

KADAR KAFEIN PADA TEH KERING KEMASAN PRODUKSI INDUSTRI TEH DI PEKALONGAN

CAFFEINE LEVELS IN DRY TEA PRODUCED BY PEKALONGAN TEA INDUSTRY

Rina Widhyani¹, Wirasti², Rini Kristiyanti³

^{1,2}. Program Studi Sarjana Farmasi, ³Program Studi Diploma Kebidanan
Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan
Jl. Raya Ambokembang No. 8, Kambang Tengah, Ambokembang, Kec. Kedungwuni, Kab.
Pekalongan, Jawa Tengah, 51172
e-mail : farmasisngalian@gmail.com
No. Hp : 082327307363

Submitted :

Reviwed :

Accepted :

ABSTRACT

Caffeine is one of the main alkaloid compounds in tea. The maximum limit of caffeine compounds in food and beverage products based on SNI 01-7152-2006 is 50 mg/serving. Pekalongan has a packaged dry tea product industry with various brands, so testing for caffeine content is necessary. This study aims to determine whether there are differences between caffeine content in packaged dry tea produced by the tea industry in Pekalongan which is analyzed using the High Performance Liquid Chromatography method and to determine whether all brands of tea samples meet the maximum caffeine content requirements. The results showed that there were differences in caffeine content in packaged dry tea produced by the tea industry in Pekalongan. The levels were 1.753 mg/g (T1), 4,870 mg/g (T2), 5,157 mg/g (T3), 2,394 mg/g (T4), 3,601 mg/g (T5), 3,275 mg/g (T6), 3,900 mg/g (T7), 3,725 mg/g (T8), 7,048 mg/g (T9) and 5,348 mg/g (T10). The ten brands of tea samples in a dose of 5 grams per serving have a caffeine content that meets the maximum limit requirements according to SNI 01-7152-2006, namely 50 mg/serving.

Keywords : Tea, Pekalongan, Caffeine, Maximum Limit.

ABSTRAK

Kafein adalah salah satu kandungan senyawa alkaloid utama teh. Batas maksimum senyawa kafein dalam produk pangan minuman berdasarkan SNI 01-7152-2006 yaitu 50 mg/sajian. Pekalongan mempunyai industri teh kering kemasan dengan merk yang beragam, sehingga diperlukan pengujian kadar kafein. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan kadar kafein pada teh kering kemasan produksi Industri teh di Pekalongan yang dianalisis dengan metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dan untuk mengetahui apakah semua merk sampel teh memenuhi persyaratan kadar maksimal kafein. Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan kadar kafein pada teh kering kemasan produksi industri teh di Pekalongan. Kadar kafeinya yaitu sebesar 1,753 mg/g (T1), 4,870 mg/g (T2), 5,157 mg/g (T3), 2,394 mg/g (T4), 3,601 mg/g (T5), 3,275 mg/g (T6), 3,900 mg/g (T7), 3,725 mg/g (T8), 7,048 mg/g (T9) dan 5,348 mg/g (T10). Kesepuluh merk sampel teh dalam takaran 5 gram tiap penyajian memiliki kadar kafein yang memenuhi persyaratan batas maksimal menurut SNI 01-7152-2006 yaitu sebesar 50mg/sajian.

Kata kunci : Teh, Pekalongan, Kafein, Batas Maksimal.

PENDAHULUAN

Teh adalah minuman yang sudah sangat dikenal dan disukai masyarakat dunia serta banyak dikonsumsi dalam kehidupan sehari-hari. Teh termasuk kedalam salah satu komoditi hasil perkebunan yang mempunyai peran pada perekonomian Indonesia ditunjang dengan perkebunan teh yang cukup luas dan jumlah produksinya yang besar (Ramadhani, 2013).

Teh (*Camellia sinensis*) merupakan tanaman yang termasuk kedalam famili *Theaceae* diyakini mempunyai manfaat untuk menurunkan kadar kolesterol, pengobatan diabetes, mengurangi risiko penyakit jantung, kanker, obesitas dan sebagainya. Kandungan senyawa kimia daun teh diantaranya yaitu senyawa aromatis, senyawa enzimatis, vitamin, mineral, protein, asam amino, resin, klorofil dan zat warna lain, senyawa golongan fenol, seperti katekin dan flavonol, senyawa golongan bukan fenol, seperti karbohidrat, pektin dan alkaloid. Adapun kandungan senyawa alkaloid utama dari teh salah satunya adalah senyawa kafein yang akan bereaksi dengan katekin membentuk senyawa yang menentukan nilai kesegaran dari seduhan teh (Towaha, 2013).

Kafein merupakan senyawa alkaloid dengan rumus senyawa kimia $C_8H_{10}N_4O_2$, dan rumus bangun 1,3,7-trimethylxanthine (Daswin, 2013). Kafein memiliki struktur kimia sebagaimana Gambar 1 dengan Massa molekul 194,19 Da. Kafein memiliki bentuk kristal padat dan dimorfik, memiliki rasa pahit, berwarna putih atau kekuningan dan tidak berbau. Penyerapan maksimum sinar ultraviolet 274 nm dalam bentuk larutan, dimana kelarutan kafein sangat baik dalam kloroform dan air dengan adanya pemanasan, sedikit larut dalam etanol dan tidak larut dalam eter (Koch and Widelski, 2017).

Konsumsi kafein dengan takaran atau dosis yang pas dapat memberikan manfaat untuk kesehatan, seperti diuretik, aktivitas positif pada SSP, astringen, analgesik yang lebih cepat jika dikombinasikan dengan *painkillers*, *antiasthmatic*, penambah sekresi asam dan pepsin, penambah metabolisme asam lemak bebas dan kadar glukosa plasma (Koch and Widelski, 2017). Manfaat kafein hanya dapat diperoleh jika pengonsumsiannya sesuai dengan anjuran dosis akan tetapi, kafein juga dapat menimbulkan efek samping jika dikonsumsi secara berlebihan yaitu menyebabkan gugup, tremor, kegelisahan, mual, hipertensi hingga kejang dan kematian (Arwangga, *et al.*, 2016). Menurut SNI 01-7152-2006 menyatakan bahwa ketentuan senyawa bioaktif kafein yang terkandung dalam produk

pangan minuman memiliki batas maksimum 50 mg/sajian dan 150 mg/hari. Adapun berdasarkan penelitian oleh Bylund (2016), dalam secangkir teh terdapat sekitar 50–70 mg kandungan kafein.

Manfaat teh dapat diperoleh dengan semakin mudah karena adanya beberapa jenis produk teh yaitu teh takaran besar, teh bubuk, dan teh kemasan siap minum (Fikri, 2017). Pekalongan mempunyai industri teh dengan merk yang beragam. Di Pekalongan, teh dengan wangi bunga melati adalah produk teh yang paling banyak diminati dan banyak diproduksi oleh pabrik maupun industri rumah tangga. Terdapat banyak merk teh kering kemasan produksi industri teh di Pekalongan, kafein yang terkandung di dalamnya juga dapat memiliki kadar yang berbeda karena dipengaruhi oleh banyak faktor dari tahap pemetikan teh hingga teh tersebut menjadi suatu produk. Mengingat terdapat batas pengonsumsi kafein dan adanya efek buruk yang ditimbulkan dari pengonsumsi kafein secara berlebihan serta belum ada penelitian mengenai analisis kadar kafein dalam masing-masing merk teh kering kemasan produksi pekalongan, maka diperlukan analisis kadar kafein pada teh kering kemasan produksi industri teh di Pekalongan dengan metode HPLC.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Chrismaaji (2018), metode HPLC dapat digunakan dalam penetapan kadar kafein. Metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) memiliki kecepatan dan kepekaan analisis yang tinggi. Penelitian yang dimuat dalam jurnal internasional, yaitu penelitian oleh Abbood (2017), Shrestha (2016), Theppakorn (2014) dan Luo (2012), juga membuktikan bahwa kadar kafein dapat dianalisis secara kuantitatif dengan menggunakan metode HPLC, maka metode ini dapat digunakan dalam analisis kadar kafein.

Analisis kadar kafein dalam teh ataupun produk teh dapat dilakukan dengan menggunakan metode HPLC yang merupakan jenis kromatografi dengan menggunakan fase gerak cair yang dialirkan melalui kolom sebagai fase diam menuju ke detektor dengan bantuan pompa dan menghasilkan kromatogram dari senyawa yang dianalisis (Suprianto, 2018). Analisis menggunakan HPLC ini dilakukan setelah diperoleh kafein dari sampel dalam bentuk murni, yang mana dalam penelitian ini dilakukan refluks untuk mendapatkan ekstrak yang mengandung kafein, dilakukan penarikan kafein dengan kloroform untuk mendapatkan fase kloroform yang mengandung kafein dan

kristalisasi untuk mendapatkan bentuk kristal kafein yang murni dari sampel.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya perbedaan kadar kafein pada teh kering kemasan produksi industri teh di Pekalongan yang dianalisis dengan metode HPLC dan untuk mengetahui kadar kafein dari kesepuluh merk teh yang memenuhi persyaratan batas maksimum kafein pada peraturan SNI 01-7152-2006.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat HPLC merk Shimadzu Fase terbalik LC-2010C dengan detector UV, kolom C₁₈ dimensi 250 x 4,6 mm dan ukuran pori 5 µm, spuit injeksi, seperangkat komputer, printer, spektrofotometri Uv-Vis, kuvet, neraca analitik, seperangkat alat refluk, *hot plate*, penyaring *micropore* 0,45 µm, kertas saring, kapas, pipet tetes, corong kaca, blender, ayakan mesh 40, kain flanel dan alat-alat gelas.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah sampel teh yang diproduksi di Pekalongan, dengan ijin P-IRT/BPOM. Sampel T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9 dan T10 yang diperoleh dari distributor, pasar tradisional dan *mini market* lokal di Kabupaten dan Kota Pekalongan. Metanol (pro HPLC), alkohol 96%, kloroform (pro analisis), aquabides, aquades, standar kafein (pro analisis), timbal (II) asetat, ammonia 21%, NaOH (pro analisis) dan reagen parry.

Metode

1. Penyerbukan sampel teh kering

Sampel teh dipisahkan dari campuran bunga melati dalam kemasan, kemudian ditimbang 200 gram untuk diblender dan diayak dengan ayakan mesh 40 sampai didapatkan serbuk halus.

2. Ekstraksi dengan metode refluks (Aufa, dkk., 2018, yang telah dimodifikasi)

Serbuk halus teh ditimbang sejumlah 20 gram dan dilarutkan dengan 140 mL aquadest, dimasukkan kedalam labu dasar bulat, direfluk dengan suhu 100 °C selama 60 menit. Campuran panas disaring dengan kain flanel warna putih, kemudian filtrat ditetesi sedikit demi sedikit larutan timbal (II) asetat 10% sebanyak 2 mL hingga terbentuk endapan. Setelah campuran dingin, dilakukan penyaringan kembali dan hasil

filtrat ditampung ke dalam gelas *beaker* dan dibasakan dengan NaOH 10 N hingga pH 9.

Filtrat yang diperoleh dimasukan kedalam corong pisah, kemudian diekstraksi dengan kloroform 10 mL berturut-turut sebanyak tiga kali, lalu fase kloroform ditampung dalam vial/wadah kaca tertutup rapat.

3. Kristalisasi sublimasi

Dalam tahapan ini digunakan rangkaian alat kristalisasi berupa cawan porselen berisikan ekstrak kafein (fase kloroform), ditutup dengan kertas saring dan corong kaca yang diletakan secara terbalik. Ujung corong kaca ditutup dengan tisu yang telah dibasahi dengan aquades, begitu juga bagian dinding corong kaca ditutup dengan tisu yang dibasahi dengan air dingin dan dijaga agar suhu tetap dingin. Suhu *hot plate* diatur sebesar 120 °C. Ditunggu hingga kristal kafein terbentuk yaitu kristal berwarna putih/putih kekuningan (Wilantari, dkk., 2018).

4. Analisis kualitatif kristal kafein (uji parry)

Uji parry dilakukan dengan cara sejumlah kristal dari masing-masing merk teh dilarutkan dalam alkohol, kemudian ditambahkan masing-masing 1 mL reagen parry dan 3 tetes ammonia 21%. Hasil menunjukkan positif terdapat kafein jika larutan berwarna hijau/biru tua (Lestari, 2017).

5. Pembuatan larutan induk kafein dengan konsentrasi 1.000 µg/mL

Sebanyak 50 mg kafein ditimbang seksama dan dilarutkan dalam labu ukur dengan aquabidest ad 50 mL.

6. Pembuatan larutan seri kafein

Larutan seri konsentrasi 25, 40, 50, 100, 150, 200 dan 250 µg/mL dibuat dengan mengambil larutan induk kafein sebanyak 125, 200, 250, 500, 750, 1.000 dan 1.250 µL, ditambah aquabidest dalam labu ukur hingga 5 mL, disonikasi selama 10 menit, lalu disaring dengan *micropore*,

7. Penentuan panjang gelombang maksimum kafein

Diukur serapan dari larutan seri konsentrasi 25, 40 dan 50 µg/mL dengan spektrofotometri Uv-Vis pada rentang panjang gelombang 225–325 nm. Ditentukan $\lambda_{\max}$ dengan melihat λ yang memberikan serapan (absorbansi) paling besar.

8. Penyiapan sampel dan fase gerak

Kristal dari masing-masing sampel dilarutkan dengan 3 mL aquabidest yang sudah disaring menggunakan *micropore*. Larutan dimasukan kedalam labu ukur

10 mL dan ditambahkan kan dengan aquabidest hingga tanda batas. Digojok hingga homogen, lalu disonikasi suhu kamar selama 10 menit menggunakan sonikator. Disaring dengan *micropore* dan dimasukan kedalam vial HPLC. Untuk pelarut metanol for HPLC juga dilakukan sonikasi.

9. Penyesuaian kondisi optimum HPLC

Detektor diatur pada panjang gelombang maksimum kafein, kemudian dialirkan fase gerak dengan kecepatan 1 mL/menit. Dilakukan *washing* (pembilasan dengan fase gerak) selama minimal 1 jam sebelum HPLC digunakan untuk menginjek dan saat HPLC menghasilkan profil kromatogram yang buruk. Dilakukan autozero untuk setiap penginjekan agar kurva dimulai dari titik nol. Spuit 20 µL untuk menginjek selalu dibersihkan dengan metanol for HPLC setiap setelah menginjek. Penginjekan dimulai dari baku kafein, dilanjutkan masing-masing sampel.

10. Pengamatan kromatogram/peak

Diamati bentuk peak kromatogram apakah simetris/asimetris. Diamati bentuk peak kromatogram apakah mengalami gangguan peak seperti *tailing* dan *fronting*. Disesuaikan pemilihan hasil dari sampel dengan hasil baku kafein.

11. Waktu retensi (t_R) dari baku kafein

Diamati waktu retensi baku kafein dan waktu retensi dari kesepuluh sampel. Dibandingkan waktu retensi keduanya. Kromatogram hanya digunakan sebagai output jika profil waktu retensi sama/mirip dengan baku kafein.

12. Pengamatan AUC (luas area kurva) dan regresi linier

Diamati AUC dari peak baku kafein dan masing-masing sampel. Dibuat kurva regresi linier antara konsentrasi dengan luas AUC baku kafein untuk memperoleh persamaan $y=bx+a$ menggunakan *output* regresi linier dari PC HPLC. Linieritas dapat dilihat dari besarnya nilai koefisien relasi (r).

13. Penetapan konsentrasi kafein sampel teh

Disubstitusikan nilai AUC dari replikasi masing-masing sampel kedalam persamaan regresi linier baku $y=bx+a$ yang diperoleh.

14. Penetapan kadar kafein sampel dengan HPLC

Kadar kafein dari masing-masing sampel dihitung menggunakan rumus kadar dan digunakan satuan mg tiap gram sampel (Chrismaaji, 2018).

$$\text{Kadar (b/b)} = \frac{C \times V \times FP}{g}$$

Keterangan :

C = Konsentrasi (µg/mL)

V = Volume akhir sampel (yang didapat) (mL)

FP = Faktor pengenceran

$$FP = \frac{\text{volume sebenarnya}}{\text{volume (satuan) injek}}$$

Analisis Data

Data yang diperoleh adalah data kadar kafein dengan dengan satuan b/b (mg/g) dari masing-masing sampel teh. Dilihat adanya perbedaan kadar kafein dari masing-masing sampel teh, serta dilihat apakah kesepuluh merk sampel teh memiliki kadar kafein yang sesuai dengan persyaratan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Serbuk Teh Kering

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah sepuluh merk produk teh kering dalam kemasan dengan wangi bunga melati. Kesepuluh merk sampel adalah produksi industri teh di Pekalongan baik industri pabrik maupun industri rumah tangga. Tidak semua isi digunakan, hanya bagian yang berasal dari tanaman teh saja, yaitu bagian daun dan batang muda teh. Adapun bunga melati dipisahkan dari campuran dan tidak digunakan. Kurang lebih 200g sampel teh kering diserbukan menggunakan mesin blender dan diayak menggunakan ayakan mesh 40. Mesh 40 menurut Said (2014) artinya terdapat 40 lubang tiap 1 inchi kasa ayakan. Sementara penyerbukan sampel ini dimaksudkan agar sampel teh memiliki ukuran sampel yang lebih kecil sehingga luas permukaan menjadi lebih besar dan zat-zat yang terkandung didalamnya lebih mudah terekstrak oleh pelarut (Prasetyowati, 2010).

Ekstraksi Metode Refluks

Ekstraksi merupakan proses penarikan kandungan kimia yang dapat larut dari suatu serbuk simplisia, sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut. Ekstraksi pada penelitian ini menggunakan seperangkat alat refluks. Bahan yang diekstrak adalah campuran dari sampel teh dan pelarut air yang dimasukan kedalam labu alas bulat satu leher dengan 8 buah pecahan keramik sebagai batu didih sederhana. Fungsi batu didih menurut Supaya (2019) yaitu untuk meratakan panas diseluruh bagian larutan dan untuk menghindari titik lewat didih dari pelarut aquadest. Pori-pori dalam batu didih membantu menangkap udara pada larutan, jika tanpa batu didih maka larutan akan mengalami kenaikan suhu secara berlebih pada bagian tertentu dan secara tiba-tiba dapat

mengeluarkan uap panas sehingga menimbulkan letupan buih (*bumping*).

Labu bulat disambungkan dengan kondensor yang telah dirakit dengan selang air pendingin. Labu dipanaskan dengan *mantel heating* suhu 100 °C sesuai dengan suhu didih pelarut air sampai mendidih selama waktu 60 menit. Penggunaan aquadest ini disesuaikan dengan kelarutan zat kafein yang mudah larut dalam air dengan adanya pemanasan pada tahap ekstraksi. Uap dari campuran aquadest dan sampel teh akan naik sampai kondensor (pendingin balik) dan terkondensasi kembali kedalam labu, begitu seterusnya sampai waktu ekstraksi selesai.

Ekstrak yang didapat berupa larutan encer berwarna coklat tua, sesuai dengan hasil ekstrak teh dari penelitian oleh Wilantari (2018) bahwa ekstrak teh berwarna kecoklatan. Ekstrak disaring menggunakan kain flanel putih agar didapatkan filtrat yang bebas dari residu teh yang tidak terlarut. Filtrat yang didapatkan sebanyak 60 mL dari total pelarut semula 140 mL. Hal ini disebabkan karena terdapat pelarut yang berperan membasahi pori-pori sampel sehingga serbuk sampel teh dapat mengembang dan mengeluarkan zat kafein dengan adanya pelarut yang panas (Kumalasari, 2020).

Filtrat dimasukkan kedalam gelas beaker dan ditambahkan larutan Timbal (II) Asetat 10% sebanyak 2 mL hingga terbentuk endapan putih, sesuai dengan hasil penelitian pengendapan tanin yang dilakukan oleh Laily (2017). Timbal (II) Asetat 10% merupakan larutan logam berat yang dalam penelitian berfungsi untuk mengendapkan protein, asam amino, zat warna dalam larutan ekstrak dan terutama dapat mengendapkan tanin yang banyak terkandung dalam ekstrak teh. Sebagaimana reaksi kimia pada Gambar 3.

Setelah penambahan Timbal (II) asetat, ekstrak kembali disaring dengan kain flanel putih. Hasil filtrat diukur pH nya menggunakan kertas pH. Didapatkan nilai pH filtrat yaitu pH 5 yang artinya ekstrak bersifat asam, sesuai dengan ketentuan sifat pH 1-6 = asam, 7 = netral dan 8-14 = basa (Wasito, 2017). Ekstrak ini dibasakan dengan larutan NaOH 10 N sampai pH 9. Penambahan NaOH digunakan untuk mengubah kafein pada ekstrak teh yang semula dalam bentuk garam yang larut air menjadi bentuk basa yang larut dalam kloroform. Pembasaan ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Yulius (2017).

Ekstrak teh yang telah dibasakan dilakukan penarikan kafein dengan 10 mL kloroform p.a sebanyak 3x pengulangan.

Penarikan dilakukan untuk menarik kafein kedalam kloroform sehingga didapatkan senyawa kafein yang lebih murni. Penarikan kafein dilakukan pada alat corong pisah dan dilakukan sebanyak 3x agar sisa kafein yang masih tertinggal dalam ekstrak air dapat tertarik secara maksimal. Kloroform ini dipilih karena kelarutan kafein yang sangat baik dalam kloroform, selain itu titik didih kloroform yang rendah yaitu 61-62 °C sehingga dapat menguap dengan pemanasan yang sedang pada proses kristalisasi sublimasi (Aufa, 2018).

Pada penarikan kafein dengan kloroform, terdapat 2 fase yaitu fase air yang berada diatas berwarna coklat tua dan fase kloroform yang berada dibawah bening hingga kekuningan. Perbedaan letak fase ini dikarenakan oleh bobot jenis kloroform yang lebih besar dari bobot jenis air. Fase kloroform ditampung dalam vial kaca dan ditutup rapat agar tidak menguap dalam suhu kamar. Fase kloroform dari masing-masing sampel T1-T10 ini berwarna bening sampai sedikit kekuningan, sesuai dengan hasil fase kloroform pada penelitian yang dilakukan oleh Aufa (2018) yaitu fase kloroform dari ekstrak teh berwarna sedikit kekuningan.

Kristalisasi Sublimasi

Kristalisasi adalah proses pembentukan kristal padat dari presipitasi larutan, didalamnya terjadi transfer massa zat terlarut (kafein) dari larutan (fase kloroform) untuk membentuk padatan kristal kafein (Yafi, 2015). Dalam tahapan ini digunakan rangkaian alat kristalisasi sederhana berupa cawan porselen berisikan fase kloroform dari ekstrak kafein, ditutup dengan corong kaca yang diletakan secara terbalik dan dilapisi kertas saring untuk mencegah penguapan kloroform. Ujung corong kaca ditutup dengan tisu yang telah dibasahi dengan aquadest, begitu juga bagian dinding corong kaca ditutup dengan tisu yang dibasahi dengan air dingin agar suhu tetap dingin.

Suhu *hot plate* diatur sebesar 120 °C. Pengaturan suhu ini didasarkan atas ketentuan suhu mikrosublimesi kafein yaitu suhu pemanasan diatas 110 °C karena harus melewati titik didih kafein agar kafein yang terdapat didalam fase kloroform berubah menjadi gas kemudian mengkristal (Firdaus, 2011). Kesepuluh merk sampel teh menghasilkan kristal (Tabel 1).

Kristal yang diperoleh berwarna putih kekuningan, warna ini sesuai dengan ketentuan warna kristal kafein pada penelitian yang dilakukan oleh Koch and Widelski (2017) yaitu warna putih hingga kekuningan.

Banyaknya kristal kafein yang dihasilkan menunjukkan banyaknya kafein yang terlarut dalam fase kloroform.

Analisis Kualitatif Kafein

Analisis kualitatif merupakan tahap awal dalam suatu penelitian fitokimia dimana dalam penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah kristal yang didapat adalah kristal kafein. Metode analisis kualitatif kafein dilakukan dengan melihat hasil reaksi pengujian warna dengan reagen parry. Keberadaan senyawa kafein ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru tua/hijau setelah penambahan alkohol dan ammonia (Lestari, 2017).

Kristal ini dilarutkan dengan alkohol 96%, diberi reagen parry dan 3 tetes NH_3 (ammonia) 21% untuk menghasilkan kompleks warna. Reagen parry dibuat dengan melarutkan cobalt nitrat ($\text{Co}(\text{NO}_3)_2$) dengan metanol. Ion cobalt dari cobalt nitrat memiliki muatan dua positif sehingga mengikat gugus nitrogen dari kafein dan membentuk kompleks dimana dalam penelitian ini dihasilkan kompleks berwarna hijau seperti pada gambar 5. Kompleks warna yang terbentuk memiliki reaksi kimia sebagaimana Gambar 6.

Pada analisis kualitatif kafein dengan reagen parry ini, standar kafein menghasilkan larutan berwarna hijau dan hijau sedikit kecoklatan. Sampel T1, T2, T3, T4, T6, T8 dan T9 menghasilkan larutan berwarna hijau, sedangkan sampel T5, T7 dan T10, menghasilkan larutan berwarna hijau sedikit kecoklatan (Tabel 2.). Hal ini dapat disebabkan karena pada saat uji kualitatif, jumlah kristal kafein dari 3 sampel teh tersebut lebih sedikit dibandingkan dengan yang lain. Penyebab lain dapat dimungkinkan bahwa saat pengambilan ammonia 21% menggunakan pipet tetes sama namun tetesannya lebih besar dibandingkan tetesan untuk sampel lain. Sesuai dengan hasil orientasi bahwa semakin banyak jumlah volume ammonia yang diberikan maka warna larutan akan semakin kecoklatan sesuai dengan hasil orientasi percobaan.

Larutan Induk dan Larutan Seri Kafein

Larutan induk merupakan larutan baku yang dibuat dengan konsentrasi tinggi. Larutan induk kafein dibuat dalam konsentrasi 1.000 $\mu\text{g/mL}$ dengan pelarut aquadest yang telah disaring menggunakan penyaring *micropore* agar terbebas dari pengotor. Pembuatan larutan induk kafein ini bertujuan untuk digunakan dalam pembuatan larutan seri kafein dengan konsentrasi yang lebih rendah. Pada pembuatan larutan induk maupun larutan

seri dilakukan penggojokan agar diperoleh larutan induk yang homogen.

Larutan seri konsentrasi 25, 50, 100, 150, 200 dan 250 $\mu\text{g/mL}$ dibuat dengan tujuan untuk menghasilkan kurva baku kafein sehingga dapat dilakukan perhitungan konsentrasi kafein sampel. Sementara seri konsentrasi 25, 40 dan 50 $\mu\text{g/mL}$ digunakan untuk penetapan panjang gelombang kafein menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Panjang Gelombang Maksimal Kafein

Pada penelitian ini dilakukan penetapan panjang gelombang maksimum (λ_{max}) kafein dalam pelarut aquadest dengan menentukan absorbansi (serapan) maksimal dari hasil pengukuran larutan kafein konsentrasi 25, 40 dan 50 $\mu\text{g/mL}$ menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Penetapan λ_{max} ini dilakukan karena pada λ_{max} memiliki kepekaan yang paling maksimal saat pengukuran absorbansi, sehingga λ_{max} ini dapat mengukur hingga perubahan yang besar dari absorbansi konsentrasi larutan sampel (Gandjar dan Rohman, 2014).

Nilai absorbansi dapat terbaca oleh spektrofotometer UV-Vis karena, pada struktur kimia senyawa kafein terdapat dua gugus yaitu gugus kromofor dan gugus auksokrom seperti pada Gambar 7. Gugus kromofor adalah gugus dari suatu molekul yang dapat menyerap radiasi UV pada spektrofotometer UV-Vis, sedangkan gugus auksokrom dapat meningkatkan penyerapan radiasi UV jika terikat dengan gugus kromofor, sehingga dapat mempengaruhi nilai λ_{max} suatu molekul (Chrismaaji, 2018).

Penentuan λ_{max} dilakukan pada rentang λ 225-325nm karena didasarkan literatur yang menyebutkan bahwa λ_{max} kafein adalah 274nm sesuai rentang λ tersebut (Koch and Widelski, 2017). Hasil pengukuran λ_{max} yang didapatkan adalah 273,5nm. Hasil ini mirip dengan hasil penelitian oleh Koch and Widelski (2017) λ_{max} kafein adalah 274nm. Dapat dilihat pada Tabel 3. konsentrasi kafein 50 $\mu\text{g/mL}$ menghasilkan absorbansi tertinggi yaitu 1,348. Hal ini menunjukkan bahwa dengan besar λ 273,5nm mampu mengukur absorbansi dari konsentrasi larutan kafein terendah hingga tertinggi. Nilai λ_{max} ini 0,5 lebih kecil dari nilai λ_{max} literatur, akan tetapi nilai tersebut masih dapat digunakan karena menurut Lloyd (2010), jika pengukuran λ memiliki selisih maksimal

3nm maka hasil pengukuran tetap dapat digunakan.

Sampel dan Fase Gerak

Sebelum dilakukan analisis menggunakan HPLC, semua total kristal kafein dari masing-masing sampel T1-T10 dilarutkan dengan aquabidest dan dihomogenkan. Baik larutan sampel maupun larutan seri konsentrasi yang telah dibuat, terlebih dahulu disonikasi menggunakan sonikator selama 10 menit dalam suhu 37 °C dengan tujuan agar zat didalam larutan dapat tercampur dengan sempurna sehingga memiliki kandungan zat yang homogen baik warna maupun kadar zat didalamnya. Sonikasi juga dilakukan pada fase gerak metanol for HPLC dalam wadah kaca. Larutan sampel dan larutan seri konsentrasi disaring dengan penyaring *micropore* yang memiliki ukuran pori sebesar 0,45 µm agar bebas dari pengotor. Adapun fase gerak metanol tidak perlu disaring karena penggunaannya sudah dikhususkan untuk HPLC sehingga murni tanpa pengotor.

High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Analisis kadar kafein teh kering kemasan produksi industri teh di Pekalongan ini dilakukan dengan metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) fase terbalik. Digunakan fase diam oktadesil silika C18 dan fase gerak metanol for HPLC dengan kecepatan alir 1 mL/menit. Detektor yang digunakan yaitu detektor UV dengan pengaturan panjang gelombang 274nm dan tidak digunakan panjang gelombang maksimal hasil pengukuran yaitu 273,5nm karena pengaturan instrumen HPLC yang digunakan tidak bisa menggunakan angka desimal.

Sebelum melakukan penginjekan, instrumen HPLC terlebih dahulu dilakukan *washing* kolom, yaitu pembilasan kolom dengan fase gerak. Pembilasan kolom ini dilakukan selama minimal 1 jam, *washing* juga dilakukan saat bentuk dari hasil peak kromatogram sudah mulai berubah menjadi lebih buruk. Penelitian ini, menggunakan analit dengan volume 20 µL. Setiap kali setelah penggunaan spuit harus dilakukan pembilasan dengan fase gerak agar tidak ada sisa analit yang tertinggal dan mikro spuit terjaga kebersihannya. Setelah analit sudah diinjekan maka, ditunggu hasil kromatogram keluar pada monitor.

Adapun penjabaran dari hasil analisis adalah sebagai berikut:

1. Kromatogram/peak

Kromatogram merupakan output dari kromatografi yang mana dalam penelitian ini berupa peak dari analit kafein. Peak yang didapat dari setiap penginjekan hanyalah satu buah peak. Hal ini menunjukkan bahwa kristal kafein yang didapat dari tahap sublimasi adalah kristal murni dan tidak ada satupun zat pengotor saat analit sampel diinjekan pada HPLC. Begitu juga untuk hasil peak dari seri konsentrasi standar kafein. Contoh bentuk peak yang dihasilkan dari analit sampel teh dan standar kafein pada gambar 8. dan 9.

Gambar 8. menunjukkan hasil peak standar kafein tanpa senyawa pengotor. Bentuk peak hampir simetris karena, sedikit *tailing*. Peak mulai terlihat pada sekitar menit ke-1,6, puncak peak terdeteksi pada sekitar menit ke-1,7 dan mengalami *tailing* hingga sekitar menit ke-2,1. Begitu juga untuk peak yang dihasilkan oleh analit.

Dari Gambar 8. dan 9, dapat dilihat bahwa bentuk peak hampir simetris dan mempunyai profil yang sama, walaupun peak mengalami *tailing*/pengekoran.

Komposisi fase gerak yang semula digunakan yaitu aquabidest : metanol (50:50) sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Iqbal (2019) dengan instrumen HPLC yang sama. Hasil yang didapatkan terdapat banyak peak yang muncul dan peak tidak simetris. Penggantian fase gerak lain juga dilakukan menggunakan fase gerak aquabidest dan fase gerak asetonitril, masing-masing keduanya belum menunjukkan hasil peak yang maksimal. Banyak peak yang terdeteksi dan bentuknya tidak simetris. Prosedur yang dilakukan sudah sesuai, terlebih prosedur penyaringan pelarut dengan penyaring *micropore* 0,45 µm agar didapatkan fase gerak yang bebas pengotor.

Dilakukan penggantian fase gerak menggunakan fase gerak yang murni dengan maksud agar tidak ada pengotor maupun gangguan bentuk peak yang tidak simetris. Fase gerak yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metanol murni for HPLC. Walaupun terdapat *tailing* bentuk peak akibat kolom yang telah kotor, akantetapi dari penggunaan fase gerak ini menghasilkan satu peak, yaitu peak kafein yang sesuai dengan waktu retensi standar kafein.

2. Waktu Retensi

Waktu retensi/waktu tambat adalah waktu yang dibutuhkan oleh analit dari kolom awal sampai ke detektor atau dapat diartikan sebagai selang waktu yang diperlukan oleh analit mulai saat injeksi sampai analit tersebut keluar dari kolom (Supriyanto, 2018). Waktu retensi yang dihasilkan dari standar kafein seri konsentrasi yaitu sekitar 1,74 menit sebagaimana pada Tabel 4. dengan standar deviasi/ varian data yang kecil yaitu 0,001 menit. Data ini masih memenuhi syarat variasi waktu retensi yaitu $\leq 0,05$ menit (Lloyd, 2010)

Waktu retensi sampel T1-T10 yang diperoleh dari penelitian ini yaitu sekitar 1,74 dan 1,75 menit. Waktu retensi ini mirip dengan waktu retensi standar kafein, sehingga dapat dikatakan bahwa waktu retensi sampel teh sesuai dengan waktu retensi standar kafein. Hal ini dapat diartikan bahwa peak yang terdeteksi pada waktu retensi tersebut adalah peak senyawa kafein dari sampel teh. Variasi data waktu retensi dari sampel T1-T10 juga memenuhi persyaratan karena, simpang bakunya yaitu 0,003 menit atau kurang dari nilai 0,05.

3. Luas Area (AUC) dan Regresi Linier

Penginjekan sampel pada HPLC menghasilkan salah satu nilai output yaitu nilai AUC. Luas area (AUC/ *Area Under Curve*) adalah suatu ukuran dari jumlah kafein dari analit yang diinjekan. AUC ini menunjukkan jumlah total kafein yang terdeteksi oleh detektor UV dari instrumen HPLC. Nilai AUC seri konsentrasi standar kafein yang digunakan, yaitu 25, 50, 100, 150, 200 dan 250 $\mu\text{g/mL}$ tertera pada Tabel 6. Hasil ini sesuai karena, menunjukkan semakin meningkatnya konsentrasi kafein maka semakin besar pula nilai AUC karena, semakin banyak kafein yang terdeteksi oleh detektor UV pada HPLC.

Nilai AUC dari seri konsentrasi standar kafein menentukan linieritas (r) seperti pada kurva standar kafein dalam Gambar 6. Linieritas metode yaitu ukuran seberapa baiknya suatu metode mendapatkan hasil uji yang proporsional. Linieritas juga dapat diartikan sebagai ukuran seberapa baik kurva baku yang menghubungkan antara respon (y) dengan konsentrasi (x), linieritas juga menentukan intersep (a), nilai kemiringan kurva/ slope (b) dan koefisien korelasi/nilai regresi (r) (Gandjar dan Rohman, 2012). Hasil linieritas dapat dilihat pada Gambar 10.

Dalam penelitian ini, persamaan regresi linier ($y = bx+a$) yang didapatkan adalah $y = 3967,51x + 34909,8$, dimana nilai $r = 0,9992$. Nilai r yang dihasilkan menunjukkan nilai yang baik sesuai dengan ketentuan nilai r literatur, dimana r yang baik harus bernilai $r \geq 0,99$. Hal ini menunjukkan hubungan peningkatan konsentrasi dan respon instrumen yang linier (AOAC, 2013).

Persamaan regresi linier yang didapatkan dari AUC seri konsentrasi standar kafein digunakan untuk mensubstitusikan nilai AUC analit sampel T1-T10. Nilai AUC dari replikasi kesepuluh sampel terlihat berbeda. Nilai AUC terkecil yaitu pada sampel T1 dan nilai AUC terbesar yaitu pada sampel T9. Nilai AUC ini akan menentukan konsentrasi kafein dari masing-masing sampel teh. Jika dilihat dari semakin naiknya seri konsentrasi standar kafein maka menghasilkan AUC yang semakin besar maka, dapat dimungkinkan bahwa konsentrasi kafein sampel T1 adalah yang paling rendah sementara T9 adalah yang paling tinggi.

4. Konsentrasi Kafein Pada Sampel Teh

Konsentrasi kafein pada masing-masing sampel teh diperoleh dari perhitungan nilai AUC tiap replikasi sampel yang disubstitusikan pada persamaan regresi linier yang didapatkan, yaitu $y = 3.967,51x + 34.909,8$. Masing-masing sampel memiliki konsentrasi kafein yang berbeda. Masing-masing total keseluruhan kristal kafein sari masing-masing sampel, dilarutkan dalam 10 mL pelarut aquadest, sementara dalam perhitungan konsentrasi hanya perhitungan tiap 1 mL. Oleh karena itu, konsentrasi yang sebenarnya untuk 20 g serbuk sampel teh adalah 10x lipat dari konsentrasi yang dihitung.

5. Kadar Kafein Sampel Teh Kering Kemasan Produksi Industri Teh Di Pekalongan

Kadar adalah banyaknya kandungan suatu senyawa dalam sampel. Kadar (b/b) kafein artinya berat kafein yang terkandung dalam tiap bobot sampel. Data kadar kafein pada Tabel 8. memiliki satuan kadar mg/g (miligram kafein/gram sampel). Dari kesepuluh merk sampel teh memiliki rata-rata kadar kafein yang berbeda sebagaimana Tabel 8.

Data hasil kadar dari tiga replikasi masing-masing sampel teh memiliki nilai variasi data yang kecil. Artinya data baik, dilihat dari nilai SD yang paling besar hanya sampel T4 yaitu sebesar 0,151. Adapun sampel T1 memiliki kadar kafein paling

rendah dan sampel T9 memiliki kadar kafein paling tinggi. Semakin rendah kandungan kafein dalam teh maka semakin baik kualitasnya. (Martono, 2015).

Dari kesepuluh kemasan sampel teh tidak terdapat saran penyajian, sehingga tidak terdapat takaran teh yang jelas dalam setiap penyajiannya. Jika takaran penyajian disesuaikan dengan kemasan teh kering yang paling kecil, yaitu kemasan 5 gram maka, dapat diperoleh rata-rata kadar kafein seperti pada Tabel 9.

Semua merk sampel teh dalam takaran 5 gram tiap penyajian, memiliki kadar kafein yang memenuhi persyaratan SNI 01-7152-2006 yang menyatakan bahwa ketentuan senyawa bioaktif kafein yang terkandung dalam produk pangan minuman memiliki batas maksimum 50 mg/sajian.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian Analisis Kadar Kafein Pada Teh Kering Kemasan Produksi Industri Teh di Pekalongan dengan Metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) fase terbalik menggunakan fase diam oktadesil silika C18, fase gerak metanol for HPLC dengan laju alir 1 mL/menit dan panjang gelombang 274 nm. Dapat diambil kesimpulan bahwa terdapat perbedaan kadar kafein pada teh kering kemasan produksi industri teh di Pekalongan kadarnya yaitu sebesar 1,753 mg/g (T1), 4,870 mg/g (T2), 5,157 mg/g (T3), 2,394 mg/g (T4), 3,601 mg/g (T5), 3,275 mg/g (T6), 3,900 mg/g (T7), 3,725 mg/g (T8), 7,048 mg/g (T9) dan 5,348 mg/g (T10). Semua merk sampel teh dalam takaran 5 gram tiap penyajian, memiliki kadar kafein yang memenuhi persyaratan batas maksimal menurut SNI 01-7152-2006 yaitu sebesar 50mg/sajian.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbood, A., & Aldiab, D. (2017). HPLC Determination of Caffeine in Some Beverages and Pharmaceutical Dosage Forms Available in Syrian Market. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*. 3 (10), 1174-1179.
- Arwangga, A.F., Asih, I.A.R.A., & Sudiarta, I.W. (2016). Analisis Kandungan Kafein pada Kopi di Desa Sesaot Narmada Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Kimia*. 1 (10), 110-114.
- AOAC. (2013). *Guidline for Dietary Supplements and Botanical*. Maryland, USA: Pharmaceutical Press.
- Aufa, dkk. (2018). Isolasi Kafein dari Teh Hitam (*Camellia sinensis*) Siap Seduh Merk X dengan Analisis Kualitatif Secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Spektrometer UV-Vis. Tegal : Program Studi S1 Farmasi STIKES Bhakti Mandala Husada Slawi. *Laporan Penelitian*.
- Bylund, D.B. (2016). Caffeine. NE, USA: University of Nebraska Medical Center. Doi: 10.1016/B978-0-12-801238-3.98866-4
- Chrismaaji, D.Y. (2018). Penetapan Kadar Kafein dalam Kopi Bubuk Murni Robusta Merk "X" dengan Metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) Fase Terbalik. Yogyakarta : Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma. *Skripsi*.
- Clara, M. (2018). Validasi Metode HPLC Fase Terbalik Pada Penetapan Kadar Kafein Dalam Kopi Bubuk Murni Robusta Merk X. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma. *Skripsi*.
- Daswin, N.B.T., dan Samosir, N.E. (2013). Pengaruh Kafein Terhadap Kualitas Tidur Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara. *E-Jurnal FK-USU*. 1(1).
- Fikri, M.E. (2017). Analisis Persaingan Merek Teh Dalam Kemasan di Indonesia. *Jurnal Manajemen Tools*. 2 (6), 111-120.
- Gandjar, I.G., dan Rohman, A. (2012). Analisis Obat Secara Spektrofotometri dan Kromatografi. Yogyakarta : Pustaka Pelajar.
- Gandjar, I.G., dan Rohman, A. (2013). Kimia Farmasi Analisis. Yogyakarta : Pustaka Pelajar.
- Iqbal, M., Bhat, M.A. & Shakeel, F. (2015). Development and Validation of UHPLC-MS/MS Assay for Rapid determination of A Carvone Schiff Base of Isoniazid (CSB-INH) in Rat Plasma: Application to Pharmacokinetic Study. *Biomedical Chromatography*. 6 (29), 876-882.

- Koch, W.A.K., and Widelski, J. (2017). Alkaloids. Lublin, Poland: Medical University of Lublin. Doi: 10.1016/B978-0-12-802104-0.00009-3.
- Kumalasari, M.L.F., & Andiarna, F. (2020). Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kemangi. *Indonesian Journal For Health Science*. 4 (1), 39-44.
- Lestari, N.A.P. (2017). Analisis Kafein Pada Minuman Kopi Instan Secara Spektrofotometri UV. Surakarta : Universitas Setia Budi. *KTI*.
- Lloyd, R. Snyder., Joseph, J. Kirkland., & John, W. Dolan. (2010). *Introduction to Modern Liquid Chromatography, Third Edt.* New Jersey: Wiley & Sons, Inc.
- Luo, M., & Peng, H. (2012). Study in Determination of Contents of the Main Components of Tea Polyphenols. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*. 6 (2), 433-437.
- Mutmainnah, N. (2017). Penentuan Suhu dan Waktu Penyeduhan Batang Teh Hijau Terhadap Kandungan Antioksidan Kafein, Tanin dan Katekin. Makassar: Fakultas Sains dan Teknologi UIN ALAUDDIN MAKASSAR. *Skripsi*.
- Prasetyowati, R.P., dan Tera, F. (2010). Pengambilan Minyak Biji Alpukat dengan Metode Ekstraksi. *Jurnal Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Sriwijaya*. 2 (17), 16-24.
- Said, M., Diah, A.W.M., & Mulyani, S. (2014). Sintesis Bioetanol Dari Jerami Padi Melalui Fermentasi. *Jurnal Akademia Kimia*. 3 (4), 178-182.
- Sherstha, S., Rijal, S.K., Pokhrel, P., & Rai, K.P. (2016). A Simple HPLC Method for Determination of Caffeine Content in Tea and Coffee. *Journal Food and Science Technology*. 9, 74-78.
- Supaya. (2019). Refdes Kombinasi Alat Refluks dan Distilasi, Upaya Efisiensi Proses Refluks dan Distilasi Untuk Praktikum Kimia Organik. *Indonesian Journal of Laboratory*. 2 (1), 41-46.
- Suprianto, Suprianto. (2018). Konsep Praktis High Performance Liquid Chromatography. Medan: Institut Kesehatan Helvetia. Doi:10.13140/RG.2.2.18909.10729.
- Towaha, J. (2013, Desember). Kandungan Senyawa Kimia pada Daun Teh (*Camelia sinensis*). *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*. 3 (19), 12-16.
- Theppakorn, T., Luthfivyyah, A., & Ploysri, K. (2014). Simultaneous Determination of Caffeine and 8 Catechins in Oolong Teas Produced in Thailand. *International Food Research Journal*. 5 (21), 2055-2061.
- Wilantari, P.D., dkk. (2018). Isolasi Kafein Dengan Metode Sublimasi dari Fraksi Etil Asetat Serbuk Daun Teh Hitam (*Camelia sinensis*). *Jurnal Farmasi Udayana*. 2 (7), 53-62.
- Yafi, A.E., Kh and Zein, H.E. (2015). Technical Crystallization For Application in Pharmaceutical Material Engineering. *International Journal of Pharmaceutical and Science*. 30 (2), 17-24.

LAMPIRAN

Tabel 1. Hasil kristal kafein pada sampel T1-T10

Nama sampel	Kristal kafein
T1	Ada
T2	Ada
T3	Ada
T4	Ada
T5	Ada
T6	Ada
T7	Ada
T8	Ada
T9	Ada
T10	Ada

Tabel 2. Hasil uji kualitatif kristal kafein dengan reagen parry

Nama sampel	Hasil
Standar kafein	++ / + (hijau/sedikit kecoklatan)
T1	++ (hijau)
T2	++ (hijau)
T3	++ (hijau)
T4	++ (hijau)
T5	+ (hijau sedikit kecoklatan)
T6	++ (hijau)
T7	+ (hijau sedikit kecoklatan)
T8	++ (hijau)
T9	++ (hijau)
T10	+ (hijau sedikit kecoklatan)

Tabel 3. Hasil pengukuran $\lambda_{\max}$ kafein

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Panjang gelombang (nm)	Absorbansi
25	273,5	0,344
40	273,5	0,813
50	273,5	1,348

Tabel 4. Hasil waktu retensi baku kafein

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Waktu retensi (menit)	SD
25	1,747	
50	1,746	
100	1,746	
150	1,747	
200	1,747	
250	1,744	
		0,001 menit

Tabel 5. Hasil waktu retensi sampel teh

Nama sampel	Waktu retensi (menit)				SD
	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rata-rata	
T1	1,743	1,744	1,746	1,744	0,003 menit
T2	1,748	1,749	1,746	1,747	
T3	1,747	1,748	1,752	1,749	
T4	1,751	1,754	1,751	1,752	
T5	1,753	1,754	1,753	1,753	
T6	1,755	1,754	1,755	1,755	
T7	1,754	1,757	1,757	1,756	
T8	1,752	1,753	1,753	1,753	
T9	1,754	1,752	1,752	1,753	
T10	1,752	1,753	1,752	1,752	

Tabel 6. Hasil luas area (AUC) dan regresi linier standar kafein

Konsentrasi (µg/mL)	AUC	Persamaan regresi linier
25	125443	$y = bx + a$ $y = 3967,51x + 34909,8$
50	235760	
100	441283	
150	623833	
200	841006	
250	1016957	
b	3967,51	
a	34909,8	
r	0,9992197	

Tabel 7. Hasil luas area (AUC) sampel teh

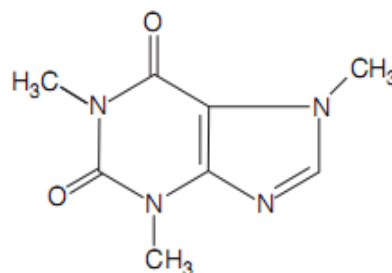
Nama Sampel	AUC				SD
	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rata-rata	
T1	267802	282233	250472	266836	12984,37
T2	681087	679107	676985	679060	1674,969
T3	712473	723299	715251	717008	4590,931
T4	331140	352928	370887	351652	16251,72
T5	505374	508575	519968	511306	6263,046
T6	466883	458537	478820	468080	8323,646
T7	562968	548368	540878	550738	9172,593
T8	526743	524558	531479	527593	2888,755
T9	970973	968904	961152	967010	4227,244
T10	754557	731312	740773	742214	9544,278

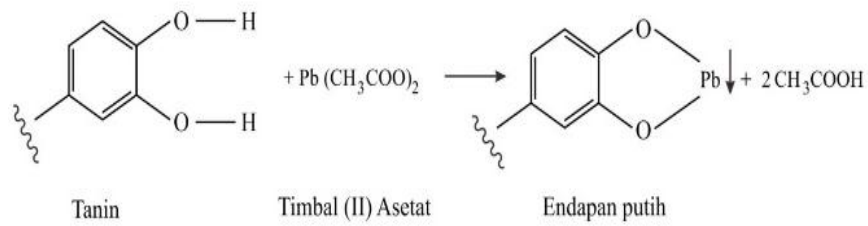
Tabel 8. Hasil kadar kafein sampel T1-T10

Nama Sampel	Kadar kafein				
	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rata-rata	SD
T1	1,761	1,870	1,629	1,753	0,120
T2	4,886	4,871	4,854	4,870	0,016
T3	5,123	5,205	5,144	5,157	0,042
T4	2,239	2,404	2,540	2,394	0,151
T5	3,557	3,581	3,667	3,601	0,058
T6	3,266	3,203	3,356	3,275	0,076
T7	3,993	3,882	3,826	3,900	0,085
T8	3,719	3,702	3,755	3,725	0,027
T9	7,078	7,062	7,004	7,048	0,039
T10	5,442	5,266	5,337	5,348	0,089

Tabel 9. Rata-rata kadar kafein/5g penyajian

Nama sampel	Rata-rata kadar kafein tiap 5 gram takaran penyajian
T1	8,765 mg
T2	24,350 mg
T3	25,785 mg
T4	11,970 mg
T5	18,005 mg
T6	16,375 mg
T7	19,500 mg
T8	18,625 mg
T9	35,240 mg
T10	26,740 mg

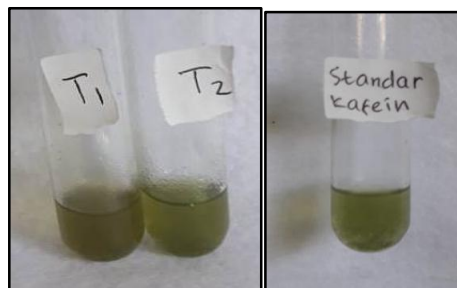
**Gambar 1. Struktur Kimia Kafein**
(Koch and Widelski, 2017)**Gambar 2. Teh Kering Kemasan Produksi Industri**
Teh di Pekalongan
Sumber : Dokumentasi Pribadi



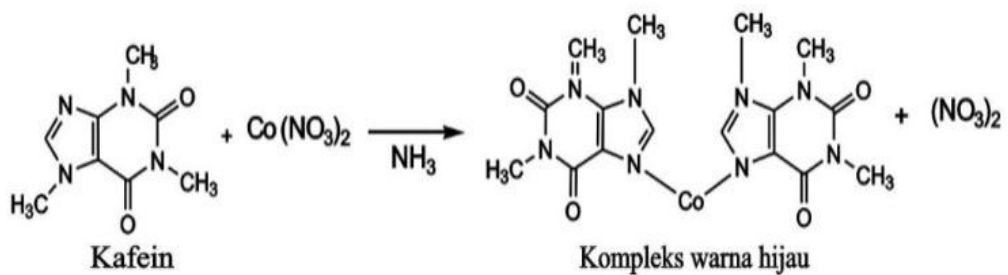
Gambar 3. Reaksi kimia tanin dengan timbal (II) asetat (Laily, 2017)



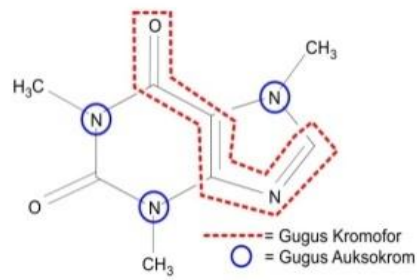
Gambar 4. Kristal kafein sampel



Gambar 5. Kompleks warna hijau dari uji parry kafein

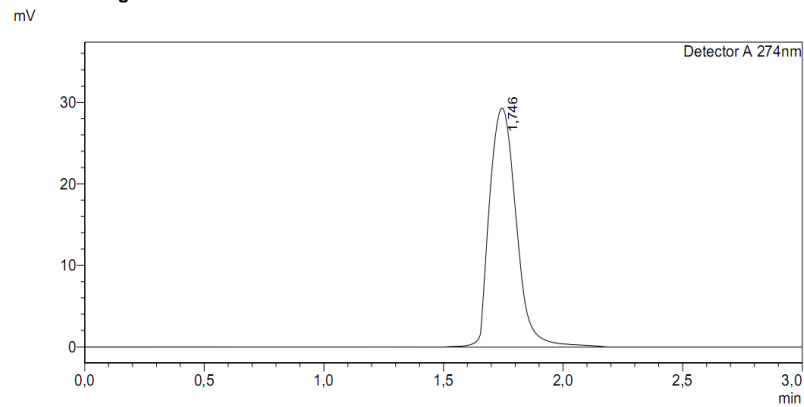


Gambar 6. Reaksi kimia kafein dengan reagen parry (Mutmainnah, 2017)



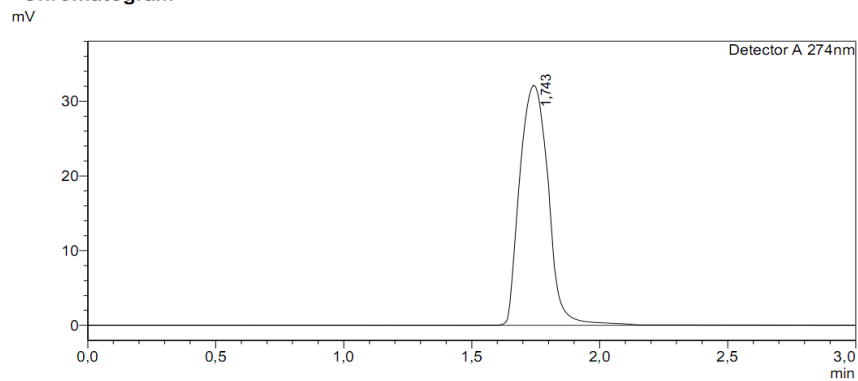
Gambar 7. Gugus kromofor dan auksokrom pada struktur kimia senyawa kafein (Clara, 2018)

<Chromatogram>

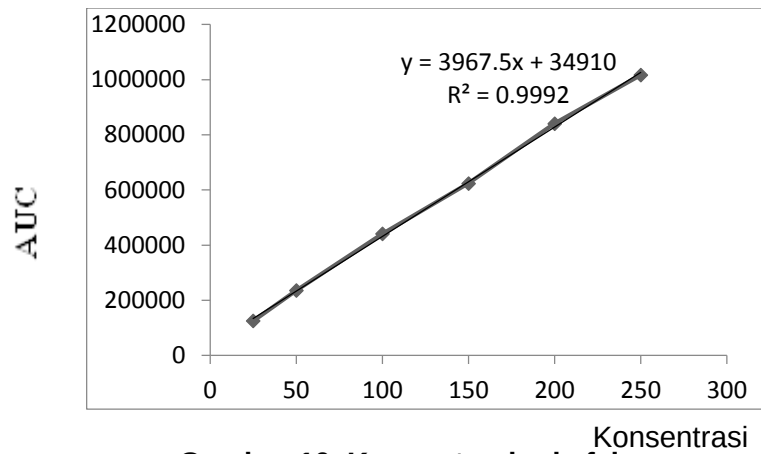


Gambar 8. Contoh peak kromatogram dari standar kafein konsentrasi 50 µg/ml

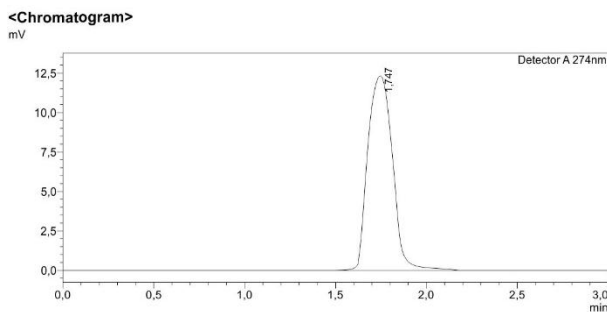
<Chromatogram>



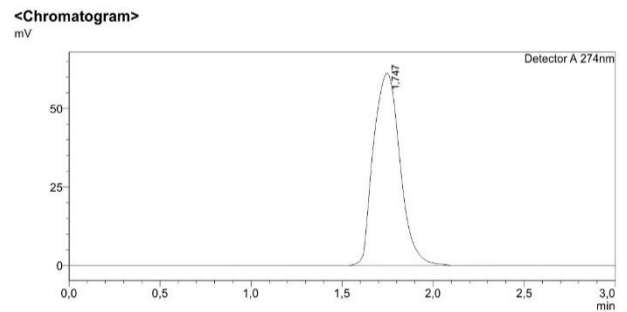
Gambar 9. Contoh peak kromatogram dari sampel T1 replikasi 1



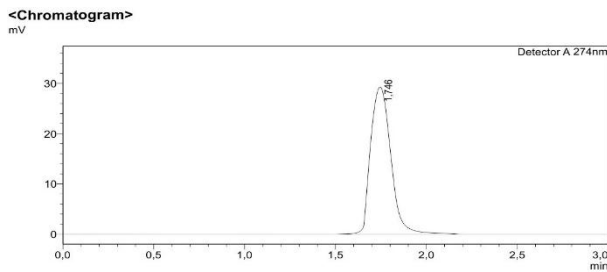
Gambar 10. Kurva standar kafein



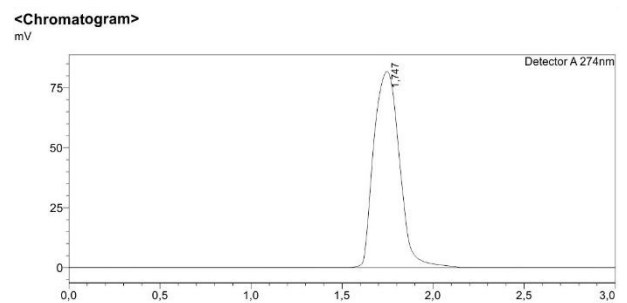
Gambar 11. Peak Standar Kafein 25 µg/mL



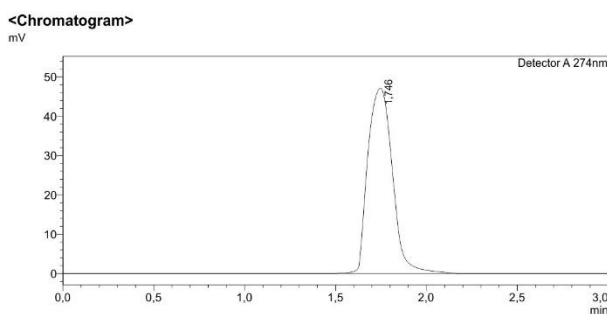
Gambar 14. Peak Standar Kafein 150 µg/mL



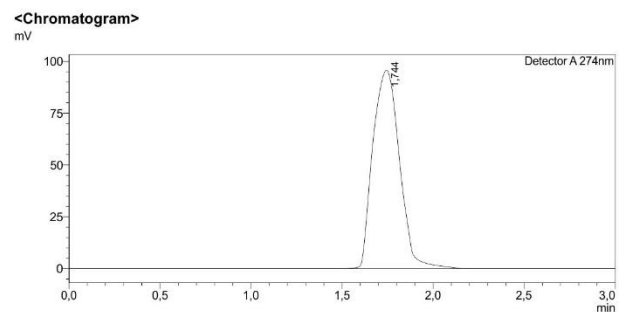
Gambar 12. Peak Standar Kafein 50 µg/mL



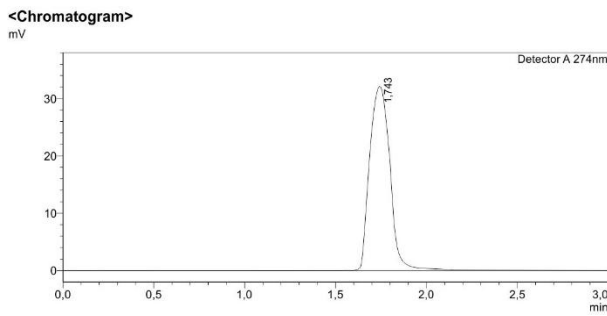
Gambar 15. Peak Standar Kafein 200 µg/mL



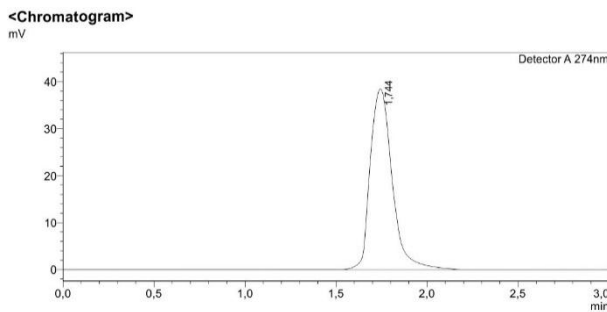
Gambar 13. Peak Standar Kafein 100 µg/mL



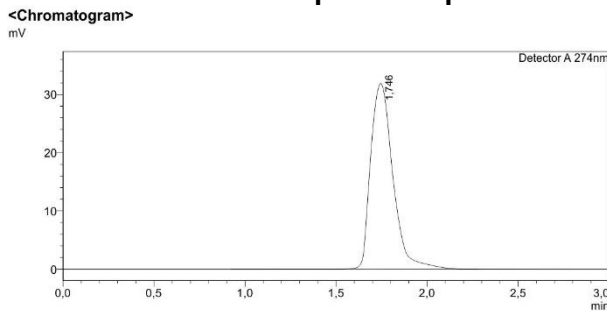
Gambar 16. Peak Standar Kafein 250 µg/mL



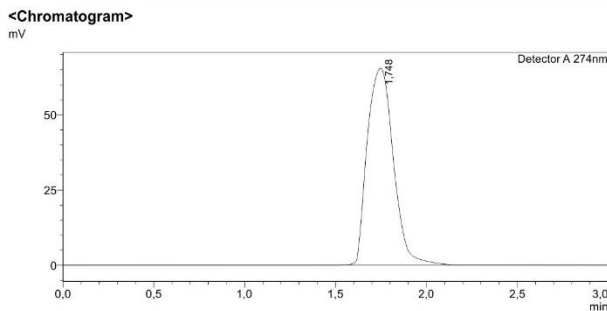
Gambar 17. Peak Sampel T1 Replikasi 1



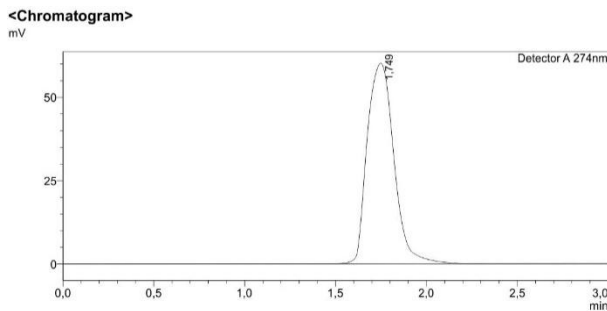
Gambar 18. Peak Sampel T1 Replikasi 2



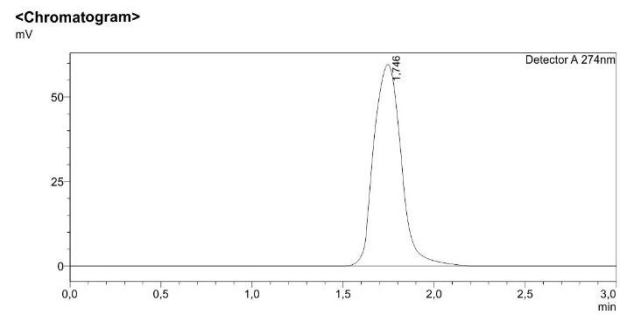
Gambar 19. Peak Sampel T1 Replikasi 3



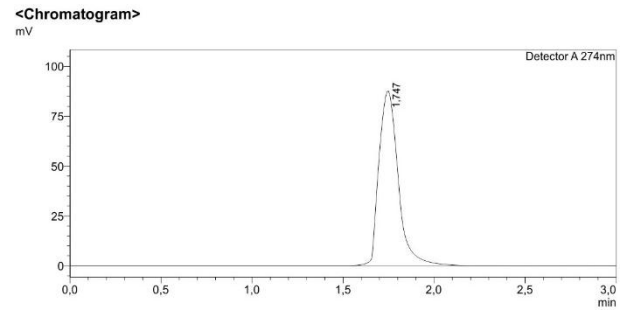
Gambar 20. Peak Sampel T2 Replikasi 1



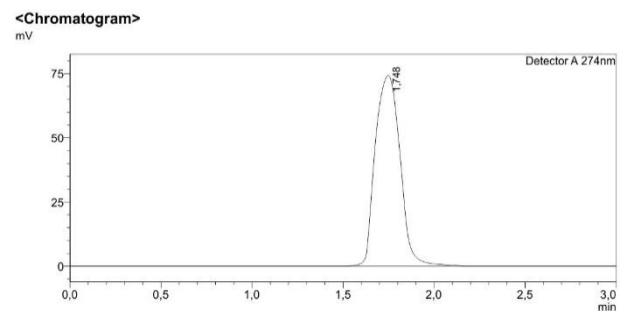
Gambar 21. Peak Sampel T2 Replikasi 2



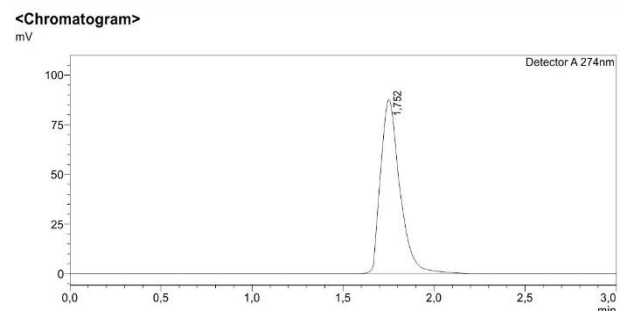
Gambar 22. Peak Sampel Replikasi 3



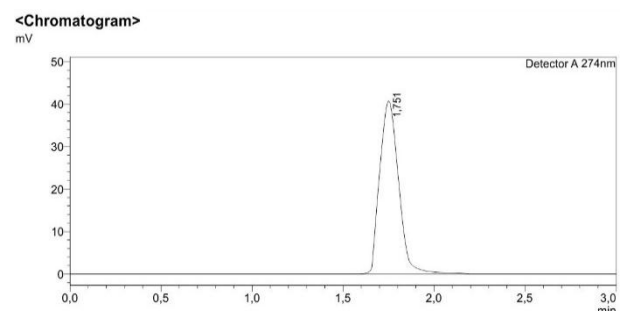
Gambar 23. Peak Sampel T3 Replikasi1



Gambar 24. Peak Sampel T3 Replikasi 2

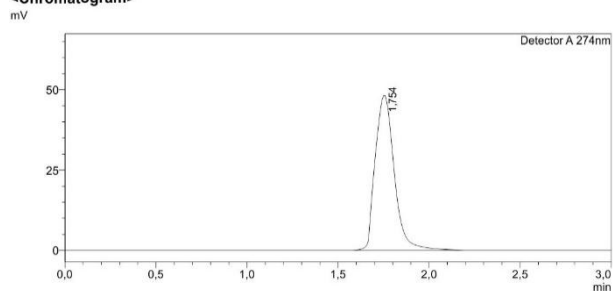


Gambar 25. Peak Sampel T3 Replikasi 3

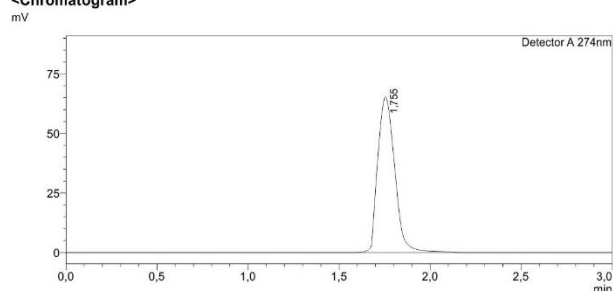


Gambar 26. Peak Sampel T4 Replikasi 1

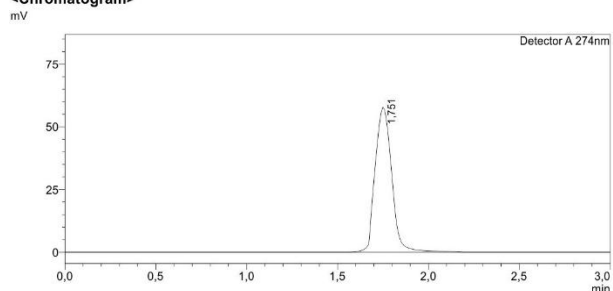
<Chromatogram>

**Gambar 27. Peak Sampel T4 Replikasi 2**

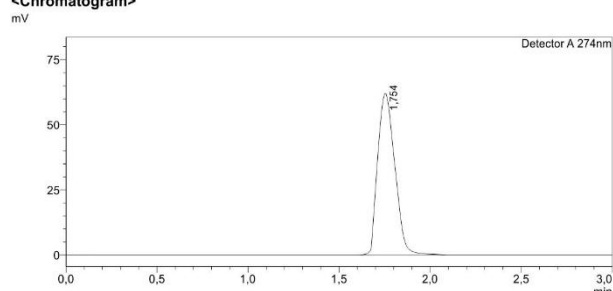
<Chromatogram>

**Gambar 32. Peak Sampel T6 Replikasi 1**

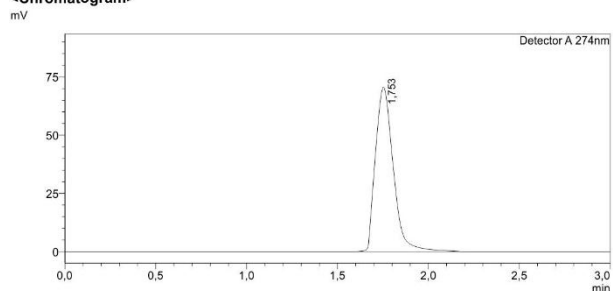
<Chromatogram>

**Gambar 28. Peak Sampel T4 Replikasi 3**

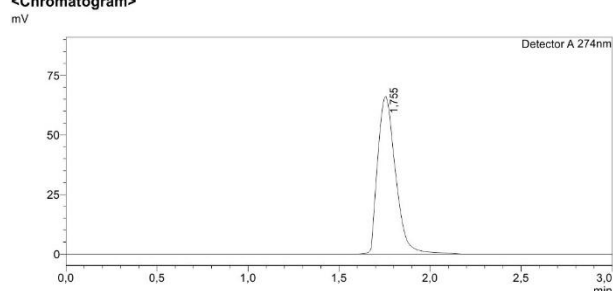
<Chromatogram>

**Gambar 33. Peak Sampel T6 Replikasi 2**

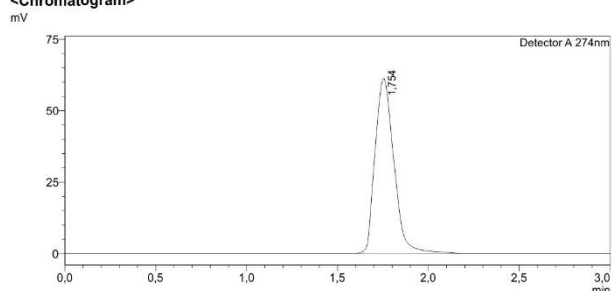
<Chromatogram>

**Gambar 29. Peak Sampel T5 Replikasi 1**

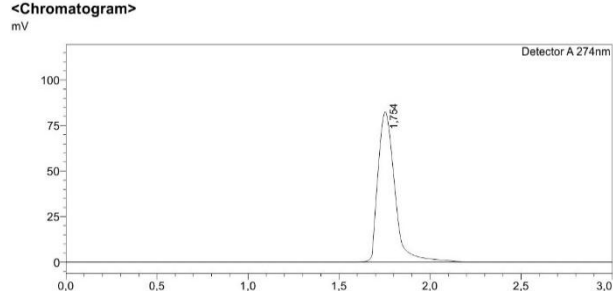
<Chromatogram>

**Gambar 34. Peak Sampel T6 Replikasi 3**

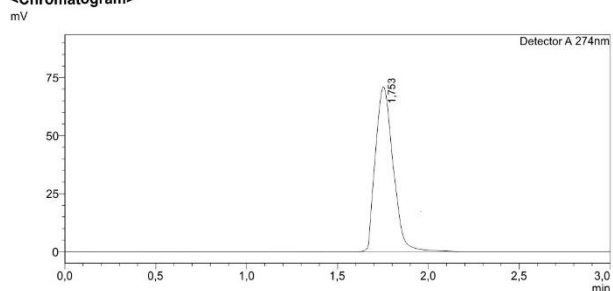
<Chromatogram>

**Gambar 30. Peak Sampel T5 Replikasi 2**

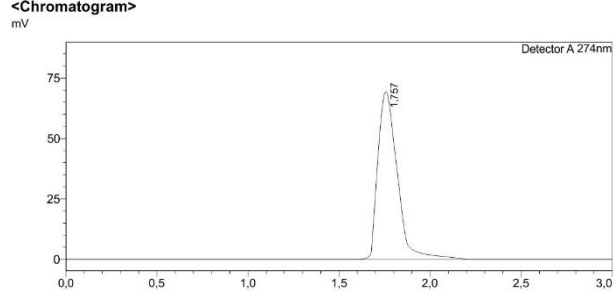
<Chromatogram>

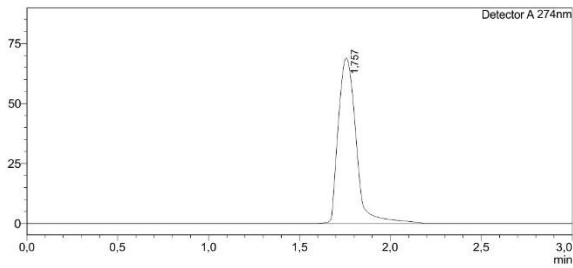
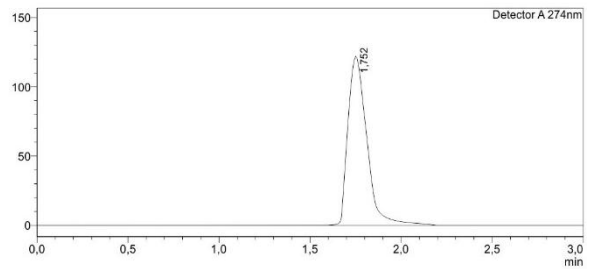
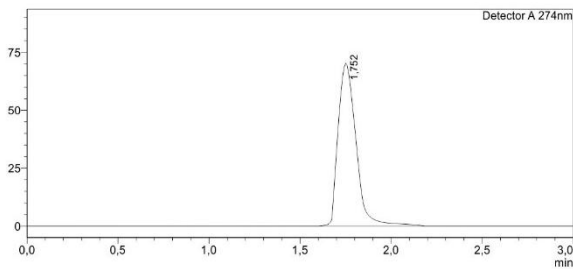
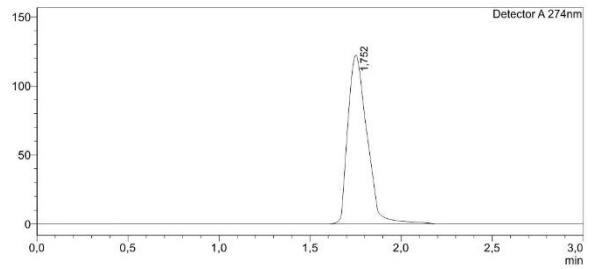
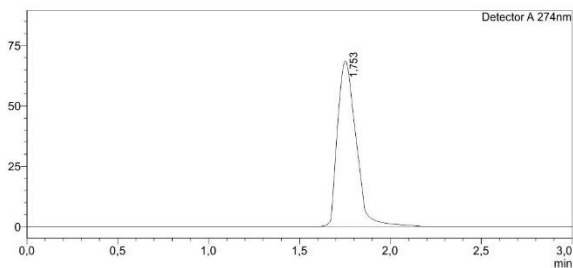
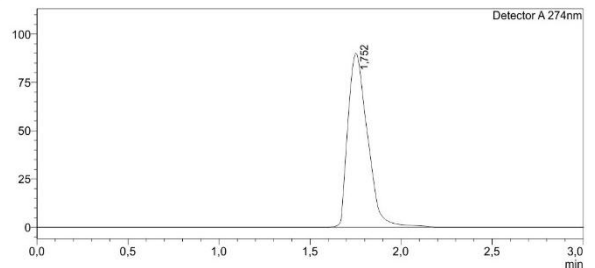
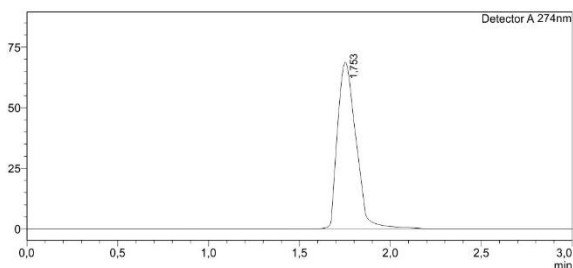
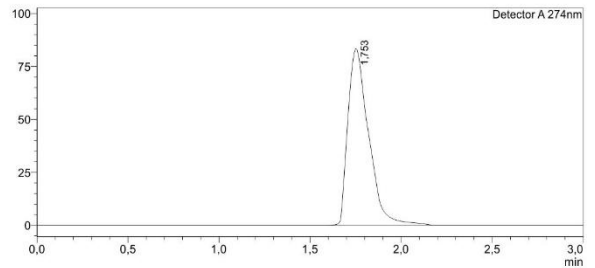
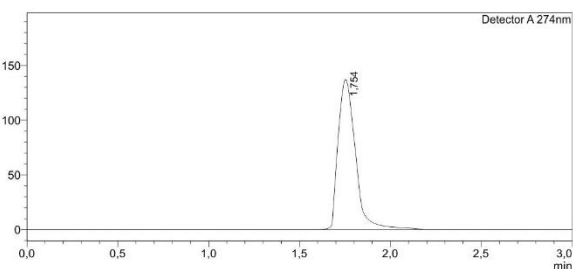
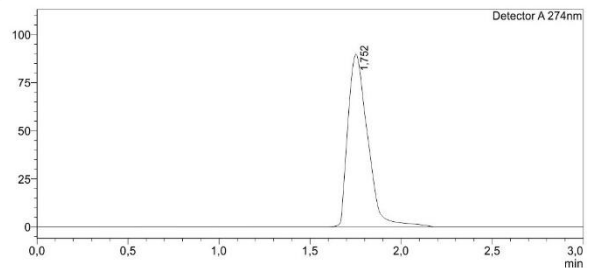
**Gambar 35. Peak Sampel T7 Replikasi 1**

<Chromatogram>

**Gambar 31. Peak Sampel T5 Replikasi 3**

<Chromatogram>

**Gambar 36. Peak Sampel T7 Replikasi 2**

<Chromatogram>
mV**Gambar 37. Peak Sampel T7 Replikasi 3**<Chromatogram>
mV**Gambar 42. Peak Sampel T9 Replikasi 2**<Chromatogram>
mV**Gambar 38. Peak Sampel T8 Replikasi 1**<Chromatogram>
mV**Gambar 43. Peak Sampel T9 Replikasi 3**<Chromatogram>
mV**Gambar 39. Peak Sampel T8 Replikasi 2**<Chromatogram>
mV**Gambar 44. Peak Sampel T10 Replikasi 1**<Chromatogram>
mV**Gambar 40. Peak Sampel T8 Replikasi 3**<Chromatogram>
mV**Gambar 45. Peak Sampel T10 Replikasi 2**<Chromatogram>
mV**Gambar 41. Peak Sampel T9 Replikasi 1**<Chromatogram>
mV**Gambar 46. Peak Sampel T10 Replikasi 3**