

DOI: <https://doi.org/10.21009/JRSKT.092.04>

Analisis Kadar Kafein dalam Sampel Kopi Instan dan Minuman Berenergi Menggunakan High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Novita Cahyani Fitri*, Yussi Pratiwi

Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta, Gedung KH. Asj'arie, Jl. Rawamangun Muka, 13220, Jakarta, Indonesia

*Email: Novitacf5@gmail.com

Informasi Artikel

Diterima: 09/10/2023

Direvisi: 12/11/2023

Online: 25/12/2023

Edisi: 25/12/2023

Abstrak

Analisis kadar kafein dalam sampel menggunakan HPLC telah dilakukan. Analisis ini bertujuan untuk menentukan kadar kafein yang ada dalam sampel berupa kopi instan dan minuman berenergi serta membandingkannya dengan persyaratan SNI yang ada. Metode yang digunakan meliputi pembuatan fasa gerak, preparasi larutan standar, serta preparasi sampel. Hasil yang didapatkan ialah kadar pada sampel-1, sampel-2, dan sampel-3 berturut-turut adalah sebesar 3,24256 mg/g, 3,07105 mg/g, dan 3,1861 mg/g. sedangkan pada sampel-4 dan sampel-5 sebesar 0,14149 mg/ml dan 0,1337 mg/ml dan semua sampel masih memenuhi SNI yang ada.

Kata kunci: *HPLC, kafein, kopi instan, minuman berenergi*

Abstract

Analysis of caffeine content in samples using HPLC has been carried out. This analysis aims to determine the levels of caffeine present in the samples in the form of instant coffee and energy drinks and compare them with the existing SNI requirements. The methods used include preparation of the mobile phase, standard solution preparation, and sample preparation. The results obtained were the levels in sample-1, sample-2, and sample-3 respectively 3.24256 mg/g, 3.07105 mg/g, and 3.1861 mg/g. while in sample-4 and sample-5 it was 0.14149 mg/ml and 0.1337 mg/ml and all samples still met the existing SNI.

Keywords: *caffeine, energy drink, HPLC, instan coffee*

Pendahuluan

Makanan merupakan salah satu bahan yang paling mendasar bagi kelangsungan hidup makhluk hidup. Makanan mengandung berbagai bahan kimia alami, dan masing-masing bukanlah merupakan bahan tambahan. Salah satu senyawa kimia alami yang terkandung dalam makanan adalah kafein. Kafein (alkaloid) adalah salah satu senyawa psikoaktif paling terkenal di seluruh dunia. Sejak lima dekade terakhir, konsumsi kafein per kapita di dunia telah meningkat sekitar 100% sebagai akibat dari peningkatan konsumsi teh, minuman energi, dan kopi (Angraini dan Desmaniar, 2020). Kafein ditemukan di dalam biji, daun, dan buah dari banyak tanaman. Kafein biasanya dikonsumsi dalam minuman, seperti kopi dan teh (Gaspar dan Ramos, 2015).

Kafein memiliki beberapa manfaat untuk manusia apabila dikonsumsi (Ren dan Chen 2020) seperti menaikkan mood, membantu kinerja fisik serta meningkatkan kontraksi otot (Holstege dan Holstege, 2014). Kafein dianggap sebagai stimulan ringan yang dengan demikian, biasanya dikonsumsi untuk meningkatkan kewaspadaan, meningkatkan suasana hati dan meningkatkan energi, dan bahkan meningkatkan kinerja atletik (Latunra et al. 2021).

Dibalik beberapa manfaat yang telah disebutkan, asupan kafein yang berlebihan dapat menyebabkan beberapa efek samping (Saimaiti et al. 2023; Wu et al. 2021), seperti jantung berdebar (Rodak et al. 2021 ; Grant dan Friedman, 2023), gangguan pencernaan (Nehlig, 2022), gangguan kecemasan (Liu et al. 2024) dan malaise (perasaan lelah, tak nyaman, serta kurang enak badan), perubahan suasana hati, insomnia dan masalah tidur, dan peningkatan tekanan darah (Angraini dan Desmaniar, 2020).

Kebanyakan masyarakat awam hanya mengetahui bahwa kafein hanya berasal dari kopi saja. Padahal selain kopi, kafein juga terkandung dalam bahan pangan jenis lain, salah satunya adalah minuman berenergi. Jenis produk ini biasanya memiliki kata 'energi' dalam nama produk, dan mengandung kafein dengan kadar yang tinggi dan bahan tambahan lainnya yang biasanya tidak ditemukan dalam minuman biasa (Roberts, 2016).

Kadar kafein yang terkandung dalam tiap jenis bahan pangan dapat berbeda-beda. Oleh karena itu, perlu dilakukan analisis untuk menentukan kadar kafein dalam sampel berupa bahan pangan. Kadar kafein dapat ditentukan secara kuantitatif menggunakan High Performance Liquid Chromatography (HPLC). HPLC atau Kromatografi Cair Kinerja Tinggi merupakan salah satu instrumen kimia yang digunakan untuk analisis pemisahan campuran secara kualitatif, kuantitatif, serta pemurnian (Susanti dan Dachriyanus, 2014 ; Fábryová et al. 2020).

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk melakukan analisis serta membandingkan kadar kafein dalam kopi serbuk instan dan minuman berenergi menggunakan HPLC.

Metodologi Penelitian

Pembuatan fase gerak

Larutan fase gerak A (Aquabides)

Satu liter aquabides disaring dengan menggunakan Glass Vacuum Filtration menggunakan membran filter GHP/RC 0,45 μm , kemudian dipindahkan ke dalam botol schott 1 L. Kemudian dilakukan degas selama 15 menit.

Larutan fase gerak B (Metanol)

Satu Liter metanol disaring dengan menggunakan Glass Vacuum Filtration menggunakan membran filter GHP/RC 0,45 μm , kemudian dipindahkan ke dalam botol schott 1 L.. Kemudian dilakukan degas selama 15 menit.

Larutan seal wash (Metanol 10%)

Sebanyak 50 mL metanol dan 450 mL aquabides dicampurkan ke dalam botol schott 500 mL, lalu dihomogenkan. Larutan kemudian disaring dengan menggunakan Glass Vaccum Filtration menggunakan membran filter GHP/RC 0,45 μm , lalu dimasukkan ke dalam botol schott 1 L. Kemudian dilakukan degas selama 15 menit.

Preparasi Standar

Larutan Standar Induk Kafein 1000 mg/L

Standar kafein ditimbang sebesar 10 mg ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian ditambahkan aquabides sampai setengah volume labu, lalu disonikasi hingga larut sempurna, kemudian ditambahkan aquabides hingga tanda tera, dihomogenkan.

Larutan Standar Antara Kafein 100 mg/L

Larutan standar induk 1000 mg/L sebanyak 1 mL dipipet ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian ditambahkan aquabides hingga tanda tera, lalu dihomogenkan.

Larutan Deret Standar Kafein

Dibuat deret standar kafein dalam vial 2 mL menggunakan pelarut aquabides yang telah disaring menggunakan Syringe filter 0,45 μm . Dibuat deret standar dengan konsentrasi sebagai berikut:

Tabel 1. Kurva 1

Konsentrasi Standar Antara (mg/L)	Volume Standar (mL)	Volume Pelarut (mL)
100	0,02	0,98
100	0,04	0,96
100	0,06	0,94
100	0,08	0,92
100	0,10	0,90
100	0,12	0,8
100	0,14	0,86

Tabel 2. Kurva 2

Konsentrasi Standar Induk (mg/L)	Volume Standar (mL)	Volume Pelarut (mL)	Konsentrasi Deret Standar (mg/L)
1000	0,024	0,976	24
1000	0,045	0,955	45
1000	0,066	0,34	66
1000	0,087	0,913	87
1000	0,108	0,892	108
1000	0,129	0,871	129
1000	0,150	0,850	150

Preparasi Sampel

Ekstraksi Sampel

Sebanyak 1 gram sampel kopi ditimbang ke dalam erlenmeyer 250 mL, sedangkan untuk sampel minuman berenergi, dipipet sebanyak 3 mL menggunakan mikropipet 5 mL kedalam erlenmeyer 100 mL. Kemudian ke dalam masing-masing erlenmeyer ditambahkan 5 gram MgO. Setelah itu, ditambahkan aquabides ke erlenmeyer 250 mL berisi sampel sampai volume 200 mL, sedangkan ke erlenmeyer 100 mL ditambah hingga 75 mL.

Setelah itu, mulut masing-masing erlenmeyer ditutup dengan menggunakan aluminium foil dan dimasukkan ke dalam waterbath yang mendidih. Untuk erlenmeyer 100 mL, pemanasan berlangsung selama 15 menit, sedangkan erlenmeyer 250 mL pemanasan berlangsung selama 35 menit.

Kemudian diambil erlenmeyer dari waterbath dan didinginkan sampai suhu ruang. Setelah itu sampel dipindahkan ke labu ukur, untuk sampel pada erlenmeyer 250 mL ke labu ukur 250 mL, sedangkan sampel pada erlenmeyer 100 mL ke labu ukur 100 mL. Lalu ditera dengan aquabides, kemudian dihomogenkan. Setelah itu, disaring supernatan/larutan uji menggunakan minisart 0,45 μm dan syringe kedalam vial 2 mL. Larutan uji siap diinjeksikan kedalam sistem HPLC dan stabil selama 4 hari.

Hasil dan Pembahasan

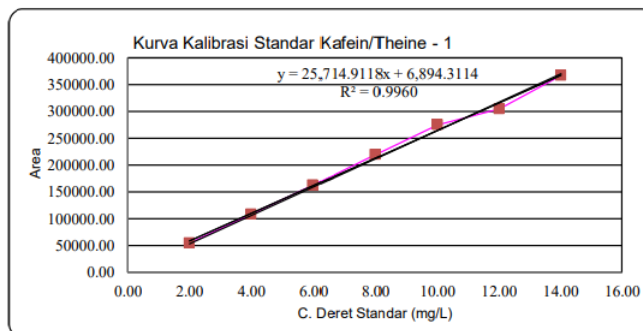
Larutan standar merupakan suatu larutan yang konsentrasinya telah diketahui. Larutan ini dibuat dengan menimbang standar kafein sebesar 10 mg ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian ditambahkan aquabides sampai setengah volume labu, lalu dilakukan sonikasi yang bertujuan agar larutan terlarut sempurna, kemudian ditambahkan aquabides hingga tanda tera dan dihomogenkan. Konsentrasi yang didapatkan adalah sebesar 1000 ppm. Larutan ini kemudian disebut larutan standar induk.

Kemudian, dari larutan standar induk dibuat larutan standar antara dengan cara memipet 1 mL larutan standar induk ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian ditambahkan aquabides hingga tanda tera, lalu dihomogenkan. Konsentrasi yang didapatkan adalah sebesar 100 ppm.

Selanjutnya, dibuat deret standar. Deret standar ini merupakan larutan standar yang dibuat berdasarkan kadar sampel, dimana kadar sampel yang diuji harus berada dalam rentang deret standar yang dibuat karena jika kadar sampel yang diuji berada diatas ataupun dibawah deret standar yang dibuat, maka kadar sampel uji tidak dapat dihitung dan ditentukan. Dari deret standar ini, nantinya akan dihasilkan kurva standar yang merupakan kurva yang akan digunakan untuk menentukan konsentrasi larutan sampel uji.

Pada kegiatan analisis ini, kurva standar yang dibuat ada dua, yaitu menggunakan larutan standar antara dan larutan induk standar. Mula-mula, dibuat deret standar pertama, yaitu dari larutan standar antara. Larutan deret dibuat dalam vial 2 mL menggunakan pelarut berupa aquabides yang telah disaring dengan menggunakan syringe dan minisart 0,45 μm . Kemudian dibuat deret standar kedua menggunakan larutan standar induk dengan cara kerja yang sama seperti kurva 1.

Berikut adalah kurva kalibrasi standar 1:

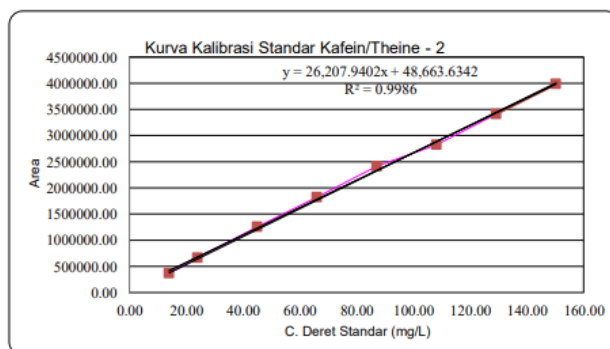


Gambar 1. Kurva Kalibrasi 1

Tabel 3. Kurva Kalibrasi 1

RT (Menit)	Area
14,31	54369,63
14,31	108191,30
14,29	162659,13
14,29	219476,87
14,20	274836,13
14,16	304694,37
14,05	366946,50

Sedangkan berikut adalah kurva kalibrasi standar 2 :



Gambar 2. Kurva Kalibrasi 2

Tabel 4. Kurva Kalibrasi 1

RT (Menit)	Area
14,05	366946,50
13,93	664125,69
13,97	1257577,93
13,98	1824054,92
14,04	2415540,97
14,04	2825331,13
14,12	3412013,88
14,18	3983904,21

RT (Retention Time) atau waktu retensi merupakan waktu yang diperlukan oleh analit dalam sampel mulai dari saat injeksi sampai keluar dari kolom dan sinyalnya ditangkap secara maksimal oleh detektor (Susanti dan Dachriyanus, 2014). Waktu retensi untuk sampel ditentukan berdasarkan waktu retensi yang ada pada kromatogram standar kafein. Terlihat bahwa deret standar kafein menunjukkan waktu retensi pada menit ke-14. Variasi waktu retensi yang diperbolehkan adalah $\pm 0,05$ menit (Synder et al. 2011).

Area menyatakan luas peak atau puncak yang terbentuk pada kromatogram. Area berbanding lurus dengan konsentrasi, yang berarti semakin besar area, semakin besar konsentrasi analit (kafein) dalam sampel uji. Terlihat pada kurva kalibrasi bahwa semakin besar konsentrasi larutan induk standar dan larutan standar antara, makin besar pula area yang dihasilkan.

Berdasarkan hasil percobaan, berikut adalah hasil dari sampel yang diuji:

Tabel 5. Hasil Uji Sampel

No. Sampel	Matriks	RT (Menit)	Area	Verifikasi Area	Kadar (mg/kg); mg/L	
					Kurva 1	Kurva 2
Sampel -1	Kopi Instan	14,713	426352,38	Kurva 2	3670,21	3242,56
Sampel -2	Kopi Instan	14,734	374438,63	Kurva 2	3531,24	3071,05
Sampel -3	Kopi Instan	14,706	336483,67	Kurva 1	3186,10	2729,98
Sampel -4	Minuman Berenergi	14,582	116046,65	Kurva 1	141,49	85,70
Sampel -5	Minuman Berenergi	14,536	110039,22	Kurva 1	133,70	78,06

Berdasarkan data yang diperoleh, waktu retensi yang diperoleh adalah di kisaran 14 menit, maka dapat dikatakan analit yang terdeteksi adalah kafein, karena waktunya sama dengan standar. Selain karena adanya waktu retensi, panjang gelombang maksimum yang teridentifikasi setiap analit/peak muncul sesuai dengan panjang gelombang standar kafein, yaitu pada panjang gelombang 272 nm.

Kadar berbanding lurus dengan area, maka semakin besar area, semakin besar pula kadar kafein yang terkandung pada sampel. Hal ini terbukti dan terlihat pada tabel, semakin besar area semakin besar kadar.

Verifikasi area menyatakan bahwa area sampel berada pada daerah tersebut, sehingga perhitungan kadarnya akan digunakan kurva kalibrasi tersebut. Pada tabel, sampel-1 dan sampel-2 terverifikasi areanya pada rentang kurva 2, maka perhitungan kadarnya menggunakan kurva kalibrasi 2. Sedangkan sampel-3, sampel-4, dan sampel-5 terverifikasi areanya pada rentang kurva 1, maka perhitungan kadarnya menggunakan kurva kalibrasi 1.

Hasil yang didapatkan ialah Sampel-1 memiliki kadar sebesar 3242,56 mg/kg, Sampel-2 memiliki kadar sebesar 3071,05 mg/kg, Sampel-3 sebesar 3186,10 mg/kg, Sampel-4 sebesar 141,49 mg/L, dan Sampel-5 sebesar 133,70 mg/L. Untuk sampel-1, sampel-2, dan sampel-3 satuannya kemudian diubah menjadi mg/g sehingga dihasilkan kadar untuk ketiga sampel tersebut berturut-turut adalah 3,24256 mg/g, 3,07105 mg/g, dan 3,1861 mg/g. Untuk sampel-4 dan sampel-5, satuannya diubah menjadi mg/ml sehingga berturut-turut kadar kafein dalam sampel-4 dan sampel-5 adalah 0,14149 mg/ml dan 0,1337 mg/ml. Pengubahan satuan ini dikarenakan untuk sampel kopi bubuk, lebih sering digunakan satuan gram dalam penyajiannya, sedangkan untuk sampel minuman berenergi, digunakan satuan mL karena sampel berupa cairan.

Syarat mutu yang digunakan untuk kopi instan adalah SNI 2983:2014 yang menyatakan bahwa syarat maksimum kafein yang dapat terkandung dalam minuman kopi instan berbentuk bubuk atau granula adalah sebesar 2,5%. Sehingga jika dilakukan perhitungan, sampel-1 memiliki kadar sebesar 0,32456%, sampel-2 sebesar 0,307105%, dan sampel-3 sebesar 0,31861%. Dengan kadar tersebut, sehingga dapat disimpulkan bahwa ketiga sampel memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan oleh SNI.

Hasil yang didapatkan ialah Sampel-1 memiliki kadar sebesar 3242,56 mg/kg, Sampel-2 memiliki kadar sebesar 3071,05 mg/kg, Sampel-3 sebesar 3186,10 mg/kg, Sampel-4 sebesar 141,49 mg/L, dan Sampel-5 sebesar 133,70 mg/L. Untuk sampel-1, sampel-2, dan sampel-3 satuannya kemudian diubah menjadi mg/g sehingga dihasilkan kadar untuk ketiga sampel tersebut berturut-turut adalah 3,24256 mg/g, 3,07105 mg/g, dan 3,1861 mg/g. Untuk sampel-4 dan sampel-5, satuannya diubah menjadi mg/ml sehingga berturut-turut kadar kafein dalam sampel-4 dan sampel-5 adalah 0,14149 mg/ml dan 0,1337 mg/ml. Pengubahan satuan ini dikarenakan untuk sampel kopi bubuk, lebih sering digunakan satuan gram dalam penyajiannya, sedangkan untuk sampel minuman berenergi, digunakan satuan mL karena sampel berupa cairan.

Syarat mutu yang digunakan untuk kopi instan adalah SNI 2983:2014 yang menyatakan bahwa syarat maksimum kafein yang dapat terkandung dalam minuman kopi instan berbentuk bubuk atau granula adalah sebesar 2,5%. Sehingga jika dilakukan perhitungan, sampel-1 memiliki kadar sebesar 0,32456%, sampel-2 sebesar 0,307105%, dan sampel-3 sebesar 0,31861%. Dengan kadar tersebut,

sehingga dapat disimpulkan bahwa ketiga sampel memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan oleh SNI.

Dari hasil tersebut, maka dapat disimpulkan bahwa kadar kafein pada kelima sampel masih berada dalam batas yang telah ditetapkan oleh SNI, dimana digunakan SNI 01-7152-2006 untuk minuman berenergi dan SNI 2983:2014 untuk kopi instan.

Kesimpulan

Analisis kadar kafein dalam sampel kopi instan dan minuman berenergi telah dilakukan. Berdasarkan hasil yang didapat, kadar kafein dalam kopi instan lebih tinggi dibandingkan dalam minuman berenergi. Kadar terbesar ada pada sampel-1 yaitu sebesar 3,24256 mg/g dan kadar terkecil ada pada sampel-5 yaitu sebesar 0,1337 mg/ml. Setelah dilakukan perhitungan lebih lanjut, sampel-1 memiliki kadar sebesar 0,32456%, sampel-2 sebesar 0,307105%, dan sampel-3 sebesar 0,31861%. Untuk sampel kopi instan, digunakan SNI 2983:2014, kadar maksimum kafein yang dapat terkandung dalam kopi instan adalah 2,5%, oleh karena itu sampel-1, sampel-2, dan sampel-3 berada dalam batas yang telah ditetapkan SNI. Sedangkan untuk sampel minuman berenergi, digunakan SNI 01-7152-2006, kadar maksimum kafein yang dapat terkandung dalam minuman berenergi adalah sebesar 150 mg persajian, oleh karena itu sampel-4 dan sampel-5 masih berada dalam batas yang telah ditetapkan SNI.

Daftar Pustaka

- Angraini, N & Desmaniar, P 2020, 'Optimasi penggunaan High Performance Liquid Chromatography (HPLC) untuk analisis asam askorbat guna menunjang kegiatan Praktikum Bioteknologi Kelautan'. *Jurnal Penelitian Sains*, 22(2), 69, <https://doi.org/10.56064/jps.v22i2.583>.
- Fábryová, T, Tůmová, L, da Silva, DC, Pereira, DM, Andrade, PB, Valentão, P, & Cheel, J. 2020, 'Isolation of astaxanthin monoesters from the microalgae *Haematococcus pluvialis* by high performance countercurrent chromatography (HPCCC) combined with high performance liquid chromatography (HPLC). *Algal research*, 49, 101947, <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101947>.
- Gaspar, S & Ramos, F 2015, 'Caffeine: Consumption and Health Effects. In Encyclopedia of Food and Health (3rd ed.)'. *Elsevier Ltd*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00099-4>.
- Grant, SS, Kim, K, & Friedman, BH. 2023, 'How long is long enough? Controlling for acute caffeine intake in cardiovascular research'. *Brain Sciences*, 13(2), 224, <https://doi.org/10.3390/brainsci13020224>.
- Holstege, CP & Holstege, E 2014, 'Caffeine. Encyclopedia of Toxicology: Third Edition', 1(25 C), 617–620, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00703-X>.
- Latunra, AI, Johannes, E, Mulihardianti, B & Sumule, O 2021, 'Analisis Kandungan Kafein Kopi (*Coffea arabica*) Pada Tingkat Kematangan Berbeda Menggunakan Spektrofotometer UV-VIS'. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*, 12(1), 45–50.
- Liu, C, Wang, L, Zhang, C, Hu, Z, Tang, J, Xue, J & Lu, W 2024, 'Caffeine intake and anxiety: a meta-analysis'. *Frontiers in Psychology*, 15, 1270246, <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2024.1270246>.
- Nehlig, A 2022, 'Effects of coffee on the gastro-intestinal tract: a narrative review and literature update'. *Nutrients*, 14(2), 399, <https://doi.org/10.3390/nu14020399>.
- Ren, X & Chen, JF 2020, 'Caffeine and Parkinson's disease: multiple benefits and emerging mechanisms'. *Frontiers in Neuroscience*, 14, 602697, <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.602697>.
- Roberts, A 2016, 'Caffeine: An Evaluation of the Safety Database'. *Nutraceuticals: Efficacy, Safety and Toxicity*, 417–434, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802147-7.00030-9>.
- Rodak, K, Kokot, I & Kratz, EM 2021, 'Caffeine as a factor influencing the functioning of the human body—friend or foe?'. *Nutrients*, 13(9), 3088, <https://doi.org/10.3390/nu13093088>.

- Saimaiti, A, Zhou, DD, Li, J, Xiong, RG, Gan, RY, Huang, SY., ... & Li, HB 2023, 'Dietary sources, health benefits, and risks of caffeine'. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(29), 9648-9666, <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2074362>.
- Susanti, M & Dachriyanus 2014, 'Kromatografi Cair Kinerja Tinggi'. *Padang: Andalas University Press*.
- Synder, LR, Kirkland, JJ & Dolan, JW 2011, 'Introduction to Modern Liquid Chromatography'. *New Jersey: John Wiley & Sons*.
- Wu, N, Li, Y, He, X, Lin, J, Long, D, Cheng, X, ... & Yang, X 2021, 'Retinoic acid signaling plays a crucial role in excessive caffeine intake-disturbed apoptosis and differentiation of myogenic progenitors'. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, 586767, <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.586767>.
- Zabot, GL 2019, 'Decaffeination using supercritical carbon dioxide. In Green Sustainable Process for Chemical and Environmental Engineering and Science: Supercritical Carbon Dioxide as Green Solvent'. *Elsevier Inc*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817388-6.00011-8>.