

PENETAPAN PANJANG GELOMBANG MAKSIMUM, KURVA BAKU DAN KADAR KAFEIN PADA TEH MENGGUNAKAN U-HPLC

Iga Mayola Pisacha^{1*}, Diah Kartika Putri¹, Ardiansyah², Taufiki
Miftausakina²

¹Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas Aisyah Pringsewu,
Lampung, Indonesia

²Mahasiswa Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas Aisyah
Pringsewu, Lampung, Indonesia

Korespondensi E-mail : igamayola@aisyahuniversity.ac.id

ABSTRAK

Berdasarkan Food Drug Administration, dosis kafein yang diizinkan yaitu sebanyak 100-200mg/hari, sedangkan menurut SNI 01-7152-2006 batas maksimum kafein pada makanan dan minuman yaitu 150 mg/hari dan 50 mg/sajian. Tujuan penelitian ini yaitu membuat kurva baku dan menentukan kadar kafein dalam sampel teh. Pada penelitian ini dilakukan analisis kadar kafein menggunakan metode U-HPLC yang mana aseton : dapar : air : metanol digunakan sebagai fasa gerak dan kolom C18 sebagai fasa diam. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh bahwa sampel yang dibuat dalam empat konsentrasi berbeda yaitu 20; 40; 60 dan 80 ppm diperoleh hasil perhitungan kadar tiap 5mg sampel sebanyak 0,0471; 0,0473; 0,0472 dan 0,0130mg/L. Dapat disimpulkan bahwa masing-masing sampel memiliki kadar kafein yang berbeda. Sampel K4 (80 ppm) memiliki kadar kafein paling rendah dan sampel K2 (40 ppm) memiliki kadar kafein paling tinggi. Semakin rendah kandungan kafein maka semakin baik kualitasnya.

Kata Kunci: Kafein, Kuantitatif, Teh, U-HPLC

ABSTRACT

Based on the Food Drug Administration, the allowed dose of caffeine is 100-200 mg/day, while according to SNI 01-7152-2006 the maximum limit for caffeine in food and beverages is 150 mg/day and 50 mg/serving. The purpose of this research is to make a standard curve and determine the caffeine content in tea samples. In this study, analysis of caffeine content was carried out using the U-HPLC method in which acetone : buffer : water : methanol was used as the mobile phase and column C18 as the stationary phase. Based on the research results, it was found that the samples were made in three different concentrations, namely 20; 40; 60 and 80 ppm, the results of calculating the concentration of each 5 mg sample were

0.0471; 0.0473; 0.0472 and 0.0130mg/L. It can be concluded that each sample has a different level of caffeine. Sample K4 (80 ppm) had the lowest caffeine content and sample K2 (40 ppm) had the highest caffeine content. The lower the caffeine content, the better the quality.

Keywords: Caffeine, Quantitative, Tea, U-HPLC

PENDAHULUAN

Teh adalah salah satu jenis minuman yang paling dikenal di dunia. Indonesia termasuk dalam 5 negara terbesar pengekspor teh selain India, China, Sri Lanka, dan Kenya. Produksi ekspor teh di Indonesia mencapai 6% dari total ekspor teh di dunia. Teh banyak dikonsumsi karena selain rasanya yang khas, teh juga memiliki banyak khasiat (Tyas, 2021). Manfaat teh begitu banyak namun terdapat pula zat dalam teh yang berakibat kurang baik untuk tubuh. Zat tersebut adalah kafein. Meski kafein aman dikonsumsi, zat tersebut dapat menimbulkan reaksi yang tidak dikehendaki jika dikonsumsi secara berlebihan seperti insomnia, gelisah, delirium, takikardia, ekstrasistole, pernapasan meningkat, tremor otot dan diuresis (Ramdan dkk, 2023).

Kafein merupakan senyawa alkaloid metilxantin (basa purin) yang berwujud Kristal berwarna putih dan bersifat psikoaktif (Andi Ilham Latunra, 2021). Kandungan yang terdapat pada kafein memiliki banyak manfaat seperti dapat menstimulasi susunan saraf, merelaksasikan otot polos terutama otot polos bronkus dan stimulus otot jantung. Efek samping yang akan didapatkan bila mengkonsumsi terlalu sering dapat menyebabkan gugup, gelisah,

insomnia, mual dan kejang (Mierza dkk., 2023). Berdasarkan Food Drug Administration diacu dari Liska (2014), dosis kafein yang diizinkan yaitu sebanyak 100-200mg/hari, sedangkan menurut SNI 01-7152-2006 batas maksimum kafein pada makanan dan minuman yaitu 150 mg/hari dan 50 mg/sajian. Kafein ini merupakan stimulan tingkat sedang (mild stimulant) yang sering diduga sebagai penyebab kecanduan. Dalam jumlah banyak kafein dapat menimbulkan kecanduan, namun gejala kecanduan kafein akan hilang dalam waktu satu sampai dua hari setelah mengkonsumsi (Abriyani dkk, 2023).

Saat ini, sebagian besar metode analisis obat yang direkomendasikan oleh Farmakope didasarkan pada teknik kromatografi, salah satunya yaitu HPLC. High Performance Liquid Chromatography (HPLC) adalah teknik kromatografi cair (LC) yang penting dan sering digunakan untuk pemisahan berbagai komponen dalam campuran. Berbagai alasan kekurangan dari metode HPLC, dewasa ini muncul suatu instrumentasi yang disebut sebagai UHPLC (Ultra High Performance Liquid Chromatograph) yang menawarkan efisiensi tinggi dalam analisis. UHPLC mencakup pemisahan LC menggunakan kolom

yang mengandung partikel yang lebih kecil dari ukuran 2,5-5- μm yang biasanya digunakan dalam HPLC. Salah satu manfaat yang ditawarkan dalam sistem UHPLC adalah efisiensi yang lebih tinggi dibandingkan dengan HPLC (Annissa dkk, 2019).

Hal di atas yang mendasari peneliti melakukan penelitian yaitu untuk menetapkan panjang gelombang maksimum, kurva baku dan kadar kafein pada teh menggunakan U-HPLC (*Ultra High Performance Liquid Chromatography*).

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang digunakan adalah analisis kuantitatif dengan metode U-HPLC. Analisis kuantitatif adalah suatu analisa yang digunakan untuk mengetahui kadar suatu zat (Maharani dan Yusrin, 2019).

A. ALAT DAN BAHAN

Alat yang digunakan yaitu Alat: labu ukur, pipet volume, kertas saring, dan beaker glass. Bahan yang digunakan yaitu baku kafein, aquades, metanol, sampel teh.

B. PROSEDUR KERJA

1. Preparasi Sampel Teh

Pembuatan sampel teh 100 ppm dalam 50ml aquades. Sampel teh dipisahkan dari campuran bunga melati dalam kemasan, kemudian diblender dan diayak dengan ayakan mesh 40, kemudian disaring dan diambil filtratnya.

2. Pembuatan Larutan Baku Kafein

Baku kafein 0,1mg/ml aquadest dibuat dengan konsentrasi 100ppm.

Larutan induk dibuat dari kafein sebanyak 0,005gr dan dilarutkan dalam labu ukur dengan aquabidest ad 50 mL. Sementara itu, larutan seri dibuat dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80 ppm dari larutan induk kafein.

3. Penentuan Kadar Kafein

Buatlah 4 konsentrasi yang berbeda 20; 40; 60 dan 80 ppm pada masing-masing sampel. Larutan sampel yang telah dipreparasi diinjeksikan sejumlah 200 μL ke dalam sistem UHPLC dengan fase gerak aseton : dapar : air : metanol. Kecepatan alir yang digunakan adalah 2,0 mL/menit pada kondisi isokratik selama 3 menit dengan detektor UV pada panjang gelombang maksimum 274 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil yang diperoleh berupa kromatogram yang akan menunjukkan nilai AUC (Area Under Curve). Kadar kafein masing-masing sampel dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier yang diperoleh (Widhyani *et al.*, 2021). Diperoleh hasil dari praktikum sebagai berikut:

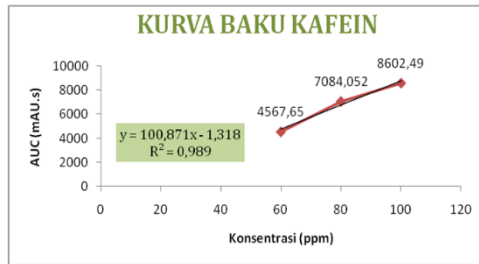
Tabel 1. Nilai AUC masing-masing konsentrasi

Ppm (x)	AUC (y)
60	4567,650
80	7084,052
100	8602,490

A. PENENTUAN AUC DAN LINEARITAS

Linieritas menunjukkan kemampuan suatu metode analisis untuk memperoleh hasil pengujian

yang sesuai dengan konsentrasi analit dalam sampel pada kisaran konsentrasi tertentu. Nilai AUC dari seri konsentrasi standar kafein menentukan linieritas. Hasil linieritas dapat dilihat pada gambar di bawah ini:



Gambar 1. Kurva baku standar kafein

Nilai $r = 0,989$ menunjukkan nilai yang cukup baik karena bernilai $r \geq 0,99$. Hal ini menunjukkan hubungan peningkatan konsentrasi dan respon instrumen yang linier. Persamaan regresi linier yang didapatkan dari AUC seri konsentrasi standar kafein digunakan untuk mensubstitusikan nilai AUC analit sampel (Widhyani *et al.*, 2021). Persamaan garis regresi linier yang diperoleh yaitu $y = 100,871x - 1,318$.

B. KADAR KAFEIN

Konsentrasi kafein pada masing-masing sampel diperoleh dari perhitungan nilai AUC tiap replikasi sampel. Nilai ini disubstitusikan pada persamaan regresi linier yang didapatkan. Masing-masing sampel memiliki konsentrasi kafein yang berbeda. Kadar adalah banyaknya kandungan suatu senyawa dalam sampel. Kadar (b/b) kafein artinya berat kafein yang terkandung dalam tiap bobot sampel (Widhyani *et al.*, 2021). Hasil yang diperoleh:

Tabel 1. Kadar kafein masing-masing sampel teh

Sampel	Kadar kafein rata-rata tiap 5mg	%Kadar
T1	0,0471mg/L	0,188%
T2	0,0473mg/L	0,189%
T3	0,0472mg/L	0,188%
T4	0,0130mg/L	-0,052%

Masing-masing sampel memiliki kadar kafein yang berbeda. Sampel T4 memiliki kadar kafein paling rendah dan sampel T2 memiliki kadar kafein paling tinggi. Semakin rendah kandungan kafein maka semakin baik kualitasnya. 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 (Widhyani *et al.*, 2021).



Gambar 2. Preparasi Sampel



Gambar 3. Persiapan Penentuan Kadar Kafein

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terhadap sampel yang dibuat dalam empat konsentrasi berbeda yaitu 20; 40; 60 dan 80 ppm diperoleh hasil perhitungan kadar tiap 5mg sampel sebanyak 0,0471; 0,0473; 0,0472 dan 0,0130mg/L.

Dapat disimpulkan bahwa masing-masing sampel memiliki kadar kafein yang berbeda. Sampel T4 (80 ppm) memiliki kadar kafein paling rendah dan sampel T2 (40 ppm) memiliki kadar kafein paling tinggi. Semakin rendah kandungan kafein maka semakin baik kualitasnya. Persyaratan SNI 01-7152-2006 menyatakan bahwa ketentuan senyawa bioaktif kafein yang terkandung dalam produk pangan minuman memiliki batas maksimum 50 mg/sajian.

DAFTAR PUSTAKA

- Abriyani, E. *et al.* (2023) 'ANALISIS KADAR KAFEIN KOPI, TEH, DAN COKLAT MENGGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS', *Journal of Comprehensive Science*, 2(1), pp. 7–15.
- Annissa, S., Musfiroh, I. and Indriati, L. (2019) 'Perbandingan Metode Analisis Instrumen HPLC dan UHPLC : Article Review', *Farmaka*, 17(3), pp. 189–197.
- Artanti, A.N. *et al.* (2016) 'PERBEDAAN KADAR KAFEIN DAUN TEH (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) BERDASARKAN STATUS KETINGGIAN TEMPAT TANAM DENGAN METODE HPLC', *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 01(01), pp. 37–44. Available at: <https://doi.org/10.20961/jpscr.v1i1.690>.
- Badan Pusat Statistik (2021) *Statistik Teh Indonesia 2021*.
- DEPKES RI. (1979). *Farmakope*
- Fajri, M.I. (2020) 'Validasi metode analisis identifikasi simultan Hidrokuinon dan Asam Retinoat secara UHPLC-PDA dalam sediaan semi solida', *Erudito : Indonesia Journal of Food and Drug*, 1(1), pp. 1–10. Available at: <https://eruditio.pom.go.id/index.php/home/article/view/21>.
- Inayah, I., Hadisoebroto, G. and Kashuri, M. (2020) 'Optimasi Metode Penetapan Kadar Kafein Pada Beberapa Serbuk Minuman Energi Yang Beredar Di Kota Serang', *Jurnal Sabdariffarma*, 8(1), pp. 22–27. Available at: <https://doi.org/10.53675/jsfar.v1i1.16>.
- Kusuma, A.S.W. and Ismanto, R.M.H. (2016) 'Penggunaan Instrumen High-Performance Liquid Chromatography Sebagai Metode Penentuan Kadar Kapsaisin Pada Bumbu

- Masak Kemasan “Bumbu Marinade Ayam Special” Merek Sasa’, *Jurnal Farmaka*, 14(2), pp. 41–46. *Farmasi*, 12(1), pp. 29–35.
- Mierza, V. *et al.* (2023) ‘Literature review : analisis kadar kafein menggunakan metode spektrofotometri uv-vis’, *Jurnal Farmasetis*, 12(1), pp. 21–26.
- Nafisah, D. and Widyaningsih, T.D. (2018) ‘KAJIAN METODE PENGERINGAN DAN RASIO PENYEDUHAN PADA PROSES PEMBUATAN TEH CASCARA KOPI ARABIKA (*Coffea arabica* L.)’, *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 6(3), pp. 37–47.
- Ramdan, S., Yusuf, A.L. and Setiawan, A. (2023) ‘Isolasi Dan Identifikasi Kafein Dari Daun The Hijau, Tah Hitam Dan The Olong Menggunakan Spektrofotometri UV Vis’, *Pharmacy genius*, 02(01), pp. 74–82.
- Tyas, D.P. (2021) ‘Validasi metode analisis dan penetapan kadar kafein menggunakan metode kckt fase terbalik pada sampel teh hitam dari ptpn xii lawang jawa timur’, *UNIVERSITAS dr. SOEBANDI JEMBER* [Preprint].
- Widhyani, R. *et al.* (2021) ‘Penetapan Kadar Kafein Pada Teh Kering Kemasan Produksi Industri Teh di Pekalongan’, *Jurnal Ilmu*