

## Literature Review: Effect of Thin Layer Chromatography Method Parameters for Identification of Caffeine in Coffee

### Tinjauan Literatur: Pengaruh Parameter Metode Kromatografi Lapis Tipis untuk Identifikasi Kafein dalam Kopi

Nayla Nur Azkia Hariadi <sup>a</sup>, Nur Basmalah <sup>a</sup>, Dewi Hanun Laprilski <sup>b</sup>, Khaerunisa Azzahra <sup>b</sup>, Munir Alinu Mulki <sup>a\*</sup>

<sup>a</sup> Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Singaperbangsa Karawang, Jawa Barat, Indonesia.

<sup>b</sup> Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Purwokerto, Jawa Tengah, Indonesia.

\*Corresponding Authors: [munir.alinu@fikes.unsika.ac.id](mailto:munir.alinu@fikes.unsika.ac.id)

#### Abstract

**Background:** The rising consumption of coffee in Indonesia necessitates reliable methods for caffeine analysis to ensure product quality and safety. Thin Layer Chromatography (TLC) is a simple, effective, and polarity-based technique widely used for the qualitative identification of compounds like caffeine in coffee. However, the results of TLC analysis are highly dependent on several methodological parameters. **Objectives:** This literature review aims to identify and analyze the critical parameters of the TLC method—including the mobile phase, stationary phase, visualization techniques, and sample preparation—that influence the effectiveness of caffeine identification in coffee. **Methods:** A systematic literature review was conducted using online databases (Google Scholar, PubMed, Semantic Scholar, and Crossref). Articles from the last ten years were selected based on inclusion and exclusion criteria, resulting in nine primary studies for in-depth analysis. **Results:** The review confirms that silica gel 60 F254 is the most effective stationary phase. The composition of the mobile phase is crucial; a mixture of dichloromethane:methanol (9.5:0.5) was found to be optimal for separating caffeine, yielding R<sub>f</sub> values within the ideal range of 0.3–0.7. Visualization under UV light at 254 nm successfully detected caffeine as dark spots. Sample preparation techniques, particularly reflux and ultrasonic extraction, significantly enhanced extraction efficiency and detection sensitivity. Factors such as mobile phase stability, spotting technique, and sample matrix were also identified as key influencers on the chromatographic results. **Conclusion:** TLC is an efficient and cost-effective method for the qualitative identification of caffeine in coffee. Its success is determined by the optimization of critical parameters, primarily the mobile phase composition. While excellent for initial screening, TLC requires complementary techniques for precise quantitative analysis. Future work should focus on standardizing these parameters to improve the reproducibility and reliability of caffeine analysis using TLC.

**Keywords:** Caffeine, Coffee, Thin Layer Chromatography, Mobile Phase, Stationary Phase.

#### Abstrak

**Latar Belakang:** Meningkatnya konsumsi kopi di Indonesia menuntut metode analisis kafein yang andal untuk memastikan kualitas dan keamanan produk. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan teknik sederhana, efektif, dan berbasis kepolaran yang banyak digunakan untuk identifikasi kualitatif senyawa seperti kafein dalam kopi. Namun, hasil analisis KLT sangat bergantung pada beberapa parameter metodologis. **Tujuan:** Tinjauan literatur ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan menganalisis parameter kritis metode KLT meliputi fase gerak, fase diam, teknik visualisasi, dan preparasi sampel yang mempengaruhi efektivitas identifikasi kafein dalam kopi. **Metode:** Dilakukan tinjauan literatur sistematis

dengan menggunakan database online (Google Scholar, PubMed, Semantic Scholar, dan Crossref). Artikel dari sepuluh tahun terakhir diseleksi berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi, yang menghasilkan sembilan studi primer untuk analisis mendalam. **Hasil:** Tinjauan mengonfirmasi bahwa silika gel 60 F254 merupakan fase diam yang paling efektif. Komposisi fase gerak sangat krusial; campuran diklorometana:metanol (9,5:0,5) terbukti optimal untuk memisahkan kafein, menghasilkan nilai Rf dalam rentang ideal 0,3–0,7. Visualisasi di bawah sinar UV pada 254 nm berhasil mendeteksi kafein sebagai noda gelap. Teknik preparasi sampel, khususnya refluks dan ekstraksi ultrasonik, secara signifikan meningkatkan efisiensi ekstraksi dan sensitivitas deteksi. Faktor-faktor seperti stabilitas fase gerak, teknik penotolan, dan matriks sampel juga diidentifikasi sebagai influencer kunci pada hasil kromatografi. **Kesimpulan:** KLT merupakan metode yang efisien dan hemat biaya untuk identifikasi kualitatif kafein dalam kopi. Keberhasilannya ditentukan oleh pengoptimalan parameter kritis, terutama komposisi fase gerak. Meskipun sangat baik untuk skrining awal, KLT memerlukan teknik pelengkap untuk analisis kuantitatif yang presisi. Penelitian selanjutnya perlu berfokus pada standarisasi parameter-parameter ini untuk meningkatkan reproduktibilitas dan keandalan analisis kafein menggunakan KLT.

**Kata Kunci:** Kafein, Kopi, Kromatografi Lapis Tipis, Fase Diam, Fase Gerak.



Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **Adapt** (remix, transform, and build upon the material) under the following terms: **Attribution** — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; **NonCommercial** — You may not use the material for commercial purposes; **ShareAlike** — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. Content from this work may be used under the terms of the [Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International \(CC BY-NC-SA 4.0\) License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v8i3.683>

#### Article History:

Received: 23/11/2024,  
Revised: 09/09/2025,  
Accepted: 11/09/2025,  
Available Online: 20/09/2025.

#### QR access this Article



## Pendahuluan

Perkembangan kopi di Indonesia dimulai pada abad ke-17 pada masa penjajahan Belanda dengan kondisi alam yang mendukung menjadikannya komoditas utama perkebunan yang berkontribusi besar pada perekonomian nasional [1]. Berdasarkan hasil SUSENAS (Survei Sosial Ekonomi Nasional), tingkat konsumsi kopi bubuk di Indonesia pada tahun 2021 mencapai 0,8758 kg per kapita per tahun. Sedangkan, konsumsi kopi instan sebesar 0,951 kg kapita per tahun [2]. Menurut USDA (2023), Indonesia menduduki peringkat kelima dalam produksi kopi pada masa 2023/2024 dengan total 8.15 juta kantong kopi 60 kg setelah Brazil, Vietnam, Colombia, dan Ethiopia [3]. Data dari FAO menunjukkan bahwa rata-rata produksi kopi Indonesia dari tahun 2017 hingga 2021 adalah sebesar 750,86 ribu ton per tahun, dengan rata-rata ekspor mencapai 368,17 ribu ton per tahun [4]. Kebiasaan mengonsumsi kopi telah menghasilkan tiga fase yang dikenal dengan istilah *waves coffee*, dimulai dengan gelombang pertama pada sekitar tahun 1800, diikuti gelombang kedua pada tahun 1960-an, dan gelombang ketiga yang muncul pada tahun 2000-an [5]. Kopi mengandung berbagai senyawa seperti kafein, asam klorogenat, trigonelin, karbohidrat, lemak, asam amino, asam organik, senyawa volatil, dan mineral [6]. Kehadiran kafein dalam kopi, yang dapat meningkatkan kewaspadaan dan energi, menjadi salah satu faktor utama masyarakat memilih kopi sebagai minuman favorit, sekaligus berkontribusi dalam membentuk kebiasaan konsumsi yang terus berkembang di Indonesia. Oleh karena itu, analisis terhadap kandungan kafein dalam kopi menjadi penting untuk memastikan keamanan konsumsi, terutama di tengah tingginya minat dan intensitas konsumsi kopi di kalangan masyarakat Indonesia.

Sehubungan dengan Peraturan Kepala Badan POM Nomor 21 Tahun 2016 tentang Kategori Pangan, terdapat penjelasan mengenai definisi dan karakteristik dasar berbagai jenis produk kopi olahan. Kopi bubuk terbuat dari biji kopi yang telah disangrai dan digiling dengan kandungan kafein anhidrat maksimal 2%. Sementara, kopi instan adalah produk kering yang mudah larut dalam air, memiliki kadar kafein antara 2% hingga 8%, yang dihasilkan melalui ekstraksi air dari biji kopi yang telah disangrai [7]. Perbedaan kadar kafein pada masing-masing jenis kopi ini menunjukkan pentingnya analisis yang akurat dan rutin untuk

memastikan bahwa produk kopi olahan memenuhi ketentuan yang ditetapkan, sekaligus menjamin keamanan konsumsi bagi masyarakat.

Sejalan dengan beberapa penelitian yang ada, kafein dapat diidentifikasi menggunakan beberapa alat analisis, termasuk Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT), Kromatografi Lapis Tipis (KLT), dan Spektroskopi UV-Vis. Namun, untuk identifikasi yang lebih cepat, Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dapat digunakan [8]. Metode KLT efektif dalam mendeteksi kafein, karena menawarkan proses pengujian yang sederhana dan dapat diterapkan pada hampir semua jenis senyawa, menjadikannya lebih unggul dibandingkan metode kromatografi lainnya. Selain itu juga, metode KLT dapat menghasilkan suatu pemisahan yang baik antara senyawa analit dengan komponen lain dalam sampel yang diuji [9]. Metode KLT memiliki pemisahan senyawa yang rendah sehingga metode ini sering digunakan sebagai alat analisis kualitatif untuk identifikasi awal suatu analit dan memerlukan instrumen lanjutan untuk mendapatkan hasil analisis secara kuantitatif. Hal tersebut menjadi kekurangan dari metode KLT, karena diperlukan instrumen lain untuk mengoptimalkan hasil akhir [10].

Dalam proses identifikasi kafein dalam kopi menggunakan kromatografi lapis tipis, terdapat berbagai parameter yang perlu diperhatikan, seperti fase diam, fase gerak, dan nilai Rf. Hal ini dibuktikan dari beberapa penelitian yang ditinjau dalam artikel ini, diperoleh hasil yang bervariasi akibat perbedaan parameter yang digunakan. Oleh karena itu, tinjauan literatur diperlukan untuk mengumpulkan parameter yang mempengaruhi analisis kafein pada kopi menggunakan kromatografi lapis tipis guna meningkatkan efisiensi pemisahan senyawa. Identifikasi parameter yang mempengaruhi hasil analisis ini penting agar optimasi dapat dilakukan demi mendapatkan hasil kromatografi lapis tipis yang terbaik.

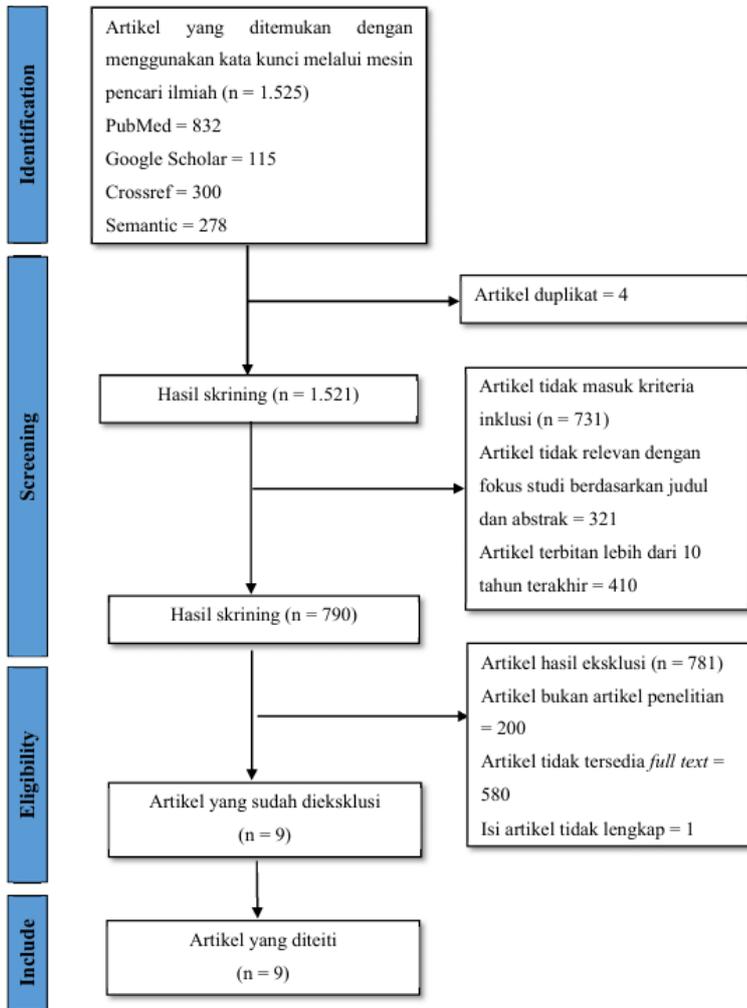
## Metode Penelitian

Artikel yang relevan dikumpulkan secara online menggunakan mesin pencari online berbasis data ilmiah sebagai berikut: Google Scholar (<https://scholar.google.com/>), PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>), Semantic (<https://www.semanticscholar.org/>), dan Crossref (<https://crossref.org/>). Kata kunci, seperti "caffeine, thin layer chromatography, coffee" dicari secara menyeluruh pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Kata kunci yang digunakan dalam proses pencarian artikel di mesin pencari

Sumber pencarian artikel <i>online</i>	Pencarian dan istilah
Pubmed	"cafeina" or "thin layer chromatography" = 832
Google Scholar	"bubuk kopi" or "kafein" or "KLT" = 109 "coffee" or "caffeine" or "TLC" = 6
Crossref	"caffeine" or "thin layer chromatography" or "coffee powder" or "analysis caffeine from coffee powder with thin layer chromatography" = 300
Semantic	"TLC" or "caffeine" or "coffee powder" = 278

Artikel-artikel dipilih berdasarkan kriteria inklusi sebagai berikut: (a) artikel relevan dengan fokus studi berdasarkan judul dan abstrak (b) artikel terbitan 10 tahun terakhir. Kriteria eksklusi dari penelitian ini meliputi: (a) artikel bukan artikel penelitian (b) artikel tidak tersedia *full text* (c) isi artikel tidak lengkap. Selain itu, artikel yang dipilih juga telah melalui tahap seleksi kualitas, yaitu hanya artikel yang memuat variabel yang dibutuhkan dan sesuai dengan tujuan penelitian yang dimasukkan ke dalam tinjauan. Skema strategi pencarian artikel dalam penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 1. Hasil pencarian artikel didasarkan pada fokus studi yang terdiri dari PubMed (n = 832), Google Scholar (n = 115), Crossref (n = 300), dan Semantic (n = 278). Sembilan dokumen yang menganalisis kafein pada kopi dengan metode kromatografi lapis tipis masuk ke dalam tinjauan.



Gambar 1. Skema strategi pencarian artikel

### Hasil dan Diskusi

Tabel 2. Parameter KLT dan Hasil Identifikasi Kafein dari Berbagai Sampel Kopi Berdasarkan Literatur

Sampel	Fase Diam	Fase Gerak	Gelombang Sinar UV	Hasil Pengujian (nilai Rf)	Referensi
Biji kopi robusta	Silika gel 60 F254	Diklormetana : metanol (9,5:0,5)	254 nm	Rf: 0,56	[11]
Biji kopi robusta	Silika gel 60 F254	Kloroform : Etanol) (24:1)	254 nm dan 366 nm	Rf: 0,5	[12]
Biji kopi arabica	Silika gel 60 F254	Etil asetat : metanol : NH4OH pekat (85:10:5)	254 nm	Rf; 0,55	[13]
Biji kopi arabica	Silika gel 60 F254	Toluena : etil asetat : air : asam format (15:90:5:5)	246 nm	Rf: 0,35	[14]
Biji kopi arabica	Silika gel 60 F254	Etil asetat : Metanol : Aquades (100:13,5:10)	254 nm	Rf: 0,55	[15]

Minuman kopi siap saji	Silika gel 60 F254	Metanol : etil asetat : asam asetat (3:1:6)	254 nm	Rf: 0,704	[16]
Minuman kopi siap saji	Silika gel 60 F254	Etil asetat : metanol : air (100:113,5:10)	254 nm	Rf: 0,67	[17]
Bubuk kopi	Silika gel 60 F254	Kloroform : etanol (99:1)	254 nm	Rf: 0,30	[18]
Bubuk kopi	Silika gel 60 F254	kloroform : etanol (99:1)	254 nm	Rf: 0,375	[19]

**Tabel 3.** Ringkasan Nilai Rf Kafein Berdasarkan Jenis Sampel

Jenis Sampel	Jumlah Studi	Rentang Nilai Rf	Rata-rata Rf
Biji kopi robusta	2	Rf: 0,5 – 0,56	Rf: 0,53
Biji kopi arabica	3	Rf: 0,35 – 0,55	Rf: 0,483
Bubuk kopi	2	Rf: 0,30 – 0,375	Rf: 0,338
Minuman kopi siap saji	2	Rf: 0,67 – 0,704	Rf: 0,687

Pada dasarnya, dalam kromatografi campuran substansi dipisahkan menjadi komponen-komponen tertentu, salah satunya melalui metode kromatografi lapis tipis. Metode analisis kualitatif pada instrumen ini berlandaskan pada prinsip "*like dissolve like*", yang menjelaskan bahwa senyawa polar dapat larut dalam pelarut polar, dan hal yang sama berlaku untuk senyawa non polar.

### Parameter Kromatografi Lapis Tipis

Beberapa parameter yang perlu diperhatikan dalam analisis KLT adalah fase diam, fase gerak, nilai Retention factor (Rf), dan visualisasi. Umumnya, fase diam yang digunakan dalam analisis kromatografi lapis tipis berupa lembaran silika yang memiliki beberapa tipe, seperti pelat kaca, aluminium foil, dan plastik. Keseluruhan penelitian yang menjadi tinjauan dalam review artikel ini, menggunakan fase diam yang sama yaitu plat KLT silika gel 60 F254. Berdasarkan penelitian, fase diam digunakan mampu memberikan hasil yang baik, hal ini ditandai dengan hasil Rf yang diperoleh memenuhi syarat yaitu berada pada rentang 0,3-0,7. Rentang tersebut menunjukkan bahwa senyawa kafein dapat terpisah dengan baik [20]. Silika gel 60 F254 merupakan fase diam yang dapat mengikat senyawa dengan baik karena memiliki gugus hidroksil yang dapat mengikat dan menyerap sampel [21]. Gugus hidroksil memiliki kemampuan dalam mengikat senyawa lain dengan sifat yang sama, yaitu hidrofilik atau polar sehingga efektif dalam menganalisis senyawa kafein yang bersifat polar [22]. Selain itu, gugus kromofor yang dimiliki kafein memungkinkan hasil noda terlihat pada panjang gelombang 254, sehingga penggunaan silika gel GF254 efektif sebagai fase diam karena mampu menghasilkan fluoresensi pada panjang gelombang 254 nm [21].

Sesuai dengan prinsipnya, pelarut polar akan cenderung menarik senyawa polar seperti kafein, sementara rasio perbandingan pelarut dapat mempengaruhi sehingga dapat berpengaruh pada proses elusi sampel. Semakin dekat kepolaran antara senyawa dengan eluen atau fase gerak, maka semakin mudah senyawa tersebut terbawa oleh fase gerak yang digunakan [9]. Dalam konteks ini, kafein merupakan senyawa yang bersifat polar, sehingga pelarut polar menjadi pelarut yang cocok untuk memaksimalkan proses pemisahan. Namun, jika terlalu polar dapat mempengaruhi pergerakan sehingga menghasilkan nilai Rf yang jauh dari rentang. Hal ini didukung oleh sebagian besar penelitian yang telah ditinjau menunjukkan bahwa fase gerak dengan sifat polar lebih optimal dalam mengelusi senyawa kafein, yang juga bersifat polar, karena adanya kesesuaian polaritas antara keduanya. Efektivitas penggunaan fase gerak polar ini telah dibuktikan melalui studi yang dilakukan oleh Rahayu et al. (2023), Misfadhila et al. (2016), dan Suwiyarsa et al. (2018). Hasil ini menunjukkan bahwa memilih fase gerak yang tepat sangat penting untuk memastikan pemisahan senyawa polar seperti kafein berlangsung dengan efisien dan optimal. Sebaliknya, fase gerak yang bersifat non-polar cenderung kurang efektif dalam mengelusi kafein, yang ditandai dengan nilai Rf di bawah rentang optimal. Dalam beberapa penelitian, fase gerak semi-polar telah diuji sebagai alternatif dan menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan fase gerak non-polar. Studi terkait efektivitas fase gerak semi-polar telah dilakukan oleh Yulia et al. (2019), Mindawati et al. (2024), Nugraheni et al. (2017), Kiattisin et al. (2016),

Muchtaridi et al. (2017), serta Sabarni dan Nurhayati (2018), yang menggarisbawahi potensi penggunaannya dalam pemisahan kafein secara lebih efisien. Sama halnya seperti Yulia et al. (2019) yang melakukan tiga kali analisis dengan fase gerak yang berbeda, yaitu diklorometana : metanol (9:1) menghasilkan nilai  $R_f$  0,93, diklorometana : metanol (9,5:0,5) menghasilkan nilai  $R_f$  0,56, dan diklorometana (10) menghasilkan nilai  $R_f$  0,06. Dapat dilihat nilai  $R_f$  yang berada di rentang khusus adalah yang menggunakan fase gerak diklorometana : metanol (9,5:0,5) karena keseimbangan fase gerak antara sifat semi polar dari diklorometana dan sifat polar dari metanol [23,24]. Selain itu dalam penelitian Rahayu et al. (2023), menggunakan fase gerak metanol : etil asetat : asam asetat (3:1:6), di mana metanol dan asam asetat bersifat polar dan etil asetat bersifat semi polar [25]. Dapat disimpulkan fase gerak ini bersifat polar karena rasio polar lebih besar dibandingkan rasio non polar sehingga mampu membawa sampel lebih cepat dan lebih jauh.

Prinsip penampakan noda pada 254 nm UV menunjukkan bahwa lempeng akan berfluoresensi dan sampel akan tampak berwarna gelap. Seperti halnya hasil visualisasi yang diperoleh pada penelitian Yulia et al. (2019) dengan nilai  $R_f$  0,56 dan noda yang terlihat berwarna gelap, Mindawati et al. (2024) noda yang terlihat berwarna gelap dengan nilai  $R_f$  0,5, Nugraheni et al. (2017) nilai  $R_f$  yang diperoleh yaitu 0,55 dengan noda yang tampak berwarna gelap, Muchtaridi et al. (2017) memperoleh nilai  $R_f$  0,55 dengan noda tampak berwarna gelap, Rahayu et al. (2023) memperoleh nilai  $R_f$  0,70 dengan noda yang terlihat berwarna gelap, Misfadhila et al. (2016) noda yang terlihat berwarna gelap dengan nilai  $R_f$  yang diperoleh 0,30, Sabarni et al. (2018) memperoleh nilai  $R_f$  yaitu 0,67 dengan noda yang tampak berwarna gelap dan dalam penelitian Suwiyarsa et al. (2018) berdasarkan noda yang terlihat diperoleh nilai  $R_f$  0,375. Hal ini terjadi ketika adanya daya hubungan antara sinar ultraviolet dengan indikator fluoresensi pada lempeng (fase diam) ketika elektron yang tereksitasi dari tingkat energi dasar ke tingkat yang lebih tinggi akan melepaskan energi dan kembali ke keadaan awalnya yang menyebabkan penampakan noda pada lampu ultraviolet 254 nm [26]. Menurut Safitri et al. (2020), kafein memiliki struktur cincin aromatik. Ketika senyawa pada noda yang dianalisis mengandung ikatan rangkap terkonjugasi atau cincin aromatik, sinar ultraviolet yang dipaparkan akan diserap oleh senyawa tersebut. Akibatnya, sinar UV tidak dapat mencapai indikator fluoresensi pada lempeng, sehingga tidak terjadi emisi cahaya. Hal ini menyebabkan noda terlihat gelap dengan latar belakang yang bercahaya [27].

Terdapat interaksi antara sinar ultraviolet dan gugus kromofor yang terikat pada auksokrom di noda, yang membuat noda terlihat saat diamati dengan lampu ultraviolet 366 nm. Dalam struktur molekul kafein terdapat gugus kromofor dan auksokrom sehingga komponen dapat memancarkan cahaya ketika elektron berpindah dari tingkat energi dasar ke tingkat yang lebih tinggi dan kembali lagi ke tingkat energi dasar sambil melepaskan energi [28]. Oleh karena itu, noda yang muncul di bawah lampu ultraviolet 366 nm tampak terang karena silika gel yang digunakan tidak berfluoresensi saat terpapar sinar ultraviolet [29]. Dalam penelitian Mindawati et al. (2024) juga menggunakan lampu UV 366 nm dengan hasil noda berfluoresensi berwarna kuning dengan nilai  $R_f$  yang diperoleh yaitu 0,5. Pada penelitian Kiattisin et al. (2016) lampu UV yang digunakan yaitu 246 nm. Sedangkan, dalam Farmakope Indonesia edisi IV menetapkan 254 nm dan 366 nm sebagai standar panjang gelombang UV yang ideal untuk analisis [30]. Akan tetapi, hasil deteksi menggunakan lampu UV 246 nm yang terlihat memiliki konsep yang sama dengan hasil tampak yang menggunakan deteksi lampu UV 254 nm. Adapun hasil yang tampak pada penelitian Kaittisin et al. (2016) dengan menggunakan lampu UV 246, yaitu lempeng KLT terlihat memancarkan cahaya hijau, noda berwarna gelap dengan diperoleh nilai  $R_f$  yaitu 0,35.

### Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Keberhasilan KLT

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah metode pemisahan yang sangat bergantung pada beberapa faktor untuk mencapai hasil optimal. Ketidakstabilan fase gerak dapat mempengaruhi keberhasilan metode KLT. Pencegahan yang dapat dilakukan adalah dengan terlebih dahulu menjenuhkan bejana, yang dapat mengurangi penguapan pelarut, sehingga menghasilkan bercak yang lebih bundar dan lebih baik, serta mengoptimalkan proses pengembangan fase gerak [31,32]. Hal ini didukung oleh sebagian besar artikel yang ditinjau. Perbedaan cara penotolan dapat mempengaruhi keberhasilan KLT, di mana semakin tebal suatu noda dapat memperlambat noda yang terbawa fase gerak untuk bergerak vertikal ke atas. Akibatnya, noda akan memberikan nilai  $R_f$  yang berbeda dengan perbedaan bentuk sampel yang ditotolkan [33]. Oleh karena itu, upaya untuk menghindari kerusakan lapisan penyari pada plat adalah menggunakan alat khusus dengan pipet kapiler 5  $\mu$ L. Selain menghindari kerusakan, alat tersebut dapat mencegah terjadinya overloading dan agar distribusi setiap sampel seragam. Alat ini digunakan dalam penelitian salah satu artikel yang ditinjau, yaitu Yulia et al. (2019).

Menurut Sastrohamidjojo (1985), struktur kimia senyawa dapat mempengaruhi pula [34]. Sebagai contoh, bubuk kopi kemasan yang digunakan dalam penelitian Misfadhila et al. (2016) dan Suwiyarsa et al. (2018) telah menjalani beberapa proses, seperti penyangraian dan penggilingan hingga menjadi serbuk halus [35]. Nahroni et al. (2023), melakukan penelitian mengenai pengaruh waktu sangrai terhadap konsentrasi dan susunan kimia suatu sampel, di mana pemanasan sangrai dapat mengeringkan bahan yang menyebabkan air dalam komponen menguap dengan cepat sehingga struktur kimia suatu sampel berubah. Perubahan struktur kimia akan mempengaruhi polaritas dari senyawa (Nuria et al., 2019), dapat dilihat pada tabel hasil bubuk kopi, nilai  $R_f$  pada bubuk kopi berada di rentang paling minimum. Keberhasilan kromatografi lapis tipis juga sangat dipengaruhi oleh kualitas metode preparasi yang digunakan. Preparasi yang kurang optimal dapat mengurangi jumlah ekstrak kafein yang dihasilkan, sehingga mempengaruhi hasil deteksi pada metode kromatografi lapis tipis. Preparasi sampel biji kopi dapat dilakukan dengan berbagai metode, baik melalui pemanasan maupun tanpa pemanasan. Seperti halnya pada penelitian Nugraheni et al. (2017), preparasi sampel dilakukan dengan serangkaian metode refluks selama 25 menit menggunakan pelarut aquades. Nilai  $R_f$  yang diperoleh sebesar 0,55 menunjukkan bahwa metode ekstraksi refluks ini efektif dalam menarik senyawa kafein. Hal ini didukung oleh sifat kafein yang memiliki kelarutan tinggi dalam aquades panas, sehingga metode refluks mampu mengoptimalkan proses ekstraksi kafein [36]. Selain itu, Yulia et al. (2019) memanfaatkan bantuan ultrasonik pada suhu 40 °C dan juga berhasil mengekstraksi kafein dengan nilai  $R_f$  dalam rentang standar. Bantuan ultrasonik ini terbukti mampu mempercepat proses ekstraksi karena menghasilkan panas dan meningkatkan difusi, sehingga waktu ekstraksi menjadi lebih singkat [37]. Sementara itu, metode tanpa pemanasan seperti maserasi (Kiattisin et al., 2016; Mindawati et al., 2024) juga mampu menghasilkan ekstrak kafein yang terdeteksi pada KLT. Hal ini menunjukkan bahwa berbagai metode preparasi baik refluks, sonikasi, maupun maserasi telah terbukti efektif.

Dalam mempersiapkan sampel minuman kopi siap saji, dapat dilakukan dengan ekstraksi cair cair dengan kloroform dan menggunakan corong pisah. Seperti halnya pada penelitian Rahayu et al. (2023) dan Sabarni & Nurhayati (2018). Ekstraksi cair-cair adalah metode pemisahan yang menggunakan perbedaan densitas untuk membentuk dua fase, di mana senyawa yang larut dalam air dipisahkan dari fase air dengan bantuan pelarut organik, yaitu kloroform [38]. Penggunaan kloroform pada ekstraksi kafein dikarenakan kloroform mampu mengisolasi dan mengikat kafein dengan efektif [39]. Berdasarkan hasil kedua penelitian tersebut, kafein mampu diekstraksi dengan baik yang ditandai dengan nilai  $R_f$  memenuhi standar yaitu 0,3-0,7 [20]. Sama seperti sampel lainnya, preparasi bubuk kopi dapat dilakukan dengan ekstraksi padat-cair dengan mendidihkan bubuk kopi dalam aquades seperti yang dilakukan oleh Misfadhila et al. (2016) dan ekstraksi cair-cair menggunakan corong pisah seperti yang dilakukan oleh Suwiyarsa et al. (2018). Pada dasarnya, ekstraksi padat-cair perlu dilakukan terlebih dahulu sebelum ekstraksi cair-cair untuk melarutkan kafein dan melepaskannya dari bubuk kopi. Hal ini juga dilakukan oleh Suwiyarsa et al. (2018) dalam penelitiannya, Preparasi sampel dilakukan dengan mengambil 2 gram sampel kopi, memasukkannya ke dalam gelas, dan melarutkannya dengan 100 mL aquades mendidih sebelum melanjutkan ke tahap berikutnya, yaitu pemisahan melalui ekstraksi cair-cair. Walaupun keduanya memberikan hasil noda yang terlihat pada KLT, yang membuktikan bahwa kafein dapat terekstraksi dengan baik, namun preparasi sampel ekstraksi cair-cair memberikan pemisahan yang lebih optimal karena prinsipnya yang memanfaatkan perbedaan kelarutan antara komponen dari suatu larutan ke pelarut lain yang tidak saling bercampur [39].

### **Kelebihan dan Keterbatasan Metode KLT dalam Deteksi Kafein**

Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan teknik yang efisien untuk mendeteksi kafein, dengan sejumlah kelebihan yang menjadikannya pilihan utama dalam analisis senyawa tersebut. Secara umum, KLT memiliki kelebihan berupa proses pengujian yang sederhana dan aplikatif pada berbagai jenis senyawa, begitu pun dalam menganalisis senyawa kafein [40]. KLT merupakan metode analisis yang terjangkau dan cepat serta memberikan pemisahan yang baik antara senyawa analit dan komponen lain dalam sampel seperti hal ini yaitu kopi [8,9]. Teknik ini mampu mendeteksi senyawa kafein meskipun pada konsentrasi yang relatif rendah, menjadikannya metode yang efektif untuk deteksi awal senyawa [41]. Selain itu, KLT yang dapat memberikan hasil melalui visualisasi, memungkinkan senyawa yang memiliki fluoresensi seperti kafein dapat terlihat dengan pancaran sinar UV [21].

Walaupun KLT merupakan metode yang efektif untuk deteksi awal senyawa, teknik ini tidak mampu memberikan hasil kuantitatif yang akurat mengenai konsentrasi kafein. KLT hanya memberikan hasil semi-kuantitatif berdasarkan nilai  $R_f$ , yang tidak dapat digunakan untuk mengukur jumlah kafein dalam sampel secara tepat tanpa instrumen tambahan [10]. Keterbatasan ini menjadikan KLT sering digunakan sebagai

metode pendahuluan yang memerlukan teknik lanjutan untuk mendapatkan hasil yang lebih akurat, seperti HPLC atau spektrofotometri UV-vis, sehingga KLT tidak dapat dijadikan sebagai teknik tunggal dengan tujuan kuantitatif [10]. Dalam beberapa kasus, seperti yang ditemukan dalam penelitian oleh Muchtaridi et al. (2017) dan Kiattisin et al. (2016) yang tetap memerlukan HPLC, atau penelitian oleh Sabarni (2018), Misfadhila et al. (2016), dan Suwiyarsa et al. (2018) yang menggunakan spektrofotometri UV-vis untuk analisis kuantitatif, metode ini perlu dilengkapi dengan teknik lain untuk mendapatkan hasil kuantitatif yang lebih akurat dan resolusi pemisahan yang lebih baik [10].

## Kesimpulan

Berdasarkan tinjauan yang dilakukan, Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan metode yang efisien untuk memisahkan dan menganalisis senyawa polar seperti kafein secara kualitatif. Beberapa parameter penting dalam KLT meliputi fase diam, fase gerak, dan visualisasi nilai Rf. Penggunaan fase diam berupa silika gel 60 F254 memberikan hasil yang optimal, yang ditandai dengan nilai Rf berada dalam rentang standar (0,3-0,7). Pemilihan fase gerak yang sesuai, terutama yang bersifat polar, memainkan peran penting dalam mendukung keberhasilan proses elusi. Hasil optimal dari suatu fase gerak ditentukan oleh keseimbangan komposisi antara komponen polar dan non-polar yang digunakan, serta kesesuaiannya dengan tingkat kepolaran senyawa yang dianalisis. Hasil kajian literatur menunjukkan bahwa pemisahan kafein dalam biji kopi paling optimal dicapai melalui penggunaan fase diam silika gel 60 F254 dengan fase gerak campuran diklorometana:metanol (9,5:0,5). Beberapa faktor, seperti stabilitas fase gerak, teknik penotolan, dan perubahan struktur kimia akibat pemanasan, turut mempengaruhi keberhasilan analisis KLT. Metode preparasi sampel seperti refluks dan sonikasi terbukti efektif dalam meningkatkan ekstraksi kafein. Walaupun KLT unggul karena kesederhanaan, biaya yang terjangkau, dan kemampuannya mendeteksi senyawa pada konsentrasi rendah, metode ini memiliki keterbatasan dalam memberikan hasil kuantitatif yang akurat. Dengan demikian, KLT sangat sesuai sebagai metode pendahuluan dalam analisis senyawa, tetapi memerlukan dukungan teknik lanjutan untuk hasil kuantitatif yang lebih presisi.

## References

- [1] Wahyudi E, et al. Perkembangan perkebunan kopi di Indonesia. *Jurnal Masepi*, 2018;3(1):1-20.
- [2] Kementerian Pertanian Republik Indonesia. *Outlook Komoditas Perkebunan Kopi*. Jakarta: Kementerian Pertanian Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian; 2000.
- [3] U.S. Department of Agriculture. *Production – Coffee 2023*. <https://fas.usda.gov/data/production/commodity/0711100> (accessed Oktober 26, 2024).
- [4] Widianingsih R. *Buku Outlook Komoditas Perkebunan Kopi*. Jakarta: Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian Sekretariat Jenderal; 2023.
- [5] Budiyanti S. Memahami Makna Kopi Dalam Perilaku Keseharian: Studi Fenomenologi Kebiasaan Ngopi Pada Masyarakat Kaki Pegunungan Hyang Barat Di Kabupaten Probolinggo. *DIMENSI-Journal of Sociology*, 2022;11(1):12-22.
- [6] Husniati H, et al. Kajian: Karakterisasi senyawa aktif asam klorogenat dalam kopi robusta sebagai antioksidan. *Majalah Tegi*, 2021;12(2):34–39.
- [7] Badan Pengawas Obat dan Makanan. *Peraturan Kepala Badan POM No. 21 tahun 2016 tentang Kategori Pangan*. Jakarta: BPOM RI; 2016.
- [8] Kamaludin A, Talib S. Review Artikel: Bahaya Kandungan Bahan Kimia Obat (BKO) Dalam Kopi Serta Metode Identifikasinya. *Farmaka*, 2023;21(3):360–370.
- [9] Sa'ad A, et al. Kandungan Rhodamin B pada Sediaan Lip Tint yang Digunakan Mahasiswi Stikes Pelamonia. *Media Farmasi*, 2019;15:125-131.
- [10] Anwar H, et al. Identifikasi Komponen Antibakteri Pada Ekstrak Buah Takokak Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Mutu Pangan*, 2017;4(2):59-64.
- [11] Yulia R, et al. Pengaruh Perbedaan Spesies Luwak Terhadap Kadar Kafein dari Kopi Luwak Jenis Robusta. *Jurnal Katalisator*, 2019;4(1):1-8.
- [12] Mindawati E, et al. Pemantauan Ekstrak Simplisia Biji Kopi Hijau (*Coffea canephora* var. Robusta) dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Kesehatan Tambusai*, 2024;5(1):588-592.

- [13] Nugraheni F, et al. Perbandingan Rendemen Kristal Kafein pada Biji Kopi (*Coffea arabica* L.) dan Coklat (*Theobroma cacao* L.) dengan Menggunakan Metode Refluks. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 2017;1(1):41-48.
- [14] Kiattisin K, et al. Evaluation of Antioxidant and Anti-tyrosinase Activities As Well As Stability of Green and Roasted Coffee Bean Extracts from *Coffea arabica* and *Coffea canephora* Grown in Thailand. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 2016;8(10):182-192.
- [15] Muchtaridi, et al. Determination of Parameters Standardization Crude Drug and Extract Arabica Coffee Beans (*Coffea Arabica* L.). *International Journal of Scientific & Technology Research*, 2017;6(2):61-70.
- [16] Rahayu N, Fernanda M. Analisis Kandungan Kafein pada Minuman Kopi Siap Saji Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis-Gambar Digital. *Jurnal Farmasi dan Herbal*, 2023;6(1):54-60.
- [17] Sabarni, Nurhayati. Analisis Kadar Kafein dalam Minuman Kopi Khop Aceh dengan Metode Spektroskopik. *Lantanida Journal*, 2018;6(2):103-202.
- [18] Misfadhila S, et al. Pembuatan Kafein Salisilat Secara Semisintesis dari Bubuk Kopi Olahan Tradisional Kerinci. 2016; *Jurnal Farmasi Higea*, 8(2):175-188.
- [19] Suwiyarsa I, et al. Analisis Kadar Kafein dalam Kopi Bubuk Lokal yang Beredar di Kota Palu. *Jurnal Akademika Kimia*, 2018;7(4):189-192.
- [20] Rosamah E. Kromatografi Lapis Tipis: Metode Sederhana dalam Analisis Kimia Tumbuhan Berkayu. Samarinda: Mulawarman University Press; 2019.
- [21] Husna F, Soraya RM. Identifikasi Bahan Kimia Obat dalam Obat Tradisional Stamina Pria dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Farmaka*, 2020;18(2):16-25.
- [22] Marthia N. Pemisahan Kafein dengan Metode Microwave Assisted Extraction (MAE) Terhadap 4 Jenis Biji Kopi Robusta. *Pasundan Food Technology Journal*, 2021;8(2):51-55.
- [23] Verma, S. C. Development of A Rapid Separation Process for Curcumin from *Crucuma longa* L. Rhizomes and Its Quantification by HPLC-PDA. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2014;3(7):752-761
- [24] Nirmalasari N, et al. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Limbah Kulit Jeruk Siam Kintamani (*Citrus nobilis*) dengan Pelarut Polar, Semipolar, dan Non Polar. *Jurnal Ners*, 2024;8(1):210-215.
- [25] Kaidun R, et al. Skrining Fitokimia Fraksi Methanol, Etil Asetat, N-Heksan Ekstrak Kulit Buah Sirsak *Annona muricata* L. *Biofarmasetikal Tropis*, 2020;5(1):73-78.
- [26] Tobi C, et al. Identifikasi Senyawa Flavonoid dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Terpurifikasi Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 2023;5(5):706-776.
- [27] Gritter R, et al. Pengantar Kromatografi. Bandung: ITB; 1991.
- [28] Maimunah S, et al. Penetapan Kadar Kafein dari Bubuk Kopi yang Diperoleh dari Kota Sidikalang secara Spektrofotometri UV. *Farmanesia*, 2021;8(1):21-25.
- [29] Ade F, et al. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Alkaloid Dalam Ekstrak Etanol Daun Pandan Hutan Jenis Baru (*Freycinetia sessiliflora*). *Jurnal Komunitas Farmasi Nasional*, 2021;1(2):110-120.
- [30] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Farmakope Indonesia Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan RI; 1995.
- [31] Oktapiya T, et al. Analisis Fitokimia dan Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Sasambo Journal of Pharmacy*, 2022;3(2):105-110.
- [32] Wulandari L. Kromatografi Lapis Tipis. Jember: PT. Taman Kampus Presindo; 2011.
- [33] Prasetyawan H, et al. Teknik Aplikasi Sampel pada Pengujian Kuantitatif Kromatografi Lapis Tipis: Tinjauan Terhadap Area dan Faktor Retensi. *Media Farmasi*, 2024;20(2):143-150.
- [34] Sastrohamirdjojo H. Kromatografi. Yogyakarta: Liberty; 1985.
- [35] Arpah M. Pengawasan Mutu Pangan. Bandung: Penerbit Tarsito; 1993.
- [36] Ramdan S, et al. Isolasi dan Identifikasi Kafein dari Daun Teh Hijau, Teh Hitam, dan Teh Olong Menggunakan Spektrofotometri UV Vis. *Pharmacy Genius*, 2023;2(1):74-82
- [37] Sholihah M, et al. Aplikasi Gelombang Ultrasonik untuk Meningkatkan Rendemen Ekstraksi dan Efektivitas Antioksi dan Kulit Manggis. *Jurnal Keteknikan Pertanian*, 2017;5(2):161-168.
- [38] Elfariyanti, et al. Analisis Kandungan Kafein pada Kopi Seduhan Warung Kopi di Kota Banda Aceh. *Lantanida Journal*, 2018;8(1):1-12.
- [39] Wilantari P, et al. Isolasi Kafein dengan Metode Sublimasi dari Fraksi Etil Asetat Serbuk Daun Teh Hitam (*Camelia sinensis*). *Jurnal Farmasi Udayana*, 2018;7(2):53-62.

- [40] Pujiati L, et al. Uji Identifikasi Rhodamin B pada Liptint di Toko Kosmetik Kota X Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Sentri: Jurnal Riset Ilmiah*, 2023;2(11):4554-456.
- [41] Sari F, et al. Identifikasi Senyawa Metabolit ekstrak etanol daun beluntas (*Pluche Indica*) Secara Kualitatif dengan Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Sintesis*, 2022;3(1):1-7.