermentasi biji kopi secara alami oleh satwa luwak. Mayoritas kebun sebelumnya ditanami dengan tanaman industri karet, sehingga tanaman kopi yang rencananya akan ditanam di lahan anggota dilakukan dengan sistem tumpang sari, yaitu dengan melakukan penjarangan tanaman karet yang sudah tidak produktif, kemudian menyulamnya dengan tanaman kopi liberika. Tipe kopi liberika dipilih sesuai dengan kondisi iklim di lahan perkebunan desa Prangat Baru yang belum masuk dalam katagori dingin. Petani memilih jenis kopi liberika untuk ditanam di lahan *pilot-project* merupakan pilihan yang tepat. Jenis kopi liberika ini relatif lebih tahan hama daripada jenis arabika dan robusta, dan juga jenis liberika sesuai dengan ketinggian lahan desa Prangat (400-700 mdpl).

Biji kopi liberika memiliki bentuk yang tidak rata, asimetris, dan memiliki kandungan kafein yang lebih rendah daripada kopi arabika atau robusta, kopi liberika juga memiliki aroma yang khas, lokasi penanaman global yang terbatas, biji liberika juga berwarna coklat sangat tua (hampir hitam), dan berukuran besar. Penyangraian biji kopi merupakan proses yang penting untuk menentukan mutu minuman kopi yang diperoleh (Bressanello *et al.*, 2017). Pada penelitian ini biji kopi luwak liberika di sangrai dengan variasi waktu yaitu selama 26 menit, 31 menit, dan 36 menit dengan suhu yang sama yaitu 160°C. Proses penyangraian ini masuk ke *light roast* (Pemanggang ringan) yaitu menggunakan suhu antara 160-180 °C (Nuraisyah *et al.*, 2024). Kemudian dilakukan pengukuran absorbansinya untuk mengetahui kadar kafeinnya.

Penelitian Windy tahun 2020 penelitian ini perbandingan kadar kafein kopi arabika (*Coffea arabica* L.) dengan kopi luwak arabika menggunakan metode spektrofotometri uv-vis hasil yang diperoleh yaitu kafein kopi arabika (*Coffea arabica* L.) lebih besar daripada kopi luwak arabika. Kadar kafein pada kopi luwak arabika rendah disebabkan karena adanya proses fermentasi alami dari hewan luwak yang memakan buah kopi terbaik yang sudah masak optimal.

Rasa asam pada seduhan kopi berasal dari kandungan asam yang ada dalam kopi, yaitu dari kelompok asam karboksilat pada biji kopi diantaranya asam format, asam asetat, asam oksalat, asam sitrat, asam laktat, asam malat, dan asam quinat

(Kinasih *et al.*, 2021). Kopi luwak liberika merupakan minuman kopi yang rendah asam, karena metode fermentasi biji kopi liberika menggunakan bantuan hewan luwak, yang mampu memecah kadar protein dalam biji kopi (Muhammad *et al.*, 2023). Buah kopi yang terfermentsai secara langsung didalam pencernaan hewan luwak akan mengurangi kandungan kafein serta protein dari buah kopi yang dikonsumsi oleh luwak. Karena adanya kandungan enzim pepsinogen pada lambung perut hewan luwak, sehingga mengurangi rasa pahit (Marcella & Mulyanti, 2022). Kurangnya rasa pahit mencirikan bahwa kadar kafein dalam kopi luwak lebih rendah dan membuat rasa kopi lebih lembut.

FDA (*Food Drug Administration*) mengungkapkan 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 (Holuša *et al.*, 2021). Hal ini disebabkan oleh adanya kandungan senyawa organik yang mempengaruhi metabolit sekunder. Kafein pada kopi terdapat baik sebagai senyawa kalium kafein klorogenat sebagai senyawa kalium senyawa kafein klorogenat. Kafein dalam basa bebas akan terikat oleh kloroform dan semakin banyak(Isnindar dkk., 2016).

Data hasil pengukuran absorbansi dan hasil perhitungan kadar kafein pada sampel kopi luwak liberika dapat dilihat pada tabel 4.4

Tabel 4.4 Nilai Absorbansi Sampel Kopi Luwak Liberika

<b>Sampel</b>	<b>Replikasi</b>	<b>Abs</b>	<b>Rata-rata absorbansi</b>	<b>C terhitung (ppm)</b>	<b>Rata-rata % kadar</b>
26 menit	1	0,3441	0,3655	7,5180	1,020
	2	0,368		8,2335	
	3	0,3844		8,7246	
31 menit	1	0,2189	0,2005	3,7695	0,402
	2	0,1891		2,8772	
	3	0,1934		3,0060	
36 menit	1	0,1728	0,1812	2,3892	0,343
	2	0,1813		2,6437	
	3	0,1896		2,8922	

Tabel 4.4 menunjukkan nilai yang berbeda dari lama penyangraian biji kopi. Pada lama penyangraian 26 menit nilai rata – rata absorbansinya yaitu 0,3655 dengan nilai rata-rata kadar kafein 1,020% b/b, pada penyangraian selama 31 menit

nilai rata – rata absorbansinya yaitu 0,1671 dengan nilai rata-rata kadar kafein 0,402% b/b, dan pada lama penyangraian 36 menit nilai rata – rata absorbansinya 0,1313 dengan nilai rata-rata kadar kafein 0,343% b/b. Hal ini menunjukkan bahwa variasi lama sangrai mempengaruhi nilai absorbansi dan kadar kafein. Dimana proses penyangraian dengan waktu yang lebih lama nilai absorbansi semakin rendah, sehingga kadar kafein juga semakin rendah sedangkan pada proses penyangraian dengan waktu yang lebih cepat nilai absorbansi dan kadar kafein juga lebih tinggi. Hal tersebut terjadi karena dalam proses penyangraian sebagian kecil dari kafein akan menguap dan terbentuk komponen-komponen lain yaitu seperti aseton, furfural, amonia, trimethylamine, asam formiat dan asam formiat. Dimana perbedaan kadar kafein juga dipengaruhi pada saat dilakukan pemanasan atau panyangraian karena kafein mudah terurai dengan alkali panas membentuk kafeidin (Panji *et al.*, 2024). Menurut Suci dkk. (2024) menurunnya kandungan kafein di dalam kopi dikarenakan adanya pengaruh waktu dan suhu selama penyangraian. Dimana semakin lama waktu penyangraian maka akan semakin kecil kadar kafein yang didapat. Hal tersebut sejalan dengan penelitian yang dilakukan Heriana dkk. (2023) menyatakan kandungan kafein akan semakin meningkat dengan penyangraian menggunakan suhu rendah dan waktu yang sebentar sementara penyangraian dengan makin lama dan makin tinggi suhu pemanggangan, membuat kadar kafein akan semakin berkurang. Karena suhu pemanggangan yang semakin tinggi, maka kemungkinan besar sebagian kafein menyublim menjadi kafeol, sehingga jumlah kafein yang ada dalam bubuk kopi liberika bisa berkurang.

## **4.6 Validasi Metode**

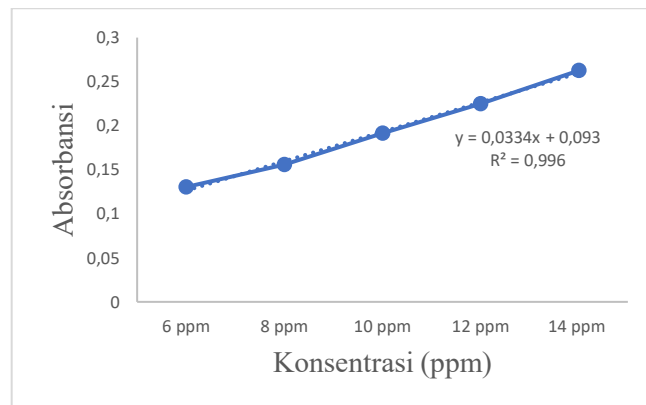
### **4.6.1 Linearitas**

Linearitas dapat dikatakan sebagai kapasitas metode analisis dalam memberikan respon yang memadai terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Rentang adalah interval antara batas tertinggi dan batas terendah dari kadar analit yang sudah ditunjukkan. Uji linearitas ditetapkan dengan seri larutan baku yaitu terdiri dari minimal lima konsentrasi yang berbeda (Ayuni, 2022). Pada penelitian ini linearitas diukur menggunakan variasi konsentrasi larutan baku kafein dengan masing-masing konsentrasi 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm, dan 14 ppm. Dan masing-masing konsentrasi diukur menggunakan panjang gelombang maksimum

289,0 nm. Berikut dapat dilihat rentang konsentrasi yang didapat dan memperoleh persamaan linear yang tertera pada tabel 4.5.

Tabel 4.5 Rentang Konsentrasi

Konsentrasi	Replikasi	Absorbansi	Rata-rata
6 ppm	1	0,1295	0,1304
	2	0,1307	
	3	0,131	
8 ppm	1	0,1554	0,1558
	2	0,1559	
	3	0,1561	
10 ppm	1	0,1902	0,1914
	2	0,1912	
	3	0,1928	
12 ppm	1	0,2251	0,225
	2	0,2247	
	3	0,2254	
14 ppm	1	0,2618	0,2626
	2	0,2641	
	3	0,2621	



Gambar 4.5 Linearitas Larutan Baku Kafein

Gambar 4.5 menunjukkan persamaan garis regresi linear yang didapatkan yaitu  $y = 0,0334x + 0,093$  dengan nilai  $r^2 = 0,996$ . Data yang dihasilkan menunjukkan kurva standar kafein memiliki linearitas serta adanya hubungan yang signifikan antara konsentrasi dengan absorbansi kafein baku yang didapatkan dan memenuhi persyaratan yang telah ditentukan. Dimana suatu persamaan dapat dikatakan linear jika nilai  $r^2 \geq 0,98$  (Depkes RI, 2020).

#### 4..6.2 Akurasi

Akurasi menunjukkan tingkat kedekatan hasil pengujian metode dengan nilai yang sebenarnya atau nilai yang dinyatakan benar. Dan akurasi juga dinyatakan sebagai hasil perolehan kembali (*%recovery*). Hasil persen perolehan kembali dapat dinyatakan memenuhi persyaratan apabila berada pada rentang 80% -120% (Rupa *et al.*, 2023).

Tabel 4.6 Persentase *Recovery*

Sampel	Penambahan standar	Repli	Abs	C terhitung (µg/ml)	% <i>Recovery</i>	Rata-rata % <i>Recovery</i>
26 menit (8,7016 ppm)	10 ppm	1	0,6897	17,8653	91,6467	93,1537 %
		2	0,6912	17,9102	92,0958	
		3	0,7033	18,2725	95,7186	
	30 ppm	1	1,3867	38,7335	100,1098	100,1198 %
		2	1,3978	39,0659	101,2176	
		3	1,3759	38,4102	99,0319	
	50 ppm	1	2,0583	58,8413	100,2814	102,6527 %
		2	2,1376	61,2156	105,0299	
		3	2,0978	60,0240	102,6467	
31 menit (2,2794 ppm)	10 ppm	1	0,4962	12,0719	97,9341	98,3234 %
		2	0,4975	12,1108	98,3234	
		3	0,4988	12,1497	98,7126	
	30 ppm	1	1,1647	32,0868	99,3613	100,2096 %
		2	1,1762	32,4311	100,5090	
		3	1,1787	32,5060	100,7585	
	50 ppm	1	1,8129	51,4940	98,4311	100,4750 %
		2	1,8673	53,1228	101,6886	
		3	1,8609	52,9311	101,3054	
36 menit (1,1477 ppm)	10 ppm	1	0,433	10,1796	90,3293	94,2814 %
		2	0,4351	10,2425	90,9581	
		3	0,4705	11,3024	101,5569	
	30 ppm	1	1,1126	30,5269	97,9341	100,6653 %
		2	1,1472	31,5629	101,3872	
		3	1,1601	31,9491	102,6747	
	50 ppm	1	1,8038	51,2216	100,1497	100,8363 %
		2	1,819	51,6766	101,0599	
		3	1,823	51,7964	101,2994	

Berdasarkan tabel 4.6 Dari ketiga sampel yang diperoleh % *recovery* berkisar antara 93,1537% - 102,6527%. Nilai % *recovery* yang diperoleh menunjukkan bahwa masing-masing sampel memenuhi syarat keterimaan akurasi. Hasil uji akurasi yang ditentukan menggunakan penambahan bahan baku. Penambahan bahan baku dengan jumlah yang berbeda yaitu 10 ppm, 30 ppm, dan 50 ppm. Hasil absorbansi pengujian menggunakan spektrofotometri UV-Vis diolah dengan persamaan regresi linier  $y = 0,0334x + 0,093$  sehingga didapatkan % *recovery*. Dapat dikatakan bahwa metode spektrofotometri UV-Vis memiliki akurasi yang baik untuk pengujian kadar kafein pada kopi luwak liberika.

#### 4.6.3 Presisi

Presisi adalah ukuran yang menunjukkan kedekatan antar hasil uji melalui pengulangan pengukuran pada sampel yang sama. Presisi dapat dilihat melalui pengukuran RSD (*Relative Standar Deviation*). Dimana presisi ini digunakan untuk memastikan apakah metode yang digunakan menghasilkan hasil yang presisi. Metode spektrofotometri UV-Vis untuk penetapan kadar kafein kopi luwak liberika memiliki presisi yang baik apabila % RSD < 2% (Ayuni, 2022).

Tabel 4.7 Hasil uji presisi baku kafein

Replikasi (R)	Absorbansi	Konsentrasi (ppm)	Rata-rata konsentrasi	SD	% RSD
R1	0,7559	19,8473	19,8308	0,0179	0,0905
R2	0,7561	19,8533			
R3	0,7554	19,8323			
R4	0,7549	19,8174			
R5	0,7553	19,8293			
R6	0,7545	19,8054			

Keterangan :

SD = Standar Deviasi

% RSD = Relative Standar Deviasi

Berdasarkan hasil pengujian pada penelitian ini bahwa nilai % RSD yang didapat yaitu 0,0905% sehingga menunjukkan nilai presisi tersebut memenuhi syarat karena nilai % RSD yang didapatkan < 2%, semakin kecil suatu nilai presisi maka pengulangan yang dilakukan semakin baik. Hal tersebut menandakan bahwa analisis yang digunakan memiliki presisi yang baik untuk pengujian kadar kafein pada kopi luwak liberika.

#### 4.6.4 LOD Dan LOQ

Penentuan *limit of detection* (LOD) dan *limit of Quantification* (LOQ) diperoleh dari persamaan kurva kalibrasi, Tujuan dilakukan pengujian LOD dan LOQ adalah untuk mengetahui sejauh mana metode analisis sensitif terhadap analit dalam matriks tertentu, serta menentukan batas bawah dari rentang kerja kuantifikasi. Nilai LOD yang diperoleh dari pengukuran yaitu sebesar 10,688 ppm. Nilai tersebut dapat menunjukkan jumlah analit terkecil yang terdeteksi oleh spektrofotometri UV-Vis. Nilai ini menunjukkan bahwa metode mampu mendeteksi keberadaan kafein meskipun dalam jumlah yang sangat kecil. Dan nilai LOQ yang didapat yaitu sebesar 12,795 ppm yang menunjukkan nilai konsentrasi analit terendah. Hal ini menunjukkan bahwa metode spektrofotometri UV-Vis yang digunakan mampu mendeteksi analit pada konsentrasi serendah 10,688 ppm.

Tabel 4.8 Hasil Validasi LOQ dan LOQ

Konsentrasi	Absorbansi ( $y_1$ )	$y_c$	$y_1 - y_c$	$y_1 - y_c^2$
6	0,1304	0,2934	-0,163	0,026569
8	0,1558	0,3602	-0,2044	0,041779
10	0,1914	0,427	-0,2356	0,055507
12	0,225	0,4938	-0,2688	0,072253
14	0,2626	0,5606	-0,298	0,088804
Jumlah				0,05698
LOD				10,688 ppm
LOQ				12,795 ppm

#### 4.6.5 Analisis Data

Setelah didapat perhitungan kadar kafein dalam sampel, kemudian kadar kafein di analisis statistik menggunakan SPSS. Tujuan dilakukan analisis statistik untuk mengetahui apakah data yang dihasilkan mempunyai perbedaan kadar kafein pada setiap variasi lama waktu penyangraian pada biji kopi luwak liberika menggunakan uji *One way* ANOVA. Dimana syarat dari uji ini adalah data harus terdistribusi normal dan tidak ada perbedaan varians data. Uji *One Way* ANOVA digunakan untuk analisis lebih dari 2 kelompok. Untuk mengetahui distribusi data digunakan uji *Shapiro – Wilk* dan uji *homogeneity of variances* untuk mengetahui homogenitas data yang diuji (Putri & Delima, 2022).

Data kadar kafein di uji *Shapiro-Wilk* dan *homogeneity of variances* untuk mengetahui apakah data terdistribusi normal dan homogen. Hasil uji *Shapiro-Wilk* dan uji *homogeneity of variances* diperoleh nilai signifikansi  $> 0,05$ . Dimana data tersebut terdistribusi normal dan varians dalam kelompok sama. Untuk tabel hasil uji *Shapiro-Wilk* dan *homogeneity of variances* dapat dilihat di lampiran 9.

Hasil analisis statistik data kadar kafein menggunakan SPSS dapat dilihat pada tabel 4.9.

Tabel 4.9 Hasil uji ANOVA

<b>ANOVA</b>					
<b>Kadarkafein</b>	<b>Sum of Squares</b>	<b>df</b>	<b>Mean Square</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
Between Groups	5518580168.222	2	2759290084.111	124.695	<.001
Within Groups	132770080.667	6	22128346.778		
Total	5651350248.889	8			

Tabel 4.9 menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, dimana hasil nilai *p*-value pengujian hipotesis ANOVA satu arah didapat nilai sebesar  $< 0,001$ , dimana nilai *p*-value tersebut  $< 0,05$  dan kesimpulan bahwa terdapat perbedaan rata-rata kadar kafein dari variasi lama waktu penyangraian.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Uji analisis kualitatif kopi luwak liberika dengan variasi waktu penyangraian yaitu 26 menit, 31 menit dan 36 menit, sampel tersebut terdapat noda bercak berwarna ungu jika diletakkan di bawah sinar UV 254 nm, dimana noda bercak sampel sama dengan seperti noda bercak baku standar kafein, ketiga sampel masing-masing memiliki nilai RF 0,8; 0,763; dan 0,763, nilai tersebut mendekati dengan nilai RF baku standar kafein.
2. Hasil penetapan kadar berdasarkan uji kuantitatif kadar kafein dari kopi luwak liberika didapatkan kadar kafein pada ketiga sampel masing-masing 26 menit 1,020% b/b, 31 menit 0,402% b/b, dan sampel 36 menit 0,343% b/b, oleh sebab itu kadar kafein yang baik ada pada sampel menit 36.

#### 5.2 Saran

Pada penelitian selanjutnya perlu dilakukan pengembangan metode analisi seperti HPLC, serta melakukan penetapan kadar kafein pada biji kopi menggunakan pelarut lain contohnya diklorometana. Dan metode yang dikembangkan tersebut harus bersifat sensitif, variabel, produsibel dan dapat dipercaya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ade, M. I., Afina, N., Ainun, N., & Alda, A. H. (2020). Isolasi dan Identifikasi Kafein dari Kopi dengan Instrumen Spektrofotometer UV-Vis dan FTIR. *Penelitian*, 1–10.
- Aprilia, L., Sari, O. D., & Wahyuni. (2023). Analisis Kadar Kafein pada Minuman Kopi Kekinian di Bekasi Timur dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Pharmascience*, 10(2), 209. <https://doi.org/10.20527/jps.v10i2.14605>
- Ayuni, B. F. (2022). Validasi Metode Analisis Kafein Pada Kopi Latte Dengan Spektrofotometri Uv-Vis. *Analit: Analytical and Environmental Chemistry*, 7(02), 155. <https://doi.org/10.23960/aec.v7i02.2022.p155-164>
- Bowo, C. E., Misto, & Winda, F. A. (2022). Analisis Kandungan Kafeina pada Variasi Suhu Sangrai Kopi Luwak Robusta Asal Kebun Garahan Jember dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Ilmiah Fisika FMIPA Universitas Lambung Mangkurat*, 19(3), 2541–1713. <https://doi.org/10.20527/flux19i3.13593>
- Bressanello D, Liberto E, Cordero C, Rubiolo P, Pellegrino G, Ruosi M R, & Bicchi C. 2017. Coffee aroma: Chemometric comparison of the chemical information provided by three different samplings combined with GC–MS to describe the sensory properties in cup. *Food Chemistry*, 214: 218–226. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.088>.
- Cristina, A. (2023). Analisis Kandungan Zat Warna Methanyl Yellow Pada Tahu Kuning Yang Beredar Di Kecamatan Samarinda Ulu Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Skripsi*. Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda. Hal 15. Hal 16.
- Elfariyanti, Ernita, S., & Mela, S. (2020). Analisis Kandungan Kafein Pada Kopi Seduhan Warung Kopi Di Kota Banda Aceh. *Lantanida Journal*, 8(1), 1. <https://doi.org/10.22373/lj.v8i1.5759>
- Ermi, A., Devi, Y., Yuliani, Salsa, A. S., & Muhammad, F. A. (2022). Analisis Kafein Dalam Kopi Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Journal of Comprehensive Science (JCS)*, 1(5), 1398–1409. <https://doi.org/10.59188/jcs.v1i5.175>
- Depkes RI. (2020). *Farmakope Indonesia (VI)*. Jakarta: Kemenkes RI.
- Hailu, W. L. (2017). Review on Health Benefit and Risk of Coffee Consumption. *Medicinal & Aromatic Plants*, 06(04). <https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000301>

- Heriana, Sukainah, A., & Wijaya, M. (2023). Pengaruh Suhu dan Waktu Penyangraian Terhadap Kadar Kafein dan Mutu Sensori Kopi Liberika (*Coffea liberica*) Bantaeng. *PATANI (Pengembangan Teknologi Pertanian Dan Informatika)*, 6(1), 1–10. <https://doi.org/10.47767/patani.v6i1.442>
- Holuša, Jaroslav, Zúbrik, Milan, Resnerová, Karolina, Vanická, Hana, Liška, Jan, Mertelík, Josef, Takov, Danail, Trombik, Jiří, Hajek, Ann E., & Pilarska, Daniela. (2021). Further spread of the gypsy moth fungal pathogen, *Entomophaga maimaiga*, to the west and north in Central Europe. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 128(1), 323–331.
- Kinasih, A., Winarsih, S., & Saati, E. A. (2021). Karakteristik Sensori Kopi Arabica Dan Robusta Menggunakan Teknik Brewing Berbeda. *Jurnal Teknologi Pangan Dan Hasil Pertanian*, 16(2), 12. <https://doi.org/10.26623/jtphp.v16i2.4545>
- Laily, S. (2016). Analisis Kafein Pada Daun Kopi Arabika (*Coffea arabica*) Dan Robusta (*Coffea canephora*) Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis Densitometri. In *Syarifatul Laily* (Vol. 96).
- Marcella, R., & Mulyanti, D. (2022). Aspek Bioteknologi dan Kehalalan Kopi Luwak serta Korelasi Manfaatnya untuk Kesehatan. *Jurnal Riset Farmasi*, 66–74. <https://doi.org/10.29313/jrf.v2i1.849>
- Marpaung, R., & Lutvia, L. (2020). Pengaruh Lama Penyangraian Yang Berbeda Terhadap Karakteristik Dan Mutu Organoleptik Seduhan Bubuk Kopi Liberika Tungkal Komposita€. *Jurnal Media Pertanian*, 5(1), 15-21.
- Maulinda, A., Ridwanto, R., Dulay, A. S., Nasution, H. M., & Rani, Z. (2024). Penentuan Kadar Rhodamin B pada Lipstik yang Dijual di kota Bandah Aceh Secara Kromatografi Lapis Tipis Densitometri Manual. *Forte Jurnal*. 4(1),148.
- Muhammad, B., Abdul, K., Akhmad, R., Dharma, S., Asih, S., Vivi, A., Dita, A., Muthia, A., Aulia, J. M., & Marista, S. (2023). Social innovation of Kampung Kopi Luwak Prangat Baru Village (Kapak Prabu) East Borneo. *Community Empowerment*, 8(1), 22–29. <https://doi.org/10.31603/ce.8034>
- Muhammad, B., Abdul, K., Akhmad, R., Dharma, S., Asih, S., Vivi, A., Dita, A., Muthia, A., Aulia, J. M., & Marista, S. (2023). Social innovation of Kampung Kopi Luwak Prangat Baru Village (Kapak Prabu) East Borneo. *Community Empowerment*, 8(1), 22–29. <https://doi.org/10.31603/ce.8034>
- Muzaifa, M., Hasni, D., Rahmi, F., & Syarifudin. (2019). Apa itu kopi luwak? A tinjauan pustaka tentang produksi, kualitas dan masalah. *Seri Konferensi IOP Ilmu Bumi dan Lingkungan*, 365(1), 012041. [https://doi.org/10.1088/1755-Nomor telepon 1315/06/5/1/012041](https://doi.org/10.1088/1755-Nomor%20telepon%201315/06/5/1/012041)


- Nuraisyah, A., Juliansyah, A., Pramudian, P. R., Prayogo, M. M. R. P., Zulisma, E. D., Diana, L. E., & Alwi, A. L. (2024). Pengaruh Metode Pengolahan dan Level Roasting Terhadap Karakteristik Kopi Robusta Argopuro Jember. *AGRITEKNO: Jurnal Teknologi Pertanian*, 13(1), 9–14. <https://doi.org/10.30598/jagritekno.2024.13.1.9>
- Panji, S. R., Angel, V., & Nur, A. (2024). Perbandingan Variasi Lamanya Waktu Penyangraian Terhadap Kadar Kafein Pada Biji Kopi Robusta Secara Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan Indonesia*, 4(1), 187–197. <https://doi.org/10.55606/jikki.v4i1.2975>
- Putri, SP, & Fukusaki, E. (2015). Aplikasi GC/MS dan GC/FID berbasis metabolomik untuk otentikasi kopi luwak asia Analisis vitamin simultan Lihat proyek Pengembangan pengiriman gen baru sistem dengan manik- manik mikro kalsium alginat Lihat proyek. *Jurnal Biosains dan Bioteknologi*, no. 5, <https://www.researchgate.net/publication/279861053> 33-41.
- Rintjap, Djois S., Dumanauw, Jovie M., Bannne, Yos Nahor, Evelina M., Maramis, Rilyn M., & Rasubala, Agtyvena. (2022). Review Artikel: METODE ANALISIS KANDUNGAN MERKURI (Hg) DALAM KOSMETIKA. *E-PROSIDING Seminar Nasional 2022 ISBN: 978.623. 93457.1.6,1(02)*, 92 - 102.
- Rezza, M., & Dina, M. (2022). Aspek Bioteknologi dan Kehalalan Kopi Luwak serta Korelasi Manfaatnya untuk Kesehatan. *Jurnal Riset Farmasi*, 66–74. <https://doi.org/10.29313/jrf.v2i1.849>
- RISMAWATI, S. (2019). Identifikasi Kandungan Kafein dan Warna RGB pada Kopi dengan Variasi Sangrai. *Skripsi*. Universitas Jember.
- Rupa, N. F., Gama, S. I., & Ahmad, I. (2023). Validasi Metode dan Penetapan Kadar Kafein Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. In *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences* (Vol. 18, pp. 109–115). <https://doi.org/10.25026/mpc.v18i1.713>
- Syarifatul, L. (2016). Analisis Kafein Pada daun Kopi Arabika (*coffea arabica*) Dan Robusta (*coffea ccanephora*) Menggunakan Metode kromatografi Lapis Tipis Densitometri. *Skripsi*. Universitas Jember. Hal 26.
- Wijayanti, R. & Anggia, M. (2020). ANALISIS KADAR KAFEIN, ANTIOKSIDAN DAN MUTU BUBUK KOPI BEBERAPA INDUSTRI KECIL MENENGAH (IKM) DI KABUPATEN TANAH DATAR [*Analysis of Cofien, Antioxidant and Quality Levels Coffee Powder of Some Medium Small Industries (IKM) in the Tanah Datar Regency*]. *Jurnal Teknologi & Industri Hasil Pertanian*, 25(1), 1. <https://doi.org/10.23960/jtthp.v25i1.1-6>
- Windy, W. (2020). Perbandingan Kadar Kafein Kopi Arabika (*Caffea arabika* L.) Dengan Kopi Luwak Arabika Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Karya Tulis Ilmiah*. Akademisi Farmasi Al-Fatah Yayasan Al Fatah Bengkulu.

Winjaya, F. (2017). Rancang Bangun Mesin Pemanggang Biji Kopi Berbasis Image Processing Dan Akustik. *Skripsi*. Departemen Teknik Elektro, Fakultas Teknologi Elektro, Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Surabaya.

Wilson, C. (2018). *The Clinical Toxicology of Caffeine: A Review and Case Study*. *Elsivier (Toxicology Reports)*, 5: 1140-1152

**LAMPIRAN 1**  
**SURAT IZIN PENELITIAN**

Samarinda, 03 Desember 2024

 **SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN DIRGAHAYU SAMARINDA**  
Jl. Pasundan No.21 Telp (0541) 748335, Fax.(0541) 748335  
E-mail: stikesdirgahayusamarinda@gmail.com Website: www.stikesdirgahayusamarinda.ac.id  
SAMARINDA - 75122 - KALIMANTAN TIMUR


Nomor : 18S/STIKDS-Far/XI/2024  
Perihal : Surat Izin Melaksanakan Penelitian


Dengan Hormat,

Yang bertandatangan di bawah ini, Wakil Ketua I dan Ketua Program Studi Farmasi STIKES Dirgahayu Samarinda, menyatakan bahwa mahasiswa/I,

Nama : Eka Apriani  
NIM : 211148201157  
Program Studi/Institusi : Farmasi / STIKES Dirgahayu Samarinda  
Judul Penelitian : PERBANDINGAN KADAR KAFEIN DENGAN VARIASI WAKTU PENYANGRAIAN PADA BIJI KOPI ASAL KAMPUNG KOPI LUWAK MARANGKAYU DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS  
Tempat Penelitian : Laboratorium fitokimia dan laboratorium Teknologi farmasi STIKES Dirgahayu Samarinda  
Waktu Penelitian : Desember 2024 – Maret 2025

Telah memenuhi kaidah akademik dan diizinkan untuk melaksanakan penelitian skripsi.

  
Wakil Ketua I  
STIKES DIRGAHAYU SAMARINDA  
Ns. Gracia Hemi Pratiwi, M.Kep. Ph.D.NS  
NIK. 0778.A4.08

  
Ketua Program Studi  
PROGRAM STUDI FARMASI  
STIKES DIRGAHAYU SAMARINDA  
apt. Liniati Geografi, M.Sc.  
NIK. 0419.A4.25

## LAMPIRAN 2

### SURAT DETERMINASI



KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS, DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS MULAWARMAN FAKULTAS KEHUTANAN  
LABORATORIUM EKOLOGI DAN KONSERVASI BIODIVERSITAS HUTAN TROPIS  
Alamat: kampus Unmul Gunung Kelua, Jl. Panajam Gd. B11 Lt.1 Samarinda 75123  
Telp./Fax (0541) 7273726, Email: lab.ekobio@fahatan.unmul.ac.id

Samarinda, 09 Desember 2024

Nomor : 372/UN17.4.08/LL/2024  
Lampiran : -  
Perihal : Hasil Identifikasi/Determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.  
Bpk/Ibu/Sdr(i). Eka Apriani (211148201157)

Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda  
di-

Tempat

Dengan Hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang saudara kirimkan ke "Herbarium Mulawarman", Laboratorium Ekologi dan Konservasi Biodiversitas Hutan Tropis Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman Samarinda, adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
Phyllum : Streptophyta  
Class : Equisetopsida  
Order : Gentianales  
Family : Rubiaceae  
Species : *Coffea liberica* W.Bull  
Synonyms : -  
Common name : Kopi Liberika

Demikian, semoga berguna bagi saudara.

Tembusan:  
Arsip

Prof. Dr. Ir. Paulus Matius, M.Sc  
NIP.195504111984031001

## LAMPIRAN 3

### SURAT PA (PRO ANALYSIS) BAHAN

Surat PA (Pro Analysis) Kafein



CSPC INNOVATION PHARMACEUTICAL CO., LTD.

#### CERTIFICATE OF PRODUCT ANALYSIS

No.: REC-ZL-G6114(01)


Product: <u>Caffeine (Anhydrous)</u>	Batch No.: <u>1032207706</u>	Quantity: <u>10000 kg</u>
Analysis Standard: <u>BP2020, EP10.0, USP2021, FCC12</u>	Analysis Date: <u>2022.07.02</u>	Report Date: <u>2022.07.12</u>
Manu. Date: <u>2022.07</u>	Retest Date: <u>2027.06</u>	
Analysis Contents	Analysis Standards	Analysis Results
<b>【Characters】</b>		
Appearance	White crystalline powder or silky, white crystals	White crystalline powder
Solubility	Sparingly soluble in water, freely soluble in boiling water, slightly soluble in ethanol (96percent). It dissolves in concentrated solutions of alkali benzoates or salicylates. It sublimates readily	Pass
<b>【Identification】 (USP/FCC)</b>		
*A. Infrared Absorption	Conforms to the USP Caffeine RS	Pass
B. The retention time of caffeine peak	Corresponds to the Standard preparation obtained in the Assay	Pass
<b>【Tests】</b>		
Appearance of solution (BP/EP)	Clear, colourless	Pass
Sulphates (BP/EP)	≤500ppm	<500ppm
Residue on ignition (BP/EP)	≤0.1%	0.03%
Loss on drying (BP/EP)	≤0.5%	0.05%
Organic impurities (USP)		
-Individual impurities	≤0.1%	<0.1%
-Total impurities	≤0.1%	<0.1%
*Related substances (BP/EP)		
-Each impurity A, B, C, D, E, F	≤0.10%	<0.10%
-Unspecified impurities	≤0.10%	<0.10%
-Total impurities	≤0.10%	<0.10%
*Acidity (BP/EP)	Not more than 0.2ml of 0.01M sodium hydroxide	<0.2ml
*Lead (FCC)	≤0.5ppm	<1mg/kg
*Other Alkaloids (FCC)	No precipitate is formed	Pass
*Melting Range (FCC)	235~237.5 °C	Pass
*Readily Carbonizable Substances (FCC)	Passes Test	Pass
<b>【Assay】 (USP)</b>	98.5%~101.0%	100.1%
Mesh	≥95% through 40 mesh	Pass
*Heavy Metals	≤10ppm	<10ppm
*Microbiological		
Total Account Of Aerobic Bacteria	≤1000cfu/g	Pass
Yeast & Mold	≤100cfu/g	Pass
E. coli	Negative	Pass
Coliforms	<10cfu/g	Pass
Salmonella	Negative/10g	Pass
Staphylococcus aureus	Negative/1g	Pass



Conclusion: The above product conforms to BP2020, EP10.0, USP2021, FCC12 requirement on Caffeine  
 Remark: "\*" means this item is spot test.

Chief of Quality Analysis Dept: Rechecker: Reporter:   
 Address: No.62 Zhangju Road, Luancheng County, Shi Jiazhuang City, Hebei Province, China

Surat PA (Pro Analysis) Ethanol 96%



## PT. SMART LAB INDONESIA

MANUFACTURER OF ANALYTICAL REAGENTS

---

**CERTIFICATE OF ANALYSIS**

F/QCL/009 Rev.02

Product Name : Ethanol (Absolute) AR


Mol. Formula : C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH

Mol. Weight : 46.07 g/mol

Catalog No. : A-1035

Cas No : 64-17-5

Batch No. : A162410001



Mfg. Date : October, 2024


Exp. Date : October, 2029

**Shelf life for plastic container 6 months from the date of pouring (Expiry date corresponding to label)**

NO.	TESTS	UNITS	SPECIFICATIONS	RESULTS
1.	Appearance	-	Clear colorless liquid	Clear colorless liquid
2.	Assay (GC)	wt %	min 99.7	99.998
3.	Wt. Per ml at 20 °C	g/cm <sup>3</sup>	0.789 – 0.792	0.789
4.	Color	Hazen	max 10	< 10
5.	Refractive Index	n <sub>D</sub> <sup>20</sup>	1.358 – 1.363	1.361
6.	Water (H <sub>2</sub> O)	wt %	max 0.2	0.0664
7.	Residue after evaporation	wt %	max 0.001	0.00055
8.	Acidity (CH <sub>3</sub> COOH)	wt %	max 0.0006	0.00040
9.	Alkalinity (NH <sub>3</sub> )	wt %	max 0.0002	0.00015
10.	Acetone, isopropyl alcohol	-	passes test	passes test
11.	Methanol (CH <sub>3</sub> OH)	wt %	max 0.1	NIL
12.	Iron (Fe)	wt %	max 0.00002	< 0.00002
13.	Lead (Pb)	wt %	max 0.00005	< 0.00005
14.	Substances Reducing KMnO <sub>4</sub>	wt %	max 0.0004	< 0.0004
15.	Solubility in water	-	passes test	passes test
16.	Substances darkened (by H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	-	passes test	passes test

Result: The above product corresponds to AR Grade

*Reference or standard of product specification to Analar standard and ACS specification*



**Yuvaraj Sagvekar**  
Manager QC

---

Ruko Boulevard Taman Tekno Blok E No. 9 - 11 BSD, Serpong, Tangerang Selatan Indonesia

Telp: (62-21) 7588 0205, F a x : (62-21) 7588 0198

Email: sales@smartlab.co.id, Website: [www.smartlab.co.id](http://www.smartlab.co.id)

## LAMPIRAN 4

### PERHITUNGAN KADAR KAFEIN PADA KOPI LUWAK

#### LIBERIKA

##### Replikasi 1 sampel 26 menit

$$\text{Absorbansi} = 0,3441$$

$$y = 0,0334x + 0,093$$

$$0,3441 = 0,0334x + 0,093$$

$$0,3441 - 0,093 = 0,0334x$$

$$0,2511 = 0,0334x$$

$$x = \frac{0,2511}{0,0334} = 7,5180 \text{ ppm} = 7,5180 \text{ mg/L}$$

$$\text{Kadar dalam 25 ml} = 7,5180 \text{ mg/L} \times 0,025 \text{ L}$$

$$= 0,1879 \text{ mg}$$

Kadar kafein pada tiap gram sampel

$$\frac{0,1879 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} = 0,0093 \text{ mg/g}$$

$$= 0,0093 \text{ g/g} \times 100\%$$

$$= 0,94 \% \text{ b/b}$$

##### Replikasi 2 sampel 26 menit

$$\text{Absorbansi} = 0,368$$

$$y = 0,0334x + 0,093$$

$$0,368 = 0,0334x + 0,093$$

$$0,368 - 0,093 = 0,0334x$$

$$0,275 = 0,0334x$$

$$x = \frac{0,275}{0,0334} = 8,2335 \text{ ppm} = 8,2335 \text{ mg/L}$$

$$\text{Kadar dalam 25 ml} = 8,2335 \text{ mg/L} \times 0,025 \text{ L}$$

$$= 0,2058 \text{ mg}$$

Kadar kafein pada tiap gram sampel

$$\frac{0,2058 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} = 0,01029 \text{ mg/g}$$

$$= 0,01029 \text{ g/g} \times 100\%$$

$$= 1,029\% \text{ b/b}$$

### Replikasi 3 sampel 26 menit

$$\text{Absorbansi} = 0,3844$$

$$y = 0,0334x + 0,093$$

$$0,3844 = 0,0334x + 0,093$$

$$0,3844 - 0,093 = 0,0334x$$

$$0,2914 = 0,0334x$$

$$x = \frac{0,2914}{0,0334} = 8,7246 \text{ ppm} = 8,7246 \text{ mg/L}$$

$$\text{Kadar dalam 25 ml} = 8,7246 \text{ mg/L} \times 0,025 \text{ L}$$

$$= 0,2181 \text{ mg}$$

Kadar kafein pada tiap gram sampel

$$\frac{0,2181 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} = 0,0109 \text{ mg/g}$$

$$= 0,0109 \text{ g/g} \times 100\%$$

$$= 1,091 \% \text{ b/b}$$

### Sampel 31 menit

#### Replikasi 1 sampel 31 menit

$$\begin{aligned}\text{Absorbansi} &= 0,2189 \\ y &= 0,0334x + 0,093 \\ 0,2189 &= 0,0334x + 0,093 \\ 0,2189 - 0,093 &= 0,0334x \\ 0,1259 &= 0,0334x \\ x &= \frac{0,1259}{0,0334} = 3,7695 \text{ ppm} = 3,7695 \text{ mg/L}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Kadar dalam 25 ml} &= 3,7695 \text{ mg/L} \times 0,025 \text{ L} \\ &= 0,0942 \text{ mg}\end{aligned}$$

Kadar kafein pada tiap gram sampel

$$\begin{aligned}\frac{0,0942 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} &= 0,00471 \text{ mg/g} \\ &= 0,00471 \text{ g/g} \times 100\% \\ &= 0,471\% \text{ b/b}\end{aligned}$$

#### Replikasi 2 sampel 31 menit

$$\begin{aligned}\text{Absorbansi} &= 0,1891 \\ y &= 0,0334x + 0,093 \\ 0,1891 &= 0,0334x + 0,093 \\ 0,1891 - 0,093 &= 0,0334x \\ 0,0961 &= 0,0334x \\ x &= \frac{0,0961}{0,0334} = 2,8772 \text{ ppm} = 2,8772 \text{ mg/L}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar dalam 25 ml} &= 2,8772 \text{ mg/L} \times 0,025 \text{ L} \\ &= 0,07193 \text{ mg} \end{aligned}$$

Kadar kafein pada tiap gram sampel

$$\begin{aligned} \frac{0,07193 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} &= 0,0036 \text{ mg/g} \\ &= 0,0036 \text{ g/g} \times 100\% \\ &= 0,36\% \text{ b/b} \end{aligned}$$

### Replikasi 3 sampel 31 menit

$$\begin{aligned} \text{Absorbansi} &= 0,1934 \\ y &= 0,0334x + 0,093 \\ 0,1934 &= 0,0334x + 0,093 \\ 0,1934 - 0,093 &= 0,0334x \\ 0,1004 &= 0,0334x \\ x &= \frac{0,1004}{0,0334} = 3,0060 \text{ ppm} = 3,0060 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar dalam 25 ml} &= 3,0060 \text{ mg/L} \times 0,025 \text{ L} \\ &= 0,07515 \text{ mg} \end{aligned}$$

Kadar kafein pada tiap gram sampel

$$\begin{aligned} \frac{0,07515 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} &= 0,00375 \text{ mg/g} \\ &= 0,00375 \text{ g/g} \times 100\% \\ &= 0,376\% \text{ b/b} \end{aligned}$$

### Sampel 36 menit

#### Replikasi 1 sampel 36 menit

$$\begin{aligned}\text{Absorbansi} &= 0,1728 \\ y &= 0,0334x + 0,093 \\ 0,1728 &= 0,0334x + 0,093 \\ 0,1728 - 0,093 &= 0,0334x \\ 0,0798 &= 0,0334x \\ x &= \frac{0,0798}{0,0334} = 2,3892 \text{ ppm} = 2,3892 \text{ mg/L}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Kadar dalam 25 ml} &= 2,3892 \text{ mg/L} \times 0,025 \text{ L} \\ &= 0,05973 \text{ mg}\end{aligned}$$

Kadar kafein pada tiap gram sampel

$$\begin{aligned}\frac{0,05973 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} &= 0,00298 \text{ mg/g} \\ &= 0,00298 \text{ g/g} \times 100\% \\ &= 0,298\% \text{ b/b}\end{aligned}$$

#### Replikasi 2 sampel 36 menit

$$\begin{aligned}\text{Absorbansi} &= 0,1813 \\ y &= 0,0334x + 0,093 \\ 0,1813 &= 0,0334x + 0,093 \\ 0,1813 - 0,093 &= 0,0334x \\ 0,0883 &= 0,0334x \\ x &= \frac{0,0883}{0,0334} = 2,6437 \text{ ppm} = 2,6437 \text{ mg/L}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar dalam 25 ml} &= 2,6437 \text{ mg/L} \times 0,025 \text{ L} \\ &= 0,06609 \text{ mg} \end{aligned}$$

Kadar kafein pada tiap gram sampel

$$\begin{aligned} \frac{0,06609 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} &= 0,0033 \text{ mg/g} \\ &= 0,0033 \text{ g/g} \times 100\% \\ &= 0,33\% \text{ b/b} \end{aligned}$$

### Replikasi 3 sampel 36 menit

$$\begin{aligned} \text{Absorbansi} &= 0,1896 \\ y &= 0,0334x + 0,093 \\ 0,1896 &= 0,0334x + 0,093 \\ 0,1896 - 0,093 &= 0,0334x \\ 0,0966 &= 0,0334x \\ x &= \frac{0,0966}{0,0334} = 2,8922 \text{ ppm} = 2,8922 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar dalam 25 ml} &= 2,8922 \text{ mg/L} \times 0,025 \text{ L} \\ &= 0,0723 \text{ mg} \end{aligned}$$

Kadar kafein pada tiap gram sampel

$$\begin{aligned} \frac{0,0723 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} &= 0,00361 \text{ mg/g} \\ &= 0,00361 \text{ g/g} \times 100\% \\ &= 0,361\% \text{ b/b} \end{aligned}$$

**LAMPIRAN 5**  
**PERHITUNGAN AKURASI**

Konsentrasi 10 ppm

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

$$100 \times V1 = 10 \times 10 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{100}{100}$$

$$V1 = 1 \text{ ml}$$

Konsentrasi 30 ppm

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

$$100 \times V1 = 30 \times 10 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{300}{100}$$

$$V1 = 3 \text{ ml}$$

Konsentrasi 50 ppm

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

$$100 \times V1 = 50 \times 10 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{500}{100}$$

$$V1 = 5 \text{ ml}$$

### **Sampel 26 Menit Dengan Penambahan Baku 10 ppm**

#### **Replikasi 1**

$$\begin{aligned}y &= 0,6897 \\y &= 0,0334x + 0,093 \\0,6897 &= 0,0334x + 0,093 \\0,6897 - 0,093 &= 0,0334x \\0,5967 &= 0,0334x \\x &= \frac{0,5967}{0,0334} = 17,8653 \text{ ppm}\end{aligned}$$

#### **Replikasi 2**

$$\begin{aligned}y &= 0,6912 \\y &= 0,0334x + 0,093 \\0,6912 &= 0,0334x + 0,093 \\0,6912 - 0,093 &= 0,0334x \\0,5982 &= 0,0334x \\x &= \frac{0,5982}{0,0334} = 17,9102 \text{ ppm}\end{aligned}$$

#### **Replikasi 3**

$$\begin{aligned}y &= 0,7033 \\y &= 0,0334x + 0,093 \\0,7033 &= 0,0334x + 0,093 \\0,7033 - 0,093 &= 0,0334x\end{aligned}$$

$$0,6103 = 0,0334x$$

$$x = \frac{0,6103}{0,0334} = 18,2725 \text{ ppm}$$

### **Sampel 26 Menit Dengan Penambahan Baku 30 ppm**

#### **Replikasi 1**

$$y = 1,3867$$

$$y = 0,0334x + 0,093$$

$$1,3867 = 0,0334x + 0,093$$

$$1,3867 - 0,093 = 0,0334x$$

$$1,2937 = 0,0334x$$

$$x = \frac{1,2937}{0,0334} = 38,7335 \text{ ppm}$$

#### **Replikasi 2**

$$y = 1,3978$$

$$y = 0,0334x + 0,093$$

$$1,3978 = 0,0334x + 0,093$$

$$1,3978 - 0,093 = 0,0334x$$

$$1,3048 = 0,0334x$$

$$x = \frac{1,3048}{0,0334} = 39,0659 \text{ ppm}$$

#### **Replikasi 3**

$$y = 1,3759$$

$$y = 0,0334x + 0,093$$

$$\begin{aligned}
1,3759 &= 0,0334x + 0,093 \\
1,3759 - 0,093 &= 0,0334x \\
1,2829 &= 0,0334x \\
x &= \frac{1,2829}{0,0334} = 38,4102 \text{ ppm}
\end{aligned}$$

### **Sampel 26 Menit Dengan Penambahan Baku 50 ppm**

#### **Replikasi 1**

$$\begin{aligned}
y &= 2,0583 \\
y &= 0,0334x + 0,093 \\
2,0583 &= 0,0334x + 0,093 \\
2,0583 - 0,093 &= 0,0334x \\
1,9653 &= 0,0334x \\
x &= \frac{1,9653}{0,0334} = 58,8413 \text{ pp}
\end{aligned}$$

#### **Replikasi 2**

$$\begin{aligned}
y &= 2,1376 \\
y &= 0,0334x + 0,093 \\
2,1376 &= 0,0334x + 0,093 \\
2,1376 - 0,093 &= 0,0334x \\
2,0446 &= 0,0334x \\
x &= \frac{2,0446}{0,0334} = 61,2156 \text{ ppm}
\end{aligned}$$

### Replikasi 3

$$\begin{aligned}y &= 2,0978 \\y &= 0,0334x + 0,093 \\2,0978 &= 0,0334x + 0,093 \\2,0978 - 0,093 &= 0,0334x \\2,0048 &= 0,0334x \\x &= \frac{2,0048}{0,0334} = 60,0240 \text{ ppm}\end{aligned}$$

### Sampel 31 Menit Dengan Penambahan Baku 10 ppm

#### Replikasi 1

$$\begin{aligned}y &= 0,4962 \\y &= 0,0334x + 0,093 \\0,4962 &= 0,0334x + 0,093 \\0,4962 - 0,093 &= 0,0334x \\0,4032 &= 0,0334x \\x &= \frac{0,4032}{0,0334} = 120719 \text{ ppm}\end{aligned}$$

#### Replikasi 2

$$\begin{aligned}y &= 0,4975 \\y &= 0,0334x + 0,093 \\0,4975 &= 0,0334x + 0,093\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
0,4975 - 0,093 &= 0,0334x \\
0,4045 &= 0,0334x \\
x &= \frac{0,4045}{0,0334} = 12,1108 \text{ ppm}
\end{aligned}$$

### Replikasi 3

$$\begin{aligned}
y &= 0,4988 \\
y &= 0,0334x + 0,093 \\
0,4899 &= 0,0334x + 0,093 \\
0,4988 - 0,093 &= 0,0334x \\
0,4058 &= 0,0334x \\
x &= \frac{0,4058}{0,0334} = 12,1497 \text{ ppm}
\end{aligned}$$

### Sampel 31 Menit Dengan Penambahan Baku 30 ppm

#### Replikasi 1

$$\begin{aligned}
y &= 1,1647 \\
y &= 0,0334x + 0,093 \\
1,1647 &= 0,0334x + 0,093 \\
1,1647 - 0,093 &= 0,0334x \\
1,0717 &= 0,0334x \\
x &= \frac{1,0717}{0,0334} = 32,0868 \text{ ppm}
\end{aligned}$$

### Replikasi 2

$$\begin{aligned}y &= 1,1787 \\y &= 0,0334x + 0,093 \\1,1762 &= 0,0334x + 0,093 \\1,1762 - 0,093 &= 0,0334x \\1,0832 &= 0,0334x \\x &= \frac{1,0832}{0,0334} = 32,4311 \text{ ppm}\end{aligned}$$

### Replikasi 3

$$\begin{aligned}y &= 1,1787 \\y &= 0,0334x + 0,093 \\1,1787 &= 0,0334x + 0,093 \\1,1787 - 0,093 &= 0,0334x \\1,0857 &= 0,0334x \\x &= \frac{1,0857}{0,0334} = 32,5060 \text{ ppm}\end{aligned}$$

### Sampel 31 Menit Dengan Penambahan Baku 50 ppm

#### Replikasi 1

$$\begin{aligned}y &= 1,8129 \\y &= 0,0334x + 0,093 \\1,8129 &= 0,0334x + 0,093 \\1,8129 - 0,093 &= 0,0334x\end{aligned}$$

$$1,7199 = 0,0334x$$

$$x = \frac{1,7199}{0,0334} = 51,4940 \text{ ppm}$$

### **Replikasi 2**

$$y = 1,8673$$

$$y = 0,0334x + 0,093$$

$$1,8673 = 0,0334x + 0,093$$

$$1,8673 - 0,093 = 0,0334x$$

$$1,7743 = 0,0334x$$

$$x = \frac{1,7743}{0,0334} = 53,1228 \text{ ppm}$$

### **Replikasi 3**

$$y = 1,8609$$

$$y = 0,0334x + 0,093$$

$$1,8609 = 0,0334x + 0,093$$

$$1,8609 - 0,093 = 0,0334x$$

$$1,7679 = 0,0334x$$

$$x = \frac{1,7679}{0,0334} = 52,9311 \text{ ppm}$$

### **Sampel 36 Menit Dengan Penambahan Baku 10 ppm**

#### **Replikasi 1**

$$y = 0,433$$

$$y = 0,0334x + 0,093$$

$$\begin{aligned}
0,433 &= 0,0334x + 0,093 \\
0,433 - 0,093 &= 0,0334x \\
0,34 &= 0,0334x \\
x &= \frac{0,34}{0,0334} = 10,1796 \text{ ppm}
\end{aligned}$$

### Replikasi 2

$$\begin{aligned}
y &= 0,4351 \\
y &= 0,0334x + 0,093 \\
0,4351 &= 0,0334x + 0,093 \\
0,4351 - 0,093 &= 0,0334x \\
0,3421 &= 0,0334x \\
x &= \frac{0,3421}{0,0334} = 10,2425 \text{ ppm}
\end{aligned}$$

### Replikasi 3

$$\begin{aligned}
y &= 0,4705 \\
y &= 0,0334x + 0,093 \\
0,4705 &= 0,0334x + 0,093 \\
0,4705 - 0,093 &= 0,0334x \\
0,3775 &= 0,0334x \\
x &= \frac{0,3775}{0,0334} = 11,3024 \text{ ppm}
\end{aligned}$$

### Sampel 36 Menit Dengan Penambahan Baku 30 ppm

#### Replikasi 1

$$\begin{aligned}y &= 1,1126 \\y &= 0,0334x + 0,093 \\1,1126 &= 0,0334x + 0,093 \\1,1126 - 0,093 &= 0,0334x \\1,0196 &= 0,0334x \\x &= \frac{1,0196}{0,0334} = 30,5269 \text{ ppm}\end{aligned}$$

#### Replikasi 2

$$\begin{aligned}y &= 1,1472 \\y &= 0,0334x + 0,093 \\1,1472 &= 0,0334x + 0,093 \\1,1472 - 0,093 &= 0,0334x \\1,0542 &= 0,0334x \\x &= \frac{1,0542}{0,0334} = 31,5629 \text{ ppm}\end{aligned}$$

#### Replikasi 3

$$\begin{aligned}y &= 1,1601 \\y &= 0,0334x + 0,093 \\1,1601 &= 0,0334x + 0,093 \\1,1601 - 0,093 &= 0,0334x \\1,0671 &= 0,0334x\end{aligned}$$

$$x = \frac{1,0671}{0,0334} = 31,9491 \text{ ppm}$$

### **Sampel 36 Menit Dengan Penambahan Baku 50 ppm**

#### **Replikasi 1**

$$y = 1,8038$$

$$y = 0,0334x + 0,093$$

$$1,8038 = 0,0334x + 0,093$$

$$1,8038 - 0,093 = 0,0334x$$

$$1,7108 = 0,0334x$$

$$x = \frac{1,7108}{0,0334} = 51,2216 \text{ ppm}$$

#### **Replikasi 2**

$$y = 1,819$$

$$y = 0,0334x + 0,093$$

$$1,819 = 0,0334x + 0,093$$

$$1,819 - 0,093 = 0,0334x$$

$$1,726 = 0,0334x$$

$$x = \frac{1,726}{0,0334} = 51,6766 \text{ ppm}$$

#### **Replikasi 3**

$$y = 1,823$$

$$y = 0,0334x + 0,093$$

$$1,823 = 0,0334x + 0,093$$

$$1,823 - 0,093 = 0,0334x$$

$$1,73 = 0,0334x$$

$$x = \frac{1,73}{0,0334} = 51,7964 \text{ ppm}$$

## LAMPIRAN 6

### PERHITUNGAN % *RECOVERY*

**Sampel 26 menit dengan penambahan baku 10 ppm**

#### **Replikasi 1**

$$\% \text{ Recovery} = \frac{(C1-C2)}{C3 \text{ (ppm)}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recovery} = \frac{17,8653-8,7006}{10 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recovery} = 91,6467\%$$

#### **Replikasi 2**

$$\% \text{ Recovery} = \frac{(C1-C2)}{C3 \text{ (ppm)}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recovery} = \frac{17,9102-8,7006}{10 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recovery} = 92,0958\%$$

#### **Replikasi 3**

$$\% \text{ Recovery} = \frac{(C1-C2)}{C3 \text{ (ppm)}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recovery} = \frac{18,2725-8,7006}{10 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recovery} = 95,7186\%$$

$$\text{Rata - rata } \% \text{ Recovery} = 93,1537\%$$

**Sampel 26 menit dengan penambahan baku 30 ppm**

**Replikasi 1**

$$\% \text{ Recorvery} = \frac{(C1-C2)}{C3 \text{ (ppm)}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recorvery} = \frac{38,7335-8,7006}{30 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recorvery} = 100,1098\%$$

**Replikasi 2**

$$\% \text{ Recorvery} = \frac{(C1-C2)}{C3 \text{ (ppm)}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recorvery} = \frac{39,0659-8,7006}{30 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recorvery} = 101,2176\%$$

**Replikasi 3**

$$\% \text{ Recorvery} = \frac{(C1-C2)}{C3 \text{ (ppm)}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recorvery} = \frac{38,4102-8,7006}{30 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recorvery} = 99,0319\%$$

$$\text{Rata - rata } \% \text{ Recorvery} = 100,1198\%$$

**Sampel 26 menit dengan penambahan baku 50 ppm**

**Replikasi 1**

$$\% \text{ Recorvery} = \frac{(C1-C2)}{C3 \text{ (ppm)}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recorvery} = \frac{58,8413-8,7006}{50 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recorvery} = 100,2814\%$$

### **Replikasi 2**

$$\% \text{ Recorvery} = \frac{(C1-C2)}{C3 \text{ (ppm)}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recorvery} = \frac{61,2156-8,7006}{50 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recorvery} = 105,0299\%$$

### **Replikasi 3**

$$\% \text{ Recorvery} = \frac{(C1-C2)}{C3 \text{ (ppm)}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recorvery} = \frac{60,0240-8,7006}{50 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recorvery} = 102,6467\%$$

$$\text{Rata - rata } \% \text{ Recorvery} = 102,6527\%$$

## **Sampel 31 menit dengan penambahan baku 10 ppm**

### **Replikasi 1**

$$\% \text{ Recorvery} = \frac{(C1-C2)}{C3 \text{ (ppm)}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recorvery} = \frac{12,0719-8,7006}{10 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recorvery} = 97,9341\%$$

### **Replikasi 2**

$$\% \text{ Recorvery} = \frac{(C1-C2)}{C3 \text{ (ppm)}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recorvery} = \frac{12,1108-8,7006}{10 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recorvery} = 98,3234\%$$

### **Replikasi 3**

$$\% \text{ Recorvery} = \frac{(C1-C2)}{C3 \text{ (ppm)}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recorvery} = \frac{12,1497-8,7006}{10 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recorvery} = 98,7126\%$$

$$\text{Rata - rata } \% \text{ Recorvery} = 98,3234\%$$

### **Sampel 31 menit dengan penambahan baku 30 ppm**

#### **Replikasi 1**

$$\% \text{ Recorvery} = \frac{(C1-C2)}{C3 \text{ (ppm)}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recorvery} = \frac{32,0868-8,7006}{30 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recorvery} = 99,3613\%$$

#### **Replikasi 2**

$$\% \text{ Recorvery} = \frac{(C1-C2)}{C3 \text{ (ppm)}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recorvery} = \frac{32,4311-8,7006}{30 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recorvery} = 100,5090\%$$

#### **Replikasi 3**

$$\% \text{ Recorvery} = \frac{(C1-C2)}{C3 \text{ (ppm)}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recorvery} = \frac{32,5060-8,7006}{30 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recovery} = 100,7585\%$$

$$\text{Rata – rata } \% \text{ Recovery} = 100,2096\%$$

### **Sampel 31 menit dengan penambahan baku 50 ppm**

#### **Replikasi 1**

$$\% \text{ Recovery} = \frac{(C1-C2)}{C3 \text{ (ppm)}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recovery} = \frac{51,4940-8,7006}{50 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recovery} = 98,4311\%$$

#### **Replikasi 2**

$$\% \text{ Recovery} = \frac{(C1-C2)}{C3 \text{ (ppm)}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recovery} = \frac{53,1228-8,7006}{50 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recovery} = 101,6886\%$$

#### **Replikasi 3**

$$\% \text{ Recovery} = \frac{(C1-C2)}{C3 \text{ (ppm)}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recovery} = \frac{52,9311-8,7006}{50 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recovery} = 101,3054\%$$

$$\text{Rata – rata } \% \text{ Recovery} = 100,4750\%$$

**Sampel 36 menit dengan penambahan baku 10 ppm**

**Replikasi 1**

$$\% \text{ Recorvery} = \frac{(C1-C2)}{C3 \text{ (ppm)}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recorvery} = \frac{10,1796-8,7006}{10 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recorvery} = 90,3293\%$$

**Replikasi 2**

$$\% \text{ Recorvery} = \frac{(C1-C2)}{C3 \text{ (ppm)}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recorvery} = \frac{10,2425-8,7006}{10 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recorvery} = 90,9581\%$$

**Replikasi 3**

$$\% \text{ Recorvery} = \frac{(C1-C2)}{C3 \text{ (ppm)}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recorvery} = \frac{11,3024-8,7006}{10 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recorvery} = 100,5569\%$$

$$\text{Rata - rata } \% \text{ Recorvery} = 94,2814\%$$

**Sampel 36 menit dengan penambahan baku 30 ppm**

**Replikasi 1**

$$\% \text{ Recorvery} = \frac{(C1-C2)}{C3 \text{ (ppm)}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recorvery} = \frac{30,5269-8,7006}{30 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$\% \text{Recovery} = 97,9341\%$$

### **Replikasi 2**

$$\% \text{Recovery} = \frac{(C1-C2)}{C3 \text{ (ppm)}} \times 100\%$$

$$\% \text{Recovery} = \frac{31,5629-8,7006}{30 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$\% \text{Recovery} = 101,3872\%$$

### **Replikasi 3**

$$\% \text{Recovery} = \frac{(C1-C2)}{C3 \text{ (ppm)}} \times 100\%$$

$$\% \text{Recovery} = \frac{31,9491-8,7006}{30 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$\% \text{Recovery} = 102,6747\%$$

$$\text{Rata - rata } \% \text{Recovery} = 100,6653$$

## **Sampel 36 menit dengan penambahan baku 50 ppm**

### **Replikasi 1**

$$\% \text{Recovery} = \frac{(C1-C2)}{C3 \text{ (ppm)}} \times 100\%$$

$$\% \text{Recovery} = \frac{51,2216-8,7006}{50 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$\% \text{Recovery} = 100,1497\%$$

### **Replikasi 2**

$$\% \text{Recovery} = \frac{(C1-C2)}{C3 \text{ (ppm)}} \times 100\%$$

$$\% \text{Recovery} = \frac{51,6766-8,7006}{50 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recovery} = 101,0599\%$$

### **Replikasi 3**

$$\% \text{ Recovery} = \frac{(C1-C2)}{C3 \text{ (ppm)}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recovery} = \frac{51,7964-8,7006}{50 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Recovery} = 101,2994\%$$

$$\text{Rata - rata } \% \text{ Recovery} = 100,8363\%$$

**LAMPIRAN 7**  
**PERHITUNGAN PRESISI**

Replikasi 1

$$\begin{aligned}y &= 0,7559 \\y &= 0,0334x + 0,093 \\0,7559 &= 0,0334x + 0,093 \\0,7559 - 0,093 &= 0,0334x \\0,6629 &= 0,0334x \\x &= \frac{0,6629}{0,0334} = 19,847\end{aligned}$$

Replikasi 2

$$\begin{aligned}y &= 0,7561 \\y &= 0,0334x + 0,093 \\0,7561 &= 0,0334x + 0,093 \\0,7561 - 0,093 &= 0,0334x \\0,6631 &= 0,0334x \\x &= \frac{0,6631}{0,0334} = 19,853\end{aligned}$$

Replikasi 3

$$\begin{aligned}y &= 0,7554 \\y &= 0,0334x + 0,093 \\0,7554 &= 0,0334x + 0,093 \\0,7554 - 0,093 &= 0,0334x\end{aligned}$$

$$0,6624 = 0,0334x$$

$$x = \frac{0,6624}{0,0334} = 19,831$$

Replikasi 4

$$y = 0,7549$$

$$y = 0,0334x + 0,093$$

$$0,7549 = 0,0334x + 0,093$$

$$0,7549 - 0,093 = 0,0334x$$

$$0,6619 = 0,0334x$$

$$x = \frac{0,6619}{0,0334} = 19,817$$

Replikasi 5

$$y = 0,7553$$

$$y = 0,0334x + 0,093$$

$$0,7553 = 0,0334x + 0,093$$

$$0,7553 - 0,093 = 0,0334x$$

$$0,6623 = 0,0334x$$

$$x = \frac{0,6623}{0,0334} = 19,829$$

Replikasi 6

$$y = 0,7545$$

$$y = 0,0334x + 0,093$$

$$0,7545 = 0,0334x + 0,093$$

$$0,7545 - 0,093 = 0,0334x$$

$$0,6615 = 0,0334x$$

$$x = \frac{0,6615}{0,0334} = 19,805$$

**LAMPIRAN 8**  
**PERHITUNGAN % RSD**

Nilai rata – rata absorbansi = 0,7553

Nilai SD = 0,000599

% RSD =  $\frac{\text{Standar Deviasi}}{\text{Rata-rata hasil pengujian}} \times 100\%$

% RSD =  $\frac{0,000599}{0,7553} \times 100\%$

% RSD = 0,0793 %

**Perhitungan LOD dan LOQ**

**LOD**

LOD =  $\frac{3Sy}{x}$

LOD =  $\frac{3 \times 0,119}{0,0334} = 10,688 \text{ ppm}$

**LOQ**

LOQ =  $\frac{10Sy}{a}$

LOQ =  $\frac{10 \times 0,119}{0,093} = 12,795 \text{ ppm}$

**LAMPIRAN 9**  
**ANALISIS DATA**

**Tests of Normality**

LamaSangrai	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadarkafein A	.216	3	.	.989	3	.796
B	.336	3	.	.856	3	.256
C	.176	3	.	1.000	3	.987

a. Lilliefors Significance Correction

**Tests of Homogeneity of Variances**

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Kadarkafein	Based on Mean	1.142	2	6	.380
	Based on Median	.386	2	6	.696
	Based on Median and with adjusted df	.386	2	4.482	.701
	Based on trimmed mean	1.075	2	6	.399

**ANOVA**

Kadarkafein

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5518580168.222	2	2759290084.111	124.695	<.001
Within Groups	132770080.667	6	22128346.778		
Total	5651350248.889	8			

## LAMPIRAN 10

### PROSES PENYANGRAIAN DAN PENGGILINGAN BIJI KOPI

#### LIBERIKA



Proses penyangraian



Proses giling kopi



Kopi luwak liberika siap seduh

**LAMPIRAN 11**  
**EKSTRAKSI KOPI**



Penimbangan bubuk kopi luwak  
liberika



Penyeduhan kopi



Larutan kopi sebelum difraksinasi



Fraksinasi



Penguapan



Hasil Ekstrak Kopi