

**PENATAPAN KADAR ALKALOID INFUSA BIJI KOPI ROBUSTA SANGRAI
(*Coffea canephora* Pierre Ex. A Froehner) DENGAN
SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

Septi Wulandari^{1*}, Mauritz Pandapotan Marpaung²,

¹ Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Bengkulu, Indonesia

² Program Studi DIII Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Kader Bangsa, Indonesia
Email^{1*} : septiwulandari@unib.ac.id

ABSTRAK

Kopi merupakan bahan minuman yang telah terkenal di seluruh dunia maupun di Indonesia. Tidak hanya memiliki aroma yang dan rasa yang khas, kopi juga dapat berkhasiat bagi kesehatan tubuh. Manfaat kesehatan tersebut berasal dari senyawa – senyawa bioaktif yang terkandung di dalam kopi. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kadar alkaloid seduhan kopi Robusta (*Coffea canephora* Pierre Ex. A Froehner) sangrai. Metode yang digunakan adalah dengan spektrofotometri Uv-Vis. Prosedur kerja meliputi uji fitokimia dan uji kadar alkaloid seduhan kopi robusta dengan spektrofotometri UV-Vis. Hasil uji fitokimia seduhan kopi robusta yang di teliti positif mengandung alkaloid dan untuk hasil uji kadar alkaloid sebesar 0,7768%. Kesimpulan yang didapat bahwa seduhan kopi robusta mengandung alkaloid dengan kadar alkaloid 0,7768%.

Kata Kunci: Biji kopi robusta sangrai, alkaloid, spektrovotometri UV-Vis

ABSTRACT

*Coffee is a drink that is well-known throughout the world and in Indonesia. Not only has a distinctive aroma and taste, but coffee can also be beneficial for the health of the body. These health benefits come from the bioactive compounds contained in coffee. This research was conducted to determine the alkaloid content of roasted Robusta coffee (*Coffea canephora* Pierre Ex. A Froehner). The method used is Uv-Vis spectrophotometry. The working procedure includes a phytochemical test and a test for the alkaloid content of Robusta coffee brewing using UV-Vis spectrophotometry. The results of phytochemical test results of the Robusta coffee brew which were examined positively contained alkaloids and the alkaloid content test results were 0.7768%. The conclusion obtained is that brewed Robusta coffee contains alkaloids with an alkaloid content of 0.7768%.*

Keywords : Roasted robusta coffee beans, alkaloids, UV-Vis spectrophotometry

PENDAHULUAN

Kopi merupakan bahan minuman yang telah terkenal di seluruh dunia maupun di Indonesia (Ridwansyah, 2003). Tidak hanya memiliki aroma yang dan rasa yang khas, kopi juga dapat berkhasiat bagi kesehatan tubuh. Indonesia telah mengenal jamu dan tanaman obat keluarga (TOGA). Tanaman kopi merupakan salah satu tanaman yang mempunyai manfaat sebagai jamu dan obat herbal, pembuatan kosmetik dan lain sebagainya. Manfaat kesehatan tersebut berasal dari senyawa – senyawa bioaktif yang terkandung di dalam kopi (Minamisawa *et al.*, 2004). Adapun Senyawa kimia yang terdapat dalam kopi diantaranya kafein, asam klorogenat, trigonelin, asam amino, karbohidrat, lemak, asam amino, asam organik, aroma volatile, dan mineral (Mulato *et al.*, 2001).

Kopi adalah salah satu minuman dengan kandungan senyawa kimia yang kompleks, Salah satu senyawa dalam kopi yaitu alkaloid, yang memiliki ciri rasa yang pahit karena di sebabkan oleh kandungan kafeinnya. Kopi mengandung alkaloid xantin (atau purin), yakni kafein (1-2%), khususnya secangkir kopi instan mengandung sekitar 50 mg kafein (Heinrich, 2010).

Alkaloid merupakan suatu basa organik yang mengandung unsur Nitrogen (N) pada umumnya berasal dari tanaman, yang mempunyai efek fisiologis kuat terhadap manusia. Kegunaan senyawa alkaloid dalam bidang farmakologi adalah untuk memacu sistem syaraf, menaikkan tekanan darah, dan melawan infeksi mikrobial (Pasaribu, 2009) dan menurut khunaifi (2010), alkaloid memiliki efek dalam bidang kesehatan sebagai pemicu sistem saraf, menaikkan tekanan darah, mengurangi rasa sakit, antimikroba, dan lainnya.

Alkaloid sendiri tersebar hampir di semua bagian tumbuhan dengan kadar

yang berbeda-beda, antara lain pada batang, kulit batang, akar, daun, buah, biji dan dalam vakuola (Hanani, 2014). Alkaloid diperoleh dengan mengekstraksi bahan tumbuhan memakai air yang di asamkan, alkaloid di larutkan sebagai garam atau bahan tumbuhan dapat di basakan dengan natrium karbonat atau ammonia, dan basa bebas di ekstraksi dengan pelarut organik seperti kloroform, eter, dan lain sebagainya (Robinson, 1995).

Pada umumnya kopi disajikan dalam bentuk biji kopi yang telah di sangrai. proses sangrai dapat mempengaruhi komposisi senyawa bioaktif yang dapat mempengaruhi aktivitas antioksidannya, kualitas kopi, citarasa dan aroma. (Farah *et al.*, 2005). Proses sangrai umumnya di lakukan pada suhu 200-240 0C dan menghasilkan biji kopi yang berwarna coklat dan di sertai pelepasan aroma yang khas. Penyangraian biji kopi akan mengubah secara kimiawi kandungan-kandungan dalam biji kopi, disertai susut bobotnya, bertambah besarnya ukuran biji kopi dan perubahan warna bijinya. Kopi biji setelah disangrai akan mengalami perubahan kimia yang merupakan unsur cita rasa yang lezat (Ridwansyah, 2003).

Pada penelitian menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis dan infusa biji kopi robusta sangrai. Spektrofotometri UV-Vis merupakan salah satu metode dalam kimia analisis yang digunakan untuk menentukan komposisi suatu sampel baik secara kuantitatif dan kualitatif yang didasarkan pada interaksi antara materi dengan cahaya. Kelebihan spektrometer dibandingkan fotometer adalah panjang gelombang dari sinar putih dapat lebih terseleksi dan ini diperoleh dengan alat pengurai seperti 11 prisma, grating ataupun celah optis.

Berdasarkan latar belakang diatas, mengingat kandungan alkaloid tanaman

berbeda-beda sesuai tempat tumbuh dan faktor lainnya, sehingga diharapkan ulasan artikel ini dapat memberikan informasi ilmiah tentang kadar alkaloid total dari infusa biji kopi robusta sangrai.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah eksperimental yaitu penelitian yang dilakukan di laboratorium dengan cara mengukur kadar alkaloid pada biji kopi robusta akibat penyangraian.

Penelitian ini menggunakan alat berupa Gelas ukur 10 ml, gelas ukur 100 ml, *beaker glass* 250 ml, blender, timbangan analitik, spatula, spektrofotometri UV-Vis, erlenmeyer 250 ml, tabung reaksi, corong, kertas saring, pipet tetes, labu ukur 25 ml, *hot plate*, labu ukur 100 ml, kaca arloji, cawan petri dan labu ukur 250 ml. Bahan yang digunakan berupa biji kopi robusta sangrai, aquades, etanol absolute, kuersetin, kafein murni, HCl 2N, pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, NaOH 2N, Na₂HPO₄, Asam sitrat, BCG (*Bromocresol Green*), Dappar Posfat (pH 4,7), Kloroform, dan natrium fosfat.

Buah kopi segar yang berwarna merah di petik di pagi hari lalu di sortasi dan dikeringkan, kemudian dilakukan proses hulling (pengelupasan kulit) lalu biji kopi disortasi dan menghasilkan kopi beras kering (Bonita *et al.*, 2007). Biji kopi robusta sebanyak 1 kg disangrai dan digiling sehingga dihasilkan kopi bubuk (serbuk kopi). (Mulato, 2002). Bubuk kopi tersebut kemudian diseduh dan diaduk dengan akuades yang telah dipanaskan sehingga didapatkan ekstrak biji kopi robusta sangrai.

Uji alkaloid secara kualitatif dilakukan dengan menambahkan 1 ml HCl 2 N dan 9 ml air suling ke dalam 2 gram serbuk simplisia dan dipanaskan selama 2 menit setelah dingin disaring serta dibagi menjadi tiga tabung. Tabung

pertama ambil filtrat 3 tetes, lalu ditambahkan pereaksi Mayer 2 tetes, tabung kedua ambil filtrat 3 tetes ditambahkan peraksi Wagner 2 tetes dan tabung ketiga ambil filtrat 3 tetes ditambahkan peraksi Dragendorff 2 tetes. Terbentuknya endapan putih hingga kekuningan pada tabung pertama, terbentuk endapan coklat hingga hitam pada tabung kedua dan endapan merah bata pada tabung ketiga menunjukkan adanya alkaloid.

Langkah selanjutnya penentuan kadar alkaloid secara spektrofotometri diawali dengan pembuatan larutan *bromocresol green* (BCG) dengan menimbang 6,98 mg bromocresol green dengan 0,3 mL NaOH 2N dan 0,5 mL akuades selanjutnya dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan akuades sampai batas volume.

Pembuatan larutan dapar fosfat (pH 4,7) disiapkan dengan menyesuaikan pH. Larutan dapar fosfat dibuat dengan menimbang natrium fosfat (7,16 gram Na₂HPO₄) dan 4,202 gram asam sitrat kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan akuades sampai batas volume.

Pembuatan larutan baku kafein dilakukan dengan ditimbang sebanyak 250 mg kafein, dimasukkan dimasukkan ke dalam labu ukur 250 mL kemudian diencerkan dengan akuades hingga tanda batas dan diperoleh larutan kafein dengan konsentrasi 1000 ppm. Dipipet larutan standar kafein sebanyak 2,5 mL, dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL kemudian diencerkan dengan akuades hingga tanda batas dan dihomogenkan.. Sehingga diperoleh larutan kafein dengan konsentrasi 100 ppm.

Pembuatan larutan standar didahului dengan memipet 0,1; 0,3; 0,6; 0,9; 1,2; dan 1,5 mL dari larutan standar kafein 100 ppm dan diencerkan menjadi 10mL sehingga konsentrasi larutan

standar yang diperoleh berturut-turut adalah 1; 3; 6; 9; 12; dan 15 ppm. Larutan standar kafein diukur dengan menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis sehingga diperoleh λ_{max} .

Penentuan kadar alkaloid total dilakukan dengan cara mengambil 2 mL biji kopi robusta, masing-masing konsentrasi yang terdapat pada tabel 1 dari masing-masing larutan uji ekstrak ditambahkan dapar posfat (pH 4,7) dan larutan BCG (*bromocresol green*) kemudian diekstraksi dengan mengikat kloroform sebanyak tiga kali menggunakan vortex. Diambil fase kloroform dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan kloroform sampai batas volume. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang optimumnya. Panjang gelombang maksimum kafein 250-300 nm dengan mengukur absorbansi pada larutan standar kafein.

Tabel 1. Komposisi Campuran dari Berbagai Konsentrasi Ekstrak

NO	Konsentrasi Pelarut	BCG (<i>bromocresol green</i>)	Dapar Posfat	Kloroform
1	15 ppm	2 ml	2 mL	2 ml
2	12 ppm	1,6 mL	1,6 mL	2,4 mL
3	9 ppm	1,2 mL	1,2 mL	1,8 mL
4	6 ppm	0,8 mL	0,8 mL	1,2 mL
5	3 ppm	0,4 mL	0,4 mL	0,6 mL
6	1 ppm	0,1 mL	0,1 mL	0,2 mL

HASIL PENELITIAN

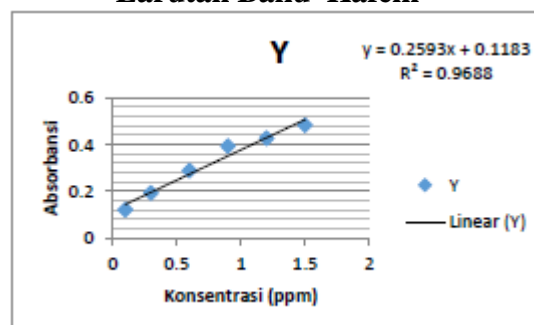
Uji fitokimia bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa yang terkandung dalam ekstrak biji kopi robusta. Uji kualitatif menunjukkan bahwa infusa biji kopi robusta peaberry dan arabika mengandung senyawa alkaloid yang ditunjukkan pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Infusa Biji Kopi Robusta Sangrai

Senyawa	Pereaksi	Hasil Pengamatan	Kesimpulan
Alkaloid	Mayer + HCl	Endapan berwarna merah bata	Positif
	Wagner + HCl	Endapan berwarna coklat kehitaman	Positif
	Dragendorff + HCl	Endapan berwarna merah bata	Positif

Kurva kalibrasi dibuat dari larutan standar kafein dalam berbagai konsentrasi yaitu 1, 3, 6, 9, 12, dan 15 ppm menggunakan pelarut akuades dihitung dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

Gambar 1. Kurva Hasil Standar Larutan Baku Kafein



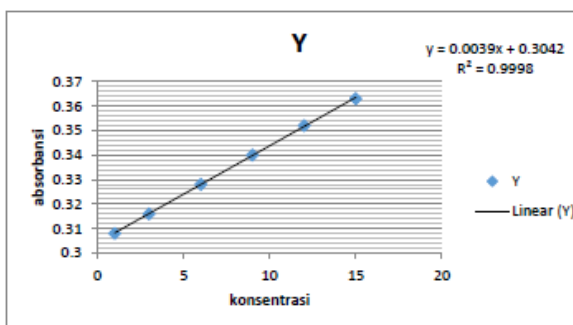
Hasil gambar menunjukkan bahwa masing-masing larutan kafein dengan berbagai konsentrasi memberikan absorbansi yang berbeda-beda, dimana semakin tinggi konsentrasi larutan kafein maka absorbansi juga semakin besar.

Tabel 3. Hasil Penentuan Kadar Alkaloid Total

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (y)	Konsentrasi ekstrak (ppm)	Kadar alkaloid awal (ppm)	Kadar alkaloid total (%)
1 ppm	0,308	1000 ppm	0,974	0,0974
3 ppm	0,316		3,025	0,3025
6 ppm	0,328		6,102	0,6102
9 ppm	0,340		9,179	0,9179
12 ppm	0,352		12,256	1,2256
15	0,363		15,076	1,5076
Rata-rata kadar alkaloid total				0,7768

Penentuan kadar alkaloid dilakukan dengan mencari nilai regresi dan perhitungan koefisien variasi regresi linier. Setelah itu dilakukan perhitungan % ekstrak biji kopi robusta kopi robusta dengan menggunakan rumus $y = bx + a$.

Gambar 1. Kurva Hasil Penentuan Alkaloid Total



PEMBAHASAN

Sampel yang di gunakan merupakan bagian tanaman kopi yaitu biji kopi robusta Robusta (*Coffea Canephora* Pierre Ex. A Froehner). Sebanyak 1.500 gram buah kopi disortasi buah untuk memisahkan dengan pengotor aspek kebersihan dan dikeringkan, dilanjutkan proses hulling (pengelupasan kulit) dan dilakukan sortasi biji kopi. Biji kopi disangrai dengan suhu 180°C dan digiling sehingga menghasilkan kopi bubuk.

Proses pengambilan filtrat dilakukan dengan metode penyeduhan. Prinsip penyeduhan dilakukan dengan cara menuangkan air panas ke dalam bubuk kopi sehingga terjadi proses ekstraksi komponen kimia dalam bubuk kopi (Gardjito, 2011). Pada proses penyeduhan tingkat kehalusan menjadi faktor yang perlu diperhatikan agar mendapatkan hasil seduhan yang optimal. Karena semakin kecil ukuran bubuk kopi maka kopi akan terekstrak lebih maksimal.

Uji fitokimia alkaloid dilakukan dengan menggunakan pereaksi mayer,

pereaksi wagner, dan pereaksi dragendorff. Hal ini terlihat dari adanya endapan berwarna coklat dan merah bata pada larutan, Hal ini sesuai dengan penelitian chairgulprasert (2016) yang menyatakan bahwa komponen kimia pada kopi robusta adalah alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, dan terpenoid. Pada uji alkaloid dengan pereaksi mayer, di perkirakan nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomerkurat (II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Untuk uji alkaloid dengan pereaksi wagner ditandai dengan endapan coklat. Diperkirakan endapan tersebut adalah kalium-alkaloid. Pada pembuatan pereaksi wagner, iodine bereaksi dengan ion I^- dari kalium iodide menghasilkan ion I_3^- yang berwarna coklat, Pada uji wagner ion logam K^+ akan membentuk kompleks kalium alkaloid yang mengendap. Alkaloid umumnya berada dalam bentuk garamnya dan laruta dalam air, melalui penarikan alkaloid dengan larutan asam, alkaloid dapat diidentifikasi langsung dengan satu atau lebih pereaksi pengendap. Hal ini akan menghasilkan negatif palsu pengujian alkaloid dengan pereaksi pengendap.

Kadar alkaloid pada seduhan biji kopi robusta sangrai dilakukan dengan menentukan panjang gelombang maksimum yang bertujuan untuk mengetahui besarnya panjang gelombang yang dibutuhkan larutan kafein untuk mencapai serapan maksimum. Pemilihan panjang gelombang serapan maksimum ini karena akan diperoleh sensitivitas maksimum. Deretan konsentrasi digunakan karena metode yang dipakai dalam menentukan kadar adalah metode yang menggunakan persamaan kurva baku. Untuk membuat kurva baku terlebih dahulu dibuat beberapa deret konsentrasi untuk mendapatkan

persamaan linier yang dapat digunakan untuk menghitung persen kadar.

Dari hasil pengukuran panjang gelombang menggunakan spektrofotometri UV-Vis dilakukan dengan rentang 200-300 nm. Maka diperoleh panjang gelombang maksimum yaitu 273 nm. Nilai absorbansi yang didapat dan dibuat dalam bentuk tabel dan kurva dengan menggunakan perhitungan manual yaitu dengan perhitungan regresi dan perhitungan koefisien variasi regresi linier. Didapatkan kurva baku dari konsentrasi larutan standar kafein yaitu $y = 0,2593x + 0,1183$. dengan hasil regresi menunjukkan bahwa r hitung dan r tabel adalah 0,9688, maka hubungan antara konsentrasi dan absorbansi memiliki korelasi yang bermakna.

Uji kadar alkaloid dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dilakukan untuk mengetahui seberapa besar kadar alkaloid total yang terkandung pada seduhan biji kopi robusta sangrai, metode spektrofotometri UV-Vis digunakan karena merupakan metode yang relatif umum digunakan, cepat dan murah. Sampel direaksikan dengan *bromocresol green* (BCG), metode ini dapat mendeteksi seberapa besar kandungan alkaloid total pada suatu bahan dengan menggunakan larutan standar. Metode tersebut berdasarkan pada reaksi alkaloid dengan *bromocresol green* (BCG), dan memberikan sebuah olahan berwarna kuning. Metode itu memaparkan sebuah keuntungan dari sensitifitas dan stabilitas. BCG hanya dapat bereaksi dengan kelas tertentu pada alkaloid (alkaloid yang memiliki nitrogen dalam struktur) alkaloid yang memiliki struktur amina atau amida tidak bereaksi dengan reagen ini.

Pengukuran kadar alkaloid total dibuat dalam 6 konsentrasi yaitu 1 ppm, 3 ppm, 6 ppm, 9 ppm, 12 ppm, dan 15

ppm. Selanjutnya masing-masing konsentrasi diambil sebanyak 2 mL lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambahkan dapar posfat pH 4,7 agar terbentuk garam alkaloid kemudian ditambahkan *bromocresol green* (BCG) agar pH larutan menjadi basa. Perlakuan tersebut dilakukan agar garam alkaloid membentuk basa bebas alkaloid, reaksi alkaloid dengan basa secara umum dapat dilihat pada reaksi tersebut. Kemudian diekstraksi dengan kloroform untuk menarik bahan-bahan yang mengandung basa alkaloid, dammar, dan minyak atsiri. Digunakan larutan blanko sebagai kontrol yang berfungsi sebagai pemblank (mengkalikan nol-kan) senyawa yang tidak perlu dianalisis. Data absorbansi yang diperoleh kemudian dihitung dan dimasukkan ke dalam kurva persamaan regresi linier larutan standar kafein dan diperoleh $y = 0,0039x + 0,3042$ dan nilai $r^2 = 0,9998$. Hasil perhitungan kadar alkaloid total di peroleh nilai rata-rata sebesar 0,776 %. Sedangkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Islamudin Ahmad *et al.*, (2018) pada ekstrak etil asetat herba suruhan di peroleh kadar alkaloid total sebesar 0,155 %. Sehingga dapat disimpulkan kadar alkaloid total pada seduhan biji kopi robusta dari semendo lebih besar di bandingkan dengan kadar alkaloid total ekstrak etil asetat herba suruhan

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Hasil uji fitokimia terhadap seduhan biji kopi robusta sangrai menunjukkan bahwa biji kopi robusta positif memiliki kandungan senyawa alkaloid.
2. Kadar alkaloid total yang terkandung dalam seduhan biji kopi robusta sangrai dari semendo adalah sebesar $\pm 0,776\%$ mg.

SARAN

Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut tentang kadar alkaloid total dan identifikasi senyawa lain yang dimiliki kopi baik pada biji daun, akar, kulit buah dari tanaman kopi robusta yang dapat berpotensi pengobatan.

DAFTAR PUSTAKA

Bonita, J. S., Mandarano, M., Shuta, D. and Vinson, J., 2007. Coffee and cardiovascular disease: in vitro, cellular, animal and human studies. *Pharmacological research*, 55 (3), pp. 187-198.

Farah, A., T. Paulis, L. Trugo, and P. R. Martin. 2005. *Effect Roasting On The Formation Chlorogenic Acid Lactone In Coffea*. *Journal Agricultural And Food Chemistry*. 53: 1505-1513.

Gardjito, Murdijati dan Rahardian D. A. 2011. *Kopi*. Kanisius. Yogyakarta.

Hanani, E, 2014, *Analisis Fitokima*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.

Heinrich, Michael., Barnes, J., Gibbson, S., Williamsom, M.E., 2010, *Farmakognosi dan Fitoterapi*, Jakarta, Buku Kedokteran EGC

Minamisawa, M., Yoshida, S., Takai, N., 2004. *Determination Of Biologically Active Substances In Roasted Coffe Using Diode-HPLC System*, *Anal. Sci.*, 20: 325-328.

Mulato, Sri. 2002. *Simposium kopi 2002 dengan tema mewujudkan perkopian nasional yang tengah melalui diversifikasi usaha berwawasan lingkungan dan pengembangan industri kopi bubuk skala kecil untuk meingkatkan nilai*

tambah usaha tani kopi rakyat. Denpasar 16-17 Oktober 2002. Pusat Penelitian Kopi Dan Kakao Indonesia.

Ridwansyah. 2003. *Pengolahan Kopi*. Departemen Teknologi Pertanian. Fakultas Pertanian. Universitas Sumatera Utara. Medan.

Robinson, Trevor. 1995. *Kandungan organik tumbuhan tinggi*. Diterjemahkan oleh padmawinata