



Isolasi Kafein Dengan Metode Sublimasi dari Fraksi Etil Asetat Serbuk Daun Teh Hitam (*Camelia sinensis*)

P. D. Wilantari¹, N. R. A. Putri¹, D. G. P. Putra¹, I. G. A. A. K. Nugraha¹, Syawalistianah¹, Prawitasari, D.N.D¹, P. O. Samirana¹

¹Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana, Bukit Jimbaran, Badung, 80361

E-mail: dessywilantari@gmail.com

ABSTRAK

Kafein memiliki efek farmakologis yaitu sebagai stimulan dari sistem saraf pusat dan metabolisme, digunakan secara baik untuk pengobatan dalam mengurangi kelelahan fisik dan juga dapat meningkatkan tingkat kewaspadaan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil identifikasi dan profil kromatografi senyawa kafein yang diisolasi dari fraksi etil asetat serbuk daun teh hitam (*Camelia sinensis*) dengan metode sublimasi. Pemilihan sampel tanaman teh hitam berdasarkan atas pertimbangan kandungan kafein teh yang lebih tinggi (2-5% dari berat kering) dibandingkan dengan kafein yang terkandung dalam biji kopi (3% dari berat kering). Pemisahan kafein dari daun *Camelia sinensis* dilakukan dengan ekstraksi menggunakan metode dekokta, fraksinasi dengan etil asetat, dan subfraksinasi dengan metode sublimasi. Proses ekstraksi menghasilkan rendemen ekstrak sebesar 22,3 %, dan dari keseluruhan proses didapatkan rendemen isolate kafein sebesar 0.53%. Identifikasi dan uji kemurnian dilakukan dengan KLT spektrofotodensitometri dengan fase diam plat aluminium silica gel GF254 dan fase gerak etil asetat : metanol (97:3) didapatkan nilai Rf 0,42 dan didapatkan hasil korelasi (start, maks) sebesar 0,9998 dan korelasi (maks, end) sebesar 0,999075.

Kata kunci: Teh (*Camelia sinensis*), kafein, fraksinasi, sublimasi, KLT spektrofotodensitometri

ABSTRACT

Caffeine has pharmacological effects as a stimulant from the central nervous system and metabolism, is used well for treatment to reduce physical fatigue and can also increase alertness. This study aims to determine the results of identification and chromatographic profile of caffeine compounds isolated from ethyl acetate fraction of black tea leaf powder (*Camellia sinensis*) by sublimation method. The selection of black tea plants is based on consideration of higher caffeine of tea (2-5% of dry weight) than in coffee beans (3% of dry weight). The separation of caffeine from *Camelia sinensis* leaves was carried out by extraction using the decocta method, fractionation with ethyl acetate, and subfractionation using the sublimation method. The extraction process produced extract yields of 22.3%, and from the whole process the yield of caffeine isolates was 0.53%. Identification and purity tests were carried out by TLC-spectrophotodensitometry with the stationary phase of aluminum silica gel GF254 plate and the mobile phase of ethyl acetate: methanol (97: 3) obtained Rf value of 0.42 and the correlation results (start, max) of 0.9998 and correlation (max, end) of 0.999075.

Keywords: Tea (*Camellia sinensis*), caffeine, fractionation, sublimation, TLC- spectrophotodensitometry



1. PENDAHULUAN

Teh (*Camellia sinensis*) yang masuk dalam famili Theaceae diyakini mempunyai manfaat kesehatan, yakni memiliki khasiat sebagai anti-inflamasi, anti oksidasi, anti alergi, dan anti obesitas. Beberapa penelitian melaporkan bahwa senyawa aktif yang terdapat pada teh juga dapat mencegah berbagai penyakit, seperti mengurangi kadar kolesterol dan mencegah penyakit jantung berpotensi sebagai antioksidan, dan dapat menjadi salah satu alternatif dalam menangani penyakit infeksi bakteri (Martono dan Setiyono, 2014).

Teh mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder terutama bagian daun. Kandungan kimia daun teh sangat bervariasi tergantung pada musim, kondisi tanah, perlakuan kultur teknis, umur daun, dan banyaknya sinar matahari yang diterima (Pusat Penelitian Teh dan Kina [PPTK], 2008). Berdasarkan proses pengolahannya terdapat beberapa jenis teh salah satunya teh hitam. Teh hitam adalah jenis teh yang dibuat melalui proses pelayuan, penggilingan, oksimatis dan pengeringan. Teh hitam memiliki kandungan kafein yang lebih tinggi dibandingkan teh hijau (Rohdiana, 2015).

Keberadaan alkaloid biasanya sebagai garam organik dalam tumbuhan dalam bentuk senyawa padat berbentuk kristal dan kebanyakan berwarna. Pada daun atau buah segar biasanya keberadaan memberikan rasa pahit (Simbala, 2009). Kafein merupakan alkaloid putih dengan rumus senyawa kimia $C_8H_{10}N_4O_2$, dan rumus bangun 1,3,7-trimethylxanthine (Isnindar *et al.*, 2016).

Kafein memiliki efek farmakologi sebagai stimulan dari sistem saraf pusat dan metabolisme, digunakan secara baik untuk pengobatan dalam mengurangi kelelahan fisik dan juga dapat meningkatkan tingkat kewaspadaan sehingga rasa ngantuk dapat ditekan. Kafein juga merangsang sistem saraf pusat dengan cara menaikkan tingkat kewaspadaan, sehingga pikiran lebih jelas dan terfokus dan koordinasi badan menjadi lebih baik. Konsumsi kafein secara rutin dapat menyebabkan terjadinya toleransi. Tanda-tanda dan gejala-gejala

dari konsumsi kafein secara berlebihan antara lain kecemasan, insomnia, wajah memerah, diuresis, gangguan saluran cerna, kejang otot, takikardia, aritmia, peningkatan energi dan agitasi psikomotor. Kafein dapat berinteraksi dengan siprofloksasin dimana mengakibatkan terjadinya penurunan metabolisme hepatik kafein sehingga efek farmakologi kafein dapat meningkat (Sukandar dkk, 2008).

Dalam metode yang digunakan pemilihan pelarut juga menjadi hal yang perlu dipertimbangkan. Sehingga pada tahapan proses fraksinasi dengan ekstraksi cair-cair digunakan etil asetat sebagai fase organik. Dimana pada penelitian Senol dan Aydin (2006) menggunakan kloroform dan air ditemukan bahwa kloroform lebih efektif dalam mengisolasi kafein dibandingkan dengan air. Namun penggunaan kloroform harus dibatasi karena efek toksisitasnya. Komponen fenolik dapat diekstraksi dari bahan tumbuhan dengan menggunakan pelarut polar seperti air, metanol etanol aseton atau pelarut semi polar seperti etil asetat (Katja, 2008). Pelarut etil asetat bersifat semi polar yang memiliki titik didih yang relatif rendah yaitu $77^{\circ}C$ sehingga mudah menguap (bersifat volatil), berwujud cairan yang tidak beracun, tidak berwarna, dan memiliki aroma khas (Susanti, 2012).

2. BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah serbuk daun *C. sinensis* yang ada di pasaran dan tidak mengalami dekafeinasi (Merk-X®), metanol *p.a.*, etil asetat *p.a.*, etanol 96% *p.a.*, akuades, kertas saring, Plat KLT Al Silika Gel GF 254, asam sulfat P, NaOH, Pereaksi Mayer, Wagner, dan Dragendroff, kloroform *p.a.*, N-heksan *p.a.*, HCl, kalsium hidroksida, KI, I₂ dan aseton P.

Alat yang digunakan pada praktikum ini yaitu *Rotary Evaporator*, Gelas beker, Erlenmeyer,



Pipet tetes, Corong kaca, Penjepit kayu, Lap, Pinset, Corong pisah, *Hot plate* (Corning PC 420 D), *Waterbath* (MEMERT), Spektrofotodensitometri (CAMAG), Lampu UV 254 dan 366 nm (CAMAG), Cawan Porselin, Batang Pengaduk, *Chamber* (CAMAG), Botol vial, Aluminium Foil, Plastik Ikan, Blender (Miyako), Oven Binder, Timbangan analitik (ADAM AFP-360L).

Metode

Penyiapan Bahan

Bahan yang digunakan berupa serabut daun *C. sinensis* siap konsumsi dalam kemasan kotak yang dapat dibeli di Toko Serba Ada (Toserba) Sumber Jaya Puri Gading, Jimbaran, Kecamatan Kuta Selatan, Kabupaten Badung, Bali. Serabut daun *C. sinensis* merupakan serat kasar dari hasil penggilingan daun *C. sinensis*.

Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan metode digesti menggunakan 600 gram serbuk daun *C. sinensis* dalam 1000 mL air bersuhu 90°C selama 30 menit. Campuran ekstrak kemudian disaring untuk memisahkan residu padatan serbuk *C. sinensis*. Digabungkan diuapkan hingga volume air kurang dari 200 mL.

Skrining Fitokimia

Uji alkaloid dilakukan dengan metode Mayer dan Wagner. Sampel sebanyak 3 mL diletakkan dalam cawan porselen kemudian ditambahkan 5 mL HCl 2 M dan 5 mL aquades, lalu dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit. Dinginkan sampel pada temperatur kamar dan disaring. Filtrat yang diperoleh dibagi 4 bagian A, B, C, dan D. Filtrat A sebagai blanko, filtrat B ditambah pereaksi Mayer, reaksi positif jika terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning. Sedangkan filtrat C ditambah pereaksi Wagner, reaksi positif ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna coklat, dan filtrat D ditambah 3 tetes pereaksi Dragendroff, reaksi positif ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna jingga (Agustina dkk., 2016; Simaremare, 2014).

Ekstraksi Cair-Cair

Ekstrak air *C. sinensis* ditambahkan natrium klorida 78 gram. Selanjutnya ditambahkan $\text{Ca}(\text{OH})_2$ sebanyak 1 gram. Selanjutnya disaring campuran ekstrak menggunakan kertas saring dengan bantuan vakum. Dimasukkan filtrat dalam corong pisah. Dilakukan ekstraksi cair-cair dengan pelarut etil asetat 45 mL dengan pengulangan sebanyak 5 kali. Disatukan fraksi etil asetat dalam tabung lalu diuapkan dengan *rotary evaporator*.

KLT Hasil Fraksinasi

Ekstrak air serbuk daun *C. sinensis*, fraksi etil asetat, dan fraksi air masing-masing sebanyak 1 mL setelah diuapkan kemudian masing-masing ditambahkan 1 mL metanol untuk identifikasi dengan KLT. Plat Al Silika Gel GF254 dipotong dengan ukuran 5x10 cm. Fase gerak yang digunakan adalah etil asetat: metanol: air (100:13,5:10) (Mohammed and Al-Bayati, 2009). Setiap fraksi ditotolkan pada plat sebanyak 10 μL dan dielusi sampai jarak 1 cm dari batas atas plat. Diamati di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Kemudian untuk mengidentifikasi ada tidaknya alkaloid kafein, dapat dilakukan dengan cara menyemprot plat KLT setelah dielusi dengan campuran HCl 25%: Etanol 96% (1:1), kemudian dilanjutkan dengan menyemprot plat dengan reagen iod yang terbuat dari 1 g KI dan 1 g Iod dilarutkan dalam 100 mL etanol. Bercak yang positif kafein ditandai dengan adanya bercak berwarna coklat gelap yang diamati pada cahaya visibel (Mohammed and Al-Bayati, 2009).

Kristalisasi Sublimasi

Ditambahkan 10 mL aseton pada padatan kering hasil fraksinasi, dan saring larutan dengan kertas saring. Diuapkan larutan aseton dengan hati-hati pada 56°C. Sublimasi residu penguapan. Alat kristalisasi sublimasi terdiri atas *hot plate*, cawan porselen yang berisikan ekstrak padat yang ditutup dengan kertas saring dan corong kaca yang diletakkan terbalik. Ujung dari corong kaca ditutup dengan tisu basah agar uap tidak keluar. Bagian dinding dari corong kaca ditutup dengan tisu dingin dan dijaga agar suhu corong kaca



tetap dingin (sebagai kondensor). Rangkaian alat kristalisasi sublimasi dipasang dengan baik, diatur suhu *hot plate* sebesar 250°C. Ditunggu hingga terbentuk kristal kafein yang berbentuk jarum berwarna putih pada kertas saring. Dijaga selama proses kristalisasi sublimasi uap pada corong kaca tidak bocor dan corong kaca tetap dalam suhu dingin. Kristal kafein yang diperoleh selanjutnya ditimbang dan disimpan dalam botol vial.

KLT Dua Dimensi

Sebanyak 1 mg isolat kristal kafein dilarutkan dalam 1 mL metanol untuk identifikasi dengan KLT. Plat Al Silika Gel GF254 dipotong dengan ukuran 10x10 cm. Fase gerak pertama yang digunakan yaitu campuran kloroform : aseton : metanol (20 : 3 : 2) sebanyak 10 ml. Fase gerak kedua berupa campuran kloroform : metanol (9:1) sebanyak 10 ml. Sampel ditotolkan pada plat sebanyak 10 µL dengan jarak 1 cm dari bawah dan samping. Plat diletakkan pada *chamber* yang telah jenuh lalu dielusi dengan fase gerak pertama sampai jarak 1 cm dari batas atas plat. Kemudian dielusi kembali dengan memutar 90° plat KLT dan dielusi menggunakan fase gerak kedua. Diamati di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm. Hasil positif alkaloid jika terdapat spot berwarna biru intensif pada pengamatan panjang gelombang 366 nm bila terdapat spot lain pada pengamatan uv 366 nm menandakan adanya pengotor pada kristal kafein (Murtadlo, dkk, 2013).

KLT Spektrofotodensitometri

Isolat kristal kafein sebanyak 1 mg dilarutkan dalam 1 mL campuran kloroform : metanol (1:1). Plat Al Silika Gel GF254 dipotong dengan ukuran 2x10 cm. Plat dielusi dengan fase gerak pada *chamber* yang telah jenuh. Diamati spektrum dalam densitometer dengan panjang gelombang 274 nm.

3. HASIL

Ekstraksi

Serbuk daun *C. sinensis* yang digunakan sebanyak 600 gram dengan bobot rendemen ekstrak 134 gram (22,3%) dengan warna ekstrak merah gelap kecoklatan.

Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia menggunakan reagen Dragendoff yaitu terbentuknya endapan berwarna jingga, pada reagen Wagner terbentuknya endapan coklat muda dan pada reagen Mayer tidak ada endapan yang terbentuk.

Ekstraksi Cair-cair

Ekstraksi kafein menggunakan metode ekstraksi cair-cair menghasilkan 2 fase yaitu fase etil asetat dan fase air. Lapisan etil asetat berada pada bagian atas sedangkan lapisan air berada pada bagian bawah.

KLT Hasil Fraksinasi

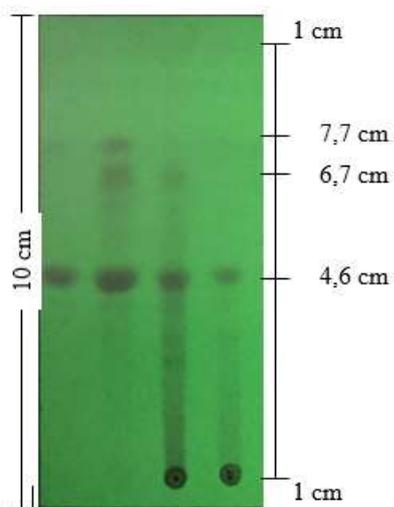
Pengamatan spot yang dihasilkan menggunakan metode KLT pada 4 sampel penotolan menghasilkan data Rf pada pengamatan UV 254 nm yaitu pada penotolan 1 menghasilkan 1 spot dengan Rf 0,57, pada penotolan 2 menghasilkan 3 spot dengan Rf 0,57, 0,83, dan 0,96, pada penotolan 3 menghasilkan 2 spot dengan Rf 0,57 dan 0,83, dan pada penotolan 4 menghasilkan 1 spot dengan Rf 0,57. Sedangkan pengamatan UV 366 nm pada penotolan 1 tidak menghasilkan spot, penotolan 2, 3 dan 4 menghasilkan 1 spot dengan Rf 0,83.

Kristalisasi Sublimasi

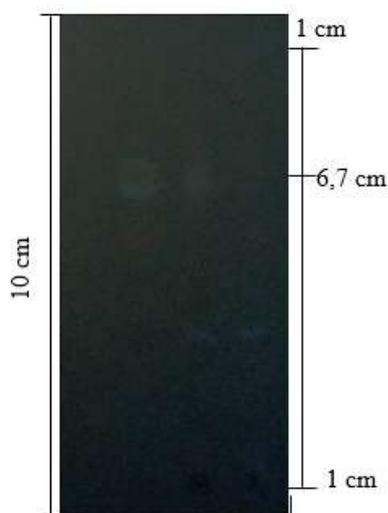
Kristalisasi kafein menggunakan metode sublimasi mendapatkan kristal sebanyak 3,18 gram atau 0,53% dengan warna putih, bentuk kristal jarum, dan bau khas aromatik.

KLT Dua Dimensi

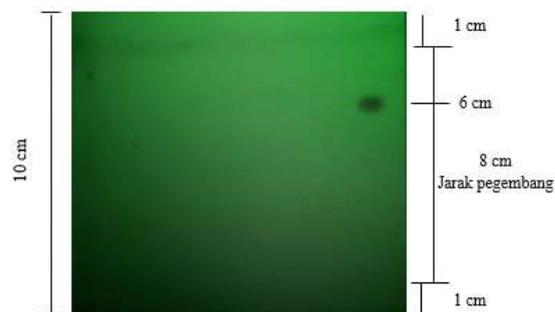
Pengamatan pada elusi pertama KLT dua dimensi menghasilkan 1 spot dengan Rf 0,75 dan pada elusi kedua menghasilkan 1 spot dengan Rf 0,3125.



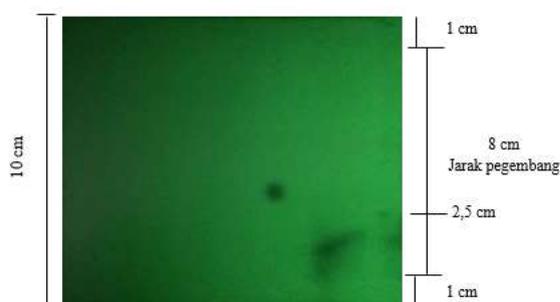
Gambar 1. Hasil Pengamatan Plat KLT dibawah UV 254 nm.



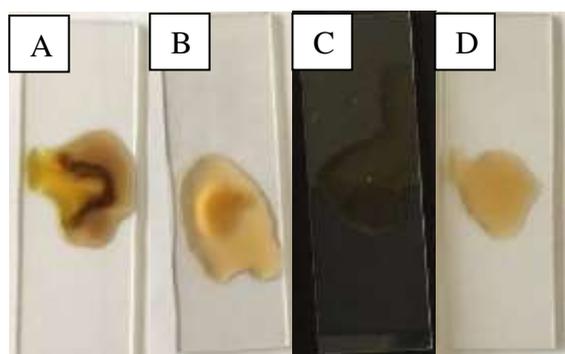
Gambar 2. Hasil Pengamatan Plat KLT dibawah UV 366 nm.



Gambar 3. Hasil Pengamatan Plat KLT elusi pertama dibawah UV 254 nm.



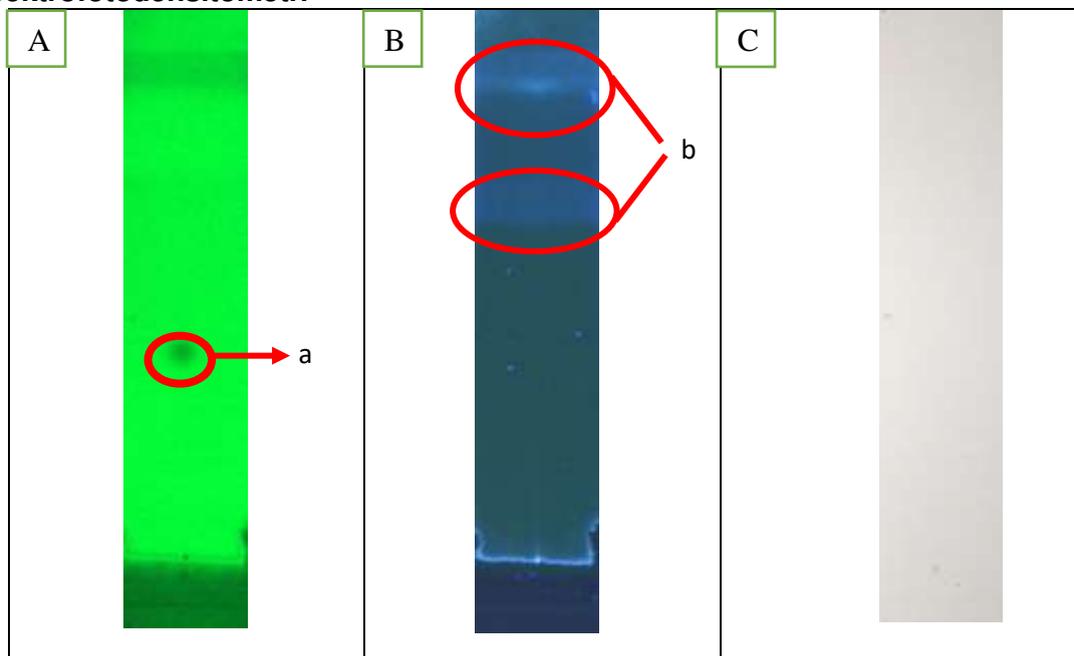
Gambar 4. Hasil Pengamatan Plat KLT elusi kedua dibawah UV 254 nm.



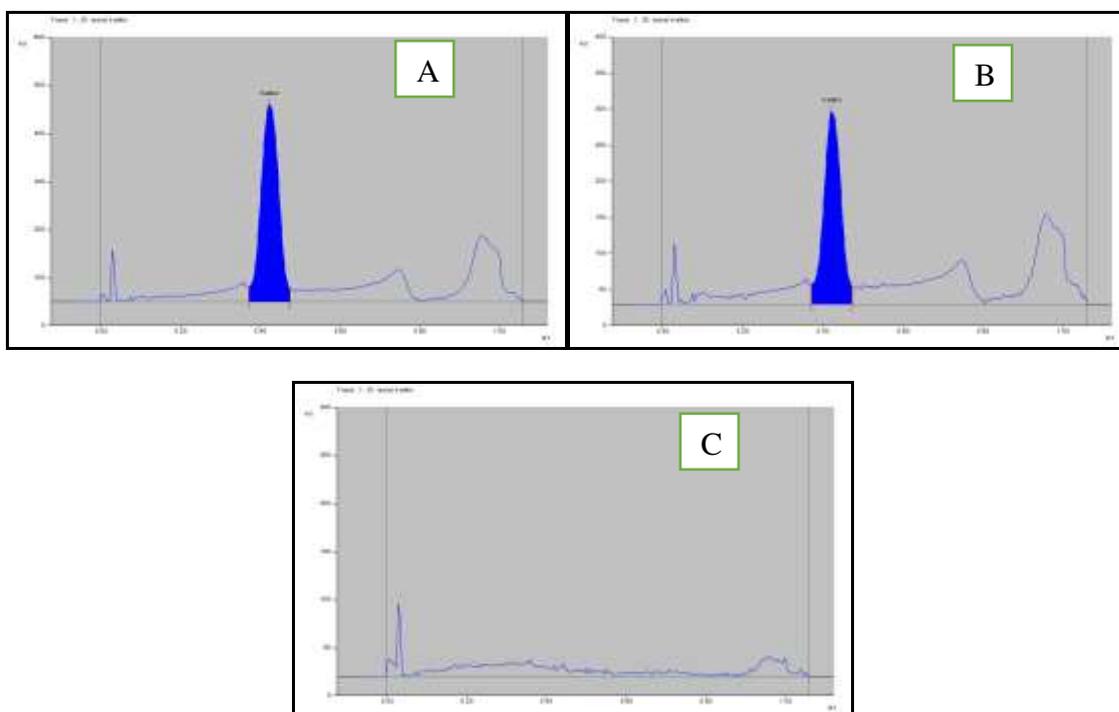
Gambar 5. Hasil Skrinning Fitokimia; A (pereaksi Wagner), B (pereaksi Dragendoff), C (pereaksi Mayer), dan D (blanko)



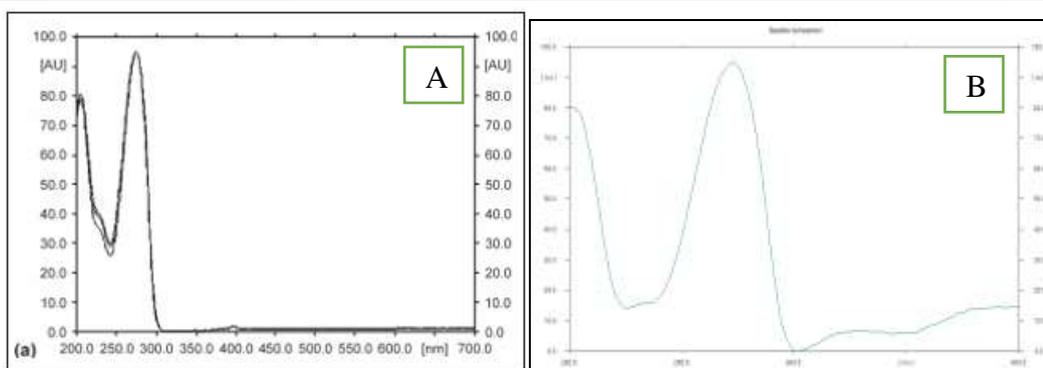
KLT Spektrofotodensitometri



Gambar 6. Hasil Pengamatan pada Plat KLT UV 254 nm (A), UV 366 nm (B), dan Sinar Tampak (C); pada plat KLT menunjukkan adanya spot kafein (a) dan fluoresensi dari pelarut (b)



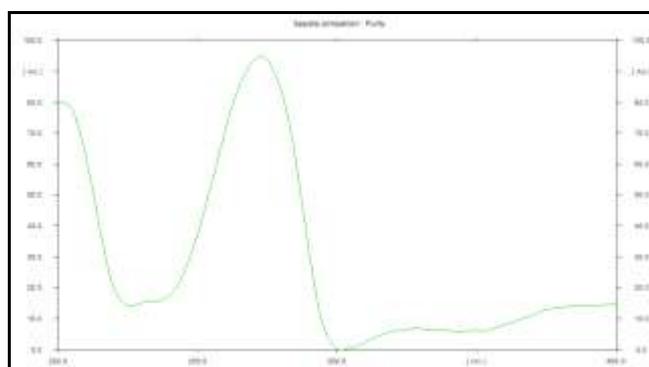
Gambar 7. Profil Kromatogram UV 274 nm (A), UV 254 nm (B), dan 366 nm (C)



Gambar 8. Spektra kafein pada pustaka (Mirsa *et al.*, 2009)(a); spektrum kafein pada praktikum (b).

Tabel 1. Tabel Korelasi Spot Kafein

Track	Rf	Substansi	R(start,max)	R(max,stop)
1	0,42	Kafein	0,999800	0,999075



Gambar 9. Spektrum dari spot kafein pada start poin dengan peak maksimum dan peak maksimum dengan end poin peak spot kafein

4. PEMBAHASAN

Tahap ekstraksi menggunakan air sebagai pelarut didasarkan atas persentase rendemen yang dihasilkan lebih tinggi dibandingkan pelarut lain. Metode dekokta dipilih karena beberapa keuntungan yaitu pelarut yang digunakan murah, proses cepat, dan sederhana (BPOM RI, 2010).

Sampel yang digunakan berupa serbuk yang bertujuan untuk memperluas bidang kontak antara sampel dan pelarut ekstraksi. Pengecilan ukuran partikel simplisia berpengaruh terhadap

jumlah senyawa yang akan terekstrak. Semakin kecil ukuran partikel simplisia yang diekstrak, luas permukaan kontak dengan pelarut semakin besar sehingga senyawa yang kepolarannya sama dengan pelarut lebih optimal terekstrak atau tertarik (Maulida dan Guntarti, 2015). Dengan metode ini, perolehan rendemen ekstrak kental yang didapat adalah 22,3%.

Tujuan dari penambahan larutan asam pada larutan uji ketika melakukan skrining fitokimia adalah untuk membuat suasana bersifat asam dan



mengubah seluruh bentuk alkaloid menjadi bentuk garam sehingga apabila diberikan pereaksi warna dapat bereaksi dengan garam alkaloid pada larutan uji (Dewi dkk., 2013). Hasil positif ditunjukkan pada penambahan pereaksi Dragendorff dan Wagner. Hasil positif uji alkaloid pada pereaksi Wagner ditandai dengan terbentuknya endapan coklat merah. Sama seperti pada reaksi alkaloid dengan pereaksi Mayer, pada pereaksi wagner ini juga terjadi endapan kalium-alkaloid akibat dari adanya ion logam K^+ yang membentuk ikatan kovalen koordinat dengan nitrogen pada alkaloid. Namun, hasil yang diperoleh pada skrining fitokimia dengan pereaksi Mayer adalah larutan berwarna kuning muda tanpa endapan putih yang menunjukkan bahwa ekstrak negatif mengandung alkaloid. Hasil positif alkaloid dengan uji Dragendorff ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning. Endapan tersebut adalah kalium alkaloid. Pada pembuatan pereaksi Dragendorff, bismut nitrat dilarutkan dalam HCl agar tidak terjadi reaksi hidrolisis karena garam-garam bismut mudah terhidrolisis membentuk ion bismut (BiO^+).

Ekstrak air yang diperoleh dari hasil ekstraksi sebelumnya diambil kemudian ditambahkan NaCl. Penambahan NaCl berfungsi untuk menaikkan polaritas air yang berarti menurunkan kelarutannya dalam pelarut organik. Selain itu, dalam ekstrak air yang diperoleh tidak hanya mengandung kafein tetapi terdapat pula senyawa lain yang ikut terekstraksi terutama senyawa tanin. Karena tanin merupakan senyawa fenolik yang bersifat asam maka senyawa tanin ini diubah dahulu menjadi garam dengan menggunakan $Ca(OH)_2$ yang bersifat basa sekaligus mengubah bentuk alkaloid kafein seluruhnya menjadi alkaloid basa. Dengan mengubah tanin menjadi garamnya maka tanin akan berubah menjadi anion fenolik yang larut dalam air namun tidak larut dalam etil asetat.

Penggunaan pelarut etil asetat bertujuan untuk memisahkan komponen kafein dari filtrat. Kafein merupakan senyawa polar yang larut dalam

air (polar) dan pelarut organik (semi polar). Kafein memiliki kepolaran yang mendekati pelarut organik, sehingga akan lebih larut dalam pelarut organik dibandingkan dengan air. Faktor lain yang mempengaruhi kepolaran pelarut adalah semakin besar nilai konstanta dielektrik suatu pelarut maka semakin polar pelarut tersebut. Pelarut etil asetat memiliki nilai konstanta dielektrik yang lebih tinggi dibandingkan pelarut kloroform yaitu 6.0 sehingga etil asetat memiliki sifat lebih polar dibandingkan pelarut kloroform dan dapat melarutkan kafein lebih banyak. Selain itu etil asetat juga memiliki sifat yang tidak toksik. Karena BJ air sebesar 1 g/ml, sedangkan BJ etil asetat adalah 0,8 g/ml sehingga lapisan terbawah adalah fase air (Soraya N., 2008).

Hasil yang diperoleh pada tahap identifikasi dengan KLT fraksinasi ini adalah adanya spot berwarna coklat muda pada sampel kristal kafein, fase etil asetat dan fase air yang berwarna coklat. Rf yang diperoleh masing-masing sebesar 0,57; 0,57; 0,58. Berdasarkan nilai Rf yang didapat, diketahui sampel mengandung kafein karena hasil Rf sesuai atau mendekati Rf dari standar kristal kafein yang juga ditotolkan.

Proses subfraksinasi dilakukan untuk memisahkan senyawa kafein dari pengotor sehingga diperoleh isolat kafein yang lebih murni. Metode subfraksinasi dilakukan dengan proses kristalisasi sublimasi untuk memperoleh kristal kafein secara langsung dan selektif untuk memisahkan kafein dari pengotornya dalam ekstrak padat atau *crude extract*. Pada prosesnya digunakan cawan porselen yang berisikan ekstrak padat yang ditutup dengan kertas saring yang mana kertas saring ini berfungsi untuk menyaring uap yang terbentuk sehingga pengotor-pengotor tidak ikut naik menuju kondensor dan kristal yang dihasilkan merupakan kristal kafein yang berwarna putih bersih. Corong kaca yang digunakan diletakkan dalam posisi terbalik dan pada bagian ujung ditutup dengan *tissue* basah untuk mencegah uap keluar dari alat sublimasi. Dinding corong kaca juga diselimuti dengan *tissue* yang basah untuk menjaga kondisi di dalam corong seperti



kondensor, sehingga dengan adanya proses pendinginan ini maka uap akan berubah wujud menjadi padatan dalam bentuk kristal (Sunardi, 2004).

Penggunaan *hotplate* ialah sebagai pemanas yang mana diatur suhunya sebesar 250°C. Pemanasan ini bertujuan untuk mengubah bentuk padat dari ekstrak menjadi bentuk uap dan akan berubah bentuk menjadi padat apabila didinginkan. Pemanasan dilakukan pada suhu 250°C untuk dapat menguapkan kafein karena kafein memiliki titik didih sebesar 178°C dan pada suhu tersebut diharapkan yang dapat menguap hanya senyawa kafein sehingga akan diperoleh kristal kafein. Bobot kristal kafein yang diperoleh yaitu sebanyak 3,18 gr dari 600 gr serbuk teh dan rendemen kristal kafein yang diperoleh sebesar 0,53%.

Identifikasi hasil subfraksinasi dilakukan dengan metode KLT dua dimensi untuk memastikan bahwa kristal yang diperoleh merupakan kristal kafein murni, yang mana pada proses ini diharapkan hanya diperoleh satu spot setelah dilakukan elusi dari dua arah dengan campuran fase gerak yang berbeda.

Proses elusi plat KLT dilakukan sebanyak dua kali dengan arah yang berbeda (dua dimensi) dan menggunakan pelarut yang berbeda diperoleh nilai Rf 0,3125 dan hanya terbentuk satu spot. Hal ini menunjukkan bahwa isolat yang diperoleh merupakan isolat tunggal karena tidak terdapat spot lain, namun dapat pula dilakukan identifikasi lebih lanjut untuk memastikan bahwa senyawa tunggal tersebut adalah kafein serta memastikan kemurnian isolat yang diperoleh.

Profil kromatogram UV 254 nm dan panjang gelombang maksimum 274 nm pada KLT spektrofotodensitometri didapatkan hasil berupa 4 puncak. Pada profil kromatogram tersebut terdiri dari 1 puncak tinggi yang merupakan spot kafein, puncak pertama merupakan kromatogram dari pelarut dan puncak lainnya merupakan kromatogram dari pengotor maupun pelarut akibat elusi yang tidak sempurna. Sedangkan pada pengamatan profil kromatogram UV 366 nm

tidak terdapat puncak dari kromatogram spot analit, hanya terdapat 2 puncak yang merupakan kromatogram dari pelarut atau pengotor. Deteksi kemudian dilanjutkan dengan melakukan *scanning plat* pada spektrofotodensitometer pada panjang gelombang maksimum kafein sebesar 274 nm dan pada rentang panjang gelombang 200-400 nm sehingga didapatkan data berupa spektrum dari kafein dan dibandingkan dengan pustaka. Berdasarkan hasil spektra pada praktikum menunjukkan hasil yang sesuai dengan kafein pada pustaka jika dibandingkan sesuai pada gambar. Kemudian dilakukan *scanning* pada panjang gelombang maksimum tersebut sehingga diperoleh nilai Rf kafein sebesar 0,42. Hasil yang diperoleh tersebut, apabila dibandingkan dengan penelitian Mirsa et al. (2009) maka Rf yang diperoleh dari kafein isolasi selama praktikum menunjukkan hasil mendekati dengan pustaka sebesar 0,39. Hal ini menandakan bahwa senyawa yang diperoleh merupakan senyawa alkaloid kafein. Selain itu, dilakukan juga uji kemurnian kafein dengan melihat korelasi pada puncak spot kafein. Korelasi puncak dari spot kafein dibandingkan pada *start point peak* kafein dengan puncak maksimum dari spot kafein dan peak maksimum dari spot kafein dengan *end poin peak* spot kafein. Sehingga didapatkan hasil korelasi (*start, maks*) sebesar 0,9998 dan korelasi (*maks, end*) sebesar 0,999075. Hal ini menunjukkan bahwa spot kafein yang didapatkan bebas pengotor karena korelasi yang didapatkan mendekati 1.

5. KESIMPULAN

Pada penelitian ini ini berhasil diperoleh senyawa alkaloid kafein dengan rendemen ekstrak sebesar 22,3 %, dan rendemen isolat kafein sebesar 0.53%. Nilai Rf 0,42 dan didapatkan hasil korelasi (*start, maks*) sebesar 0,9998 dan korelasi (*maks, end*) sebesar 0,999075.

6. UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada Tuhan Yang Maha Esa karena atas berkat rahmat beliau penulis dapat menyelesaikan penelitian ini, serta terimakasih



kepada semua pihak yang telah membantu sehingga penelitian ini dapat diselesaikan.

7. DAFTAR PUSTAKA

- Agustina S., Ruslan, A. Wiraningtyas. 2016. Skrining Fitokimia Tanaman Obat Di Kabupaten Bima. *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*. Vol. 4(1): 71-76.
- BPOM RI. 2010. *Acuan Sediaan Herbal*. Volume Kelima, Edisi Pertama. Jakarta: BPOM RI.
- Isnindar, S. Wahyuono, S. Wadyarini dan Yuswanto. 2016. Analisis Kandungan Kafein Pada Ekstrak Buah Kopi Mentah Dari Perkebunan Merapi Daerah Istimewa Yogyakarta Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. *Pharmakon Jurnal Ilmiah Farmasi – Unsrat*. Vol. 5 No. 2, 187-190.
- Matono B. dan R. T. Setiyono. 2014. Skrining Fitokimia Enam Genotipe Teh. *J.TIDP*. Vol. 1(2), 63-68.
- Misra, H., D. Mehta, B.K. Mehta, M. Soni and D.C. Jain. 2009. Study of Extraction and HPTLC-UV Method for Estimation of Kafeine in Marketed Tea (*Camellia sinensis*) Granules. *International Journal of Green Pharmacy* Vol.3 Issue.1. Pp.47-51.
- Mohammed, M. dan F. A. Al-Bayati. 2009. Isolation, Identification and Purification of Caffeine from *Coffea arabica* L. and *Camellia sinensis* L.: A Combination Antibacterial Study. *International Journal of Green Pharmacy*, 52-57.
- Murtaldo, Y., D. Kusriani, E. Fachriyah. 2013. Isolasi, Identifikasi Senyawa Alkaloid Total Daun Tempuyung (*Sonchus Arvensis* Linn) dan Uji Sitotoksik Dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). *Chem info*. Vol 1(1): 379 – 385.
- Pusat Penelitian Teh dan Kina. (2008). *Petunjuk teknis pengelolaan teh* (p. 109). Gambung: Pusat Penelitian Teh dan Kina.
- Rohdiana, D. 2015. Teh: Proses, Karakteristik dan Komponen Fungsionalnya. *Food Review Indonesia*. Vol. 10 (1): 34-37
- Simaremare, E. S. 2014. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd). *Pharmacy*. Vol. 11(01): 98-107.
- Simbala, H.E.I., 2009, Analisis Senyawa Alkaloid Beberapa Jenis Tumbuhan Obat Sebagai Bahan Aktif Fitofarmaka, *Pasific Journal*, Vol. 1(4) : 489-494.
- Sukandar, E. Y., Andrajati, R., Sigit, J. I., Adnyana, I. K., Setiadi, A. P. & Kusnandar. 2008. *ISO Farmakoterapi*. Ikatan Sarjana Farmasi Indonesia, Jakarta.
- Sunardi. 2004. *Diktat Kuliah cara-cara pemisahan*. Depok: Departemen Kimia FMIPA Universitas Indonesia.
- Susanti A.d, Ardiana D, Gumelar G.P, Bening Y.G. (2012). *Polaritas Pelarut Sebagai Pertimbangan Dalam Pemilihan Pelarut Untuk Ekstraksi Minyak Bekatul Dari Bekatul Varietas Ketan (Oriza sativa glatinosa)*. Simposium Nasional RAPI IX FT, 8-14.