

PENETAPAN KADAR KAFEIN DALAM BUBUK KOPI *EXCELSA* (*Coffea liberica* var. *dewevrei*) DENGAN METODE *REVERSE PHASE-HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY*

Skripsi

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi S1 Farmasi



Diajukan Oleh:
Febby Caroline Tarihoran
NIM : 228114102

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SANATA DHARMA
YOGYAKARTA
2026**

SKRIPSI

PENETAPAN KADAR KAFEIN DALAM BUBUK KOPI *EXCELSA* (*Coffea liberica* var. *dewevrei*) DENGAN METODE *REVERSE PHASE-HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY*

Disusun oleh:
Febby Caroline Tarihoran
NIM: 228114102

telah disetujui oleh Pembimbing

Pembimbing Utama



(apt. Michael Raharja Gani, M.Farm)

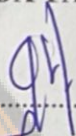
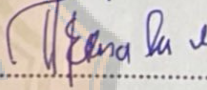
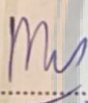
8 Juli 2026

SKRIPSI

PENETAPAN KADAR KAFEIN DALAM BUBUK KOPI (*Coffea liberica* var.
dewevrei) DENGAN METODE REVERSE PHASE-HIGH PERFORMANCE
LIQUID CHROMATOGRAPHY

Dipersiapkan dan ditulis oleh:
Febby Caroline Tarihoran
NIM: 228114102

SUSUNAN TIM PENGUJI

JABATAN	NAMA LENGKAP	TANDA TANGAN
Ketua merangkap anggota	Dr. Apt. Christine Patramurti	
Sekretrasi merangkap anggota	Dr. Apt. Erna Tri Wulandari	
Anggota	apt. Michael Raharja Gani, M.Farm	

Yogyakarta, 8 Juli 2026

Fakultas Farmasi
Universitas Sanata Dharma



Dekan,

Dr. Apt Dewi Setyaningsih, M.Sc.

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang saya tulis ini tidak memuat karya atau bagian karya orang lain, kecuali yang telah disebutkan dalam kutipan dan daftar pustaka dengan mengikuti ketentuan sebagaimana layaknya karya ilmiah.

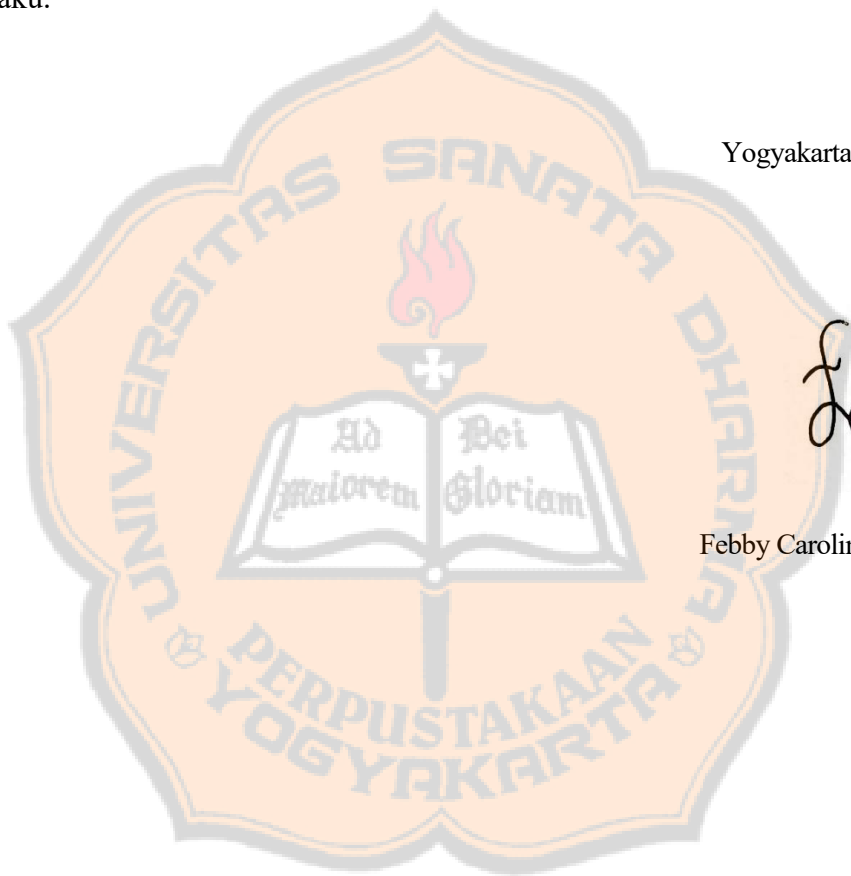
Apabila di kemudian hari ditemukan indikasi plagiarisme dalam naskah ini, saya bersedia menanggung segala sanksi sesuai peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Yogyakarta, 8 Juli 2026

Penulis,



Febby Caroline Tarihoran



**LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPERLUAN AKADEMIS**

Yang bertanda tangan dibawah ini, saya mahasiswa Universitas Sanata Dharma:

Nama : Febby Caroline Tarihoran

Nomor Mahasiswa : 228114102

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya memberikan kepada Perpustakaan Universitas Sanata Dharma karya ilmiah yang berjudul:

“PENETAPAN KADAR KAFEIN DALAM BUBUK KOPI *EXCELSA (Coffea liberica var. dewevrei)* DENGAN METODE *REVERSE PHASE-HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY*”

Beserta perangkat yang diperlukan (bila ada). Dengan demikian saya memberikan kepada Perpustakaan Universitas Sanata Dharma hak untuk menyimpan, mengalihkan dalam bentuk media lain, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data, mendistribusikan, dan mempublikasikannya di internet atau media lain secara ***Fulltext/Tidak Full-text**** untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta izin dari saya maupun memberikan royalti kepada saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis.

Atas kemajuan teknologi informasi, saya tidak berkeberatan jika nama, tanda tangan, gambar atau image yang ada di dalam karya ilmiah saya terindeks oleh mesin pencari (*search engine*), misalnya *google*.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di Yogyakarta

Pada tanggal: 8 Juli 2026

Yang menyatakan,



Febby Caroline Tarihoran

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala kasih, penyertaan, berkat, dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Penetapan Kadar Kafein pada Kopi Bubuk Excelsa (*Coffea liberica* var. *dewevrei*) Menggunakan Metode *Reverse Phase - High Performance Liquid Chromatography*" dengan baik. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma.

Penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan, bimbingan, doa, serta dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Ibu Dr. Apt Dewi Setyaningsih, M.Sc. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.
2. Bapak Dr. Florentinus Dika Octa Riswanto, M.Sc. Selaku Ketua Program Studi Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.
3. Bapak apt. Michael Raharja Gani, M.Farm. selaku Dosen Pembimbing yang telah meluangkan waktu, memberikan bimbingan, arahan, kritik, dan saran dengan penuh kesabaran selama proses penelitian dan penyusunan skripsi.
4. Ibu Dr. apt. Christine Patramurti selaku Dosen Pengujiiyang telah memberikan kritik, saran, masukan, dan arahan yang membangun sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan lebih baik.
5. Ibu Dr. apt. Erna Tri Wulandari selaku Dosen Penguji yang telah memberikan kritik, saran, masukan, dan arahan yang membangun sehingga skripsi ini

dapat diselesaikan dengan lebih baik.

6. Pak Bimo (Laboran Laboratorium Kimia Instrumentasi) dan Pak Wagiran (Laboran Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia) yang bersedia membantu selama penyelesaian skripsi ini.
7. Staf Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Ahmad Dahlan (UAD) Yogyakarta yang telah memberikan izin, fasilitas, serta bantuan selama pelaksanaan penelitian.
8. Bapak dan Ibu terkasih, Reston Tarihoran dan Simatupang Betty Christina yang senantiasa mendoakan, memberikan kasih sayang, dukungan, semangat, serta pengorbanan yang tulus dalam setiap langkah penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
9. Adik-adikku tersayang, Glen Partogi Tarihoran dan Imelda Tarihoran yang selalu memberikan doa, semangat, dukungan, serta keceriaan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
10. Sahabatku terkasih, Tia Aura Caroline yang senantiasa memberikan doa, dukungan, semangat, motivasi, serta selalu hadir untuk mendengarkan keluhan dan memberikan dorongan kepada penulis selama proses penelitian hingga penyusunan skripsi ini.
11. Teman penelitian penulis, Enji yang telah menjadi rekan berdiskusi, saling membantu, berbagi pengetahuan, serta memberikan dukungan dan semangat selama proses penelitian hingga penyusunan skripsi ini dapat diselesaikan.
12. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu yang telah memberikan bantuan, dukungan, doa, serta kontribusi dalam berbagai bentuk sehingga penelitian dan penyusunan skripsi ini dapat diselesaikan dengan

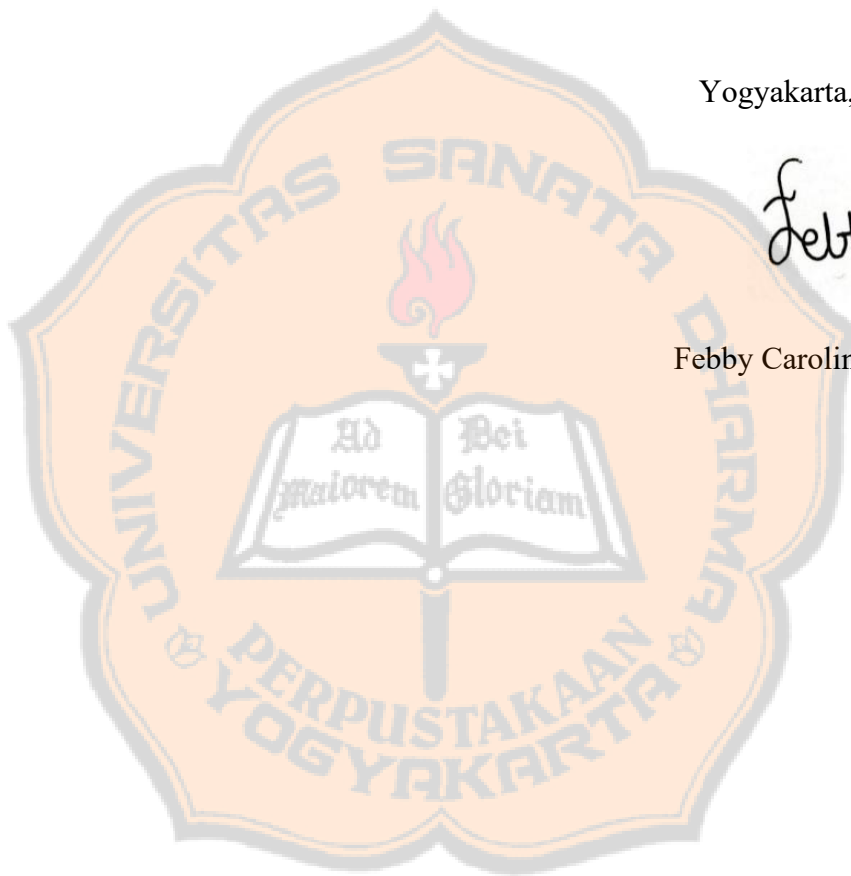
baik.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan demi penyempurnaan karya ini di masa yang akan datang. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat serta menambah wawasan dan kontribusi bagi perkembangan ilmu pengetahuan, terutama dalam bidang farmasi.

Yogyakarta, 8 Juli 2026



Febby Caroline Tarihoran



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN PEMBIMBING	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA	iv
LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
ABSTRAK.....	xv
<i>ABSTRACT</i>	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Ruang Lingkup Masalah.....	3
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Tinjauan Pustaka.....	6
2.2 Landasan Teori	12
2.3 Keterangan Empiris	13
BAB III METODE PENELITIAN.....	14

3.1	Rancangan Penelitian.....	14
3.2	Variabel dan Definisi Operasional.....	14
3.3	Bahan Penelitian	15
3.4	Alat atau Instrumen.....	16
3.5	Tata Cara Penelitian.....	16
3.6	Analisis Hasil.....	18
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		20
4.1	Pembuatan Kurva Baku Kafein	20
4.2	Preparasi Sampel.....	23
4.3	Identifikasi Kafein Berdasarkan Waktu Retensi.....	26
4.4	Penetapan Kadar.	28
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....		31
5.1	Kesimpulan.....	31
5.2	Saran	31
DAFTAR PUSTAKA		32
LAMPIRAN.....		37
BIOGRAFI PENULIS.		51

DAFTAR TABEL

Tabel I	Data Linieritas Seri Konsentrasi Baku Kafein.	22
Tabel II	Identifikasi Waktu Retensi dan <i>Tailing Factor</i>	27
Tabel III	Hasil Perhitungan Kadar Kafein Dalam Sampel Kopi.	29



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1	Struktur Kimia Kafein.	8
Gambar 2	Grafik Kurva Baku Kafein Replikasi 3	22
Gambar 3	Reaksi Pembentukan Koloid.....	24
Gambar 4	Reaksi Pelepasan Kafein Ke Bentuk Basa.....	25



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	<i>Certificate of Analysis</i> Baku Kafein	37
Lampiran 2	<i>Certificate of Analysis</i> Kolom 18	38
Lampiran 3	Perhitungan Larutan Induk dan Seri Kafein	39
Lampiran 4	Kromatogram Baku Kafein Replikasi III Konsentrasi 4 ppm	40
Lampiran 5	Kromatogram Baku Kafein Replikasi III Konsentrasi 6 ppm	40
Lampiran 6	Kromatogram Baku Kafein Replikasi III Konsentrasi 8 ppm	41
Lampiran 7	Kromatogram Baku Kafein Replikasi III Konsentrasi 10 ppm	41
Lampiran 8	Kromatogram Baku Kafein Replikasi III Konsentrasi 12 ppm	42
Lampiran 9	Kromatogram Baku Kafein Replikasi III Konsentrasi 14 ppm	42
Lampiran 10	Kromatogram Baku Kafein Replikasi III Konsentrasi 16 ppm	43
Lampiran 11	Kromatogram Standar Kafein	43
Lampiran 12	Kromatogram Sampel Replikasi 1 Pengambilan 1	44
Lampiran 13	Kromatogram Sampel Replikasi 1 Pengambilan 2	44
Lampiran 14	Kromatogram Sampel Replikasi 2 Pengambilan 1	45
Lampiran 15	Kromatogram Sampel Replikasi 2 Pengambilan 2	45
Lampiran 16	Kromatogram Sampel Replikasi 3 Pengambilan 1	46
Lampiran 17	Kromatogram Sampel Replikasi 3 Pengambilan 2	46
Lampiran 18	Kromatogram Sampel Replikasi 4 Pengambilan 1	47
Lampiran 19	Kromatogram Sampel Replikasi 4 Pengambilan 2	47
Lampiran 20	Kromatogram Sampel Replikasi 5 Pengambilan 1	48
Lampiran 21	Kromatogram Sampel Replikasi 5 Pengambilan 2	48
Lampiran 22	Kromatogram Sampel Replikasi 6 Pengambilan 1	49
Lampiran 23	Kromatogram Sampel Replikasi 6 Pengambilan 2	49

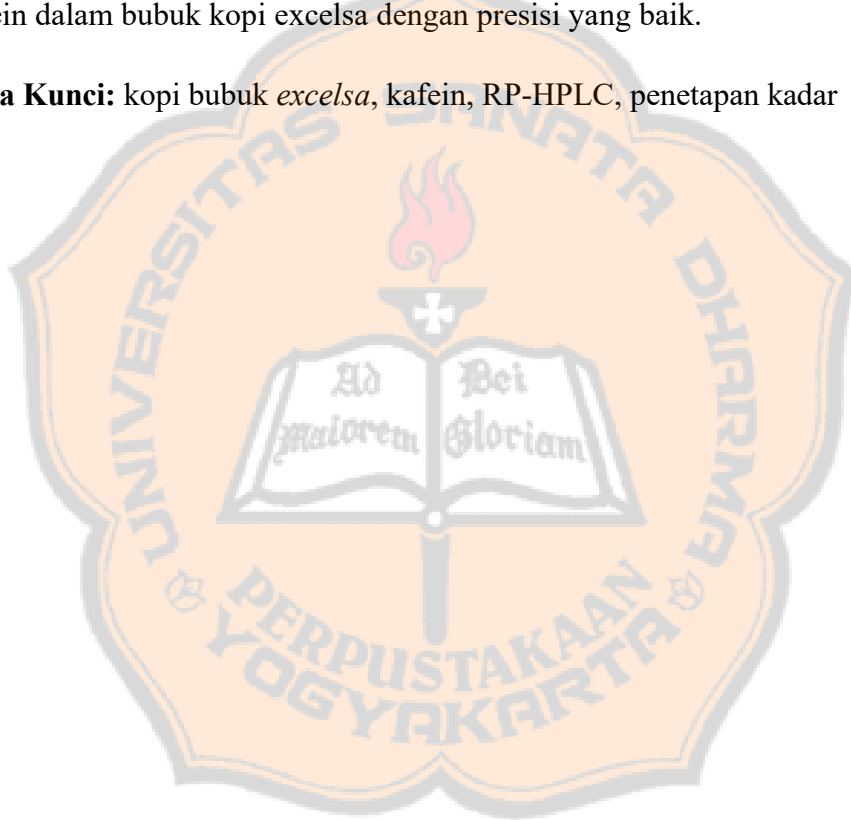
Lampiran 24 Perhitungan Penetapan Kadar Kafein Pada Enam Sampel..... 50



ABSTRAK

Kopi excelsa (*Coffea liberica* var. *dewevrei*) mengandung kafein sebagai senyawa alkaloid utama yang berperan dalam karakteristik kopi. Penelitian ini bertujuan menetapkan kadar kafein dalam bubuk kopi excelsa menggunakan metode *Reverse Phase-High Performance Liquid Chromatography* (RP-HPLC). Sampel dianalisis menggunakan kolom C18 dengan fase gerak *aquabidest*:metanol (30:70, v/v), laju alir 1,2 mL/menit, dan deteksi pada panjang gelombang 272 nm. Kurva baku menghasilkan persamaan regresi $y = 21038x + 30066$ dengan koefisien korelasi $r = 0,9994$. Hasil penelitian menunjukkan kadar kafein dalam bubuk kopi excelsa berada pada rentang 0,491–0,510% b/b dengan rata-rata 0,499% b/b dan nilai koefisien variasi (CV) sebesar 0,991%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa metode RP-HPLC dapat digunakan untuk penetapan kadar kafein dalam bubuk kopi excelsa dengan presisi yang baik.

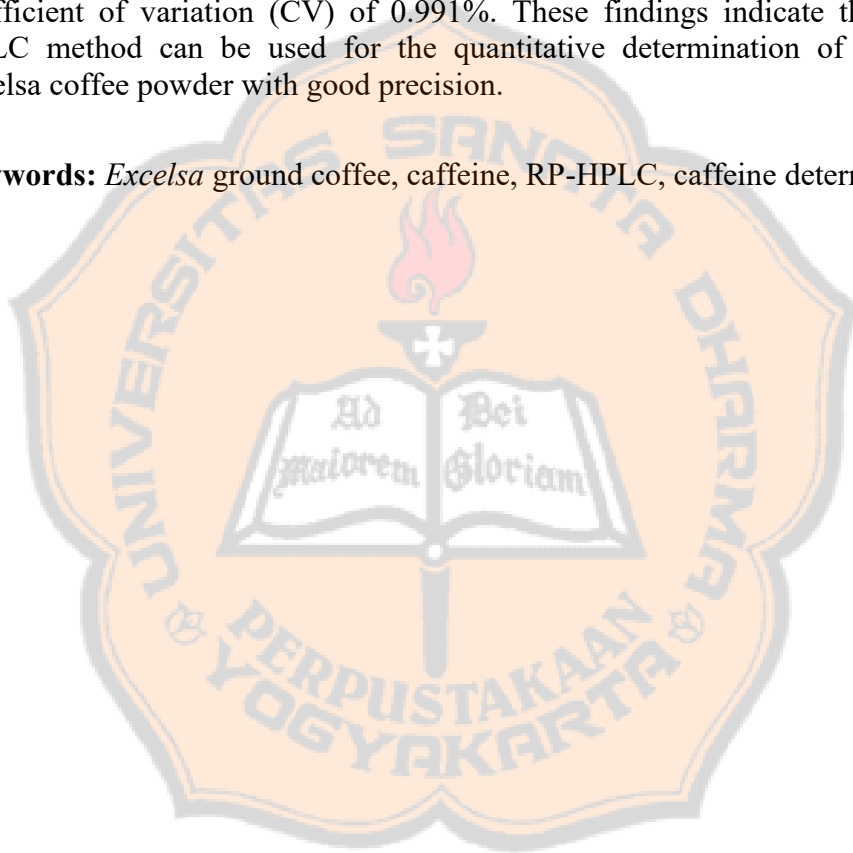
Kata Kunci: kopi bubuk *excelsa*, kafein, RP-HPLC, penetapan kadar



ABSTRACT

Excelsa coffee (*Coffea liberica* var. *dewevrei*) contains caffeine as its major alkaloid compound, which contributes to the characteristic properties of coffee. This study aimed to determine the caffeine content in Excelsa coffee powder using the *Reverse Phase-High Performance Liquid Chromatography* (RP-HPLC) method. The samples were analyzed using a C18 column with a distilled *aquabidest*:methanol (30:70, v/v) mobile phase, a flow rate of 1.2 mL/min, and UV detection at a wavelength of 272 nm. The calibration curve showed a regression equation of $y = 21038x + 30066$ with a correlation coefficient of $r = 0.9994$. The results showed that the caffeine content in Excelsa coffee powder ranged from 0.491–0.510% w/w, with an average value of 0.499% w/w and a coefficient of variation (CV) of 0.991%. These findings indicate that the RP-HPLC method can be used for the quantitative determination of caffeine in excelsa coffee powder with good precision.

Keywords: *Excelsa* ground coffee, caffeine, RP-HPLC, caffeine determination.



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kopi merupakan salah satu komoditas pertanian dan minuman yang paling digemari di dunia, termasuk di Indonesia. Selain menjadi bagian dari gaya hidup, kopi juga memiliki nilai ekonomi yang tinggi. Secara botani, genus *Coffea* terdiri dari beberapa spesies, di antaranya *Coffea arabica* (Arabika), *Coffea canephora* (Robusta), *Coffea excelsa* (*Coffea liberica* var. *dewevrei*) dan *Coffea liberica* (Liberika). Kopi arabika dan robusta mendominasi pasar dunia dengan persentase sekitar 90%, sedangkan kopi excelsa masih tergolong langka dan produksinya terbatas (Rosadi dkk., 2021).

Kopi *excelsa* termasuk dalam kelompok liberika (*Coffea liberica*), tetapi memiliki ciri khas khusus yang membedakannya dari kopi arabika dan robusta. Keunggulan kopi *excelsa* meliputi ketahanan terhadap penyakit karat daun, kemampuan adaptasi pada berbagai kondisi iklim, serta daya simpan yang lama. Kekurangannya adalah hasil produksi yang relatif rendah dan rasa yang dominan asam (Sihombing dkk., 2022). Kopi *excelsa* banyak dibudidayakan di daerah Wonosalam, Jawa Timur, dengan karakter rasa unik, seperti kombinasi asam, manis, asin, sepat, dan gurih (Anam dkk., 2024). Pemilihan kopi *excelsa* dalam penelitian ini didasarkan pada keterbatasan data ilmiah mengenai kadar kafeinnya.

Salah satu kandungan penting dalam kopi adalah kafein. Kafein merupakan senyawa alkaloid dari golongan metilxantin, secara kimia dikenal sebagai 1,3,7-trimethylxanthine dengan rumus molekul $C_8H_{10}N_4O_2$ (Sjamsiah & Islamiah., 2022). Kafein berupa serbuk putih dengan bentuk jarum mengkilap,

biasanya menggumpal, tanpa bau, rasanya pahit, larutannya bersifat netral terhadap kertas lakmus, dan bentuk hidratnya mengembang di udara (Kemenkes RI., 2020). Kafein memiliki efek farmakologis, seperti meningkatkan kewaspadaan, mengurangi rasa kantuk, memperbaiki suasana hati, serta meningkatkan kinerja fisik melalui peningkatan stamina dan kekuatan otot dengan dosis aman ≤ 400 mg per hari (Chusnah dkk., 2025). Konsumsi berlebihan dapat menimbulkan efek negatif, seperti ketergantungan, hipertensi, insomnia, gangguan kardiovaskular, penurunan fungsi kognitif, dan masalah pencernaan (Novitasari & Fitriyah., 2025).

Metode analisis kafein yang banyak digunakan adalah *High Performance Liquid Chromatography*, khususnya *Reversed Phase-HPLC* (RP-HPLC). HPLC merupakan metode kromatografi modern yang memisahkan komponen berdasarkan perbedaan afinitas terhadap fase diam dan fase gerak. Prinsip metode ini adalah pemisahan senyawa berdasarkan interaksi hidrofobik dengan kolom fase diam non-polar, sehingga senyawa polar akan keluar lebih cepat, sedangkan senyawa non-polar tertahan lebih lama (Mayefis dkk., 2023; Bhati dkk., 2022). Keunggulan metode ini adalah sensitivitas, akurasi, presisi tinggi, dan kemampuan menganalisis sampel kompleks dalam waktu singkat tanpa merusak sampel (Parisa dkk., 2024).

Penetapan kadar kafein dalam kopi sangat penting untuk memastikan keamanan konsumsi. Standar Nasional Indonesia (SNI 8964:2021) menyebutkan bahwa kandungan kafein yang diperbolehkan dalam kopi bubuk berada pada kisaran 0,9–2,5% (Badan Standarisasi Nasional., 2021). Penelitian sebelumnya banyak menekankan analisis kafein pada kopi arabika dan robusta. Pada penelitian Nuryanti dkk. (2025) juga menunjukkan bahwa analisis kafein pada

kopi bubuk komersial menggunakan HPLC valid dan akurat. Namun, penelitian mengenai kopi *excelsa* masih terbatas, terutama dalam penetapan kadar kafein. Dengan demikian, penelitian ini ditujukan untuk mengisi kekosongan tersebut melalui penggunaan HPLC sebagai metode analisis, sekaligus membandingkan kadar kafein hasil analisis dengan standar SNI untuk memastikan keamanan konsumsi.

1.2 Rumusan Masalah

Berapakah kadar kafein dalam kopi Excelsa yang dinyatakan sebagai %b/b terkandung menggunakan metode RP-HPLC?

1.3 Ruang Lingkup Masalah

1. Penelitian Nuryanti dkk. (2025) dengan judul “*Penentuan Kadar Kafein Dalam Kopi Bubuk Kemasan Sachet Berbagai Merek Menggunakan Metode High Performance Liquid Chromatography*” meneliti kadar kafein dalam kopi bubuk kemasan sachet dari berbagai merek menggunakan metode HPLC. Penelitian ini bertujuan untuk menilai kadar kafein yang terkandung dalam kopi dari beberapa merek yang berbeda. Seluruh sampel mengandung kafein dengan kadar yang bervariasi, namun tetap berada dalam batas aman. Penelitian ini menunjukkan bahwa metode HPLC efektif dan akurat untuk menilai kadar kafein dalam kopi siap saji, sehingga menjadi dasar pemilihan metode analisis pada penelitian kopi *excelsa*.
2. Penelitian Hisham dkk. (2025) dengan judul “*Assessment of Caffeine Content in Tea and Coffee Within the Palestinian Market Using HPLC Method*” mengkaji kadar kafein dalam kopi dan teh serta mengevaluasi

pengaruh roasting menggunakan metode HPLC. Kadar kafein kopi berkisar 0,49–0,54% sebelum roasting dan 0,45–0,75% setelah roasting. Penelitian ini menunjukkan bahwa proses pasca panen dan roasting dapat memengaruhi kandungan kafein, sehingga analisis kadar kafein pada kopi *excelsa* perlu mempertimbangkan tahap pengolahan biji kopi.

3. Penelitian Fitri dan Pratiwi (2023) dengan judul “*Analisis Kadar kafein dalam Sampel Kopi Instan dan Minuman Berenergi Menggunakan high Performance Liquid Chromatography (HPLC)*” meneliti kadar kafein dalam sampel kopi instan dan minuman berenergi menggunakan HPLC, sekaligus membandingkan hasilnya dengan batas aman menurut SNI. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar kafein pada tiga sampel kopi berada di kisaran 3,07–3,24 mg/g, sedangkan pada dua sampel minuman berenergi berkisar antara 0,133–0,141 mg/mL, semua masih berada dalam batas aman. Penelitian ini menekankan pentingnya menilai kadar kafein dibandingkan standar yang berlaku, yang menjadi salah satu acuan dalam penelitian kopi *excelsa*.

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, penetapan kadar kafein dalam bubuk kopi *excelsa* masih terbatas. Dalam penelitian ini, penulis menggunakan metode HPLC karena telah terbukti efektif dan selektif dalam mengukur kadar kafein.

1.4 Tujuan Penelitian

Untuk menentukan kadar senyawa kafein pada kopi bubuk *excelsa* dengan metode RP-HPLC.

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Manfaat Teoretis

Penelitian ini berguna untuk memperluas pengetahuan mengenai kadar kafein pada kopi bubuk *excelsa* serta memperkuat landasan teori bahwa metode RP-HPLC dapat diterapkan sebagai teknik analisis yang valid dalam menetapkan kadar kafein dalam sampel bubuk kopi *excelsa*.

1.5.2 Manfaat Metodologis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai penggunaan serta efektivitas metode RP-HPLC untuk menganalisis kafein, sehingga dapat dijadikan acuan dalam pengembangan metode analisis pada penelitian selanjutnya.

1.5.3 Manfaat Praktis

Penelitian ini memberikan informasi dan menyediakan data mengenai kadar kafein dalam bahan alam, sehingga dapat dimanfaatkan dalam kegiatan analisis kadar kafein.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Pustaka

2.1.1 Kopi *Excelsa*

Kopi merupakan salah satu komoditas pertanian bernilai ekonomi tinggi dan menjadi minuman populer di berbagai belahan dunia. Minuman ini berasal dari biji tanaman *Coffea*, yang memiliki beragam spesies dengan karakteristik rasa, aroma, dan kandungan kimia berbeda. Dua varietas yang paling banyak dibudidayakan di Indonesia adalah arabika (*Coffea arabica*) dan robusta (*Coffea canephora*), sedangkan liberika (*coffea liberica*) dan *excelsa* (*Coffea liberica* var. *dewevrei*) diproduksi secara terbatas karena adaptasinya yang spesifik (Wibowo & Palupi, 2022).

Kopi secara taksonomi digolongkan sebagai *Coffea liberica* var. *dewevrei* (Rosadi dkk., 2021), sehingga masuk dalam kelompok liberika. Klasifikasi ini didasarkan pada morfologi tanaman dan sifat biji yang menyerupai liberika, meskipun rasanya berbeda. *Excelsa* dikenal memiliki rasa dengan aroma buah dan bunga yang kompleks, serta tumbuh baik di ketinggian menengah. Berbeda dengan liberika memiliki rasa manis dengan aroma yang khas mirip nangka, bijinya besar dan tumbuh di lahan yang gambut (Destirana dkk., 2025).

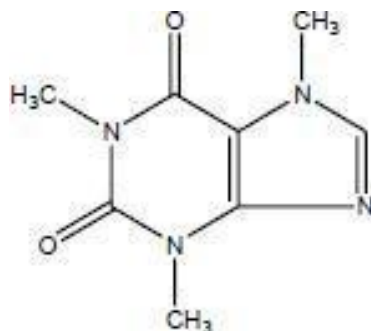
Dari sisi morfologi, tanaman *excelsa* memiliki akar dalam yang mendukung penyerapan nutrisi, daun lebar dan tebal dengan warna perunggu keunguan, serta bunga putih berukuran besar dengan 6–7 helai mahkota. Buahnya tumbuh bergerombol dengan lapisan *pulp* dan *parchment* tebal, sedangkan tinggi pohon berkisar 3–4 meter (Fernandez dkk., 2022). Aspek agronomi menunjukkan

bahwa *excelsa* cocok ditanam pada ketinggian 0–750 mdpl di daerah tropis dengan curah hujan sedang hingga tinggi. Pada curah hujan yang tinggi, tanaman ini akan lebih banyak membentuk kayu daripada menghasilkan buah. Kopi *excelsa* memerlukan waktu 1-2 bulan, dengan curah hujan kurang dari 50 mm untuk berbunga. Tanaman ini berbuah hampir sepanjang tahun, berbuah hampir sepanjang tahun, mudah dibudidayakan, dan relatif tahan terhadap hama serta penyakit (Susandi, 2019; Achmad dkk., 2022).

Keunggulan morfologi dan adaptasi lingkungan tersebut tidak hanya meningkatkan potensi agronomi, tetapi juga memengaruhi kandungan kimia biji kopi, termasuk kafein dan senyawa bioaktif lain. Karakteristik spesies dan kondisi tumbuh yang unik membuat penelitian kadar kafein pada *excelsa* relevan, terutama karena sebagian besar studi sebelumnya fokus pada arabika dan robusta.

2.1.2 Kafein

Kafein merupakan senyawa alkaloid yang banyak ditemukan pada kopi, teh, dan coklat (Chusnah dkk., 2025). Secara kimia, kafein dikenal sebagai 1,3,7-trimetilxantin ($C_8H_{10}N_4O_2$) yang dapat hadir dalam bentuk anhidrat maupun hidrat. Kandungannya dalam bentuk anhidrat berkisar antara 98,5–101,0% (Kemenkes RI, 2020). Secara fisik, kafein berbentuk serbuk putih dengan kristal jarum mengkilap, tidak berbau, memiliki rasa pahit, larutannya bersifat netral terhadap kertas lakmus, namun bentuk hidrat dapat mengembang saat terpapar udara. Kelarutannya rendah dalam air dan etanol, mudah larut dalam kloroform, dan sulit larut dalam eter (Kemenkes RI, 2020).



Gambar 1. Struktur Kimia Kafein (Kemenkes RI., 2020).

Berdasarkan dari struktur kimia kafein pada Gambar.1. kafein adalah molekul yang terdiri atas atom karbon (C) dan nitrogen (N), dengan kerangka yang terdiri atas dua cincin purin, yaitu gabungan dari satu cincin pirimidin (C5) dan satu cincin imidazol (C6), yang mempunyai dua atom nitrogen. Gugus fungsi yang terdapat pada struktur tersebut meliputi gugus amida, yaitu karbonil yang terikat pada karbon dan nitrogen; dan gugus amina, yaitu nitrogen yang berikatan dengan gugus hidrokarbon serta gugus alkena, yakni ikatan rangkap antara dua atom karbon. Kafein berfungsi sebagai akseptor ikatan hidrogen karena tiga dari empat atom nitrogennya termetilasi (Saraiva dkk., 2023).

Sebagai senyawa aktif utama pada kopi, kafein bekerja dengan merangsang sistem saraf pusat. Setelah dikonsumsi, kafein cepat masuk ke darah dan mencapai konsentrasi puncak dalam plasma sekitar 15–20 menit. Mekanismenya berkaitan dengan antagonisme terhadap adenosin, neurotransmitter inhibitor yang menurunkan aktivitas saraf. Dengan menghambat reseptor adenosin, kafein meningkatkan kewaspadaan, mengurangi rasa kantuk, dan memberikan efek stimulan (Nurhidayanti dkk., 2024). Bagi individu yang terbiasa mengonsumsi kopi, jumlah konsumsi harian dapat mencapai sekitar 3–4 cangkir kopi per hari (Rahmawati dkk., 2021). Dalam dosis rendah (≤ 400 mg/hari),

kafein juga dapat meningkatkan gairah, suasana hati, dan kinerja fisik. Namun, konsumsi berlebihan dapat menyebabkan ketergantungan serta efek samping seperti gangguan irama jantung, kecemasan, tremor, penurunan daya ingat, insomnia, dan gangguan pencernaan (Elfariyanti dkk., 2020).

Selain efek fisiologis, kafein juga berperan sebagai parameter mutu kopi. Kandungan kafein dapat menjadi indikator kualitas dan karakter produk, karena kadar senyawa ini dipengaruhi oleh spesies, kondisi agronomi, dan proses pengolahan biji kopi. Penetapan kadar kafein penting untuk kontrol mutu dan kepatuhan terhadap standar konsumsi aman. Menurut Standar Nasional Indonesia SNI 8964:2021, batas kadar bubuk kopi adalah 0,9-2,5% (Badan Standarisasi Nasional., 2021).

2.1.3 *High Performance Liquid Chromatography (HPLC)*

HPLC merupakan teknik pemisahan yang banyak digunakan dalam analisis kualitatif dan kuantitatif senyawa kimia karena memiliki sensitivitas, selektivitas, dan ketelitian yang tinggi. Metode ini bekerja dengan mengalirkan fase gerak bertekanan tinggi melalui kolom yang berisi fase diam, sehingga komponen dalam sampel dapat terpisah berdasarkan perbedaan interaksi dengan kedua fase tersebut. Selain itu, HPLC mampu menganalisis senyawa dengan waktu yang relatif singkat serta memberikan hasil yang akurat dan presisi (Anggraini & Desmaniar, 2020).

Secara umum, pemisahan pada HPLC terjadi karena perbedaan afinitas senyawa terhadap fase diam dan fase gerak. Senyawa yang berinteraksi lebih kuat dengan fase diam akan tertahan lebih lama di dalam kolom, sedangkan senyawa dengan afinitas lebih rendah akan terelusi lebih cepat. Keunggulan HPLC meliputi

akurasi dan presisi yang tinggi, sensitivitas yang baik, serta kemampuan menganalisis campuran kompleks dalam waktu relatif singkat, sehingga metode ini banyak digunakan dalam analisis senyawa organik dan bioaktif (Parisa dkk., 2024).

Salah satu mode HPLC yang paling banyak digunakan adalah *Reverse Phase-High Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC)*. Pada RP-HPLC, fase diam bersifat nonpolar (hidrofobik), umumnya menggunakan silika terikat rantai alkil panjang seperti C18, sedangkan fase geraknya bersifat lebih polar, biasanya campuran air dengan pelarut organik seperti metanol atau asetonitril (Lestary dkk., 2023).

Prinsip kerja RP-HPLC didasarkan pada interaksi hidrofobik antara molekul analit dengan fase diam. Senyawa dengan tingkat kepolaran lebih rendah akan berinteraksi lebih kuat dengan fase diam sehingga mengalami waktu retensi yang lebih lama, sedangkan senyawa yang lebih polar akan terelusi lebih cepat bersama fase gerak. Mekanisme pemisahan ini dipengaruhi oleh tingkat kepolaran senyawa, komposisi fase gerak, dan karakteristik fase diam (Kazakevich & Lobrutto, 2007; Tasiam dkk., 2025).

RP-HPLC sangat sesuai digunakan untuk analisis kafein karena kafein merupakan senyawa semi-polar yang dapat berinteraksi secara optimal dengan fase diam non-polar dan fase gerak polar. Metode ini mampu memberikan pemisahan yang baik, waktu retensi yang stabil, serta hasil analisis yang akurat dan presisi. Oleh karena itu, RP-HPLC sering digunakan dalam analisis kopi untuk penetapan kadar kafein, baik pada kopi Arabika, Robusta, maupun jenis kopi lain (Sukma & Fajri, 2019).

Dibandingkan metode analisis lain, RP-HPLC memiliki keunggulan

berupa selektivitas tinggi, sensitivitas baik pada konsentrasi rendah, serta kemampuan reproduktibilitas yang tinggi. Keunggulan tersebut menjadikan RP-HPLC sebagai metode yang andal dan banyak direkomendasikan untuk analisis kafein sebagai parameter mutu kopi, termasuk pada kopi *excelsa* yang masih terbatas data kadarnya.

2.1.4 Penetapan Kadar

Penetapan kadar merupakan proses analisis kuantitatif yang bertujuan untuk menentukan jumlah atau konsentrasi suatu senyawa tertentu dalam sampel. Dalam analisis kafein, penetapan kadar dilakukan untuk mengetahui kandungan kafein secara akurat sehingga dapat digunakan sebagai dasar evaluasi mutu dan keamanan produk kopi (Umar dkk., 2021).

Tujuan penetapan kadar kafein adalah menentukan kandungan kafein secara kuantitatif dalam suatu produk sehingga diperoleh informasi mengenai jumlah kafein yang terkandung di dalamnya. Ketidaksesuaian kadar kafein dapat memengaruhi karakter produk serta berpotensi menimbulkan efek yang tidak diinginkan bagi konsumen apabila dikonsumsi secara berlebihan (Dewangga, 2023). Oleh karena itu, penetapan kadar menjadi bagian penting dalam pengendalian mutu produk pangan dan minuman.

Penetapan kadar kafein juga memiliki keterkaitan langsung dengan standar mutu. Hasil analisis yang diperoleh dibandingkan dengan persyaratan Standar Nasional Indonesia (SNI) untuk memastikan bahwa kandungan kafein dalam kopi bubuk masih berada dalam batas yang diperbolehkan. Pengujian ini dilakukan untuk menjamin mutu, efektivitas, serta keamanan produk yang beredar, sehingga konsumen memperoleh sediaan dengan kandungan yang sesuai dengan

ketentuan yang berlaku (Putra dkk., 2023).

2.2 Landasan Teori

Kopi merupakan komoditas pertanian bernilai ekonomi tinggi yang perannya tidak hanya sebagai minuman konsumsi, tetapi juga sebagai produk dengan karakter mutu yang ditentukan oleh spesies tanaman dan kandungan senyawa aktifnya. Salah satu jenis kopi yang penelitian mengenai penetapan kadar kafeinnya masih terbatas adalah kopi *excelsa*, yang secara taksonomi diklasifikasikan sebagai *Coffea liberica* var. *dewevrei*. Varietas ini memiliki karakter sensorik yang berbeda dari kopi komersial utama, ditandai dengan kombinasi rasa asam, manis, asin, sepat, dan gurih. Selain keunikan cita rasa, kopi *excelsa* memiliki keunggulan agronomis berupa ketahanan terhadap penyakit karat daun, kemampuan tumbuh pada lahan gambut, pertumbuhan vegetatif yang cepat, serta umur simpan biji yang relatif panjang. Karakteristik tersebut menunjukkan potensi kopi *excelsa* sebagai produk bernilai tambah, namun juga mengindikasikan adanya perbedaan komposisi kimia dibandingkan varietas kopi lainnya.

Salah satu senyawa kimia utama yang menentukan karakter dan mutu kopi adalah kafein. Kafein merupakan alkaloid golongan metilxantin yang secara kimia dikenal sebagai 1,3,7-trimetilxantin ($C_8H_{10}N_4O_2$). Struktur heterosiklik kafein yang bersifat semi-polar memungkinkan senyawa ini berinteraksi dengan fase polar dan non-polar, sehingga memengaruhi kelarutan serta perilakunya dalam sistem analisis. Secara fisiologis, kafein berperan sebagai stimulan sistem saraf pusat yang meningkatkan kewaspadaan dan konsentrasi, namun konsumsi berlebihan dapat menimbulkan efek samping seperti gangguan tidur, peningkatan tekanan darah, dan

gangguan kardiovaskular. Oleh karena itu, kandungan kafein tidak hanya menentukan efek fungsional kopi, tetapi juga menjadi parameter penting dalam aspek keamanan konsumsi.

Dalam konteks pengendalian mutu, kadar kafein digunakan sebagai indikator kualitas produk kopi. Standar Nasional Indonesia SNI 8964:2021 menetapkan bahwa kandungan kafein dalam kopi bubuk berada pada kisaran 0,9–2,5%. Ketentuan ini menjadi acuan untuk memastikan bahwa produk kopi yang beredar memenuhi persyaratan mutu dan aman dikonsumsi. Mengingat perbedaan spesies, karakter agronomi, dan profil sensorik kopi *excelsa*, diperlukan penetapan kadar kafein secara akurat untuk menilai kesesuaiannya dengan standar tersebut.

Analisis kadar kafein dalam penelitian ini dilakukan menggunakan metode RP-HPLC. Pemilihan metode ini didasarkan pada kemampuan instrumen dalam memisahkan senyawa semi-polar secara selektif menggunakan fase diam non-polar dan fase gerak polar. Metode ini dikenal memiliki sensitivitas tinggi, akurasi dan presisi yang baik, serta mampu menghasilkan resolusi puncak yang jelas dalam waktu analisis relatif singkat. Keunggulan tersebut menjadikannya sebagai metode yang andal dan banyak digunakan dalam analisis kafein pada kopi, sehingga tepat diaplikasikan untuk penetapan kadar kafein pada kopi *Excelsa* yang masih terbatas data kimianya.

2.3 Keterangan Empiris

Metode RP-HPLC dapat menetapkan kadar kafein yang terdapat dalam bubuk kopi *excelsa*.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian penetapan kadar kafein pada kopi bubuk *excelsa* (*Coffea liberica* var. *dewevrei*) menggunakan metode *Reverse Phase-High Performance Liquid Chromatography* (RP-HPLC) merupakan penelitian non-eksperimental deskriptif. Penelitian ini tidak memberikan perlakuan khusus terhadap sampel uji, tetapi hanya mengamati dan melaporkan hasil yang diperoleh. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta untuk proses preparasi sampel, sedangkan analisis kadar dilaksanakan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Ahmad Dahlan (UAD) Yogyakarta.

3.2 Variabel dan Definisi Operasional

3.2.1 Variabel Bebas

Variabel bebas yang digunakan adalah sistem HPLC yang telah dioptimasi dan tervalidasi.

3.2.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar kafein dalam bubuk kopi *excelsa* yang ditentukan dari nilai AUC pada kromatogram hasil analisis RP-HPLC.

3.2.3 Variabel Pengacau Terkendali

Variabel pengacau terkontrol dalam penelitian ini adalah asal sampel dan suhu saat penyeduhan kopi.

3.2.4 Variabel Pengacau Tidak Terkendali

Variabel pengacau tidak terkendali dalam penelitian ini adalah suhu roasting biji kopi, kemurnian pelarut, dan kemurnian baku kafein.

3.2.5 Definisi Operasional

3.2.5.1 Sampel bubuk kopi berjenis kopi excelsa yang didapatkan dari Toko kopi biji & bubuk asli premium beans indonesia di Sleman, Yogyakarta.

3.2.5.2 Penetapan kadar dilakukan dengan metode RP-HPLC dengan fase diam silika oktadesil (C18) dan fase gerak berupa campuran *aquabidest*: metanol (30:70 v/v).

3.2.5.3 Detektor yang digunakan adalah detektor UV dengan panjang gelombang 272 nm yang didapatkan dari hasil optimasi.

3.2.5.4 Kadar kafein ditetapkan berdasarkan luas area puncak kromatogram sampel yang kemudian dihitung menggunakan persamaan regresi dari kurva kalibrasi standar kafein.

3.2.5.5 Kadar kafein dinyatakan dalam persen berat terhadap berat sampel (%b/b).

3.3 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah kopi bubuk *excelsa* yang didapatkan pada Toko kopi biji & bubuk asli premium beans indonesia di Sleman, Yogyakarta, baku kafein (kemurnian $\geq 98.5\%$) dari Nacalai Tesque, metanol *HPLC grade* (E. Merck), metanol (*p.a. grade*), kloroform (*p.a grade*), natrium hidroksida (*p.a grade*), seng asetat ($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$), kalium ferisianida, *aquabidest*.

3.4 Alat atau Instrumen

Peralatan menggunakan peralatan berupa seperangkat instrumen HPLC (Shimadzu DGU-20A5R Cat. No. 228-65555-58, Serial No. L22736257286, Kolom YMC-Triart C18 (150 mm × 3,0 mm I.D; 5 µm), vial HPLC, seperangkat komputer (Dell), neraca analitik (Ohaus Pioneer PA214, maks. 210 g; min 0,0001 mg), neraca semi mikro (Scaltec SBC 22; maks. 60/210 g; min 0,001 g; d = 0,01/0,1 mg; e = 1 mg), mikropipet (Socorex Acura 825), tip, membran nilon 0,22 µm, detektor UV 275 nm, *heating mantle* (Mtops MS-E104; kapasitas 1000 mL; 380 Watt; 220 V; suhu maksimal 450°C), *centrifuge* (Eppendorf 5340 R), *vortex* (Ohaus tipe VXMNAL), Tabung sentrifugasi 15 mL, *ultrasonic bath* (Bransonic CPX2800H-E), dan alat-alat gelas (Pyrex dan Iwaki).

3.5 Tata Cara Penelitian

3.5.1 Pembuatan Fase Gerak

Penelitian ini menggunakan fase gerak mengikuti komposisi hasil optimasi sebelumnya, yaitu *aquabidest* : Metanol (30:70 v/v) (Wijaya., 2026).

3.5.2 Pembuatan Larutan Induk Kafein

Pembuatan larutan induk kafein dibuat dengan menimbang secara saksama baku kafein sebanyak 25 mg. Kemudian dilarutkan dengan metanol dalam labu takar 25 mL hingga tanda batas, sehingga diperoleh larutan induk kafein dengan konsentrasi 1000 ppm.

3.5.3 Pembuatan Larutan Intermediet

Larutan intermediet kafein 100 ppm dibuat dengan memipet sebanyak 1 mL larutan baku kafein 1000 ppm ke dalam labu takar 10 mL. Selanjutnya,

ditambahkan metanol hingga mencapai tanda batas, kemudian dikocok hingga homogen sehingga diperoleh larutan intermediet kafein dengan konsentrasi 100 ppm.

3.5.4 Pembuatan Larutan Seri Baku Kafein

Larutan seri baku kafein dilakukan dengan memipet larutan intermediet masing-masing 0,4 mL; 0,6 mL; 0,8 mL; 1,0 mL; 1,2 mL; 1,4 mL; 1,6 mL. Setelah itu, tiap larutan dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL, lalu ditambahkan metanol hingga tanda batas. Labu takar kemudian digojog sehingga konsentrasi larutan seri baku kafein menjadi 4 ppm; 6 ppm; 8 ppm; 12 ppm; 14 ppm; 16 ppm. Selanjutnya, larutan disonikasi selama 15 menit dan kemudian disaring menggunakan filter membran nylon dengan ukuran pori 0,45 μm .

3.5.5 Penetapan Kurva Kalibrasi

Penetapan kurva kalibrasi pada penelitian ini dilakukan dengan menginjeksikan 10 μL larutan seri baku kafein ke dalam sistem HPLC, dengan panjang gelombang 272 nm dan laju alir 1,2 mL/menit berdasarkan hasil optimasi (Wijaya., 2026). Kemudian, kromatogram dianalisis untuk memperoleh puncak dan luas area di bawah kurva (AUC).

3.5.6 Preparasi Sampel

Preparasi sampel pada penelitian ini adalah sampel kopi bubuk excelsa (*Coffea excelsa*) yang didapatkan pada Toko kopi biji & bubuk asli premium beans indonesia di Sleman, Yogyakarta. Selanjutnya, bubuk kopi diambil sebanyak 2 gram dan dilarutkan dengan 150 mL air panas. Kemudian, larutan kopi dipisahkan dari ampasnya dengan menggunakan kertas saring. Larutan kopi

diambil sebanyak 1 mL, dimasukkan ke dalam tabung sentrifugasi, lalu ditambahkan seng asetat 1,37 M dan kalium ferisianida 0,35 M masing-masing 500 μ L, lalu dihomogenkan dengan vortex. Sampel kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 5 menit hingga filtrat terpisah. Ditambahkan 40 μ L NaOH 10 N pada supernatan hasil sentrifugasi, kemudian diekstraksi cair-cair sebanyak tiga kali dengan 1 mL kloroform, lalu diuapkan dengan *heating mantle* dilemari asam dengan suhu 90° C hingga terbentuk kristal kafein. Kristal kafein yang diperoleh dilarutkan dalam 1 mL pelarut metanol kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 5 mL dan ditambahkan metanol hingga tanda batas, kemudian disaring menggunakan syringe filter berukuran pori 0,45 μ m. Larutan hasil penyaringan selanjutnya didegaskan dengan ultrasonikator selama 10 menit sebelum dianalisis (Rahmawati dkk., 2021).

3.5.7 Penetapan Kadar Kafein

Larutan sampel yang telah disiapkan diinjeksikan ke dalam sistem HPLC dengan kondisi analisis, yaitu panjang gelombang 272 nm dan laju alir 1,2 mL/menit sesuai hasil optimasi (Wijaya., 2026). Analisis dilakukan sebanyak 6 kali replikasi dengan masing-masing replikasi dilakukan 2 kali pengujian. Konsentrasi kafein ditentukan dengan memasukkan nilai luas area puncak (AUC) sampel (y) ke dalam persamaan regresi linier $y = bx + a$ dari kurva kalibrasi standar (Nuryanti dkk., 2025).

3.6 Analisis Hasil

Penetapan kadar kafein dilakukan dengan menghitung konsentrasi menggunakan luas area puncak dari larutan baku kafein. Data tersebut dibuat persamaan regresi linier $y = bx + a$ yang menunjukkan hubungan antara

konsentrasi dan luas area. Kemudian, dimasukkan luas area sampel ke dalam persamaan regresi masing-masing standar untuk memperoleh kadar kafein dalam satuan %b/b.

Rumus Penetapan Kadar :

$$\%Kadar = \frac{\text{Konsentrasi } \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}\right) \times \text{Volume total sampel (mL)} \times \text{Faktor pengenceran}}{\text{berat sampel (g)}} \quad (1)$$

(Mulyani dkk., 2022)



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini mencakup penetapan kadar kafein dalam bubuk kopi *excelsa* dari Wonosalam yang diperoleh dari Toko Premium Beans Indonesia, Yogyakarta, dan diukur dengan menggunakan metode RP-HPLC. Metode ini dipilih karena memiliki sensitivitas, selektivitas, dan akurasi yang tinggi yang baik, sehingga mampu memisahkan kafein dari senyawa lain dalam sampel dan memberikan data analisis kuantitatif yang andal. Pengujian dilakukan dengan metode HPLC fase terbalik yang menggunakan kolom oktadesil (C18), dengan fase gerak campuran *aquabidest* : metanol dalam rasio 30:70 (v/v), laju alir 1,2 mL/menit, serta panjang gelombang deteksi 272 nm. Semua kondisi operasional ini mengikuti hasil optimasi dan validasi metode yang telah dilakukan oleh peneliti sebelumnya Wijaya (2026) dan Pakiding (2026), sehingga metode yang diterapkan sudah memenuhi kriteria validasi dan dapat digunakan untuk penetapan kadar.

4.1. Pembuatan Kurva Baku Kafein

Pembuatan kurva baku kafein dilakukan dengan menggunakan larutan baku yang memiliki variasi konsentrasi. Kurva kalibrasi dibuat dengan memplotkan hubungan antara konsentrasi larutan baku kafein sebagai sumbu x dan respons dari instrumen berupa luas area puncak (*Area Under Curve*) yang menjadi sumbu y. Hubungan tersebut kemudian dianalisis dengan regresi linier untuk mendapatkan persamaan garis yang selanjutnya digunakan untuk menentukan kadar kafein pada sampel kopi yang dianalisis. Persamaan regresi yang diperoleh memperlihatkan hubungan antara konsentrasi kafein dan respons

dari detektor, sehingga bisa digunakan untuk menentukan kadar konsentrasi kafein pada sampel berdasarkan nilai AUC yang didapat.

Kurva kalibrasi yang baik ditunjukkan oleh adanya hubungan yang linear antara konsentrasi larutan baku kafein dengan AUC. Semakin tinggi tingkat linieritas yang diperoleh maka semakin baik kemampuan metode dalam memberikan respons yang sebanding dengan perubahan konsentrasi analit. Linieritas kurva kalibrasi dinilai berdasarkan nilai koefisien korelasi (R). Suatu metode analisis dinyatakan memiliki linearitas yang baik apabila nilai koefisien korelasinya (R) mencapai $\geq 0,99$ (AOAC., 2023). Oleh karena itu, nilai R yang mendekati 1 menunjukkan bahwa respons instrumen berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi kafein, sehingga persamaan regresi yang diperoleh dapat digunakan untuk penetapan kadar kafein dalam sampel secara andal.

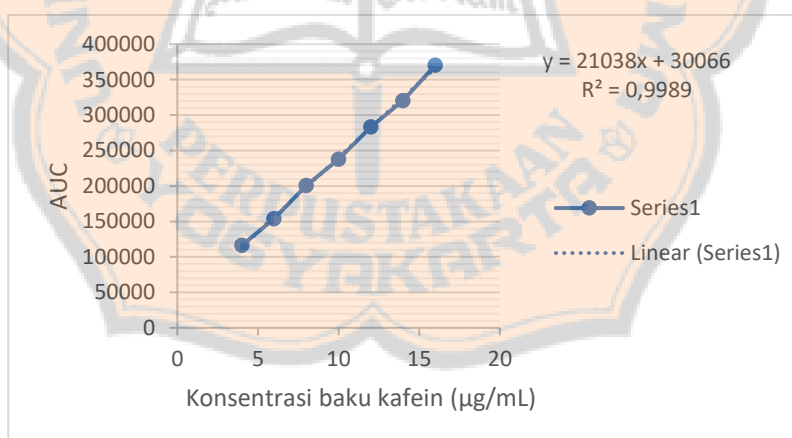
Kurva kalibrasi untuk kafein dibuat dengan menggunakan larutan seri baku yang dibuat dari pengenceran larutan baku induk melalui pembuatan larutan baku intermediet. Dari larutan baku intermediet ini, kemudian dibuat tujuh seri konsentrasi, yaitu 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 ppm, diinjeksikan ke dalam sistem HPLC dan dideteksi dengan detektor UV pada panjang gelombang 272 nm. Setiap konsentrasi dilakukan analisis sebanyak tiga kali untuk mendapatkan hasil pengukuran yang konsisten. Nilai luas area puncak (*Area Under Curve*) yang diperoleh kemudian diplotkan terhadap konsentrasi sehingga dihasilkan persamaan regresi linier yaitu $y = bx + a$ yang selanjutnya dalam menentukan kadar kafein pada sampel. Hasil pengukuran kurva kalibrasi dari tiga replikasi disajikan pada **Tabel I**.

Tabel I. Data Linieritas Seri Konsentrasi Baku Kafein

Replikasi 1		Replikasi 2		Replikasi 3*	
Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Luas Area Puncak	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Luas Area Puncak	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Luas Area Puncak
4	81049	4	67316	4	116287
6	136358	6	115200	6	154050
8	179948	8	162058	8	200715
10	214028	10	204176	10	237721
12	272256	12	251133	12	283406
14	299448	14	292777	14	320372
16	364681	16	354606	16	370545
a =	5566	a =	26480	a =	30066
b =	26668	b =	23323	b =	21038
R ² =	0,9937	R ² =	0,9978	R ² =	0,9989
r =	0,9968	r =	0,9989	r =	0,9994

Keterangan: *) = Replikasi terpilih

Berdasarkan hasil pengukuran tiga kali replikasi yang terdapat dalam Tabel 1, replikasi ketiga dipilih karena memiliki nilai koefisien korelasi (r) dan koefisien determinasi (R²) yang menunjukkan hubungan paling linier antara konsentrasi larutan baku seri baku dan respons instrumen.



Gambar 2. Grafik Kurva Baku Kafein Replikasi 3

Pada replikasi ketiga, didapatkan persamaan regresi linier $y = 21038x + 30066$, dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,9994 dan koefisien determinasi (R²) sebesar 0,9989. Nilai tersebut telah memenuhi syarat linieritas yang telah ditentukan, yakni $R^2 \geq 0,997$ (Chan dkk., 2004) dan $r \geq 0,99$ (AOAC., 2013).

4.2. Preparasi Sampel

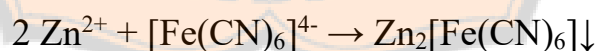
Pada penelitian ini, sampel yang digunakan berupa seduhan kopi bubuk *excelsa* yang dibeli dari Toko Premium Beans Indonesia, Yogyakarta. Bubuk kopi ditimbang secara saksama kurang lebih sejumlah 2 gram. Bubuk kopi kemudian diseduh menggunakan 150 mL air panas dengan suhu 90-96°C, suhu ini dipilih karena peningkatan suhu air hingga di atas 90°C menyebabkan kandungan kafein yang terekstraksi ke dalam seduhan kopi menjadi lebih tinggi (Olechno., 2021). Setelah itu, kopi disaring dengan kertas saring agar larutan kopi terpisah ampas kopi dengan bantuan corong kaca.

Setelah dilakukan penyaringan, ampas kopi telah terpisah, namun filtrat yang diperoleh masih berwarna cokelat. Warna tersebut bukan disebabkan oleh kafein, melainkan terutama oleh melanoidin, yaitu polimer bermassa molekul tinggi yang terbentuk pada tahap akhir reaksi Maillard antara gula pereduksi dan asam amino selama proses penyangraian. Melanoidin merupakan pigmen utama yang memberikan warna cokelat khas pada seduhan kopi serta dapat berasosiasi dengan protein, polisakarida, dan senyawa fenolik sehingga membentuk sistem koloid yang tetap berada dalam filtrat (Hanares & Pastoriza., 2015).

Sebanyak 1 mL filtrat kopi kemudian dipindahkan ke dalam tabung sentrifugasi dan ditambahkan secara berturut-turut 500 μ L larutan seng asetat 1,37 M dan 500 μ L larutan kalium ferosianida 0,35 M. Penambahan kedua reagen tersebut menghasilkan endapan seng ferosianida yang berfungsi sebagai *clarifying agent*. Endapan yang terbentuk mampu mengadsorpsi dan mengkoagulasi senyawa pengganggu bermassa molekul tinggi, seperti melanoidin, senyawa polifenol, serta polisakarida seperti galaktomanan dan arabinogalaktan, sehingga

senyawa-senyawa tersebut ikut terendapkan (Moreira dkk., 2012; Nunes & Coimbra, 2007). Setelah itu, sampel dihomogenkan menggunakan vortex agar proses pencampuran berlangsung merata, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 5 menit untuk memisahkan partikel koloid yang mengendap dari supernatan.

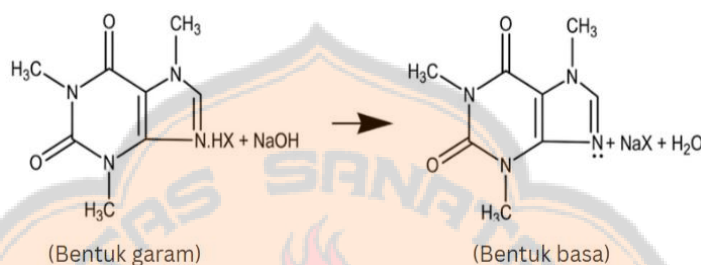
Setelah proses sentrifugasi, endapan seng ferisianida bersama senyawa-senyawa penyebab warna dan kekeruhan akan berada di dasar tabung, sedangkan supernatan menjadi lebih jernih. Dengan demikian, perubahan warna larutan dari coklat menjadi bening karena pigmen melanoidin dan komponen matriks lainnya telah terikat pada endapan seng ferisianida dan terpisah dari fase cair. Kafein tetap berada di dalam supernatan karena tidak berikatan dengan endapan tersebut, sehingga larutan yang diperoleh lebih sesuai untuk dianalisis menggunakan HPLC. Penghilangan komponen matriks ini penting untuk mengurangi gangguan pada kromatogram, meningkatkan selektivitas analisis, serta membantu menjaga performa kolom HPLC dari kontaminasi senyawa bermolekul besar (Nollet dan Toldrá, 2015). Reaksi pembentukan koloid yang terjadi saat seng asetat dicampur dengan kalium ferisianida dapat dilihat pada gambar ini:



Gambar 3. Reaksi Pembentukan Koloid
(Sutomo dkk., 2024)

Setelah diperoleh supernatan, selanjutnya ditambahkan larutan NaOH 10 N. Penambahan NaOH bertujuan menciptakan suasana basa sehingga senyawa-senyawa asam dalam ekstrak kopi, seperti asam klorogenat dan senyawa fenolik lainnya mengalami deprotonasi menjadi bentuk anion yang lebih polar sehingga tetap berada pada fase air dan tidak terekstraksi ke dalam pelarut organik.

(Vandeponseele dkk., 2021). Kondisi basa juga mengurangi interaksi kafein dengan komponen matriks tersebut sehingga kafein berada dalam bentuk molekul netral (*unionized*). Dalam bentuk ini, kafein memiliki afinitas yang lebih besar terhadap pelarut organik, yaitu kloroform, sehingga proses ekstraksi cair-cair berlangsung lebih efektif dan menghasilkan pemisahan kafein yang lebih optimal (Chrismaaji, 2018).



Gambar 4. Reaksi Pelepasan Kafein Ke Bentuk Basa
(Rahmawati dkk., 2021)

Filtrat yang sudah dibasakan kemudian diekstraksi menggunakan pelarut kloroform, yang sebelumnya berupa garam larut air, telah diubah menjadi bentuk bebas melalui reaksi pembasaan sehingga lebih mudah larut dalam pelarut organik seperti kloroform. Kloroform memiliki titik didih rendah, yaitu sekitar 61–62°C, sehingga mudah menguap dengan cepat tanpa menyebabkan degradasi molekul kafein saat proses pemanasan (Sutomo dkk., 2024). Hal ini memastikan bahwa kafein hasil ekstraksi tetap stabil selama proses penguapan karena titik dekomposisi kafein, yaitu sekitar 178°C, jauh lebih tinggi dibandingkan titik didih kloroform (Sutomo dkk., 2024). Penggunaan kloroform dinilai tepat untuk ekstraksi kafein karena kafein terekstrak lebih optimal dalam pelarut ini dibandingkan pelarut lain seperti karbon tetraklorida, dietil eter, maupun n-heksana. Pada saat proses ekstraksi, kloroform membentuk dua fase yang berbeda, yaitu fase kloroform berada pada bagian bawah yang melarutkan kafein,

sedangkan komponen lain yang bersifat hidrofilik fase air berada pada bagian atas (Ramdan dkk., 2021).

Seluruh ekstrak kloroform dicampurkan bersama lalu diuapkan pada suhu 90°C untuk menghilangkan sisa pelarut yang masih ada. Suhu tersebut dipilih agar kloroform dapat menguap dengan sempurna tanpa merusak struktur kafein. Setelah proses penguapan selesai, dilakukan kristalisasi kafein, dimana kristal yang terbentuk dari kopi memiliki bentuk seperti jarum dengan warna kuning kecoklatan. Karakteristik ini menunjukkan bahwa kafein telah berhasil diisolasi. Sehingga, proses pembentukan kristal menghasilkan kafein yang memiliki kemurnian memadai untuk dianalisis secara kuantitatif (Sutomo dkk., 2024).

4.3. Identifikasi Kafein Berdasarkan Waktu Retensi

Waktu retensi adalah parameter dalam analisis HPLC yang menunjukkan seberapa lama suatu senyawa bergerak melalui kolom kromatografi mulai dari saat diinjeksikan hingga terdeteksi oleh detektor (Sanuddin dkk., 2021). Nilai waktu retensi dipengaruhi oleh interaksi antara analit, fase diam, dan fase gerak, sehingga setiap senyawa akan memiliki karakteristik waktu retensi yang berbeda dalam kondisi analisis yang sama. Oleh karena itu, waktu retensi dapat digunakan sebagai salah satu parameter untuk mengetahui keberadaan kafein dalam sampel kopi tersebut. Hasil perbandingan dapat dilihat pada **Tabel II**.

Tabel II. Identifikasi Waktu Retensi dan *Tailing Factor*

Sampel	Replikasi	tR Baku (menit)	tR Sampel (menit)	Selisih tR (menit)	<i>Tailing Factor</i> Sampel	<i>Tailing Factor</i> Baku
1	1	2.843	2.869	0.026	2.222	1.555
	2		2.866	0.023	2.240	
2	1		2.872	0.029	2.361	
	2		2.872	0.029	2.286	
3	1		2.865	0.022	2.216	
	2		2.869	0.026	2.189	
4	1		2.871	0.028	2.303	
	2		2.871	0.028	2.336	
5	1		2.869	0.026	2.265	
	2		2.870	0.027	2.226	
6	1		2.869	0.026	2.332	
	2		2.869	0.026	2.286	

Berdasarkan hasil yang tertera waktu retensi larutan baku kafein adalah 2,843 menit, sedangkan waktu retensi sampel berada pada rentang 2,865–2,872 menit. Selisih waktu retensi antara larutan baku dan sampel berkisar 0,022–0,029 menit. Perbedaan tersebut menunjukkan bahwa waktu retensi sampel sangat mendekati waktu retensi larutan baku, sehingga puncak yang muncul pada kromatogram sampel dapat diidentifikasi sebagai puncak kafein. Selain itu, selisih waktu retensi tersebut masih berada di bawah batas toleransi, yaitu tidak lebih dari $\pm 0,1$ menit atau 2% dari waktu retensi analit (Boswell dkk., 2015).

Nilai *tailing factor* pada sampel yang berkisar antara 2,189–2,361 menunjukkan bahwa puncak kromatogram mengalami peak tailing, yaitu kondisi ketika puncak tidak lagi simetris dan cenderung memanjang ke arah belakang. Nilai tersebut lebih tinggi dibandingkan *tailing factor* larutan baku sebesar 1,555, yang mengindikasikan bahwa bentuk puncak pada sampel dipengaruhi oleh keberadaan komponen matriks kopi. Menurut Farmakope Indonesia Edisi VI

(2020), nilai *tailing factor* yang memenuhi persyaratan HPLC adalah ≤ 2 . Nilai *tailing factor* yang mendekati 1 menunjukkan bentuk puncak yang semakin simetris, sedangkan nilai yang melebihi 2 mengindikasikan terjadinya *peak tailing* sehingga kualitas pemisahan menjadi kurang optimal.

Peak tailing pada kromatografi fase balik (RP-HPLC) dapat disebabkan oleh interaksi sekunder antara analit dengan gugus silanol residu (residual silanol) pada permukaan fase diam berbasis silika. Interaksi silanofilik tersebut menyebabkan sebagian molekul analit tertahan lebih lama dibandingkan molekul lainnya sehingga analit keluar dari kolom secara tidak bersamaan dan menghasilkan puncak kromatogram yang memanjang (*tailing*) (Zhou dkk., 2024).

Perbedaan nilai tersebut juga disebabkan oleh efek matriks (*matrix effect*), karena ekstrak kopi tidak hanya mengandung kafein, tetapi juga berbagai komponen lain seperti melanoidin, senyawa fenolik, protein, polisakarida, serta senyawa hasil penyangraian yang masih mungkin tersisa meskipun telah dilakukan proses klarifikasi menggunakan seng asetat dan kalium ferosianida. Keberadaan komponen-komponen tersebut dapat berinteraksi dengan fase diam kolom sehingga memengaruhi proses perpindahan massa analit dan menyebabkan bentuk puncak menjadi kurang simetris (*peak tailing*) (McCalley, 2023). Meskipun demikian, kedekatan waktu retensi antara larutan baku dan sampel menunjukkan bahwa identitas puncak kafein tidak terpengaruh, sehingga puncak tersebut tetap dapat digunakan sebagai dasar dalam penetapan kadar kafein.

4.4. Penetapan Kadar

Penetapan kadar dilakukan secara kuantitatif dengan melihat luas puncak (*Area Under Curve*) yang muncul dari kromatogram sampel. Nilai luas area

sampel kemudian dimasukkan ke dalam persamaan regresi linear yang didapat dari kurva kalibrasi yaitu menggunakan persamaan $y = 21038x + 30066$ untuk mengetahui konsentrasi kafein dalam larutan sampel. Konsentrasi yang sudah didapat kemudian digunakan untuk menentukan jumlah kafein dalam sampel kopi.

Analisis kadar kafein dilakukan dengan enam kali replikasi sebagai bagian dari evaluasi presisi metode. Replikasi bertujuan untuk menilai konsistensi hasil pengukuran melalui variasi data yang diperoleh dari setiap pengulangan. Panduan validasi USP (2023), menetapkan bahwa pengujian presisi pada parameter *repeatability* memerlukan minimal enam kali replikasi. Kadar kafein dalam sampel kopi bubuk *excelsa* kemudian dihitung berdasarkan persamaan kurva kalibrasi yang telah diperoleh, dan hasilnya disajikan pada **Tabel III**.

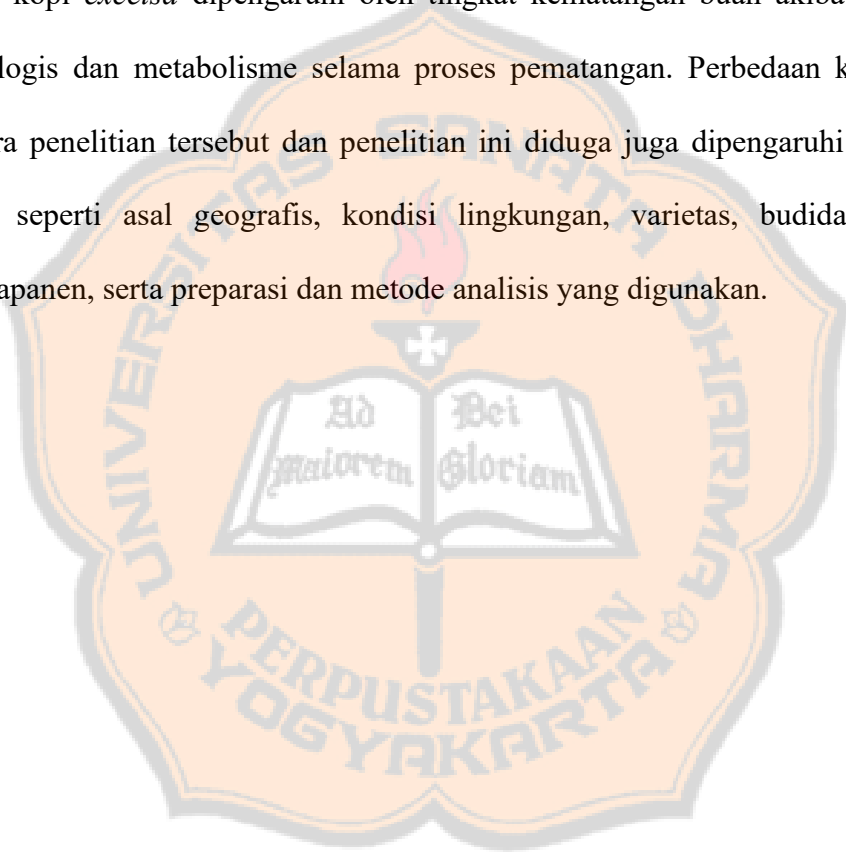
Tabel III. Hasil Perhitungan Kadar Kafein Dalam Sampel Kopi

@2 gram kopi bubuk				
Replikasi Sampel	Pengambilan	Konsentrasi (µg/mL)	Jumlah kafein dalam 1 kali penyajian (mg)	Kadar %b/b
I	1	13,396	5,022	0,502
	2	13,298	4,986	0,499
II	1	13,601	4,915	0,491
	2	13,428	4,977	0,498
III	1	13,268	4,974	0,497
	2	13,111	4,912	0,491
IV	1	13,482	5,055	0,506
	2	13,378	5,099	0,510
V	1	13,168	5,037	0,504
	2	13,103	5,021	0,502
VI	1	13,387	5,018	0,502
	2	13,277	4,936	0,494
$\bar{x}$			4,989	0,499
SD			0,049	0,005
CV (%)			0,990	0,991

Hasil penetapan kadar menunjukkan bahwa kadar kafein dalam kopi bubuk *excelsa* memiliki rata-rata sebesar 0,499% b/b, dengan rentang kadar

0,491–0,510% b/b. Nilai tersebut menunjukkan bahwa kadar kafein pada seluruh replikasi relatif seragam, yang juga didukung oleh nilai koefisien variasi (CV) sebesar 0,991%, sehingga menunjukkan bahwa metode analisis yang digunakan memiliki presisi yang baik. Nilai tersebut lebih rendah dibandingkan kisaran kadar kafein yang tercantum dalam SNI 8964:2021, yaitu 0,9–2,5%.

Pada penelitian Salsabila dkk. (2024) menunjukkan bahwa kadar kafein pada kopi *excelsa* dipengaruhi oleh tingkat kematangan buah akibat perubahan fisiologis dan metabolisme selama proses pematangan. Perbedaan kadar kafein antara penelitian tersebut dan penelitian ini diduga juga dipengaruhi oleh faktor lain, seperti asal geografis, kondisi lingkungan, varietas, budidaya, metode pascapanen, serta preparasi dan metode analisis yang digunakan.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kadar kafein pada rentang 0,491–0,510% b/b dengan kadar rata-rata sebesar 0,499% b/b. Hasil pengujian menunjukkan nilai koefisien variasi (CV) sebesar 0,991%, yang mengindikasikan bahwa metode RP-HPLC memiliki presisi yang baik dalam penetapan kadar kafein pada sampel kopi bubuk *excelsa*.

5.2 Saran

Penelitian selanjutnya disarankan melakukan analisis kadar kafein pada sampel kopi bubuk *excelsa* dari berbagai produsen atau daerah asal sehingga dapat memberikan gambaran variasi kadar kafein yang lebih luas. Penelitian selanjutnya disarankan melakukan analisis kadar kafein pada sampel kopi bubuk *excelsa* dari berbagai produsen atau daerah asal sehingga dapat memberikan gambaran variasi kadar kafein yang lebih representatif.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, Z, A., Wuryandari, Y., Mas'udah, K, W., Tamrin, M, H., 2022. Rebranding Produk Kopi Excelsa Oleh Kelompok Masyarakat KOPI GUNUNG Dengan Packaging Baru dan Digital Marketing. *Jurnal Plakat*, 4(2): 195-211.
- Anam, K., Arif, D., Putra, B, C., Ngibad, K., Farkhan, M., Andriansyah, F., Yanto, F, T., Melinda, S, D., 2024. PKM Strategi Pengembangan Petani Kopi Excelsa Wonosalam Desa Sumberjo Kecamatan Wonosalam Kabupaten Jombang. *Jurnal Pengabdian Sosial*, 1(10): 1771-1777.
- Anggraini, N., Desmaniar, P., 2020. Optimasi Penggunaan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) Untuk Analisis Asam Askorbat Guna Menunjang Kegiatan Praktikum Bioteknologi Kelautan. *Jurnal peneliti Sains*, 22(2): 69-75.
- AOAC., 2016. *Appendix F : Guidelines for Standard Method Performance Requirements*. AOAC International.
- AOAC., 2023. *Official Methods of Analysis: 22nd Edition*. AOAC International, Rockville.
- Badan Standarisasi Nasional., 2021. *Standar Nasional Indonesia: Kopi Sangrai dan Kopi Bubuk*. Badan Standardisasi Nasional, Jakarta.
- Bhati, C., Minocha, N., Purohit, D., Kumar, S., Makhija, M., Saini, S., Kaushik, D., Pandey, D., 2022. High Performance Liquid Chromatography: Recent Patents and Advancement. *Biomedical & Pharmacology Journal*, 15(2): 729-746.
- Boswell, P, G., Pella, D, A., Hewitt, D, T., 2015. Calculation of Retention Time Tolerance Windows with Absolute Confidence from Shared Liquid Chromatographic Retention Data, *J Chromatogr A. Author manuscript*, 1412: 1-20.
- Chan, C, C., Lam, H., Lee, Y., Zhang, X., 2004. *Analytical Method Validation and Instruments Performance Verification*. John Wiley & Sons, New Jersey.
- Chrismaaji, Y, D., 2018. 'Penetapan Kadar Kafein Dalam Kopi Bubuk Murni Robusta Merek "X" Dengan Metode High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Fase Terbalik'. Universitas Sanata Dharma.
- Chusnah, M., Hartanti, D, A, S., Puspaningrum, Y., Karima, U., 2025. Uji Kafein dan Tanin Teh Celup Cascara Kopi Excelsa Pada Lama Pengeringan Berbeda. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*, 7(2): 1-6.
- Destirana, S., Rahma, R, N., Sena, M, I., Khotimah, F, H., Primasari, A., 2025. Kopi

sebagai Pangan Fungsional: Aktivitas Biologis, Manfaat Kesehatan dan Risiko Toksisitas. *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains dan Teknologi*, 10(3): 279-294.

Dewangga, C, A, W., 2023. 'Penetapan Kadar Racikan Salep Asam Salisilat dan Klobetasol Propionat Dengan Metode KLT-Densitometri'. Universitas Sanata Dharma.

Elfariyanti., Silviana, E., Santika, M., 2020. Analisis Kandungan Kafein Pada Kopi Seduhan Warung Kopi Di Kota Banda Aceh. *Lantanida Journal*, 8(1): 1-12.

Fernandez M, L., Balatico, F, V, M., Clemente, R, M, A., Julian, L, J., Pattung, B, C., 2022. Morphological Characterization and Identification of Excisting Coffee Types at CSU Lal-lo Velana Site. *International Journal of Biosciences*, 2(6): 53-58.

Fitri, N, C., Pratiwi, Y., 2024. Analisis Kadar kafein dalam Sampel Kopi Instan dan Minuman Berenergi Menggunakan high Performance Liquid Chromatography (HPLC). *Jurnal Riset Sains dan Kimia Terapan*, 9(2): 73-80.

Hanres, J, A, R., Pastoriza, S., 2015. Melanoidins in Coffee. *Coffee in Health and Disease Prevention*. Elsevier Inc, Spain, hal. 183-188.

Hisham, W., Nur, H., Sinokort, H., Haslamon, D., Khraiwesh, A., Qawasmeh, A., 2025. Assessment of Caffeine Content in Tea and Coffee Within the Palestinian Market Using HPLC Method. *Future Postharvest and Food*, 2: 87-93.

Herawati, D., Loisanjaya, M, O., Kamal, R, H., Adawiyah, D, R., Andarwulan, N., 2022. Profile of Bioactive Compounds, Aromas, and Cup Quality of Excelsa Coffee (*Coffea liberica* var. *dewevrei*) Prepared from Diverse Postharvest Processes. *International Journal of Food Science*, 1-10.

Kazakevich, Y, V., Lobrutto, R., 2007. *HPLC For Pharmaceutical Scientists*. John Wiley & Sons, Canada.

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia., 2020. *Farmakope Indonesia Edisi VI*. Direktorat Jenderal Kefarmasian dan Alat Kesehatan, Jakarta.

Lestary, S., Nasution, M, A., Ridwanto., Nasution, H, M., 2023. Penetapan Kadar Kafein Ekstrak Daun Teh Hijau dan Putih *Camellia sinensis* (L.) Dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 6(3): 1407-1415.

Mayefis, D., Jannah, N, R., Nurhasnawati, H., Hernahadini, N., Lestari, P., Sundu, R., Kurniawan., Ekayanti, M., Ningsih, Y, F., Jubaidah, S., Prabowo, H., 2023. *Kimia Farmasi Kualitatif (Teori dan Analisa Komprehensif)*. Sonpedia Publishing Indonesia, Jambi.

- McCalley, D. V. 2023. Understanding and managing peak shape for basic solutes in reversed-phase high performance liquid chromatography. *Chemical Communications*, 59, 7887–7899.
- Muryanto., 2020. Validasi Metode Analisa Amonia Pada Air Tanah Menggunakan Metode Spektrofotometri. *Indonesian Journal of Laboratory*, 2(2): 40-44.
- Moffat, A.C., Osselton, M.D. and Widdop, B. (2004) *Clarke's analysis of drugs and poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material. 3th Edition*, Pharmaceutical Press, London.
- Moreira, A.S.P., Nunes, F.M., Domingues, M.R., & Coimbra, M.A. 2012. Coffee Melanoidins: Structures, Mechanisms of Formation and Potential Health Impacts. *Food & Function*, 3, 903–915.
- Nollet, L. M. L., Toldra, F., 2015. *Handbook of Food Analysis Edisi III – Volume I*. CRC Press, New York.
- Novitasari, A, E., Fitriyah, N., 2025. Effect of Extraction and Centrifugation on Caffeine Levels in Urine of Robusta Coffee Drinkers Using the Method of Uv-Vis Spectrophotometry. *International Journal of Health, Economics, and social Sciences*, 7(1): 219-225.
- Nunes, F.M., & Coimbra, M.A. 2007. Melanoidins From Coffee Infusions: Fractionation, Chemical Characterization, and Effect of The Degree of Roast. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(10), 3967–3977.
- Nurhidayanti, N., Munir, M, A., Emelda, E., Fatmawati, A., 2024. Analisis Kafein Pada Minuman Kemasan Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Spektrofotometri. *Jurnal Sains dan Terapan Kimia*, 6(1): 28-35.
- Nuryanti, S, D., Solikah, W, Y., Sari, F, D., Priatno, A., 2025. Penentuan Kadar Kafein Dalam Kopi Bubuk Kemasan Sachet Berbagai Merek Menggunakan Metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). *Jurnal Pendidikan Kimia dan Ilmu Kimia*, 8(2): 71-79.
- Olechno, E., Jakubik, A, P., Zujko, M, E., Socha, K., 2021. Influence of Various Factors on Caffeine Content in Coffee Brews. *Foods*, 10(6): 1-29.
- Pakiding, A, L., 2026. ‘Validasi Metode Reverse Phase-High Performance Liquid Chromatography Pada Penetapan Kadar Senyawa Kafein Dalam Sampel Kopi Bubuk Excelsa’. Universitas Sanata Dharma.
- Parisa, N., Kamaluddin, H, M, T., Saleh, I., Rosdah, A, A., Lusiana, E., Fatmawati., 2024. *Buku Ajar Farmakologi Ekperimental*. Uwais Inspirasi Indonesia.
- Putra, D. D., Yety L, N., dan Dhurhanian, C. E., 2023. Penetapan Kadar Sediaan

Tablet Kombinasi Parasetamol Dan Tramadol Dengan Metode Spektrofotometri UV Lamda Berganda. *Indonesian Journal on Medical Science*, 10: 43- 49

- Rahmawati, I., Asori, S, H., 2024. Comparative Analysis of Caffeine Content in Cold and Hot Brewed Robusta Coffee Using High Performance Liquid Chromatography (HPLC). *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*, 9(1): 15-25.
- Rahmawati, A, I., Wirasti., Rejeki, H., 2021. Analisis Kadar Kafein Pada Produk Bubuk Kopi Murni Yang Dihasilkan di Kabupaten Pekalongan Menggunakan Metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). *Kajen*, 5(1): 61-78.
- Ramdan, S, R, K., Yusuf, A. L., Setiawan, A. 2022. Isolasi Dan Identifikasi Kafein Dari Daun Teh Hijau, Teh Hitam Dan Teh Olong Menggunakan Spektrofotometri UV Vis. *Pharmacy Genius*, 2 (1), 74-82.
- Rosadi, M, I., Majid, A., Rizal, A., Ulum, B., Asror, K., Fu'ad, M., Proyogi, D., Dhani, Y, A., 2021. Pengolahan Kopi Excelsa Pasca Panen Terhadap Roasting Kopi di Kelurahan Pecalukan Kecamatan Prigen Kabupaten Pasuruan. *Jurnal Abdimas Berdaua*, 4(2): 1-7.
- Sanuddin, M., Andriani, M., Ramadhani, D, S., 2021. Penetapan Kadar Vitamin C pada Ekstrak Paprika (*Capsicum annum* var. *grossum* Sendtn.) di Supermarket menggunakan Metode KCKT. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 18(2): 207-212.
- Saraiva, S, M., Jacinto, T, A., Gonçalves, A, C., Gaspar, D.,Silva, L, R., 2023. Overview of Caffeine Effects on Human Health and Emerging Delivery Strategies. *Pharmaceuticals*, 16(8): 1-35.
- Sihombing, R, R., Priyono, S., Hartanti, L., 2022. The Effect Of Excelsa Coffee Roasting Temperature And Time On The Physicochemical And Sensory Properties Of Coffee Powder. *Jurnal Teknologi Pangan*, 1(1): 1-12.
- Sjamsiah., Islamiah, S., 2022. *Dekafeinasi Kopi Arabika (Coffea Arabica L.) dengan Penambahan Mengkudu (Morinda citrifolia)*. Perkumpulan Rumah Cemerlang Indonesia, Jawa Barat.
- Sukma, F, F., Fajri, R., Identifikasi Asam Dehidroasetat Dalam Produk Kosmetika Dengan Menggunakan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). *Jurnal kimia Sains dan Terapan*, 1(2): 15-17.
- Susandi, E., 2019. *Coffee Roasting: Karena Seduhan Kopi Nikmat Berasal dari Proses Yang Tepat*. PT AgroMedia Pustaka.
- Sutomo, A., Ridwan, M., Suswidiyanto V., Pisacha, I, M., Daskar, A., Rosanti, A, S., 2024. The Caffeine Analysis in Tea Bag and Robusta Coffee Using UHPLC Methods. *International Journal of Contemporary Sciences*, 1(12):

916-931.

- Tasiam, E., Amin, A., Hutagalung, F., Wijaya, D. P., Rerung, L. T., Bonaventura, R., Wijiani, N., Hadi, M., Safitri, A. N., Sarima, Eryani, M. C., Munandar, N., dan Aqsa, K. D., 2025. *Analisis: Teori, Metode, dan Aplikasi Laboratorium*. Yayasan Bina Lentera Insan, Manado.
- Umar, S., Saafrida., Lucida, H., 2021. Validasi Metoda Analisis Penetapan Kadar Ketoprofen Pada Tablet Salut Enterik Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dan Spektrofotometri UV. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 8(2): 200-207.
- United States Pharmacopeia. (2023). *United States Pharmacopeia and National Formulary (USP 46–NF 41)*. United States Pharmacopeial Convention.
- Wibowo, Y., Palupi, C, B., 2022. Analisis Nilai Tambah Pengolahan Biji Kopi Arabika (Studi Kasus: Rumah Kopi Banjarsengon, Jember). *Jurnal Agroteknologi*, 16(1): 37-48.
- Vandeponsele, A., Draye, M., Piot, C., Chatel, G., 2021. Study pf Influential Parameters of the Caffeine Extraction from Spent Coffee Grounds: From Brewing Coffee Method to the Waste Treatment Conditions. *Clean Technologies*, 3: 335-350.
- Wijaya, A, T, R., 2026. ‘Optimasi Metode Reverse Phase – High Performance Liquid Chromatography Untuk Senyawa Kafein Dalam Sampel Kopi Bubuk Excelsa’. Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
- Zhou Y., Ramirez, A., Yuill, E, M., Wang, Q., 2024. Mechanistic studies to understand peak tailing due to sulfinic acid- and carboxylic acid-silanophilic interactions in reversed-phase liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1721: 1-10.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Certificate of Analysis Baku Kafein

HiMedia Laboratories Pvt. Ltd.

Certified ISO 9001-2015 and WHO GMP

C-40, Road No.21Y, MIDC, Wagle Ind. Area, Thane(W) - 400604
Website : www.himedialabs.com, Email : info@himedialabs.com

Certificate of Analysis

Material Name: Caffeine anhydrous, Hi-AR™

CAS Number : 58-08-2

Material Code : GRM6753

Lot Number : 0000614926

Molecular Formula : $C_8H_{10}N_4O_2$

Report No : 10000570065

TEST	SPECIFICATIONS	RESULTS
Appearance	Colourless or white to light yellow crystals or powder	White powder
Solubility	10 mg soluble in 1 mL of water	Complies
FTIR	Matches with the standard pattern	Complies
Melting range	233°C - 239°C	Complies
Sulphated ash	$\leq 0.10\%$	0.06%
Loss on drying (at 110°C, 2 hr)	$\leq 0.50\%$	0.16%
Assay (HPLC, on dry basis)	99% - 102%	99.99%

STATUS : APPROVED

QC Release Date : 2023-11-02

Expiry Date : 2027-10-26

Tushar Patel
Quality Control Chemist
Chemical Division

Akul Palve
Manager, Quality Control
Chemical Division

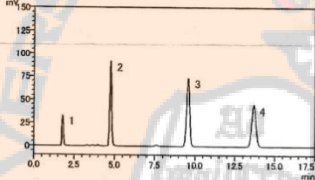
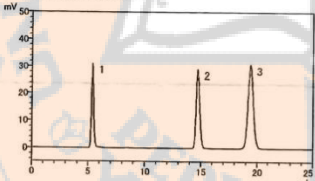
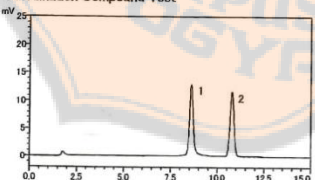
Hemant Malankar
Manager, Quality Assurance
Chemical Division

This is to certify that this lot passes and it conforms to the above mentioned tests and specifications. The information given here is believed to be correct and accurate, however, both the information and products are offered without warranty for any particulars use, other than that specified in the current technical data.

This document has been produced electronically and is valid with out signature.

PAGE : 1 of 1

Lampiran 2. Certificate of Analysis Kolom 18

Certificate of Analysis			
Product Name : YMC-Triart C18		S-5 μ m	12 nm
Product Code : TA12S05		Lot #	13673
Base Material		Specification	Result
Average particle size (D50)	[μ m]	4.70 - 5.30	5.02
Average pore size	[nm]	10.0 - 12.0	11.5
Specific surface area	[m^2/g]	340 - 400	353
Pore volume	[mL/g]	0.90 - 1.10	1.01
Carbon Content	[%]	17.5 - 20.5	19.0
HPLC Test			
Hydrophobic and Acidic Compound Test			
k'(Ethylbenzene)/k'(n-Propylbenzene)		0.648 - 0.672	0.654
k'(4-n-Butoxybenzoic acid)/k'(n-Propylbenzene)		0.233 - 0.267	0.251
Basic Compound Test			
k'(Amitriptyline hydrochloride)/k'(Acenaphthene)		1.25 - 1.45	1.37
Tf(Amitriptyline hydrochloride)		≤ 1.30	1.03
Coordination Compound Test			
k'(Methyl benzoate)/k'(Hinokitiol)		1.27 - 1.33	1.32
Tf(Hinokitiol)		≤ 1.70	1.14
Chromatograms and Conditions			
Hydrophobic and Acidic Compound Test			
		Column size : 150 x 3.0 mm I.D. Eluent : 20 mM KH_2PO_4 - H_2PO_4 (pH3.5)/acetonitrile(40/60,v/v) Flow rate : 0.4 mL/min Detection : UV at 254 nm Temperature : 37 °C Sample : 1. Uracil 2. 4-n-Butoxybenzoic acid 3. Ethylbenzene 4. n-Propylbenzene	
		Column size : 150 x 3.0 mm I.D. Eluent : 20 mM KH_2PO_4 - K_2HPO_4 (pH6.9)/methanol(25/75,v/v) Flow rate : 0.4 mL/min Detection : UV at 254 nm Temperature : 25 °C Sample : 1. Desipramine hydrochloride 2. Acenaphthene 3. Amitriptyline hydrochloride	
		Column size : 150 x 3.0 mm I.D. Eluent : 0.1% (v/v) H_3PO_4 /acetonitrile (60/40,v/v) Flow rate : 0.4 mL/min Detection : UV at 254 nm Temperature : 40 °C Sample : 1. Hinokitiol 2. Methyl benzoate	
Approved : Quality Assurance Dept.			
T. Kamada		Date : July 28, 2015	YMC CO., LTD.

Lampiran 3. Perhitungan Larutan Induk dan Seri Kafein

a. Perhitungan Larutan Induk Kafein 1000 µg/mL

$$\text{Konsentrasi larutan induk kafein} = \frac{25 \text{ mg}}{1000 \text{ mg/L}} = 0,025 \text{ L} = 25 \text{ mL}$$

b. Perhitungan Larutan Intermediet 100 µg/mL

Di pipet 1,0 mL larutan baku 1000 ppm ke dalam labu takar 10 mL, kemudian tambahkan metanol hingga tanda batas.

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi larutan intermediet kafein} &= C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2 \\ &= 1000 \times 1 = 100 \times 10 \\ &= 100 \text{ µg/mL} \end{aligned}$$

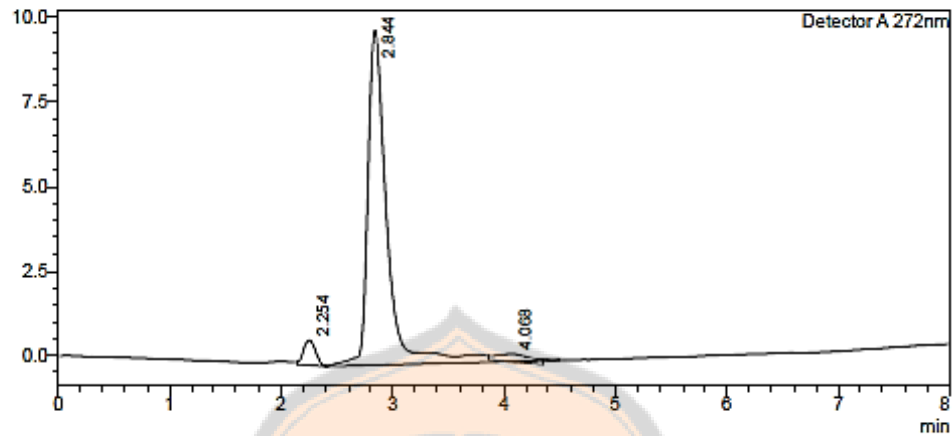
c. Perhitungan Larutan Seri Baku Kafein

Jumlah Intermediet yang diambil (µL)	Metanol ad	Konentrasi yang didapat (µg/mL)
0,4	10	4
0,6	10	6
0,8	10	8
1,0	10	10
1,2	10	12
1,4	10	14
1,6	10	16

Lampiran 4. Kromatogram Baku Kafein Replikasi III Konsentrasi 4 ppm

<Chromatogram>

mV



<Peak Table>

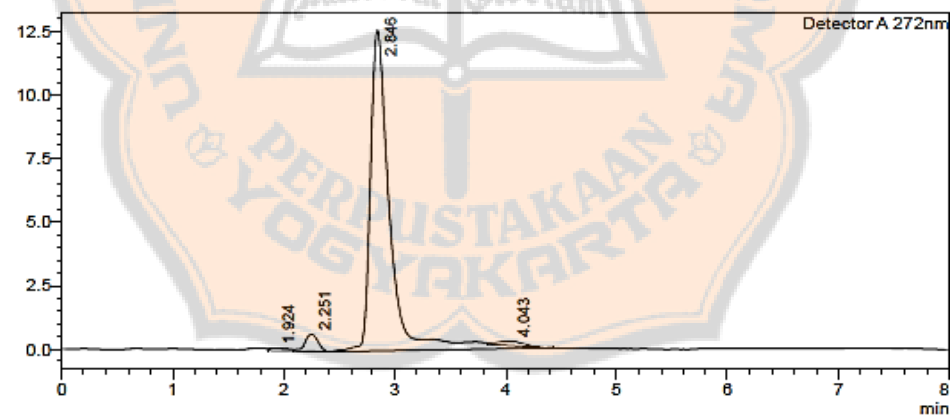
Detector A 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution(USP)
1	2.254	5487	728	—	—
2	2.844	116287	9891	1.549	2.402
3	4.068	5111	231	—	1.293
Total		126865	10847		

Lampiran 5. Kromatogram Baku Kafein Replikasi III Konsentrasi 6 ppm

<Chromatogram>

mV



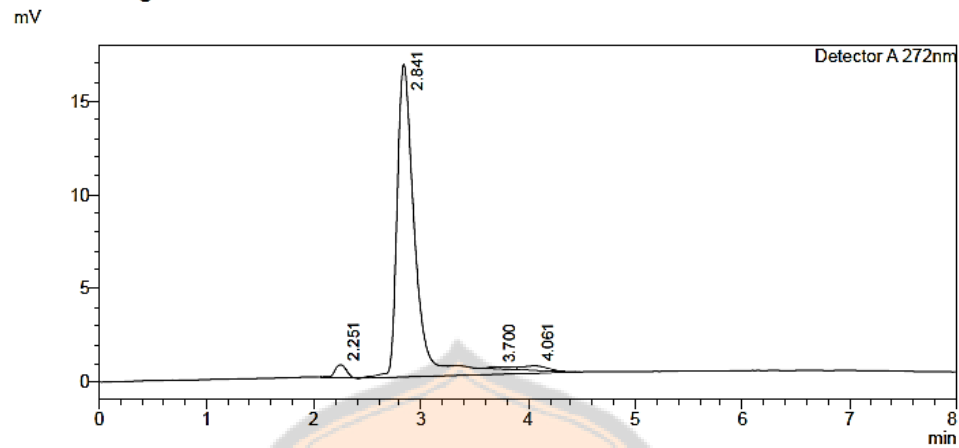
<Peak Table>

Detector A 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution(USP)
1	1.924	1272	98	—	—
2	2.251	5349	658	—	0.713
3	2.846	154050	12600	1.569	2.366
4	4.043	2789	171	—	3.085
Total		163460	13528		

Lampiran 3. Kromatogram Baku Kafein Replikasi III Konsentrasi 8 ppm

<Chromatogram>

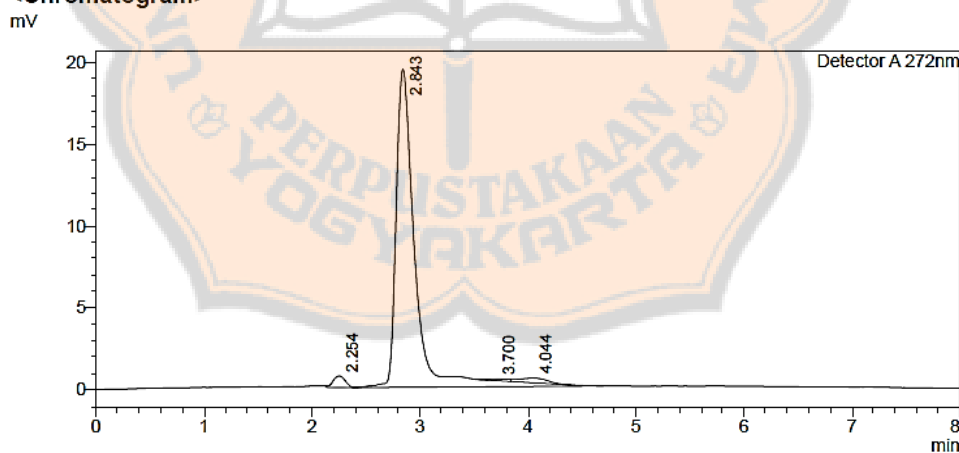


<Peak Table>

Detector A 272nm					
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution(USP)
1	2.251	5741	715	1.569	--
2	2.841	200715	16704		2.405
3	3.700	1680	90		--
4	4.061	3790	235	--	--
Total		211926	17745		

Lampiran 4. Kromatogram Baku Kafein Replikasi III Konsentrasi 10 ppm

<Chromatogram>



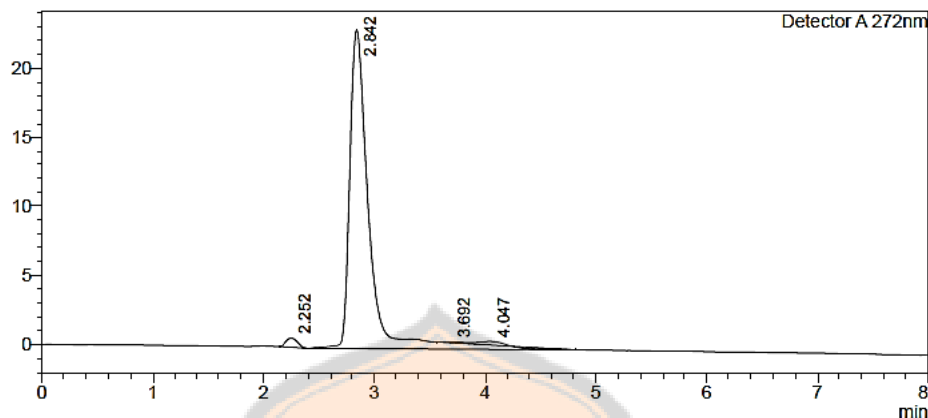
<Peak Table>

Detector A 272nm					
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution(USP)
1	2.254	5424	693	1.572	--
2	2.843	237721	19450		2.374
3	3.700	1485	105		--
4	4.044	5126	286	--	--
Total		249756	20534		

Lampiran 5. Kromatogram Baku Kafein Replikasi III Konsentrasi 12 ppm

<Chromatogram>

mV



<Peak Table>

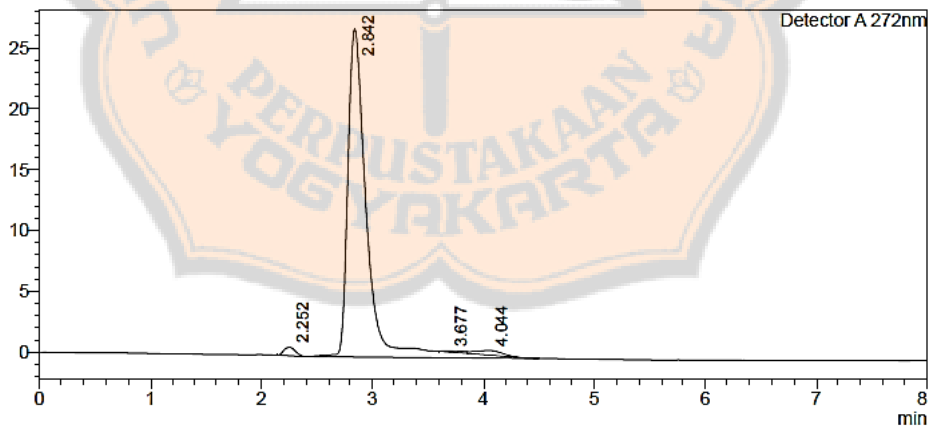
Detector A 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution(USP)
1	2.252	4758	659	1.150	--
2	2.842	283406	23095	1.563	2.436
3	3.692	1020	68	--	0.212
4	4.047	1638	259	--	0.087
Total		290823	24082		

Lampiran 6. Kromatogram Baku Kafein Replikasi III Konsentrasi 14 ppm

<Chromatogram>

mV



<Peak Table>

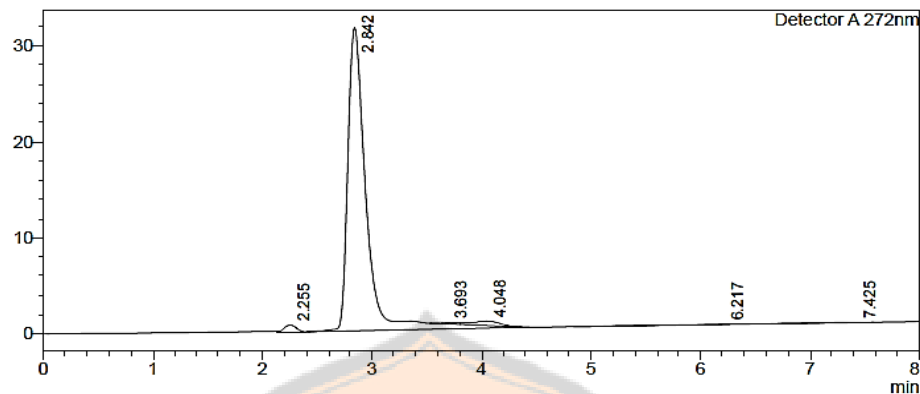
Detector A 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution(USP)
1	2.252	4967	684	1.153	--
2	2.842	320372	26983	1.560	2.437
3	3.677	1688	85	--	--
4	4.044	6061	377	--	--
Total		333087	28129		

Lampiran 7. Kromatogram Baku Kafein Replikasi III Konsentrasi 16 ppm

<Chromatogram>

mV



<Peak Table>

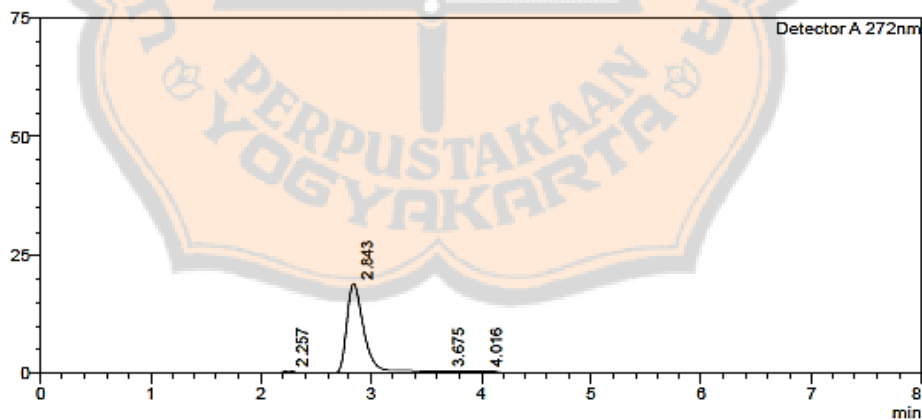
Detector A 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution(USP)
1	2.255	5353	701		
2	2.842	370545	31585	1.555	2.397
3	3.693	1662	134		
4	4.048	8060	460		
5	6.217	1790	23		2.209
6	7.425	1746	30		0.940
Total		389156	32933		

Lampiran 8. Kromatogram Standar Kafein

<Chromatogram>

mV



<Peak Table>

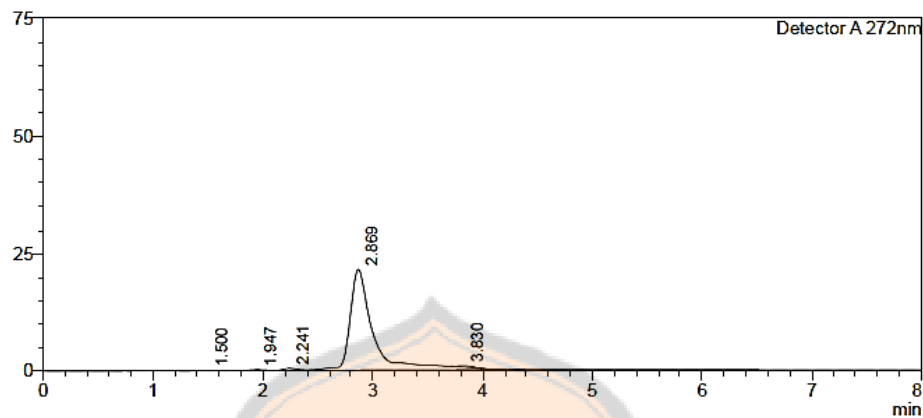
Detector A 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution(USP)
1	2.257	5395	634		
2	2.843	227505	19008	1.555	2.357
3	3.675	1150	76		
4	4.016	4263	279		
Total		238312	19997		

Lampiran 12. Kromatogram Sampel Replikasi 1 Pengambilan 1

<Chromatogram>

mV



<Peak Table>

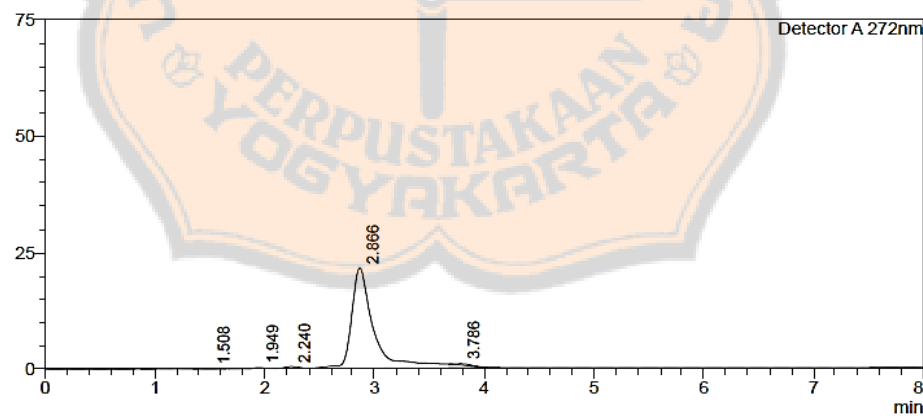
Detector A 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution(USP)
1	1.500	1200	86	---	---
2	1.947	2189	210	---	1.437
3	2.241	3871	435	---	1.198
4	2.869	311899	21417	2.222	2.221
5	3.830	3045	302	1.370	3.234
Total		322203	22450		

Lampiran 13. Kromatogram Sampel Replikasi 1 Pengambilan 2

<Chromatogram>

mV



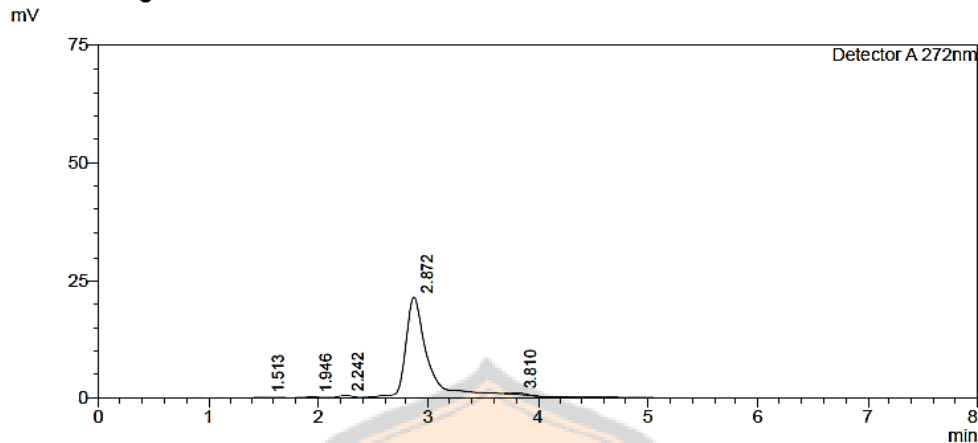
<Peak Table>

Detector A 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution(USP)
1	1.508	1047	86	---	---
2	1.949	2278	222	---	1.520
3	2.240	3961	442	---	1.231
4	2.866	309833	21576	2.240	2.234
5	3.786	3125	312	1.455	3.196
Total		320244	22638		

Lampiran 14. Kromatogram Sampel Replikasi 2 Pengambilan 1

<Chromatogram>

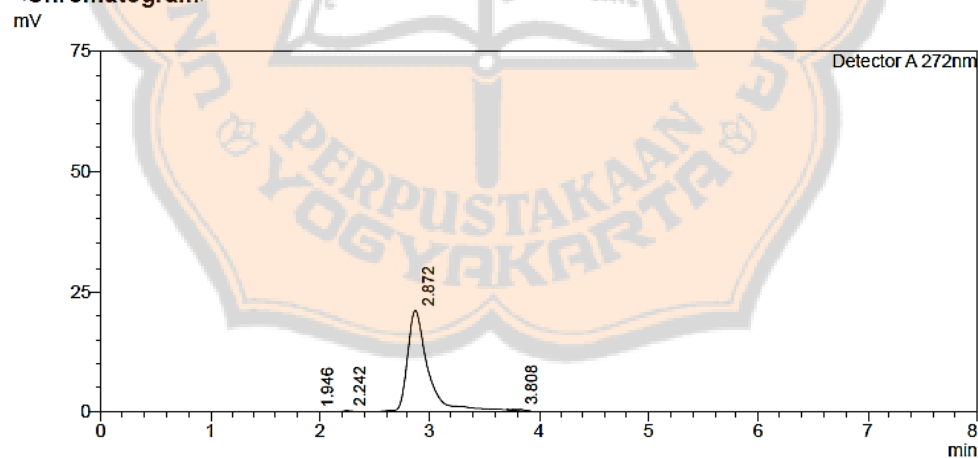


<Peak Table>

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution(USP)
1	1.513	1442	93	--	--
2	1.946	2307	230	--	1.340
3	2.242	4136	453	--	1.202
4	2.872	316225	21367	2.361	2.202
5	3.810	3067	298	1.401	3.202
Total		327177	22440		

Lampiran 15. Kromatogram Sampel Replikasi 2 Pengambilan 2

<Chromatogram>



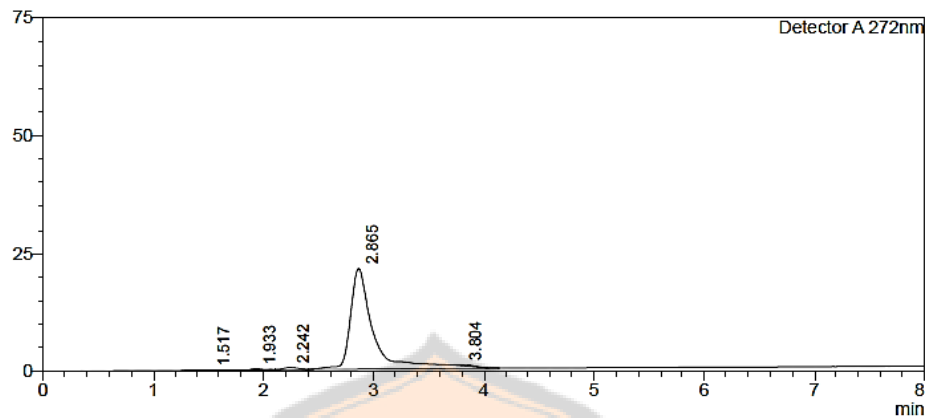
<Peak Table>

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution(USP)
1	1.946	1236	183	1.264	--
2	2.242	3314	407	1.191	1.433
3	2.872	312582	21367	2.286	2.318
4	3.808	3002	290	1.504	3.223
Total		320133	22247		

Lampiran 16. Kromatogram Sampel Replikasi 3 Pengambilan 1

<Chromatogram>

mV



<Peak Table>

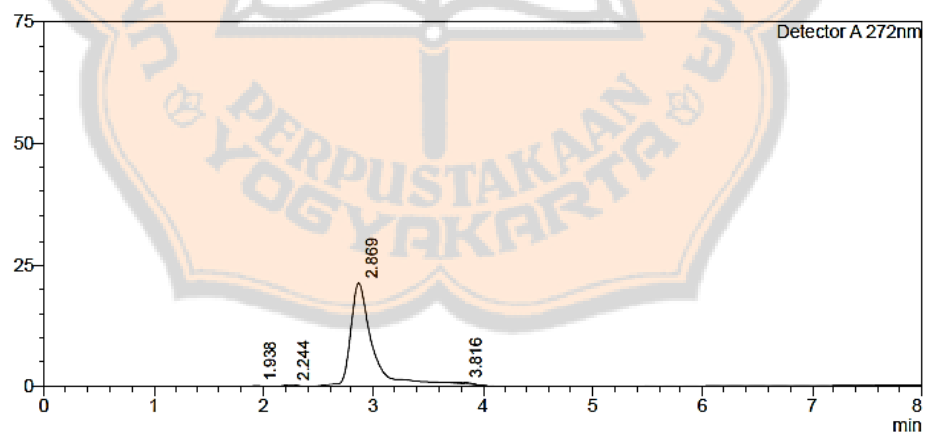
Detector A 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution(USP)
1	1.517	1262	89	--	--
2	1.933	2483	256	--	1.365
3	2.242	4326	460	--	1.280
4	2.865	309209	21349	2.216	2.177
5	3.804	3051	304	1.372	3.207
Total		320331	22457		

Lampiran 17. Kromatogram Sampel Replikasi 3 Pengambilan 2

<Chromatogram>

mV



<Peak Table>

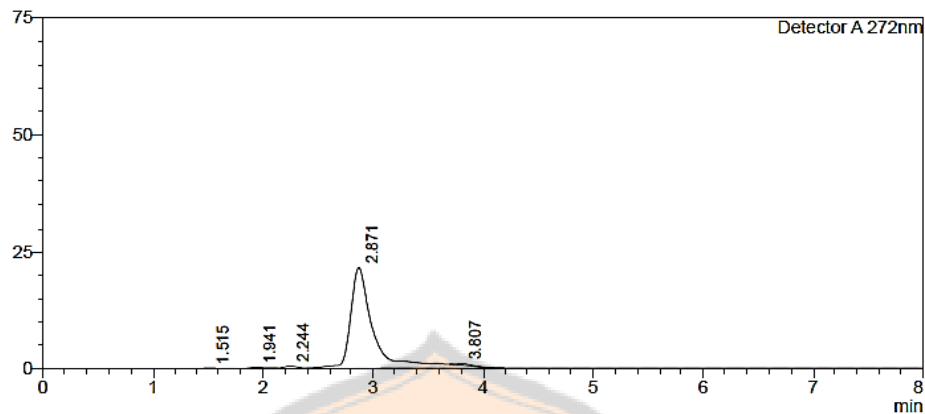
Detector A 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution(USP)
1	1.938	1638	209	--	--
2	2.244	3635	424	--	1.402
3	2.869	305894	21282	2.189	2.259
4	3.816	2992	302	1.402	3.229
Total		314159	22217		

Lampiran 18. Kromatogram Sampel Replikasi 4 Pengambilan 1

<Chromatogram>

mV



<Peak Table>

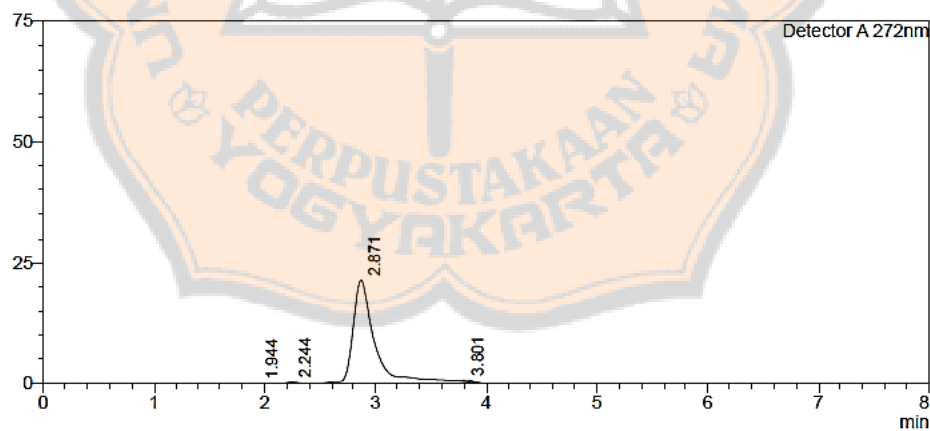
Detector A 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution(USP)
1	1.515	1092	79	--	--
2	1.941	2363	232	--	1.222
3	2.244	4030	451	--	1.276
4	2.871	313719	21496	2.303	2.215
5	3.807	3098	302	1.421	3.196
Total		324302	22560		

Lampiran 19. Kromatogram Sampel Replikasi 4 Pengambilan 2

<Chromatogram>

mV



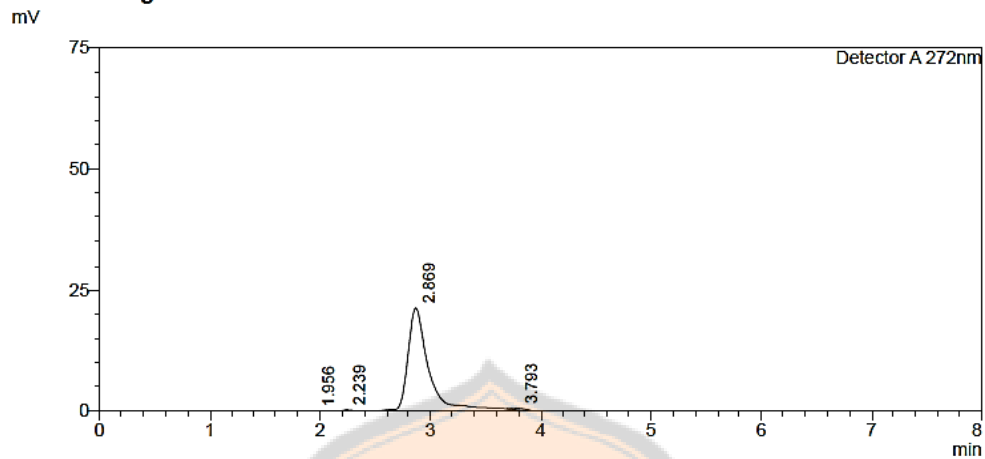
<Peak Table>

Detector A 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution(USP)
1	1.944	1389	192	--	--
2	2.244	3458	425	1.161	1.415
3	2.871	311534	21537	2.336	2.316
4	3.801	3028	301	1.477	3.206
Total		319409	22454		

Lampiran 20. Kromatogram Sampel Replikasi 5 Pengambilan 1

<Chromatogram>

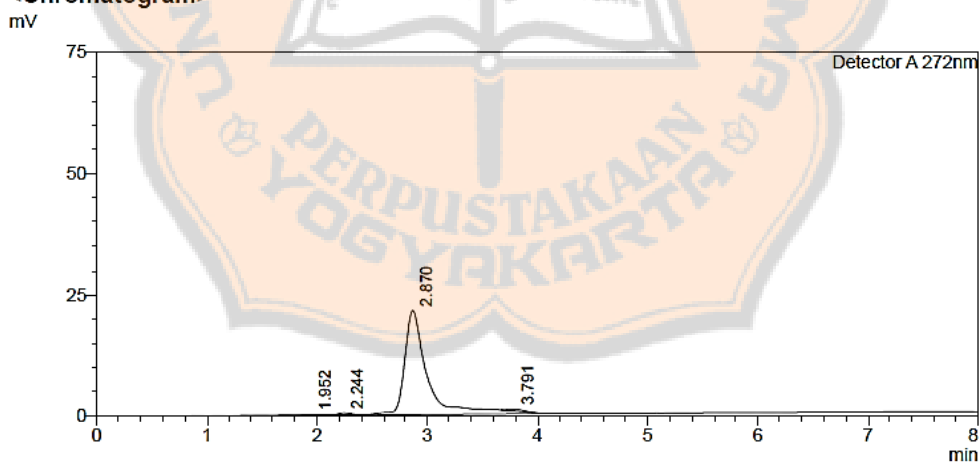


<Peak Table>

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution(USP)
1	1.956	1475	187	--	--
2	2.239	3444	417	--	1.300
3	2.869	307094	21518	2.265	2.320
4	3.793	3035	300	1.473	3.213
Total		315049	22422		

Lampiran 21. Kromatogram Sampel Replikasi 5 Pengambilan 2

<Chromatogram>



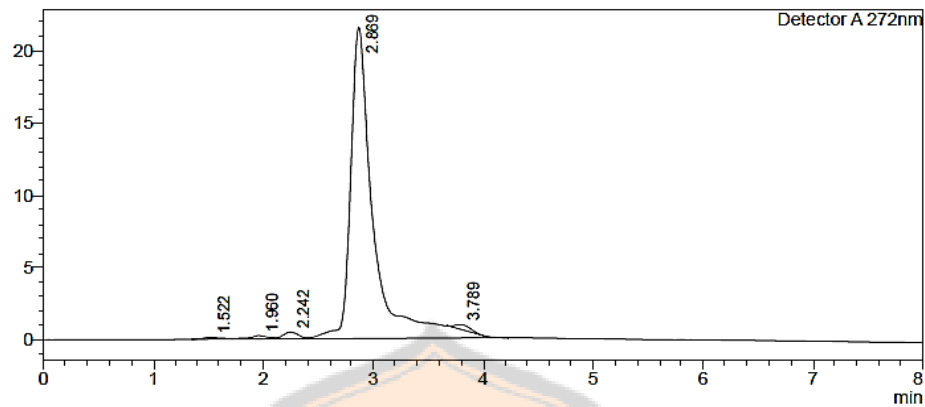
<Peak Table>

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution(USP)
1	1.952	1812	202	--	--
2	2.244	3528	426	--	1.330
3	2.870	305718	21413	2.226	2.307
4	3.791	3268	320	1.347	3.170
Total		314325	22360		

Lampiran 22. Kromatogram Sampel Replikasi 6 Pengambilan 1

<Chromatogram>

mV



<Peak Table>

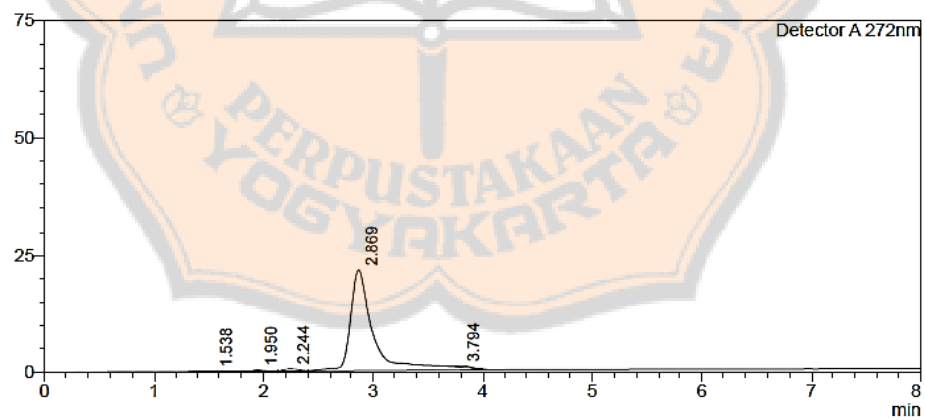
Detector A 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution(USP)
1	1.522	1391	96	--	--
2	1.960	2745	231	--	1.203
3	2.242	4333	465	--	1.077
4	2.869	311708	21503	2.332	2.192
5	3.789	3198	313	1.427	3.185
Total		323375	22609		

Lampiran 23. Kromatogram Sampel Replikasi 6 Pengambilan 2

<Chromatogram>

mV



<Peak Table>

Detector A 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution(USP)
1	1.538	1307	100	--	--
2	1.950	2520	236	--	1.329
3	2.244	4143	452	--	1.204
4	2.869	309396	21457	2.286	2.216
5	3.794	3162	322	1.367	3.204
Total		320528	22567		

Lampiran 24. Perhitungan Penetapan Kadar Kafein Pada Enam Sampel

$$\% \text{Kadar} = \frac{\text{Konsentrasi } \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right) \times \text{Volume total sampel (mL)} \times \text{Faktor pengenceran}}{\text{berat sampel (g)}}$$

Persamaan regresi $y = 21038x + 30066$

Replikasi 1 pengambilan1

$$\text{Maka } x = \frac{311899 - 30066}{21038} = 13,396 \mu\text{g/mL}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar \%b/b} &= \frac{13,396 \mu\text{g/mL} \times 150 \text{ mL} \times 5}{2,0008 \text{ gram}} \\ &= \frac{10,047}{2,0008 \text{ gram}} \\ &= 5021,4914 \mu\text{g/g} = 5,022 \text{ mg/g} \end{aligned}$$

$$\% \text{ kafein} = \frac{5,022 \text{ mg}}{1000 \text{ mg}} \times 100\% = 0,502\%$$

Replikasi Sampel	Pengambilan	AUC (y)	Konsentrasi (x) ($\mu\text{g/mL}$)	Berat Sampel (g)	Kadar kafein pada kopi bubuk dalam 2 gram	
					mg	% b/b
I	1	311899	13,396	2,0008	5,022	0,502
	2	309833	13,298		4,986	0,499
II	1	316225	13,601	2,0007	4,915	0,491
	2	312582	13,428		4,977	0,498
III	1	309209	13,268	2,0008	4,974	0,497
	2	305894	13,111		4,912	0,491
IV	1	313719	13,482	2,0007	5,055	0,506
	2	311534	13,378		5,099	0,510
V	1	307094	13,168	2,0008	5,037	0,504
	2	305718	13,103		5,021	0,502
VI	1	311708	13,387	2,0008	5,018	0,502
	2	309396	13,277		4,936	0,494

BIOGRAFI PENULIS



Penulis skripsi yang berjudul “Penetapan Kadar Senyawa Kafein dalam Kopi Bubuk Excelsa (*Coffea excelsa*) dengan Metode *Reverse Phase-High Performance Liquid Chromatography* (RP-HPLC)” bernama lengkap Febby Caroline Tarihoran, lahir di Tarakan pada 1 Februari 2004. Penulis merupakan anak pertama dari tiga bersaudara, pasangan Reston Tarihoran dan Simatupang Betty Christina. Penulis menempuh pendidikan formal di TK Immanuel Tarakan (2008–2010), SDN Utama 2 Tarakan (2010–2016), SMP Negeri 7 Tarakan (2016–2019), dan SMA Swasta Don Bosco Tarakan (2019–2022). Pada tahun 2022, penulis melanjutkan pendidikan di Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta. Selama menempuh pendidikan di perguruan tinggi, penulis aktif mengikuti berbagai kegiatan, antara lain sebagai anggota Divisi Dekorasi dalam kegiatan *INSADHA* tahun 2024 serta berpartisipasi dalam kegiatan Pengabdian kepada Masyarakat bertema “*Edukasi Pemilihan dan Penggunaan Facial Wash Sesuai Jenis Kulit*” pada tahun 2025.