

**EVALUASI KADAR KAFEIN MENGGUNAKAN *HEALTH SUPPLEMENT*
GLASS DRINK YANG ADA DI PASARAN SECARA
KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS
DENSITOMETER**

SKRIPSI



**Oleh:
Firda Sagitania Sari
NIM. 20040015**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
JEMBER
2024**

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Evaluasi Kadar Kafein Menggunakan *Health Supplement Glass Drink* Yang Ada Di Pasaran Secara Kromatografi Lapis Tipis Densitometer” telah diuji dan di sahkan oleh Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada :

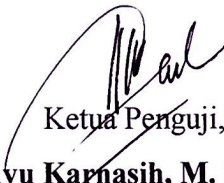
Nama : Firda sagitania sari

NIM : 20040015

Hari, Tanggal : Jum’at, 5 Juli 2024

Program studi : Sarjana Farmasi Universitas dr.Soebandi

Tim Penguji



Ketua Penguji,


I Gusti Ayu Karnasih, M. Kep.,Sp Mat
NIDN.4005116802

Penguji II,



Dr. apt. Ayik Rosita Puspaningtyas.,M.Farm
NIDN.0001028102


Penguji III,



Mohammad Rofik Usman,M.Si
NIDN.0705019003

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan,
Universitas dr. Soebandi



Ai Nur Zannah, S.ST., M.Keb
NIDN.0719128902

EVALUASI KADAR KAFEIN MENGGUNAKAN *HEALTH SUPPLEMENT GLASS DRINK* YANG ADA DIPASARAN SECARA KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS DENSITOMETER

Evaluation of caffeine content using health supplement glass drink on the market by thin Layer chromatography densitometer

Firda Sagitania Sari^{1*}, Ayik Rosita Puspaningtyas², Mohammad Rofik Usman³

¹ Sarjana Farmasi, Ilmu Kesehatan, Universita Dr. Soebandi, sagitaniasari@gmail.com

² Sarjana Farmasi, Ilmu Kesehatan, Universitas Jember, ayik.rosita@unej.ac.id

³ Sarjana Farmasi, Ilmu Kesehatan, Universita Dr. Soebandi, mrofik@uds.ac.id

*Korespondensi Penulis email: sagitaniasari@gmail.com

Received:

Accepted:

Published:

Abstrak

Latar Belakang: Minuman suplemen kesehatan yang mengandung kafein semakin populer dan dikonsumsi secara luas oleh masyarakat. Namun, konsumsi yang tinggi dapat menyebabkan efek samping seperti gangguan tidur dan ketidakseimbangan jantung. **Tujuan:** untuk mengembangkan metode analisis penentuan kadar kafein dalam minuman suplemen kesehatan menggunakan KLT Densitometri dengan fokus pada optimasi fase gerak. **Metode:** KLT Densitometri dengan variasi fase gerak perbandingan 1:9, 2:8, 4:6 dan 9:1 hasil uji standar kafein dengan uji sampel kafein untuk memastikan keamanan pangan dan kualitas produk yang dikonsumsi masyarakat. **Hasil:** Dalam Penelitian ini dilihat dari konsentrasi korelasi pada standar kafein. Hasil analisis sampel pada fase gerak terpilih dengan KLT-Densitometri menunjukkan hasil yang sesuai dengan standar BPOM dan SNI yaitu <50 mg kafein dalam 170-180mL/kemasan gelas untuk sampel TO, PR dan PF. **Kesimpulan:** Produk minuman merk TO, PR dan PF memenuhi persyaratan BPOM yaitu tidak melebihi 50mg/170-180mL/kemasan gelas dan variasi fase gerak metanol : kloroform dari perbandingan 9:1 memiliki hasil yang baik terhadap kadar kafein pada sampel minuman suplemen kesehatan merk PR, PF, dan TO dengan parameter densitogram bahwa syarat As memiliki hasil 0,87 serta hasil regresi terbaik 0,99 sehingga memiliki nilai Rf tidak lebih dari 0,2-0,8% yaitu 0,679 memiliki nilai Resolusi $\geq 1,5$ yaitu 1,81 sedangkan hasil uji fase gerak 1:9, 2:8, 4:6 memiliki hasil yang kurang baik terhadap kadar kafein pada sampel minuman merk TO, PR dan PF dengan metode KLT Densitometri.

Kata Kunci: Minuman Suplemen Kesehatan, Kafein, KLT Densitometri, Optimasi Fase Gerak, Keamanan Pangan.

Background: Health supplement drinks containing caffeine are increasingly popular and widely consumed by the public. However, high consumption can cause side effects such as sleep disorders and heart imbalance. **Objective:** to develop an analytical method for determining caffeine levels in health supplement drinks using TLC Densitometry with a focus on optimizing the mobile phase. **Method:** Densitometry TLC with various mobile phase ratios of 1:9, 2:8, 4:6 and 9:1 standard caffeine test results with caffeine sample tests to ensure food safety and quality of products consumed by the public. **Results:** In this study, we looked at the correlation concentration with the caffeine standard. The results of sample analysis in the selected mobile phase using TLC-Densitometry showed results that were in accordance with BPOM and SNI standards, namely <50 mg caffeine in 170-180 mL/glass packaging for TO, PR and PF samples. **Conclusion:** TO, PR and PF brand beverage products meet BPOM requirements, namely not exceeding 50mg/170-180mL/glass packaging and variations in the mobile phase of methanol: chloroform from a ratio of 9:1 have good results on caffeine levels in PR brand

health supplement drink samples , PF, and TO with densitogram parameters that condition As has a result of 0.87 and the best regression result is 0.99 so that it has an Rf value of no more than 0.2-0.8%, namely 0.679, has a Resolution value > 1.5, namely 1, 81, while the mobile phase test results of 1:9, 2:8, 4:6 had unfavorable results for caffeine levels in TO, PR and PF brand drink samples using the Densitometry TLC method.

Keywords: Health Supplement Glass Drinks, Caffeine, TLC Densitometry, Mobile Phase Optimization, Food Safety.

PENDAHULUAN

Health supplement glass drink merupakan salah satu minuman yang mengandung kafein pada setiap kemasannya, minuman ini Semakin populer, dan semakin tinggi tingkat konsumsinya karena memiliki manfaat terutama pada kalangan yang peduli akan kesehatan, mahasiswa bahkan masyarakat umum, namun dengan tingginya tingkat konsumsi pada minuman suplemen ini selain memiliki manfaat memberikan kebugaran dan mengurangi kelelahan, minuman ini juga memiliki efek samping terhadap tubuh seperti gangguan tidur, kebingungan, hingga detak jantung yang tidak teratur (1).

Kafein mempunyai efek adiktif atau ketergantungan tetapi efek *withdrawal* dari konsumsi kafein dapat menyebabkan pengguna mengalami beberapa gejala seperti kelelahan dan kurangnya kewaspadaan dan kecemasan yang berlebih. Gejala ini membuat pengonsumsi merasa perlu untuk meminum kafein lagi untuk menghilangkan gejala-gejala tersebut. Gejala yang terjadi dari efek *withderwal* ini yang dikira sebagian orang sebagai efek adiktif atau ketergantungan (2).

Kemajuan industri minuman suplemen kesehatan ini tentunya tidak lepas dari peranan iklan sebagai media promosi kepada masyarakat. Serta seringkali mengemukakan klaim-klaim produk tersebut, sehingga keamanan pangan sangat diperlukan, keamanan pangan merupakan aspek yang sangat krusial karena memiliki peran penting dalam perkembangan dan pertumbuhan tubuh manusia. Dapat disimpulkan bahwa, perhatian lebih terhadap kontrol mutu dan keamanan pangan menjadi sangat penting untuk memastikan konsumsi makanan yang aman dan sehat (3).

Pemerintah Indonesia telah menetapkan pedoman terhadap jumlah kafein yang dapat terdapat dalam minuman suplemen kesehatan melalui SNI No. 01-6684-2002 (3). Hal ini bertujuan untuk melindungi konsumen dari potensi risiko

akibat kafein yang melebihi batas aman. Batas aman kafein berdasarkan BPOM tidak kurang dari 1000-1500 mg/kg BB namun, sejumlah produsen mungkin berupaya meningkatkan kadar kafein dalam produk mereka (4).

Berbagai metode pengukuran kafein telah banyak digunakan salah satunya adalah KLT Densitometri, menjadi pengembangan metode analisis yang akurat dan efisien untuk menentukan kadar kafein dalam minuman suplemen kesehatan. Penggunaan metode penetapan kadar suatu senyawa pada lempeng kromatografi menggunakan instrumen TLC-*scanner* yang akurat, keragaman kualitas dan konsistensi produk yang ada di pasaran menunjukkan pentingnya adanya suatu metode standar untuk menilai kadar kafein, tahap awal dalam pengembangan metode analisis kafein dengan KLT Densitometri pada minuman suplemen kesehatan adalah optimasi fase gerak (8).

Optimasi fase gerak diperlukan untuk meningkatkan resolusi antara kafein dan komponen lainnya dalam minuman suplemen kesehatan tersebut, Fase gerak, sebagai salah satu parameter utama dalam pemisahan analit yang berhubungan dengan interaksi fase gerak dan fase diam, Migrasi atau pemisahan pada sisi aktif fase diam dan fase gerak yang merupakan hasil campuran pelarut polar dan non polar. Beberapa penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa variasi dalam pemilihan pelarut dan perbandingan untuk fase gerak, konsentrasi pelarut, dan kondisi pengembangan dapat mempengaruhi hasil analisis secara signifikan. Penelitian oleh (5), mencatat bahwa perubahan dalam jenis pelarut organik dapat mempengaruhi kadar hasil kafein. maka penting untuk melakukan optimasi fase gerak untuk memaksimalkan sensitivitas serta ketepatan hasil analisis pada penelitian menjadi lebih spesifik dan akurat.

Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan metode analisis penentuan kadar kafein dalam minuman suplemen kesehatan melalui KLT Densitometri dengan fokus pada optimasi fase gerak. Pemilihan ini, diharapkan memperoleh kondisi analisis yang memberikan hasil yang lebih akurat.

Hasil penelitian dari riset ini juga memiliki potensi secara langsung dalam industri pengolahan minuman pada penjaminan mutu kesehatan masyarakat dan ketepatan kadar kafein dalam minuman suplemen kesehatan. Selain itu penelitian

ini dapat memastikan kepatuhan industri pengolahan minuman dan keselamatan konsumen, serta membantu produsen dalam mengontrol kualitas produk mereka. Akhirnya penelitian ini memberikan informasi yang lebih akurat kepada konsumen terkait kadar kafein dalam minuman suplemen kesehatan yang mereka konsumsi melalui 4 parameter densitogram terbaik yaitu nilai As (Asimetris), Rf (Faktor retensi), Rs (Resolusi) dan R2 (Regresi linier) (6).

METODE

Alat Dan Bahan Penelitian

Adapun alat yang digunakan penelitian ini yaitu lempeng KLT silica gel 60 F254, labu ukur 5ml (Pyrex®), labu ukur 50ml (Pyrex®), mikro pipet 2-20 μ , 50-1000 μ fixed, beaker glass 50ml (Iwaki®), batang pengaduk, botol kaca, UV Lamp TLC, chamber dan Camag TLC *Scanner* 4 densitometer.

Bahan bahan yang digunakan penelitian ini yaitu sampel minuman suplemen kesehatan gelas merk PR, PF dan TO, *caffeine*, metanol 70% (merk®), dan kloroform (merk®).

Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahap sebagai berikut:

a. Pengambilan Sampel

Berdasarkan (6), pengumpulan data, peneliti harus objek, untuk kemampuan dalam proses pengolahan peneliti memperhatikan dalam memilih dan menentukan. Sampel yang diambil adalah minuman gelas pengambilan sampel diperoleh secara *Purposive* sampling dengan pemilihan minuman suplemen kesehatan yang ada di pasaran Jember, sampel tersebut diambil berdasarkan range harga < Rp. 5000,00 berdasarkan penyaringan data berbagai jenis minuman suplemen kesehatan maka didapatkan data sampel yang digunakan yaitu PR, PF dan TO.

b. Pembuatan Bahan Sampel Uji Kadar Kafein

Pemilihan bahan sampel disesuaikan pada nomer *batch* yang sama lalu ukur masing-masing sampel minuman gelas suplemen kesehatan PR, PF dan TO sebanyak 5 μ l, kemudian totol sebanyak 3 kali pada lapisan lempengan

KLT yang sudah di ukur dan dielusi pada chamber sampai garis batas. Lempeng diangin-anginkan dengan alat pengering didalam lemari asam, kemudian deteksi dengan densitometer pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh (7).

c. Pembuatan Larutan Baku Standar Kafein

Untuk memudahkan penyiapan sampel, konsentrasi pengujian yang digunakan untuk optimasi adalah tingkat konsentrasi yang relatif dari konsentrasi terendah hingga tinggi. Kemudian dilarutkan 0,05 g baku kafein dengan metanol secukupnya dalam beaker glass, kemudian dimasukan ke labu ukur 50 ml. Selanjutnya ditambahkan metanol sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 mg/mL, metode pemisahan komponen komponen campuran yang memiliki densitas yang berbeda dengan variasi konsentrasi kafein dengan cara memipet larutan baku konsentrasi 1000 mg/mL masing masing sebanyak 400; 500; 600; 800 dan 900 mg/mL ke dalam labu ukur 5 ml (8), selanjutnya setiap larutan tersebut digunakan untuk menghitung rumus standar pada sampel setelah kondisi optimum.

Tahap Optimasi Fase Gerak Menggunakan KLT-Densitometri

a. Penentuan Fase Gerak

Dalam pemilihan fase gerak diperlukan proses pengembangan kromatografi lapis tipis (KLT) yang baik dengan mengoptimalkan fase gerak, termasuk variasi pelarut murni atau campuran dua pelarut yang sesuai dengan perbandingan tertentu. Optimalisasi penyelesaian dicapai melalui penelitian menggunakan lempeng KLT dengan pelarut yang sama tetapi bervariasi volumenya (8)

Untuk melakukan optimasi fase gerak dibutuhkan syarat kemurnian pelarut untuk memenuhi variasi fase gerak beberapa penelitian sebelumnya telah menentukan fase gerak yang digunakan antarlain, metanol dan kloroform dengan perbandingan 6:4 (9), 2:8,1:9 (10), dan 9:1. Penelitian yang akan digunakan adalah optimasi fase gerak menggunakan KLT-Densitometri sebagai metode alternatif pemisahan yang mampu mengabsorpsi senyawa campuran diantara fase diam dan fase gerak yang kepolarannya berbeda.

Oleh karena itu dalam penelitian ini menggunakan berbagai perbandingan fase gerak antara metanol:kloroform (1:9); (2:8); (4:6); dan (9:1) Modifikasi variasi fase gerak bertujuan untuk menemukan efektivitas metode KLT dengan produser zat aktif yang memungkinkan pemisahan suatu zat aktif terhadap zat aktif yang lain. Fase gerak yang akan digunakan perlakuan penjuanan pada metanol dan kloroform dengan perbandingan tersebut dituang kedalam dasar chamber. Kemudian, dicelupkan pada kertas saring pada fase gerak. Chamber ditutup, lalu fase gerak dibiarkan menguap hingga membasahi kertas saring selama kurang lebih 1 jam atau bila fase gerak telah mencapai tujuh perdelapan tinggi kertas saring (11)

b. Aktivasi Lempeng KLT Silika Gel 60 F254

Aktivasi lempeng KLT silika gel 60 F254 dapat mempengaruhi proses elusi dan penyerapan pada pengembangan cepat pada lempeng. Lempeng tersebut kemudian dipotong dengan hati-hati karena lempeng KLT bersifat rapuh dan harus ditangani dengan benar mulai dari pembukaan kemasan sampai ke tahap akhir. Sudut gunting juga tidak boleh cenderung ke kiri karena hal ini dapat menyebabkan lepasnya sorben dari dasar lempeng. Ukuran yang digunakan dalam penelitian ini 10 x 10 cm. Kemudian, proses pencucian dengan menggunakan pelarut metanol untuk menghilangkan zat pengotor lainnya yang terdapat dalam lempeng KLT (12). Aktivasi dilakukan dengan dimasukkan ke dalam oven bersuhu 110°C selama kurang lebih 30 menit untuk menghilangkan air yang terdapat pada lempeng KLT (13).

c. Analisis Hasil KLT-Densitometer

Berdasarkan (6), setelah lempeng KLT terlihat, lempeng tersebut dielusi hingga jarak 75 mm dalam ruang yang telah terisi penuh dengan fase gerak (menggunakan kloroform:metanol (9:1), (2:8), (1:9) dan (4:6). Setelah itu, lempeng diangkat, dan dikeringkan dengan alat pengering di dalam lemari asam untuk kemudian diuji dengan menggunakan densitometri pada panjang gelombang maksimum yang telah ditentukan. Data hasil densitometri dianalisis dalam bentuk densitogram yang menunjukkan bentuk puncak termasuk faktor Asimetris (As) yang menggambarkan bentuk puncak, nilai Rf (Faktor retensi),

dan nilai Rs (Resolusi). yang terdapat perberbedaan pada setiap hasil sampel penelitian.

$$x = \left[\frac{Y - a}{b} \right] \times FP$$

$$\text{kadar kafein} = \left[\frac{\text{konsentrasi hasil percobaan}}{\text{konsentrasi hasil perhitungan teoritis}} \right] \times 100\%$$

Keterangan : x = Konsentrasi analit a = Konstanta

Y = Luas area b = Koefisien regresi

FP = Faktor Pengenceran

HASIL DAN PEMBAHASAN

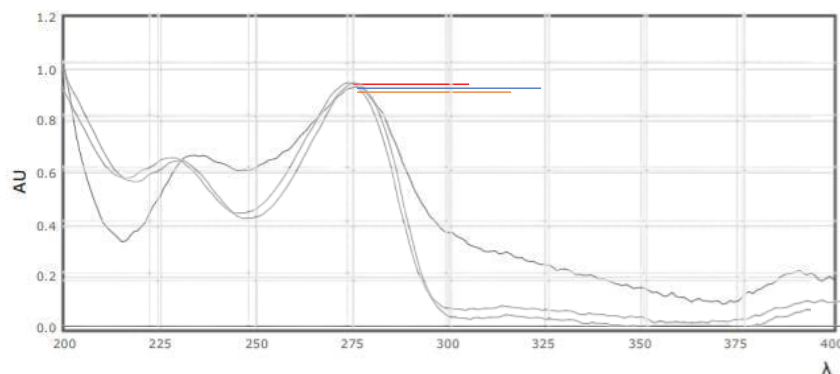
Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar kandungan kafein dalam minuman suplemen kesehatan siap saji yang ada dipasaran dengan menggunakan KLT Densitometri dengan software CATS. Penelitian ini melibatkan identifikasi tiga minuman suplemen kesehatan TO, PR, dan PF yang mengklaim mengandung kafein. Tujuan utama penelitian adalah membandingkan hasil uji standar kafein dengan uji sampel kafein menggunakan metode KLT dengan perbandingan variasi fase gerak. Penelitian ini dilakukan untuk memahami perbedaan antara standar kafein dan kandungan kafein yang sebenarnya dalam minuman suplemen kesehatan yang ada di pasaran.

Penentuan Fase Gerak Menggunakan KLT-Densitometri

Pembuatan untuk setiap variasi fase gerak dilakukan dengan dua campuran pelarut, yaitu metanol dan kloroform yang dihitung menggunakan perhitungan distribusi fase gerak sebanyak 50 mL dalam volume perbandingan fase gerak pada penelitian ini 1:9, 2:8, 6:4 dan 9:1. Sehingga diperoleh masing masing volume metanol dan kloroform dalam 50 mL, tujuan ini dilakukan agar dapat memahami proporsi relatif dari masing-masing pelarut dalam campuran senyawa yang diinginkan. Pemilihan fase gerak metanol dan kloroform dengan perbandingan 9:1 merupakan fase gerak hasil optimasi dimana fase gerak ini dapat memisahkan bercak standar baku kafein dengan sampel paling baik dan terpisah sempurna dengan hasil 4 parameter terbaik.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ)

Penetapan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan menggunakan 3 seri konsentrasi, yaitu konsentrasi 400, 600 dan 900 mg/mL. Penggunaan 3 seri ini bertujuan untuk melihat apakah pada konsentrasi yang dianggap mewakili seluruh konsentrasi pada seri baku ini dihasilkan spektrum serapan yang sama. Panjang gelombang maksimum kafein adalah 273 nm (16), Sedangkan panjang gelombang maksimum yang diperoleh pada penelitian ini adalah 275 nm. dilakukan deteksi melalui scanning pada KLT densitometer pada panjang gelombang maksimum kafein sebesar 275 nm dan pada rentang panjang gelombang 200-400 nm sehingga didapatkan data berupa spektrum dari kafein. Hasil dari pengukuran panjang gelombang maksimum (λ Max). Dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. λ Max Standar Kafein (400,600,900 mg/mL)

Penentuan 4 Parameter Dari Larutan Baku Standar Kafein

Langkah selanjutnya fase gerak yang terbaik didapatkan dari hasil 4 parameter A_s , R^2 , R_f , dan R_s . Data hasil densitometer dianalisis dalam bentuk densitogram. pada tabel 1 menunjukkan bahwa fase gerak yang optimum yaitu 9:1 dengan A_s 0,87, R^2 0,99, R_f 0,679, dan R_s 1,81 :

Tabel 1. Data hasil baca camag *softwer CATS*

Fase gerak	Bentuk Puncak Asimetris (A_s) (0,8-1,5)	Nilai Regresi Linier R^2 ($\geq 0,99$)	Nilai Faktor Retensi R_f (0,2-0,8)	Nilai Resolusi R_s ($\geq 1,5$)
1:9	25,437	0,1286	0,846	0,984
2:8	28,864	0,5635	0,936	0,886
4:6	0,761	0,9573	0,915	0,954

9:1 0,87 0,99 0,679 1,81

Hasil Rf yang diperoleh dari pengukuran kurva baku yaitu antara rentang 20-80%. Dari hasil tersebut dapat diperkirakan bahwa pada rentang Rf tersebut peak yang mencol merupakan kafein, hasil Rf standar berada pada rentang 0,936-0,679. pada rentang tersebut yang berarti merupakan peak dari kafein (14). Fase gerak dengan perbandingan metanol:kloroform yang lebih rendah (1:9, 2:8, 4:6) memiliki polaritas yang kurang sesuai untuk analisis kafein, hal ini disebabkan oleh interaksi fase gerak dan fase diam yang kurang optimal dan kepolaran yang rendah dalam fase gerak tersebut sehingga menghasilkan pemisahan, resolusi, dan linearitas yang kurang baik.

Berikut adalah hasil regresi yang didapatkan dari luas area dan konsentrasi standar : dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil penentuan kurva kalibrasi terbaik

Konsentrasi (mg/mL)	Luas Area	Nilai Regresi
400	0,01350	
500	0,01542	
600	0,01810	$y = 0,00003x - 0,0008$
800	0,02234	$R^2 = 0,99$
900	0,02689	

Dari Tabel 2 dapat dilihat hasil nilai linieritas yang didapatkan yaitu 0,99. Nilai linearitas yang didapatkan akan digunakan untuk menghitung kadar kafein pada sampel. Nilai $0,99 \leq r \leq 1$ ini menunjukkan bahwa konsentrasi dan Luas area mempunyai hubungan yang linear sehingga semakin besar konsentrasi dari Larutan maka akan semakin besar pula luas Area (15).

Baku Sampel Kafein Kemasan Gelas

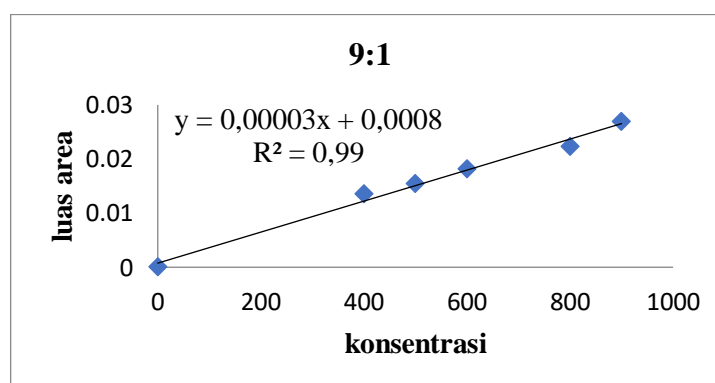
Pada penelitian ini dilihat dari Tabel 3 menunjukkan bahwa sampel minuman suplemen kesehatan merk TO replikasi pertama 9,7 mg/g, replikasi kedua 9,3 mg/g, replikasi ketiga 9 mg/g, sedangkan sampel merk PR untuk replikasi pertama 10,5 mg/g, replikasi kedua 11,7 mg/g dan replikasi ketiga adalah 10,7 mg/g, dan merk PF replikasi pertama 14,5 mg/g, replikasi kedua 16 mg/g, dan replikasi ketiga 18,3 mg/g dan kadar ini memenuhi syarat karena < 50 mg, karena

pada sampel yang diteliti kadar kafein yang didapatkan kurang dari 50 mg/170-180mL/kemasan gelas yang artinya memenuhi syarat standar batas kafein dalam minuman kemasan gelas. Sehingga perhitungan yang didapat dari nilai persamaan linearitas. Dari nilai konsentrasi didapatkan nilai rata-rata sampel TO = 9,4 sampel PR = 10,97 dan sampel PF = 16,27. Dengan syarat batas kafein dalam minuman kemasan menurut SNI 01-7152-2006 batas kafein maksimum dalam minuman 50 mg/sajian (14). Dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil analisis sampel minuman suplemen kesehatan

Sampel	Rep.	Luas area	Kons. (mg/mL)	Rata –rata (mg/mL)	S.D
TO	I	0,00936	9,7	9,4	0,9
	II	0,00906	9,3		
	III	0,00877	9		
PR	I	0,01012	10,5	10,97	0,8
	II	0,01121	11,7		
	III	0,01024	10,7		
PF	I	0,01288	14,5	16,27	21,8
	II	0,01411	16		
	III	0,01610	18,3		

Sehingga didapat hasil kurva kalibrasi linier fase gerak optimum yaitu metanol : kloroform dengan perbandingan 9:1 pada gambar 2.



Gambar 2. kurva kalibrasi kafein linier

Pada Gambar 2 menunjukkan linieritas kurva kalibrasi larutan kafein yang telah diencerkan dari larutan 1000 mg/mL. Larutan 1000 mg/mL dibuat

konsentrasi 400 mg/mL, 500 mg/mL, 600mg/mL, 800 mg/mL, dan 900 mg/mL. Dengan pipet 2mL, 2,5mL, 3mL, 4mL, dan 4,5mL. Pengukuran kurva kalibrasi digunakan untuk mendapatkan hasil nilai regresi yang linear. Nilai linearitas terbaik diambil menggunakan fase gerak 9:1 yang didapatkan yaitu $y = 0,00003x - 0,0008$ dengan persamaan korelasi $R^2 = 0,99$ Nilai r yang mendekati 1 menunjukkan kurva kalibrasi linier dan terdapat hubungan antara konsentrasi analit kafein dengan luas area (16).

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Kondisi optimal pada fase gerak dalam analisis kromatografi memberikan hasil analisis yang baik terhadap sampel minuman suplemen kesehatan dari merk PR, PF, dan TO dengan menggunakan perbandingan optimasi fase gerak terbaik dari variasi perbandingan yang berbeda yaitu metanol : kloroform (9:1) yang ditunjukkan 4 parameter yang memenuhi persyaratan densitogram yaitu A_s memiliki hasil 0,87 yang memenuhi persyaratan 0,8-1,5, serta hasil regresi terbaik 0,99, sehingga memiliki nilai R_f tidak lebih dari 0,2-0,8% yaitu 0,679, dan memiliki nilai Resolusi $\geq 1,5$ yaitu 1,81 yang memenuhi persyaratan rentang parameter densitogram. sedangkan hasil uji fase gerak 1:9, 2:8, 4:6 memiliki hasil yang kurang baik terhadap analisis kadar kafein pada sampel minuman merk TO, PR dan PF dari 4 parameter dikarenakan RS pada perbandingan 1:9, 2:8, dan 4:6 memiliki pemisahan senyawa kafein dari komponen lain dalam sampel yang kurang baik, sedangkan nilai A_s memiliki bentuk puncak kromatogram yang kurang simetris, sehingga menghasilkan kalibrasi yang kurang baik, sedangkan nilai R_f yang tidak optimal dikarenakan fase gerak metanol : kloroform perbandingan 1:9, 2:8 dan 4:6 kurang memisahkan kafein.
2. Dan kadar kafein yang didapatkan pada sampel fase gerak 9:1 yaitu TO =9,4mg, PR =10,97mg dan PF =16,27mg. Memenuhi syarat kadar yang didapatkan pada penelitian < 50 mg/170-180mL/kemasan gelas. Menurut SNI 01-7152-2006 batas kafein maksimum dalam minuman dan makanan yaitu 150 mg/hari atau 3 kemasan perhari.

Saran berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan bahwa :

1. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka disarankan untuk peneliti selanjutnya untuk mengevaluasi lanjutan sampel minuman suplemen kesehatan dengan kandungan lain dan memperluas penelitian untuk membandingkan kadar kafein dalam sampel yang berbeda.
2. Perlu dilakukan campuran fase gerak pelarut organik lainnya dikarenakan jenis fase gerak dapat berpengaruh terhadap hasil analisis kadar kafein.

DAFTAR PUSTAKA

1. Doni Wahdi M, Srikandi Syahadat D, Epidemiologi D, Studi Kesehatan Masyarakat P, Kesehatan Masyarakat F. *The Effect of Energy Drinks Consumption, Hypertension, and Smoking Behavior on the Incidence of Chronic Kidney Disease at Undata Regional Public Hospital Palu City* Pengaruh Konsumsi Minuman Berenergi, Hipertensi dan Perilaku Merokok Terhadap Kejadian Peny. *J Kesehat Mulawarman* . 2022;4(1):1–9.
2. Anggadiredja K, Putri TK, Damayanti S. Potensi Ketergantungan Mahasiswa Terhadap Konsumsi Minuman Berenergi. *J Sains Keolahragaan dan Kesehat*. 2021;6(1):47–60.
3. BSN. G:\data kerjaan\Peraturan BSN\PBSN\2020\RPBSN Perubahan PBSN No 6 Sektor Pangan\BSN 1. 2020;(6).
4. Novita, Lenny BA. Penetapan kadar kafein pada minuman berenergi sediaan sachet yang beredar di sekitar pasar petisah medan. *J Kim Saintek dan Pendidik*. 2017;I(1):37–42.
5. Inayah I, Hadisoebroto G, Kashuri M. Optimasi Metode Penetapan Kadar Kafein Pada Beberapa Serbuk Minuman Energi Yang Beredar Di Kota Serang. *J Sabdariffarma*. 2019;1(1):22–7.
6. Fadli MR. Memahami desain metode penelitian kualitatif. *Humanika*. 2021;21(1):33–54.
7. Ayuni BF. Validasi Metode Analisis Kafein Pada Kopi Latte Dengan Spektrofotometri Uv-Vis. *Anal Anal Environ Chem*. 2022;7(02):155.
8. Emilda E, Delfira N. Pemanfaatan Silika Gel 70-230 Mesh Bekas Sebagai Pengganti Fase Diam Kromatografi Kolom pada Praktikum Kimia Organik. *Indones J Lab*. 2023;1(1):45.
9. Arel A, Martinus BA, Nofiandri R. Penetapan Kadar Kofein Dalam Minuman Berenergi Yang Beredar Di Pasaran Dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *J Kim Saintek Dan Pendidik*
10. Wulandari L, Retnaningtyas Y, Trianto GO, Debby Y. Penentuan Kandungan Kafein dalam Teh Komersial Menggunakan KLT-Densitometri dan Validasi Metode. 2017;3(3):122–31.
11. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. *Farmakope Indonesia (5Th Ed)*. Jakarta. 2014. 612–613 p.
12. Wulandari L. *Kromatografi Lapis Tipis*. Taman Kampus Presindo. 2011. 20–26 p.
13. Dewi NLA. Pemisahan, Isolasi, dan Identifikasi Senyawa Saponin Dari Herba Pegagan (*Centella asiatica L. Urban*). *J Farm Udayana*. 2018;7(2):68.
14. Nurhidayanti N, Munir MA, Emelda E. Stannum : *Jurnal Sains dan Terapan Kimia Analysis of Caffeine in Packaged Drinks Using Thin Layer Chromatography (*

- TLC) and Spectrophotometry Method Analisis Kafein pada Minuman Kemasan Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Spektrofotom.* 2024;6(1):28–35.
15. Fauziah F, Kardela W, Rasyid R, Silvi M. Validasi Metode Analisis A-Mangostin dalam Plasma Darah Manusia Secara In Vitro dengan Kromatografi Lapis Tipis-Densitometri.
 16. Azizah DN, Kumolowati E, Faramayuda F. Penetapan Kadar Flavonoid Metode AlCl₃ Pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*). *Kartika J Ilm Farm.* 2014;2(2):45–9.
 17. Ramu B, Chittela KB. *High Performance Thin Layer Chromatography and its role in the Pharmaceutical Industry: Review.* *Sci J Biosci Bioeng*
 18. Riswanto FDO, Endang Lukitaningsih RR, Martono S. *Analytical method validation and determination of pyridoxine, nicotinamide, and caffeine in energy drinks using thin layer chromatography-densitometry.* *Indones J Chem.* 2015;15(1):9–15.
 19. Umer M, Nisa MU, Ahmad N, Rahim MA, Kasankala LM. *Quantification of quercetin from red onion (Allium cepa L.) powder via high-performance liquid chromatography-ultraviolet (HPLC-UV) and its effect on hyperuricemia in male healthy Wistar albino rats.* *Food Sci Nutr.* 2024;12(2):1067–81.