

PENENTUAN KADAR KAFEIN DALAM BUNGA, BIJI, KULIT BUAH DAN DAUN KOPI ARABIKA (*Coffea arabica*) WONOLELO MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETER UV

Mega Karina Putri^{1*}, Beta Ria Erika Marita Dellima¹

¹Program Studi Farmasi, STIKes Akbidyo, Yogyakarta

*megakarina Putri@akbidyo.ac.id, betariaerikaemd@akbidyo.ac.id

Submitted: 20-03-2023

Revised: 31-03-2023

Accepted: 30-09-2023

ABSTRAK

Kopi arabika adalah salah satu jenis kopi yang banyak dibudidayakan di Indonesia. Kafein merupakan salah satu metabolit sekunder yang terkandung didalam kopi dengan berbagai macam manfaat biologis. Kafein termasuk ke dalam jenis alkaloid golongan metilxantin. Kafein terdistribusi dibagian-bagian pada tanaman kopi dibagian daun, kotiledon, dan bunga. Berbagai penelitian telah membuktikan, kandungan kafein di setiap bagian tanaman kopi memiliki kadar yang bervariasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaian tanaman kopi arabika yang berasal dari Wonolelo, Temanggung dengan kandungan kafein tertinggi.

Serbuk bunga, daun, biji dan kulit buah kopi arabika diekstraksi dengan akuades kemudian diekstraksi cair-cair dengan kloroform, fraksi kloroform yang diperoleh diuapkan sehingga terbentuk kristal yang mengandung kafein. Hasil tersebut dianalisis kuantitatif dengan spektrofotometri UV. Hasil absorbansi yang diperoleh dari pembacaan spektrofotometri UV, kemudian dihitung kadar kafein dalam sampel dan dianalisis menggunakan software SPSS.

Uji kuantitatif menyatakan bahwa kadar kafein tertinggi ke rendah adalah kulit buah sebesar 3,232%, biji (0,771%), bunga (0,509%), dan daun (0,24%). Hasil penelitian ini berbeda dibanding dengan penelitian terdahulu. Hal tersebut dapat terjadi karena perbedaan metode ekstraksi, umur sampel, kondisi pemanggangan/*roasting*, derajat penggilingan, asal geografis, seperti tempat tumbuh pada ketinggian yang berbeda, jenis tanah, curah hujan, waktu panen, dan intensitas terkena sinar matahari.

Kata kunci : bunga, daun, kulit buah, biji, kopi, kadar kafein

ABSTRACT

Arabica coffee is a type of coffee that is widely cultivated in Indonesia. Caffeine is one of the secondary metabolites contained in coffee with various biological benefits. Caffeine belongs to the class of alkaloids of the methylxanthine group. Caffeine is distributed in different parts of the coffee plant in the leaves, cotyledons and flowers. Various studies have proven that the caffeine content in each part of the coffee plant has varying levels. This study

aims to determine which part of the Arabica coffee plant comes from Wonolelo, Temanggung with the highest caffeine content.

Powder of flowers, leaves, seeds and fruit skins of Arabica coffee were extracted with distilled water and then extracted liquid-liquid with chloroform, the chloroform fraction obtained was evaporated to form crystals containing caffeine. The results were analyzed quantitatively by UV spectrophotometry. The absorbance results were obtained from UV spectrophotometric readings, then the caffeine content in the sample was calculated and analyzed using SPSS software.

Quantitative test stated that the highest to the lowest caffeine content were fruit peels of 3.232%, seeds (0.771%), flowers (0.509%), and leaves (0.24%). The results of this study are different compared to previous studies. This can occur due to differences in extraction methods, sample age, roasting conditions, grinding degree, geographical origin, such as growing locations at different altitudes, soil types, rainfall, harvest time, and intensity of exposure to sunlight.

Keywords : Flowers, leaves, fruit peels, seeds, coffee, caffeine content

PENDAHULUAN

Kopi merupakan salah satu hasil minuman yang secara luas dikonsumsi dan nikmati karena rasa, aroma, efek stimulant dan kegunaannya untuk kesehatan [1][2][3][4][5]. Kopi memiliki lebih dari 60 jenis, tetapi hanya 3 jenis yang memiliki nilai ekonomi, diantaranya yaitu *Coffea arabica*, *Coffea canephora* dan *Coffea liberica*. Dari ketiga jenis kopi tersebut, 2 diantaranya jenis kopi yang paling terkenal, yaitu *Coffea arabica* dan *Coffea canephora*, atau lebih dikenal dengan nama Kopi arabika dan Kopi Robusta [6]. Tanaman kopi termasuk kedalam tanaman obat [7]. Salah satu metabolit sekunder yang sangat terkenal dari kopi adalah kafein [8].

Kafein merupakan jenis alkaloid golongan metilxantin yang termasuk ke dalam derivat xantin. Adanya perbedaan kadar kafein pada setiap produk kopi memungkinkan terjadinya perbedaan pengaruh kopi bagi kesehatan [8]. Kafein secara luas dapat digunakan sebagai produk farmasi, makanan, minuman (seperti termasuk minuman berenergi), dan kosmetik [9][10][11]. Aktivitas biologi kafein telah banyak dibuktikan melalui penelitian – penelitian, yaitu antioksidan, *antiaging*, termogenik, antiselulit, memproteksi kulit dari pengaruh buruk sinar UV, meningkatkan sirkulasi darah di kulit, inhibisi 5 α -reduktase, antibakteri, antiinflamasi, dan aktivitas hyaluronidase [12][13][14][15][16].

Kafein terdistribusi dibagian-bagian pada tanaman kopi dibagian daun, kotiledon, dan bunga, namun tidak ditemukan pada bagian akar dan bagian pucuk tanaman yang berwarna coklat tua [17][18]. Kadar kafein yang terdapat di bagian daun, ditentukan oleh

umur daun [19]. Kadar kafein pada pucuk daun, daun muda, daun dewasa dan daun tua berturut-turut adalah 5,7; 7,1; 2,1; dan 2,4 mg/g. Penelitian lain menyatakan bahwa dalam daun muda yang masih segar terdapat sebanyak 3,2 mg/g kafein dan daun dewasa segar sebesar 1,8 mg/g [20]. Penelitian yang dilakukan oleh Dewi, dkk. pada tahun 2017, menyatakan bahwa pada sampel ekstrak biji, kulit buah, dan daun kopi arabika mengandung kafein dengan kadar yang berbeda-beda. Kadar kafein tertinggi terdapat di ekstrak daun kopi sebesar 3,28%, ekstrak buah kopi sebesar 2,35%, dan ekstrak biji kopi sebesar 1,77% [21]. Oleh karena itu, peneliti ingin membandingkan kadar kafein pada bagian-bagian dari tanaman kopi arabika, sehingga dapat mengetahui bagian tanaman kopi yang memiliki kandungan kafein tertinggi.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental yang meliputi tahap penyiapan sampel, karakterisasi simplisia, proses maserasi, dan uji kadar kafein dalam sampel kopi arabika. Sampel dalam penelitian ini adalah bunga, biji kopi, kulit buah kopi dan daun dewasa kopi yang dipanen dari Wonolelo, Magelang, Jawa Tengah. Bunga, daun dewasa dan kulit buah kopi dipanen pada bulan Januari 2023, sedangkan biji kopi dipanen pada bulan Agustus-September 2022. Penelitian dilakukan dengan tahapan-tahapan meliputi:

1. Preparasi sampel

Preparasi sampel mengacu pada metode yang dilakukan oleh [22][23] dengan sedikit modifikasi pada proses pemanasan. Bubuk sampel bagian tanaman kopi di timbang secara seksama dan dimasukkan kedalam beaker glass yang sudah berisi akuades. Campuran tersebut dipanaskan dengan waterbath suhu 95 °C dan sesekali diaduk selama 10 menit, kemudian disaring menggunakan kertas saring. Hasil filtrat diaduk-aduk selama 10 menit sampai suhu ruang (25 ± 2 °C).

Filtrat kopi yang telah mencapai suhu ruang, disaring kembali dengan kertas saring, kemudian sebanyak 2 gram kalsium karbonat (CaCO_3) ditambahkan kedalamnya. Kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah dan diekstraksi menggunakan 25 ml kloroform sebanyak 4 kali. Lapisan bawahnya berupa fase kloroform dipisahkan. Fase kloroform kemudian diuapkan pelarutnya dalam lemari asam sehingga diperoleh serbuk dari fraksi kloroform. Serbuk tersebut dihitung rendemennya.

2. Analisa kuantitatif

a. Pembuatan larutan baku kafein

Sebanyak 100 mg standar kafein di masukan ke dalam labu ukur 100 mL, dilarutkan dengan akuades sampai tanda batas dan homogenkan. Larutan tersebut memiliki konsentrasi sebesar 1 mg/mL.

b. Penentuan panjang gelombang maksimum

Larutan induk baku standar diukur serapannya pada panjang gelombang antara 270 nm-300 nm [23].

c. Pembuatan kurva baku

Kurva kalibrasi diperoleh dengan membuat larutan baku standar konsentrasi 5; 7,5; 10; 12,5; 15; dan 17,5 ppm dan diukur serapannya pada panjang gelombang serapan maksimum dan sebagai blangko digunakan akuades.

3. Teknik analisa data

Data yang diperoleh pada analisa kuantitatif berupa nilai absorbansi. Nilai tersebut selanjutnya dihitung kadar kafein dengan persamaan regresi linier yang diperoleh dari kurva kalibrasi pada standar kafein. Analisis kadar kafein dilakukan secara statistik varian ANOVA satu arah.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel yang diukur kadar kafeinnya berupa fraksi kloroform. Fraksi kloroform diperoleh dengan melakukan ekstraksi sejumlah bubuk daun, bunga, biji dan kulit buah kopi dengan akuades. Masing-masing serbuk sampel ditimbang sebanyak 2 gram dan dilarutkan dengan 100 ml akuades. Campuran tersebut dipanaskan dalam *waterbath* pada suhu 95°C selama 10 menit sambil sesekali diaduk. Kemudian campuran didiamkan sampai suhu ruang, selanjutnya disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan antara serbuk dengan filtrat. Filtrat yang diperoleh ditambah sejumlah CaCO_3 , selanjutnya dilakukan ekstraksi cair-cair menggunakan kloroform. Lapisan kloroform diambil dan diuapkan pelarutnya sampai terbentuk serbuk yang disebut dengan fraksi kloroform.

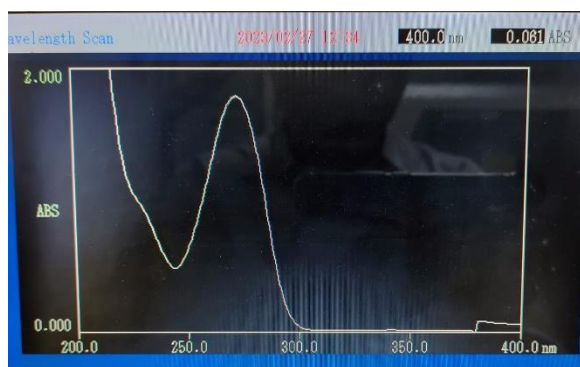
Tabel 1. Rendemen Fraksi Kloroform

No.	Bagian Tanaman	Rendemen (%)
1.	Bunga	0,897
2.	Biji	0,859
3.	Kulit buah	1,598
4.	Daun	2,034

Penambahan CaCO_3 dimaksudkan agar CaCO_3 dapat memutus ikatan kafein dengan senyawa lain, sehingga kafein berada dalam bentuk basa bebas. Kafein basa bebas kemudian terlarut pada kloroform [24]. Kloroform merupakan pelarut yang tidak bercampur dengan pelarut filtrat, yaitu akuades, sehingga dapat digunakan sebagai pelarut dalam proses ekstraksi cair-cair.

Berdasarkan Tabel 1 dapat diketahui bahwa tiap bagian tanaman kopi yang di uji memberikan rendemen yang berbeda-beda. Daun memiliki rendemen tertinggi yaitu 2,034%, diikuti kulit buah (1,598%), bunga (0,897%), dan biji kopi (0,859%). Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Sayuti, Nafhika, dan Dewi, dkk. Penelitian Sayuti (2017) menyatakan bahwa perbedaan bagian bambu laut (*Isis hippuris*) menghasilkan perbedaan rendemen yang diperoleh [25]. Sampel daun, kulit buah, dan buah manggis memberikan rendemen tanin yang berbeda, dimana rendemen terbesar terdapat di bagian daun (9,72%) [26]. Penelitian yang telah dilakukan oleh Dewi, dkk. (2017) menyatakan bahwa bagian tanaman kopi yang mempunyai rendemen terbesar yaitu biji kopi (46,35%), kulit buah (40,71%), dan daun kopi (31,94%) [21]. Ketiga sampel uji tersebut diekstraksi dengan metode sokhletasi dengan produk akhir berupa ekstrak kental.

Gambar 1. Hasil Scanning Panjang Gelombang Maksimum Standar Kafein

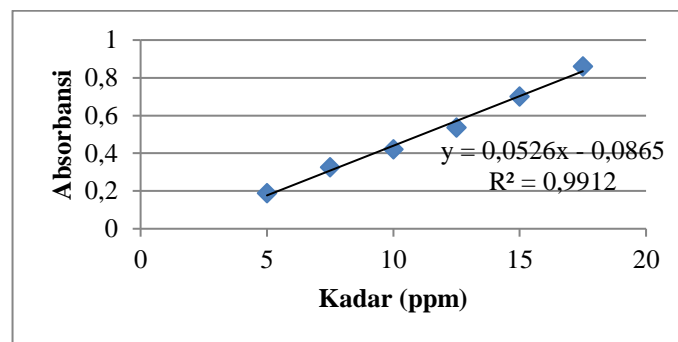


Langkah awal dilakukannya uji kuantitatif adalah dengan menentukan panjang gelombang maksimum standar baku kafein. Larutan standar baku kafein discanning panjang gelombangnya pada rentang 270 – 300 nm. Hasil pengukuran scanning panjang gelombang maksimum ini diperoleh pada 272 nm sesuai yang tercantum pada Gambar 1. Hasil scanning tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Fajriana dan Fajriati, yaitu 272,5 nm [27]. Hasil tersebut juga sesuai dengan pernyataan Egan, dimana panjang gelombang maksimum kafein berada pada rentang 272-276 nm [28].

Kurva kalibrasi yang dibuat berdasarkan hubungan seri kadar standar baku kafein dengan absorbansi. Larutan standar kafein yang diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum 272 nm. Larutan standar kafein terdiri dari seri kadar 5; 7,5; 10; 12,5, 15 dan

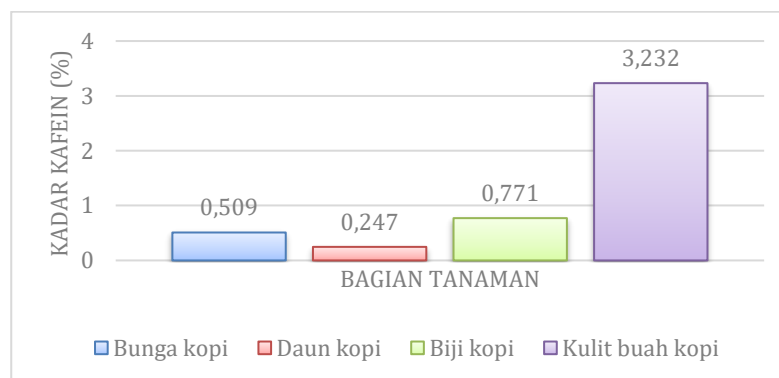
17,5 ppm. Blanko yang digunakan pada penelitian ini adalah akuades. Seri kadar dan absorpsi yang diperoleh direfleksikan ke dalam kurva regresi linier sehingga diperoleh sebuah garis lurus. Hasil regresi linier diperoleh koefisien korelasi (r) adalah sebesar 0,9912 dengan persamaan $y = 0,0526x - 0,0865$, seperti yang tersaji pada Gambar 2. Nilai korelasi (r) yang tersebut merupakan hubungan antara konsentrasi standar kafein dengan absorbansinya telah memenuhi kriteria linieritas. Nilai korelasi (r) yang semakin mendekati 1 atau -1 merupakan nilai korelasi (r) yang baik.

Gambar 2. Regresi Linier Kurva Kalibrasi Hubungan Konsentrasi (ppm) Standar Baku Kafein dengan Absorbansi



Fraaksi kloroform yang mengandung kafein dilarutkan dalam akuades kemudian diukur absorbansinya menggunakan panjang gelombang maksimum untuk ditentukan kadar kafeinnya. Perhitungan kadar kafein dilakukan menggunakan persamaan kurva baku yang telah diperoleh dan hasil pengukuran absorbansi sampel uji hingga didapatkan % kadar kafein dalam sampel. Kadar kafein tersaji pada Gambar 3. Rerata % kadar kafein tertinggi terdapat pada bagian tanaman kulit buah kopi, sedangkan rerata % kadar kafein terdapat pada bagian tanaman bunga kopi.

Gambar 3. Diagram Rerata % Kadar Kafein dalam Sampel



Kadar yang diperoleh dianalisis statistik menggunakan uji *One Way* ANOVA untuk mengetahui perbedaan bermakna atau tidak dari kadar kafein pada setiap bagian tanaman. Syarat dari uji *One Way* ANOVA adalah skala data berupa rasio atau interval data harus

terdistribusi normal, dan tidak ada perbedaan varians data. Uji *One Way* ANOVA digunakan untuk analisis lebih dari 2 kelompok. Untuk mengetahui distribusi data digunakan uji *Shapiro – Wilk* dan uji *homogeneity of variances* untuk mengetahui homogenitas data yang diuji.

Data kadar kafein di uji *Shapiro – Wilk* dan *homogeneity of variances* untuk mengetahui distribusi normal dan homogenitas data. Berdasarkan hasil uji *Shapiro – Wilk* dan uji *homogeneity of variances* diperoleh nilai signifikansi $> 0,05$, sehingga dapat disimpulkan data terdistribusi normal dan varians dalam kelompok sama. Data kadar kafein yang telah memenuhi syarat, selanjutnya di uji *LSD One Way* ANOVA. Uji ini dapat dilakukan karena data kadar kafein telah memenuhi persyaratan, yaitu terdistribusi normal dan homogen. Hasil ringkasan analisis *LSD* tersaji pada Tabel 2 berikut :

Tabel 2. Hasil Analisis *LSD* Kadar Kafein dari Berbagai Bagian Tanaman

Bagian Tanaman	Kadar kafein (ppm)	Bagian Tanaman	Kadar kafein (ppm)	Nilai signifi kansi (p)	Makna	
Bunga	50,856	Daun	24,676	0,000	Terdapat signifikan	perbedaan
Bunga	50,856	Biji	77,887	0,000	Terdapat signifikan	perbedaan
Bunga	50,856	Kulit buah	316,779	0,000	Terdapat signifikan	perbedaan
Daun	24,676	Biji	77,887	0,000	Terdapat signifikan	perbedaan
Daun	24,676	Kulit buah	316,779	0,000	Terdapat signifikan	perbedaan
Biji	77,887	Kulit buah	316,779	0,000	Terdapat signifikan	perbedaan

Keterangan :

$p < 0,05$ = terdapat perbedaan signifikan terhadap kadar kafein antar bagian tanaman

$p > 0,05$ = tidak terdapat perbedaan signifikan terhadap kadar kafein antar bagian tanaman

Berdasarkan Tabel 2 dapat disimpulkan bahwa kadar kafein pada setiap bagian tanaman kopi yang diuji yaitu bunga, daun, biji, dan kulit buah kopi berbeda-beda. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Dewi tahun 2017 dan Asfew dan Dekebo tahun 2019 [21][29].

Kafein terdistribusi dalam semua bagian tanaman kopi, kecuali akar dan bagian pucuk yang berwarna coklat tua [29][30][31]. Kadar kafein tertinggi terdapat pada bagian daun (3,28%), diikuti oleh kulit buah (2,35%), dan biji (1,77%) dengan jenis kopi yang digunakan adalah kopi arabika [21]. Penelitian lain menyatakan bahwa bagian tanaman kopi

yang berasal dari daerah Wollega, Etiopia memiliki kadar kafein tertinggi adalah biji (1,30%), kulit buah (0,90%), dan daun (0,65%) [29]. Berdasarkan hasil kedua penelitian tersebut, ketika dibandingkan dengan hasil penelitian ini, maka diketahui bahwa setiap hasil penelitian memiliki kadar kafein tertinggi pada bagian tanaman yang berbeda. Hal tersebut tersaji pada Tabel 3.

Tabel 3. Kadar Kafein Tertinggi pada Bagian Tanaman Kopi

No.	Referensi/Hasil penelitian	Kadar kafein (%)	Bagian tanaman
1.	[21]	3,28	Daun
2.	[29]	1,30	Biji
3.	Hasil penelitian ini	3,23	Kulit buah

Perbedaan yang terjadi dapat disebabkan oleh beberapa faktor, seperti perbedaan metode ekstraksi dan umur sampel yang digunakan (dalam hal ini contohnya adalah daun). Daun yang digunakan pada penelitian Dewi, dkk. pada tahun 2017 merupakan daun yang berumur muda, sedangkan daun yang digunakan pada penelitian ini adalah daun dewasa [21]. Sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa kadar kafein yang terdapat di bagian daun, ditentukan oleh umur daun, dimana daun muda memiliki kandungan kafein yang lebih tinggi dibandingkan dengan daun dewasa [19][20]. Hal tersebut berhubungan dengan biosintesis kafein, dimana biosintesis kafein terjadi di daun dan bagian luar buah tetapi bila biji di dalam buah mulai tumbuh, kafein ditranslokasikan ke membran dan terakumulasi dalam endosperm [29].

Selain adanya perbedaan metode ekstraksi dan umur sampel, faktor lain yang dapat mempengaruhi perbedaan kadar suatu senyawa di dalam tanaman adalah kondisi pemanggangan/*roasting* [32]. Faktor lain seperti derajat penggilingan dan asal geografis, seperti tempat tumbuh pada ketinggian yang berbeda, jenis tanah, curah hujan, waktu panen, dan intensitas terkena sinar matahari. Kondisi lingkungan dapat mempengaruhi fotosintesis, dimana pancaran sinar matahari yang lebih sering dapat memicu proses fotosintesis sehingga dapat meningkatkan indeks luas daun dan menghasilkan buah yang lebih besar dan lebih berat dengan biji yang memiliki kualitas lebih baik [29][33].

Kadar kafein yang terkandung didalam bagian-bagian tanaman kopi tidak dapat dikorelasikan dengan rendemen fraksi klorofom yang diperoleh. Jika dilihat dari Tabel 1, rendemen tertinggi diperoleh pada bagian daun sedangkan terendah pada bagian biji kopi. Namun, kadar kafein tertinggi pada bagian kulit buah dan terendah pada bunga. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Handoyo pada tahun 2017. Penelitian

tersebut membuktikan bahwa pada ekstraksi kopi hijau rendemen tertinggi terjadi dengan suhu 80 °C yang berbeda dengan perolehan kadar kafein dan asam klorogenat tertinggi dihasilkan dengan suhu 70 °C [34]. Keterbatasan dalam penelitian ini adalah parameter yang diteliti hanya penentuan kadar kafein pada tempat tumbuh yang sama. Saran untuk penelitian selanjutnya adalah dapat ditentukan parameter-parameter uji lain, seperti kadar fenol total dan flavonoid, serta tempat tumbuh kopi juga dapat lebih divariasikan.

KESIMPULAN

Berdasarkan analisis data hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa bagian tanaman kopi mempunyai kadar kafein yang perbedaan signifikan dengan kadar tertinggi pada bagian tanaman kulit buah yaitu sebesar 3,232% dan terendah pada bagian tanaman daun 0,247%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih ang sebesar-besarnya kepada STIKes Akbidyo Yogyakarta yang telah memfasilitasi penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Chen, Q.C., Mou, S. F., Hou, X.P., Ni, Z. M. 1998. Simultaneous Determination of Caffeine, Theobromine and Theophylline in Foods and Pharmaceutical Preparations by Using Ion Chromatography. *Anal. Chim. Acta*, 371, 2-3, 287-296
- [2] Schenker, S., Heinemann, C., Huber, M., Pompizzi, R., Perren, R., Escher, R. 2002. Impact of Roasting Conditions on The Formation of Aroma Compounds in Coffee Beans, *J. Food Sci.* 67, 1, 60-66
- [3] Aresta, A., Palmisano, F., Zambonin, C.G. 2005. Simultaneous Determination of Caffeine, Theobromine, Theophylline, Paraxanthine and Nicotine in Human Milk by Liquid Chromatography With Diode Array UV Detection. *Food Chem.* 93(1), 177-181
- [4] Perrone, D., Donangelo, C.M., Farah, A. 2008. Fast Simultaneous Analysis Of Caffeine, Trigonelline, Nicotinic Acid and Sucrose in Coffee By Liquid Chromatography-Mass Spectrometry, *Food Chem*, 110, 4, 1030-1035
- [5] Gebeyehu, B.T., Bikila, S.L. 2015. Determination of Caffeine Content and Antioxidant Activity of Coffee, *Am. J. Appl. Che.*, 3, 69-76
- [6] Martin, M.J., Pablos, F., González, A. 1998. Characterization of Green Coffee Varieties According To Their Metal Content, *Anal. Chim. Acta*. 358, 2, 177-183
- [7] Eva, B. P., Tímea, B., N'ora, P. 2016. Phytochemical Over View and Medicinal Importance of Coffea Species From The Past Until Now, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 9, 1127-1135
- [8] Weinberg, B.A. dan Bonnie, K.B. 2010. *The Miracle of Caffeine: Manfaat Tak Terduga Kafein Berdasarkan Penelitian Paling Mutakhir*, Bandung, Qanita
- [9] Goticelli M. 2007. Coffee Cosmetic Rarity, *Beauty and Cosmetology*, 71 (2), 16-19
- [10] Car H. 2011. *The healing effects of caffeine*, Pharmacy and I, Vol. 1, pp. 56-57
- [11] Frankowski, M., Kowalski, A., Ociepa, A., Siepak, J., Niedzielski, P. 2008. Caffeine Levels in Various Caffeine-Rich and Decaffeinated Coffee Grades and Coffee Extracts Marketed in Poland, *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 41, 1, 21-27
- [12] Costa, A.S., Alves, R.C., Vinha, A.F., Barreira, S.V., Nunes, M.A., Cunha, L.M., Oliveira, M.B.P.P. 2014. Optimization of Antioxidants Extraction From Coffee

- Silverskin, A Roasting By-Product, Having in View A Sustainable Process. *Ind. Crops Prod.*, 53, 350–357
- [13] Toschi, T.G., Cardenia, V., Bonaga, G., Mandrioli, M., Rodriguez-Estrada, M.T. 2014. Coffee silverskin: Characterization, possible uses, and safety aspects., *J. Agric. Food Chem.*, 62, 10836–10844
- [14] Rodrigues, F., Antónia Nunes, M., Alves, R., Oliveira, M. 2017. *Applications of recovered bioactive compounds in cosmetics and other products. In Handbook of Coffee Processing by-Products*, 1st ed.; Galanakis, C.M., Ed.; Academic Press, London, UK
- [15] Furusawa, M., Narita, Y., Iwai, K., Fukunaga, T., Nakagiri, O. 2011. Inhibitory effect of a hot water extract of coffee “silverskin” on hyaluronidase. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 75, 1205–1207
- [16] Hwang, J.H., Koh, E.J., Lee, Y.J., Chio, J., Song, J.H., Seo, Y.J., Lee, B.Y. 2016. Anti-inflammatory effect of caffeine by regulating NF- κ B activation in murine macrophage, *FASEB J.*, 30, 1b256. Tersedia online: http://www.fasebj.org/content/30/1_Supplement/1b256.short (Diakses tanggal 21 Juni 2022)
- [17] Zheng, X., Ashihara, H. 2004. Distribution, Biosynthesis and Function of Purine and Pyridine Alkaloids in *Coffea Arabica* Seedlings, *Plant Science*, 166:807-813. 10.1016/j.plantsci.2003.11.024
- [18] Rahmawati, S. H., Utomo, T. P., Hidayati, S., Suroso, E. 2020. Kajian Ekstraksi Komponen Aromatik Bunga Kopi Robusta (*Coffea chanepora*), *Journal of Tropical Upland Resources*, 2(1), 121-131
- [19] Ashihara, H., Monteiro, A., Gillies, F.M., Crozier, A. 1996. Biosynthesis of Caffeine in Leaves of Coffee. *Plant Physiology*, 111, 747-753
- [20] Ratanamarno, S., Surbkar, S. 2017. Caffeine and Catechins in Fresh Coffee Leaf (*Coffea Arabica*) and Coffee Leaf Tea by HPLC. *Maejo International Journal of Science and Technology*, 11, 211-218
- [21] Dewi, N. V., Fajaryanti, N., Masruriati, E. 2017. Perbedaan Kadar Kafein pada Ekstrak Biji, Kulit Buah dan Daun Kopi (*Coffea arabica* L.) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis, *Jurnal Farmasetis*, 6 (2), 29-38
- [22] Waluyo, S., Handayani, F. N., Suhandy, D., Rahmawati, W., Sugianti, C., Yulia, M. 2017. Analisis Spektrum UV-Vis untuk Menguji Kemurnian Kopi, *Jurnal Teknik Pertanian Lampung*, 6, (2), 73-80
- [23] Suwiyarsa, I. N., Nuryanti, S., Hamzah, B. 2018. Analisis kadar Kafein Dalam Kopi Bubuk Lokal yang Beredar di Kota Palu, *J. Akademika Kim*, 7, (4), 189-192
- [24] Misfadhila, S., Zulharmita, Siska, D. H. 2016. Pembuatan Kafein Salisilat secara Semisintesis dari Bubuk Kopi Olahan Tradisional Kerinci, *Jurnal Farmasi Higea*, 8(2), 173-188
- [25] Sayuti, M. 2017. Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi, Bagian dan Jenis Pelarut terhadap Rendemen dan Aktivitas Antioksidan Bambu Laut (*Isis hippuris*), *Technology Science and Engineering Journal*, 1(3), 166-174
- [26] Nafikha, W. 2020. Perbandingan Hasil Rendemen Tanin Ekstrak Daun, Kulit Buah dan Buah Manggis (*Garcinia magostana* L.) dengan metode Maserasi, *Karya Tulis Ilmiah*, Program Studi DIII Farmasi, Politeknik Harapan Bersama Tegal
- [27] Fajriana, N. H., dan Fajriati, I. 2018. Analisis Kadar Kafein Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) pada Variasi Temperatur Sangrai Secara Spektrofotometri Ultra Violet, *Analit : Analytical and Environmental Chemistry*, 3(2), 148-162
- [28] Egan, H., Kirk, R. S., Sawyer, R., dan Pearson, D. 1981. *Pearson's Chemical Analysis of Food*, Longman Scientific & Technical, London

- [29] Asfew, Z. dan Dekebo, A. 2019. Quantification of Caffeine Content in Coffee Bean, Pulp and Leaves From Wollega Zones of Ethiopia by High Performance Liquid Chromatography, *Trends in Phytochemical Research*, 3(4), 261-274
- [30] Oestreich-Janzen, S. 2013. *Chemistry of Coffee*, CAFEIA GmbH, Hamburg, Germany
- [31] Dado, A. T., Asresahegn, Y. A., Goroya, K. G., 2019, Comparative Study of Caffeine Content in Beans and Leaves of Coffea Arabica Using UV/Vis Spectrophotometer, *International Journal of Physical Sciences*, 14, 4, 171-176
- [32] Putri, M.K. Dellima, B. R. E. M. 2022. Analisis kadar Kafein dalam *Green Bean* dan *Roasted Bean* Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Temanggung Menggunakan Spektrofotometer UV, *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 4 (6), 577-584
- [33] Putri, M.K. Dellima, B. R. E. M. 2022^b. Pengaruh Daerah Tempat Tumbuh Terhadap Kadar Kafein Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*), *Jurnal Ilmu Kesehatan Bhati Setya Medika*, 7(1), 33-42
- [34] Handoyo, F. 2017. Ekstraksi Dan Karakterisasi *Green Coffee Extract* (Gce) dari Kopi Robusta Lampung, *Skripsi*, Departemen Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor