

Validasi Metode Penentuan Kadar Asam Klorogenat dan Kafein secara Simultan pada Serbuk Daun Kopi Robusta (*Coffea Canephora*) dengan Metode KLT Densitometri

Tiara Sagita Putri Aditama¹, Nia Kristiningrum¹, Diana Holiday¹, Tanfidz Alishlah¹,

Endah Puspitasari¹, Lestyo Wulandari¹

¹ Fakultas Farmasi, Universitas Jember

Info Artikel

Riwayat Artikel :

Diterima 01 31, 2025

Direvisi 02 18 2025

Terbit 03 31, 2025

Keywords:

Caffeine

Chlorogenic acid

Coffee leave

TLC densitometry

ABSTRACT

Coffee contains bioactive compounds such as chlorogenic acid and caffeine. Chlorogenic acid is recognised as a natural antioxidant, while caffeine is widely used to reduce fatigue and drowsiness. This study aims to simultaneously determine the content of chlorogenic acid and caffeine in robusta coffee leaf powder (*Coffea canephora*) using Thin Layer Chromatography (TLC) densitometry. The study identified an optimal eluent composition of ethyl acetate: formic acid: distilled water (18:1:1), with maximum wavelengths of 330 nm for chlorogenic acid and 274 nm for caffeine. High linearity was demonstrated with correlation coefficients of 0.993 for chlorogenic acid and 0.994 for caffeine. Sensitivity was validated with LOD values of 100.664 ng for chlorogenic acid and 297.232 ng for caffeine, and LOQ values of 301.994 ng for chlorogenic acid and 891.697 ng for caffeine. Selectivity was confirmed as the method effectively separated chlorogenic acid, caffeine, and other compounds with a resolution (R_s) ≥ 1.5 , while specificity was evidenced through purity and identity values exceeding 0.99. Precision was proven through repeatability (%RSD for chlorogenic acid: 2.94%; caffeine: 2.27%) and intermediate precision (%RSD for chlorogenic acid: 2.26%; caffeine: 2.18%). Accuracy was achieved with mean recovery rates of 102.22% for chlorogenic acid and 99.73% for caffeine. Determining chlorogenic acid and caffeine concentrations in robusta coffee leaf powder revealed variations between samples: PTPN XII Renteng yielded $2.278\% \pm 0.209\%$ for chlorogenic acid and $1.171\% \pm 0.821\%$ for caffeine. In comparison, Puslitkoka Indonesia samples showed $1.238\% \pm 0.206\%$ for chlorogenic acid and $0.917\% \pm 0.823\%$ for caffeine. The method is deemed valid based on validation parameter assessments, as it meets all acceptance criteria for each parameter. This research provides an efficient and accurate analytical approach for determining bioactive compounds in robusta coffee leaves.



[Journal of Agropharmacy](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) is licensed under [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/).

Email Koresponden Penulis: lestyowulandari@unej.ac.id

1. PENDAHULUAN

Kopi merupakan salah satu tanaman yang biasa dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai bahan tambahan makanan ataupun minuman dengan memanfaatkan bagian biji kopi. Daun kopi merupakan bagian tanaman kopi yang keberadaannya melimpah, namun belum dimanfaatkan dengan baik oleh masyarakat. Kopi memiliki berbagai manfaat dalam bidang kesehatan yang disebabkan oleh kandungan fitokimia yang terkandung di dalamnya. Kandungan fitokimia yang keberadaannya melimpah pada daun kopi diantaranya asam klorogenat dan kafein.

Asam klorogenat merupakan senyawa yang masuk ke dalam golongan senyawa polifenol (Tajik dkk., 2017). Asam klorogenat merupakan salah satu sumber antioksidan alami yang dapat ditemui pada tanaman. Sedangkan kafein merupakan senyawa yang termasuk ke dalam golongan senyawa alkaloid yang tergolong kedalam keluarga methylxanthine. Konsumsi kafein yang berlebihan akan menimbulkan efek samping berupa berpotensi meningkatkan denyut jantung dan beresiko terhadap penumpukan kolesterol (Turnbull dkk., 2017). Khasiat yang ditimbulkan oleh asam klorogenat dan kafein yang dapat ditemui pada daun kopi dapat dijadikan salah satu alternatif obat tradisional yang berasal dari daun kopi.

Terdapat beberapa penelitian tentang metode analisis penentuan kafein dan asam klorogenat yaitu metode KCKT ((De Luca dkk., 2018),(Bouhzam dkk., 2023) metode spektroskopi uv vis (Navarra dkk., 2017), metode KCKT-MS (Colomban dkk., 2020), metode elektrokimia menggunakan karbon nanotube (Takahashi dkk., 2020). Pada penelitian ini peneliti mengembangkan metode KLT densitometri untuk penetapan kadar asam klorogenat dan kafein secara simultan. Metode KLT densitometri memiliki kemampuan analisis secara simultan sampel bahan alam yang memiliki matriks kompleks dengan banyak komponen kimia. Metode KLT lebih dipilih untuk analisis bahan alam karena sifat dari lempeng KLT yang disposable cocok untuk analisis sampel multi komponen yang dapat merusak fase diam (Wulandari, 2011). Tujuan penelitian ini adalah untuk validasi metode analisis penentuan kadar asam klorogenat dan kafein secara simultan pada serbuk daun kopi robusta (*Coffea canephora*) menggunakan metode KLT Densitometri.

2. METODE

2.1. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: sampel daun kopi robusta (*Coffea canephora*), lempeng Silika Gel F₂₅₄ (Merck) kertas saring (Whatman), standar asam klorogenat (sigma), standar kafein (sigma), aquabidest, etil asetat pa, asam formiat pa, metanol pa. Preparasi sampel daun kopi diawali dengan mencuci daun, meniriskan dan mengeringkan daun pada ruangan dengan suhu 16°C. Daun kering di blender sampai menjadi serbuk.

2.2. Alat

Peralatan yang digunakan TLC scanner wincats, neraca analitik (Adventurer TM Ohaus, USA), chamber camag, alat-alat gelas (pyrex), dan software validation method of analysis.

2.3. Optimasi kondisi analisis

Optimasi eluen

Pengujian eluen dilakukan pada eluen dengan perbandingan etil asetat : asam formiat : aquabidest (8:1:1,5); etil asetat : asam formiat : aquabidest (18:1:1); etil asetat : asam formiat : metanol (10:1:1). Penilaian eluen optimum berdasarkan parameter efisiensi kromatogram yaitu nilai resolusi (Rs) $\geq 1,5$; nilai *retardation factor* (Rf) 0,2-0,8; nilai Theoretical factor (N) yang terbesar dan nilai *Height Plate Number* (H) yang terkecil.

Optimasi panjang gelombang

Pengujian dilakukan dengan melakukan *scanning* noda analit pada Camag TLC scanner (Densitometri) menggunakan aplikasi WinCATS. Panjang gelombang yang akan dioptimasi adalah 274 nm, 287 nm, 330 nm. Pemilihan panjang gelombang berdasarkan panjang gelombang yang menghasilkan hasil intensitas absorpsi maksimal yang berada di antara rentang panjang gelombang asam klorogenat dan kafein.

2.4. Validasi metode analisis

Linieritas

Larutan standar asam klorogenat dan standar kafein dibuat dengan melarutkan dalam metanol dengan 8 tingkat konsentrasi yang yaitu larutan standar asam klorogenat dengan konsentrasi antara 50-150 ppm sedangkan larutan standar kafein dengan konsentrasi 150 ppm-500 ppm. Masing-masing larutan standar yang telah siap kemudian dimasukkan vial yang selanjutnya dilakukan penotolan pada lempeng KLT masing-masing sebanyak 4 μ l kemudian dielusi hingga tanda batas. Selesai dielusi lempeng KLT diangin-anginkan dan dilakukan *scanning* noda pada panjang gelombang optimum. Perhitungan nilai parameter linieritas dilakukan dari data hasil *scanning* menggunakan program *Validation Method of Analysis*. Suatu metode dikatakan linier apabila telah memenuhi kriteria penerimaan (*Acceptance Criteria*) yaitu koefisien korelasi (r) $\geq 0,99$; koefisien variasi fungsi ($V\% < 5\%$) serta nilai X_p lebih kecil daripada konsentrasi terkecil yang digunakan (Yuwono and Indrayanto, 2005).

Batas deteksi dan batas kuantitasi

Dibuat larutan standar asam klorogenat dengan konsentrasi 50-150 ppm dan larutan standar kafein dengan konsentrasi 150-500 ppm. Masing-masing larutan standar dilakukan penotolan pada lempeng KLT kemudian dielusi hingga tanda batas. Lempeng kemudian dikeringkan dan dilakukan *scanning* pada panjang gelombang optimum. Nilai batas deteksi dan batas kuantitasi diperoleh dari data hasil *scanning* menggunakan program *Validation Method of Analysis*.

Selektivitas dan spesifisitas

Dibuat larutan standar asam klorogenat 80 ppm dan standar kafein 320 ppm dilarutkan dalam metanol. Pembuatan larutan sampel dilakukan dengan menimbang 400 mg sampel yang selanjutnya dilarutkan dalam metanol hingga 10 mL. Larutan sampel dan larutan standar di totol pada lempeng KLT, dielusi, lempeng dikeringkan, dan *scanning* pada panjang gelombang optimum. Kromatogram asam klorogenat dan kromatogram kafein, kemudian *discanning* spectrum dan dilakukan uji *purity* dan *identity* pada puncak standar dan sampelnya. Pada kromatogram sampel dilakukan perhitungan resolusi puncak asam klorogenat dan resolusi puncak kafein terhadap puncak lain yang terdekat. Syarat resolusi puncak yang baik yaitu $R_s > 1,5$ (Harmita, 2004).

Presisi

Presisi yang dilakukan meliputi *repeatability* dan *intermediet precision*. Pertama dibuat kurva baku larutan standar asam klorogenat dengan konsentrasi antara 50-150 ppm dan larutan standar kafein dengan konsentrasi 150 ppm-500 ppm. Preparasi sampel dilakukan dengan penimbangan 400 mg sampel serbuk kopi robusta (6x replikasi) yang kemudian dilarutkan dalam metanol hingga 10 mL. Larutan standar dan larutan sampel di totol pada lempeng KLT, dielusi, kemudian lempeng dikeringkan, dan dilakukan scan pada panjang gelombang optimum. Penentuan *intermediet precision* (presisi antara) dengan melakukan penimbangan sejumlah tertentu sampel yang ditambahkan sejumlah tertentu standar sehingga terbentuk tiga tingkat konsentrasi dengan masing-masing konsentrasi dilakukan 3 replikasi penimbangan (9 replikasi). Perhitungan parameter presisi

dilakukan dengan menghitung RSD dari data kadar yang didapatkan menggunakan program *Validation Method of Analysis*. Kriteria penerimaan RSD menyesuaikan pada konsentrasi analit dalam sampel (Wulandari, 2018).

Akurasi

Pada penelitian ini dilakukan uji akurasi menggunakan tiga macam konsentrasi analisis (Bp, 2022). Sampel akurasi dipreparasi dengan penambahan standar adisi sebesar 30%, 45%, dan 60% dari kadar analit dalam sampel yang diperoleh pada hasil uji presisi. Selanjutnya sampel adisi ditentukan kadarnya dan dihitung % *recovery* dan % *tolerance interval* pada proporsi populasi 95% dan tingkat kepercayaan 95% (Usp44, 2022). % *recovery* adalah persen perolehan kembali dari nilai hasil percobaan dibandingkan nilai teoritis. Sampel adisi masing-masing direplikasi sebanyak enam kali replikasi. Perhitungan nilai parameter akurasi dilakukan dari data hasil *scanning* menggunakan program *Validation Method of Analysis*. Kriteria penerimaan persen *recovery* menyesuaikan pada konsentrasi analit dalam sampel.

2.5. Penetapan kadar

Dibuat kurva baku standar asam klorogenat dengan konsentrasi antara 50-150 ppm dan larutan standar kafein dengan konsentrasi 150 ppm-500 ppm. Ditimbang 400 mg sampel daun kopi robusta dimasukkan dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan metanol kurang lebih 7mL kemudian diultrasonik selama 10 menit dan ditambahkan metanol hingga tanda batas dan disaring. Masing-masing sampel ditotol pada lempeng KLT Silica gel F₂₅₄ dan dielusi. Selesai elusi lempeng di *scanning* pada panjang gelombang optimum dan dihitung kadar %b/b.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Optimasi kondisi analisis

Optimasi eluen

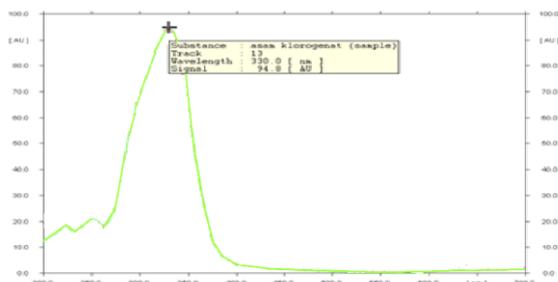
Hasil optimasi eluen tersebut maka didapatkan eluen terbaik yaitu komposisi eluen Etil asetat (EA) : Asam format (AF): Akuades (A) (v/v/v) = 18:1:1. Eluen tersebut tidak memenuhi kriteria nilai N tertinggi dan nilai H terendah akan tetapi eluen tersebut dapat memisahkan kedua senyawa dengan baik ditandai dengan nilai resolusi asam klorogenat sebesar 2,24 dan kafein sebesar 2,32 dimana telah memenuhi syarat resolusi yaitu lebih dari 1,5 serta menunjukkan nilai R_f yang masuk ke dalam rentang 0,2-0,8 yaitu pada asam klorogenat sebesar 0,21 dan kafein sebesar 0,51. R_f noda optimum berada pada rentang 0,2-0,8, hal ini disebabkan karena noda dibawah R_f 0,2 belum mengalami kesetimbangan yang sempurna antara fasa diam dan fasa gerak sedangkan noda diatas R_f 0,8 akan diganggu oleh noda pengotor lempeng (Wulandari, 2011). Data optimasi eluen dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1 Hasil Optimasi Eluen

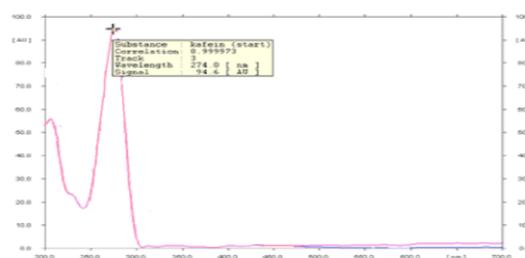
No.	Komposisi Eluen (v/v/v)	Parameter Penilaian					
		Asam Klorogenat			Kafein		
		N	H	Rs	N	H	Rs
1.	EA:AF:A = 8:1:1,5	952,163	0,094	1,176	743,801	0,121	1,692
2.	EA:AF:A = 18:1:1	34,28	2,62	2,24	64	1,4	2,32
3.	EA:AF:Met = 10:1:1	534,123	0,168	0,179	852,64	0,105	1,444

Optimasi panjang gelombang

Panjang gelombang optimum terpilih merupakan panjang gelombang maksimum asam klorogenat yaitu 330 nm dan panjang gelombang maksimum kafein yaitu 274 nm. Spektra panjang gelombang asam klorogenat dan kafein dapat dilihat pada gambar 1 dan gambar 2. Pemilihan panjang gelombang optimum berdasarkan panjang gelombang yang menunjukkan intensitas absorbansi spektrum yang tinggi agar didapatkan puncak kromatogram yang signifikan.



Gambar 1 Spektrum UV-Vis Asam Klorogenat



Gambar 2 Spektrum UV-Vis Kafein

Berdasarkan hasil keseluruhan optimasi kondisi analisis yang dilakukan maka didapatkan hasil kondisi analisis yang optimum dapat dilihat pada table 2.

Tabel 2 Kondisi Optimum Asam Klorogenat dan Kafein menggunakan KLT Densitometri

No	Kondisi analisis	Kondisi optimum
1.	Pelarut	Metanol pa
2.	Fase diam	Silika gel F254
3.	Fase gerak/eluen	Etil asetat : asam formiat : aquabidest = 18 : 1 : 1 (v/v/v)
4.	Panjang gelombang	330 nm (asam klorogenat) 274 nm (kafein)
5.	Konsentrasi uji asam klorogenat	80 ppm
6.	Konsentrasi uji kafein	320 ppm

3.2. Validasi Metode

Linieritas

Berdasarkan data linieritas didapatkan persamaan regresi linier asam klorogenat dengan nilai $Y = 759,93840000 + 15,37360000X$; nilai r sebesar 0,993; nilai V_{x0} sebesar 4,756% dan nilai X_p sebesar 100,664 ng sedangkan persamaan regresi linier kafein dengan nilai $Y = 3629,32 + 6,130184X$; nilai r sebesar 0,994; nilai V_{x0} sebesar 4,725% dan nilai X_p sebesar 297,232 ng. Berdasarkan data tersebut maka dapat diketahui bahwa terdapat hubungan yang proporsional antara massa dan area ditunjukkan dengan nilai r asam klorogenat 0,993, nilai V_{x0} asam klorogenat sebesar 4,756% dan nilai X_p sebesar 100,664 ng dan nilai r kafein sebesar 0,994, V_{x0} kafein sebesar 4,725% dan nilai X_p kafein sebesar 297,232 ng. Berdasarkan hasil data tersebut maka dapat disimpulkan bahwa hasil linieritas menunjukkan hasil yang linier dan memenuhi syarat linieritas ditandai dengan nilai $r \geq 0,99$, $V_{x0} < 5\%$, $X_p < 203,04$ ng untuk asam klorogenat dan $X_p < 604,8$ ng untuk kafein.

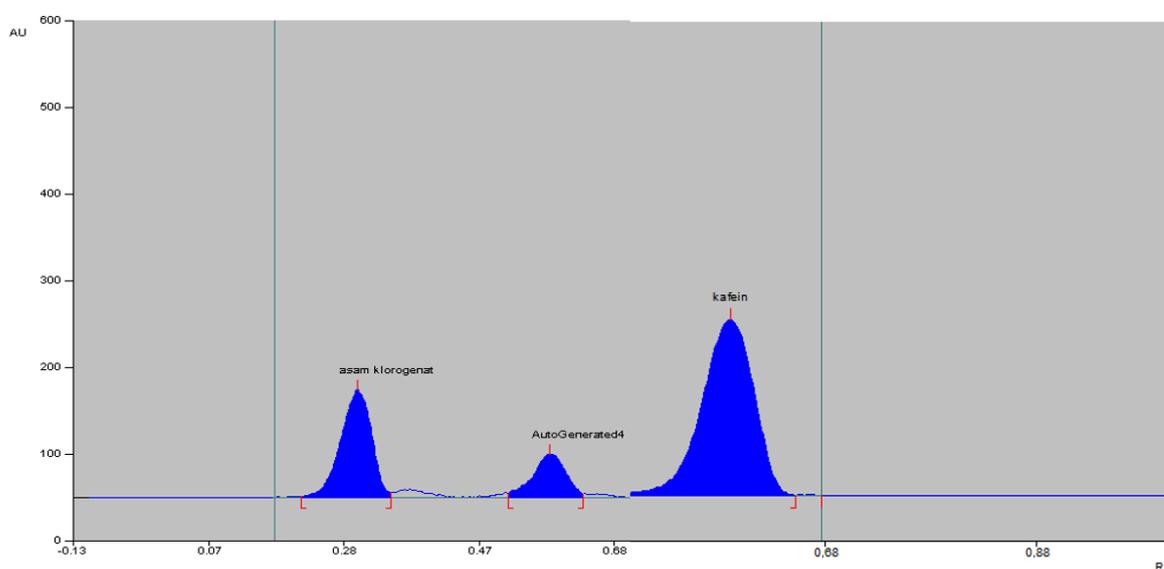
Batas Deteksi (BD) dan Batas Kuantitasi (BK)

Pengujian batas deteksi dan batas kuantitasi dapat dilakukan apabila keseluruhan kriteria pada linieritas telah memenuhi persyaratan. Analisis batas deteksi dan batas kuantitasi selanjutnya dilakukan juga pada aplikasi *Validation Method of Analysis*. Penelitian ini menggunakan data linieritas sebagai data yang digunakan untuk penentuan batas deteksi dan batas kuantitasi.

Berdasarkan data linieritas maka dapat diketahui bahwa hasil linieritas telah terpenuhi dengan rentang asam klorogenat sebesar 50,76-152,28 ppm dan kafein sebesar 151,2-504 ppm dan dari data tersebut maka dihasilkan nilai BD yang dapat dilihat dari nilai X_p pada asam klorogenat yaitu sebesar 100,664 ng dan nilai X_p kafein sebesar 297,232 ng serta BK asam klorogenat sebesar 301,994 ng dan nilai BK kafein sebesar 891,697 ng.

Selektivitas dan Spesifisitas

Pengukuran selektivitas dilakukan dengan menghitung resolusi puncak asam klorogenat terhadap resolusi puncak senyawa lain (*unknown*) dan resolusi puncak kafein terhadap resolusi puncak senyawa lain yang terdapat dalam sampel. Profil kromatogram pemisahan dapat dilihat pada gambar 3. Berdasarkan data tersebut didapatkan hasil nilai R_s asam klorogenat dengan senyawa lain sebesar 2,24 dan R_s kafein terhadap senyawa lain sebesar 2,32 Berdasarkan data tersebut dapat diketahui bahwa metode ini selektif dilihat dari hasil R_s yang memenuhi kriteria yaitu sebesar $\geq 1,5$.



Gambar 3 Kromatogram Pemisahan Asam Klorogenat, Senyawa *Unknown* (*autogenerated*) dan Kafein

Pengujian spesifisitas dilakukan dengan penilaian kemurnian (*purity*) dan identitas (*identity*) pada analit yang terdapat dalam sampel. Uji kemurnian dilakukan dengan membandingkan spektrum pada tiga posisi puncak kromatogram yaitu awal puncak (s), tengah puncak (m) dan akhir puncak (e). Berdasarkan data uji kemurnian menunjukkan bahwa kedua senyawa telah memenuhi kriteria penerimaan uji kemurnian dengan nilai korelasi spectrum $R(s,m)$ standar asam klorogenat sebesar 0,999915 dan nilai $R(s,m)$ sampel 0,999714 sebesar serta nilai $R(m,e)$ standar asam klorogenat sebesar 0,999876 dan $R(m,e)$ sampel sebesar 0,999404. Nilai $R(s,m)$ standar kafein sebesar 0,999985 dan nilai $R(s,m)$ sampel 0,999920 sebesar serta nilai $R(m,e)$ standar kafein sebesar 0,999964 dan $R(m,e)$ sampel sebesar 0,999907. Uji identitas ditentukan dengan membandingkan spektrum sampel (a) dengan spektrum standar (s). Hasil uji identitas menunjukkan nilai korelasi spectrum $R(s,s)$ dan nilai $R(s,a)$ menunjukkan nilai $\geq 0,99$. Berdasarkan data uji identitas menunjukkan bahwa kedua senyawa telah memenuhi kriteria penerimaan uji identitas dengan nilai $R(s,s)$ standar asam klorogenat sebesar 0,999271 dan nilai $R(s,s)$ sampel 0,999271 sebesar serta nilai $R(s,a)$ standar asam klorogenat sebesar 0,997643 dan $R(s,a)$ sampel sebesar 0,999745. Nilai $R(s,s)$ standar kafein sebesar 0,999980 dan nilai $R(s,s)$ sampel 0,999980 sebesar serta nilai $R(s,a)$ standar kafein sebesar 0,999918 dan $R(s,a)$ sampel sebesar 0,993282.

Presisi

Hasil uji presisi *repeatability* rata-rata RSD asam klorogenat adalah sebesar 2,94 dan rata-rata RSD kafein adalah sebesar 2,27% (table 3). Hasil uji presisi antara asam klorogenat adalah sebesar 2.26% dan kafein sebesar 2,18% yang dapat dilihat pada tabel 4. Kriteria penerimaan RSD asam klorogenat dan kafein dengan kadar analit lebih dari 0,01% dan kurang dari 1% adalah kurang dari 3,70% (Huber, 2007). Berdasarkan data tersebut diketahui bahwa uji presisi asam klorogenat dan kafein memenuhi syarat RSD yaitu kurang dari 3,70% dan dapat dikatakan bahwa metode ini memberikan hasil yang presisi.

Tabel 3 Hasil Uji Presisi *repeatability*

Senyawa	Kadar rata-rata (%b/b) ±RSD (%)
Asam klorogenat	0,20% ± 2,94%
Kafein	0,82% ± 2,27%

Tabel 4 Hasil Uji Presisi Antara

Senyawa	Pengujian	RSD (%)
Asam klorogenat	Hari ke-1 (n=6)	2,94%
	Hari ke-2 (n=9)	2,38%
	Hari ke-3 (n=9)	1,46%
	Rata-rata	2.26%
Kafein	Hari ke-1 (n=6)	2,27%
	Hari ke-2 (n=9)	2,81%
	Hari ke-3 (n=9)	1,46%
	Rata-rata	2.18%

Akurasi

Penilaian akurasi dapat dilihat pada hasil perolehan kembali (% *recovery*) analit yang ditambahkan dalam sampel. Pada tabel 5 hasil uji akurasi menunjukkan bahwa nilai *mean recovery* untuk asam klorogenat sebesar 102,22% dan kafein sebesar 99.73% sedangkan nilai RSD asam klorogenat sebesar 1.13% dan kafein sebesar 2,37%. Kriteria penerimaan uji akurasi pada kadar analit sebesar lebih dari 0,01% dan kurang dari 1% adalah nilai *mean recovery* berada pada rentang 95-105% dan nilai RSD kurang dari 3,7% (Wulandari, 2018). Berdasarkan data tersebut maka diketahui bahwa metode analisis yang digunakan menunjukkan hasil yang akurat. *Tolerance interval* menunjukkan bahwa dengan tingkat keyakinan 95% dari seluruh populasi data % *recovery* kafein dan asam klorogenat akan berada dalam rentang 96.58% - 107.86% dan 91.30% - 108.17%. *Tolerance interval* (TI) adalah suatu rentang batasan dalam analisis statistik yang digunakan untuk menentukan interval nilai di mana sebagian besar populasi atau data berada dengan tingkat keyakinan tertentu. Interval ini memberikan estimasi mengenai seberapa jauh nilai dari sebuah sampel akan menyebar, mencakup mayoritas anggota populasi yang diwakili oleh sampel tersebut. Tujuan *tolerance interval* digunakan untuk mengukur variabilitas dan memberikan batasan yang mencakup persentase tertentu dari populasi dengan tingkat keyakinan tertentu. Rentang TI artinya, jika sampel dianalisis berulang-ulang dengan metode yang sama, sebagian besar hasil kadar kafein dan asam klorogenat akan jatuh dalam rentang ini, sehingga rentang ini dapat digunakan untuk mengontrol atau mengevaluasi konsistensi mutu produk (Usp44, 2022).

Tabel 5 Hasil Uji Akurasi

Senyawa	Adisi	%recovery \pm RSD(n=6)	% tolerance interval (n=18)
Asam klorogenat	30%	100,52 \pm 1,62	96,58% - 107,86%
	45%	104,37 \pm 0,95	
	60%	101,79 \pm 0,83	
	Rata-rata	102,22 \pm 1,13	
Kafein	30%	101,59 \pm 3,38	91,30% - 108,17%
	45%	99,98 \pm 2,92	
	60%	97,63 \pm 0,82	
	Rata-rata	99,73 \pm 2,37	

Penetapan Kadar

Hasil penetapan kadar rata-rata asam klorogenat pada sampel PTPN XII Renteng adalah sebesar 0,21% dengan RSD sebesar 2,28% sedangkan pada sampel Puslitkoka Indonesia kadar asam klorogenat sebesar 0,21% dengan RSD sebesar 1,24%. Kadar rata-rata kafein pada sampel PTPN XII Renteng sebesar 0,82% dengan RSD sebesar 1,17% dan pada sampel Puslitkoka Indonesia kadar rata-rata kafein sebesar 0,82% dengan RSD sebesar 0,92%. Data tersebut menunjukkan bahwa RSD asam klorogenat dan kafein pada kedua sampel telah memenuhi persyaratan RSD yaitu kurang dari 3,7% (Wulandari, 2018).

Tabel 6 Hasil Penetapan Kadar Sampel Nyata

Asal sample	Senyawa	Kadar rata-rata (%b/b) \pm RSD (%)
PTPN XII	Asam klorogenat	0,21% \pm 2,28%
	Kafein	0,82% \pm 1,17%
Puslitkoka Indonesia	Asam klorogenat	0,21% \pm 1,24%
	Kafein	0,82% \pm 0,92%

4. KESIMPULAN

Metode KLT densitometri untuk penetapan kadar asam klorogenat dan kafein secara simultan pada serbuk daun kopi robusta tua memberikan hasil yang linier, peka, selektif, spesifik, presisi dan akurat. Kadar asam klorogenat dan kafein dalam serbuk daun kopi robusta sampel PTPN XII Renteng sebesar 2,28% \pm 0,21% dan 1,17% \pm 0,82%. Kadar asam klorogenat dan kafein pada sampel Puslitkoka Indonesia sebesar 1,24% \pm 0,21% dan 0,92% \pm 0,82%.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih pada grup riset *Pharmaceutical Analysis and Chemometrics*, Fakultas Farmasi Universitas Jember atas dukungan fasilitas penelitian.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Bouhzam, I., Cantero, R., Balcells, M., Margallo, M., Aldaco, R., Bala, A., Fullana-I-Palmer, P. & Puig, R. 2023. Environmental and yield comparison of quick extraction methods for caffeine and chlorogenic acid from spent coffee grounds. *Foods*, 12, 779.
- Bp 2022. *British Pharmacopoeia, SC IIIIF Validation of Analytical Procedures.*, Buckingham Palace Road, London, UK.

- Colomban, S., Guercia, E. & Navarini, L. 2020. Validation of a rapid ultra-high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for quantification of chlorogenic acids in roasted coffee. *Journal of Mass Spectrometry*, 55, e4634.
- De Luca, S., Ciotoli, E., Biancolillo, A., Bucci, R., Magrì, A. D. & Marini, F. 2018. Simultaneous quantification of caffeine and chlorogenic acid in coffee green beans and varietal classification of the samples by HPLC-DAD coupled with chemometrics. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 28748-28759.
- Harmita, H. 2004. Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 1, 1.
- Huber, L. 2007. *Validation and qualification in analytical laboratories*, CrC Press.
- Navarra, G., Moschetti, M., Guarrasi, V., Mangione, M., Militello, V. & Leone, M. 2017. Simultaneous determination of caffeine and chlorogenic acids in green coffee by UV/Vis spectroscopy. *Journal of Chemistry*, 2017, 6435086.
- Tajik, N., Tajik, M., Mack, I. & Enck, P. 2017. The potential effects of chlorogenic acid, the main phenolic components in coffee, on health: a comprehensive review of the literature. *European journal of nutrition*, 56, 2215-2244.
- Takahashi, S., Wada, R., Muguruma, H. & Osakabe, N. 2020. Analysis of chlorogenic acids in coffee with a multi-walled carbon nanotube electrode. *Food Analytical Methods*, 13, 923-932.
- Turnbull, D., Rodricks, J. V., Mariano, G. F. & Chowdhury, F. 2017. Caffeine and cardiovascular health. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 89, 165-185.
- Usp44 2022. General Chapter, <1210> Analytical Data—Interpretation and Treatment. DOI : https://doi.org/10.31003/USPNF_M8646_06_01.
- Wulandari, L. 2011. *Kromatografi Lapis Tipis*, Taman Kampus Presindo, Jember, Indonesia.
- Wulandari, L. 2018. *Validasi Metode Analisis*, Universitas Jember Press, Jember, Indonesia.
- Yuwono, M. & Indrayanto, G. 2005. Validation of chromatographic methods of analysis. *Profiles of drug substances, excipients and related methodology*, 32, 243-259.