

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Pengambilan Sampel dan Determinasi Tumbuhan

Pengambilan sampel kopi robusta sebesar 5 Kg dengan kriteria buah berwarna merah yang memiliki usia 8 bulan dari Perkebunan Pekon Kubu Perahu, Kecamatan Balik Bukit, Liwa Kabupaten Lampung Barat. Determinasi sampel kopi robusta dilakukan di Laboratorium Pembelajaran Biologi Fakultas Sains dan Terapan Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta pada tanggal 29 April 2024 dengan nomor SK 224/Lab.Bio/B/V/2024 yang tertera pada Lampiran 4. Determinasi tumbuhan dilakukan dengan menyertakan foto buah, biji, batang pohon dan daun. Hasil determinasi sampel kopi robusta yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Coffea canephora* var. *robusta* (L.Linden) A.Chev.

2. Persiapan Sampel

Sampel buah kopi disiapkan sebesar 5 Kg dan diolah dengan metode pengolahan basah sehingga menghasilkan biji dan serbuk kopi yang tercantum pada Tabel 3.

Tabel 3. Rendemen Hasil Kopi Robusta

Sampel	Bobot	% Rendemen	Teori (Anggia & Wijayanti, 2023)
Buah	5 Kg	-	-
Biji mentah	1,5 Kg	30 %	22,90%
Biji sangrai	60,14 gram	4,01 %	1,6%
Serbuk	50,73 gram	84,35 %	70%

3. Uji Organoleptik Biji dan Serbuk Kopi Robusta

Uji organoleptik bertujuan untuk menggambarkan karakteristik sampel berdasarkan warna, aroma, rasa dan tekstur. Hasil organoleptik pada serbuk biji kopi dapat dilihat pada Tabel 4. Hasil organoleptik dinilai berwarna coklat gelap, aroma khas kopi, rasa pahit dan sedikit asam pada biji kopi dan keseragaman pada serbuk kopi robusta.

Tabel 4. Hasil Uji Organoleptik Biji dan Serbuk Kopi Robusta

Sampel	Penilaian	Keterangan	Teori (Widyasari <i>et al.</i> , 2023)
Biji Kopi	Warna	Cokelat gelap	Sesuai sangrai
	Aroma	Khas kopi	Khas kopi
	Rasa	Pahit sedikit asam	Pahit sedikit asam
Serbuk Kopi	Keseragaman	Seragam	Seragam

4. Penentuan Uji Alkaloid Secara Kualitatif

Uji kualitatif pada penelitian ini digunakan untuk mengetahui informasi keberadaan alkaloid. Data uji alkaloid yang didapatkan dapat dilihat pada Tabel 5 dan Lampiran 7 yang menunjukkan ketiga pereaksi diketahui terbentuk endapan dibandingkan dengan kontrol negatif (pelarut air).

Tabel 5. Hasil Uji Kualitatif pada Serbuk Kopi Robusta

Sampel	Uji Alkaloid			Keterangan (Surbakti <i>et al.</i> , 2018)
	Mayer	Wagner	Dragendorff	
Serbuk biji kopi	Membentuk endapan putih	Membentuk endapan putih	Membentuk endapan putih	Positif mengandung alkaloid
Kontrol Negatif	Tidak ada endapan dan berwarna bening	Tidak ada endapan dan berwarna bening	Tidak ada endapan dan berwarna bening	Negatif mengandung alkaloid

5. Pembuatan Ekstrak Biji Kopi Robusta

Pembuatan ekstraksi biji kopi dengan metode UAE mendapatkan persentase (%) rendemen ekstrak kental dari variasi waktu ekstraksi mencakup menit ke-15, menit ke-30 dan menit ke-45 yang dapat dilihat pada Tabel 6. Berdasarkan data tersebut, hasil

% rendemen tertinggi pada menit ke-30 sebesar 36,938% dibanding waktu ke-15 (24,111%) dan waktu ke-45(22,170%). Ekstrak kafein dapat dilakukan pada tahap berikutnya yaitu pemisahan kafein dengan ekstraksi cair-cair.

Tabel 6. %Rendemen Ekstrak Kental Biji Kopi

Sampel	Waktu (menit)	Bobot Serbuk (g)	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen (%)
Kopi	15	20,0004	4,8222	24,111
	30	20,0006	7,3876	36,937
Robusta	45	20,0005	4,434	22,170

6. Pengukuran Kadar Air pada Serbuk dan Ekstrak Biji Kopi

Pengukuran kadar air pada serbuk kopi dan ekstrak biji kopi diukur dengan *moisture analyzer* dengan suhu 100°C dapat tercantum pada Tabel 7 dan Lampiran 6. Hasil penelitian pada serbuk kopi robusta memenuhi syarat dengan kadar air pada biji kopi yaitu <5% (SNI, 2021) dan kadar air pada ekstrak yaitu <10% (FHI, 2008).

Tabel 7. Hasil Kadar Air pada Serbuk dan Ekstrak Biji Kopi

Waktu Ekstraksi (menit)	Kadar Air (%MC)	Teori
Serbuk biji kopi	3,4	<5% (SNI, 2021)
15	6,07	<10% (FHI, 2008)
30	6,39	
45	6,37	

7. Pemisahan Kafein di dalam sampel menggunakan Ekstraksi cair-cair

Pemisahan kafein guna mendapatkan kafein pada ekstrak kopi biji menggunakan ekstraksi cair-cair. Hasil persentase rendemen ekstrak kafein yang dapat dilihat pada Tabel 8. Hasil % rendemen tertinggi pada menit ke-30 sebesar 19,468% dibanding waktu ke-15 (11,224%) dan waktu ke-45 (17,291%).

Tabel 8. %Rendemen Ekstrak Kafein Biji Kopi Robusta

Sampel	Waktu (menit)	Bobot Ekstrak Kental (g)	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen (%)
--------	---------------	--------------------------	-------------------	--------------

	15	1,0005	0,1123	11,224
Kopi	30	1,0006	0,1948	19,468
Robusta	45	1,0005	0,173	17,291

8. Uji Kualitatif dengan *Scanning* Panjang Gelombang Maksimal

Scanning panjang gelombang untuk mengetahui panjang gelombang maksimal pada sampel tertentu berupa kafein. Pada penelitian ini, kontrol positif (standar kafein) dan sampel pada variasi waktu ekstraksi diketahui memiliki puncak panjang gelombang maksimal sebesar 273 nm yang dapat dilihat pada Tabel 9 dan Lampiran 11.

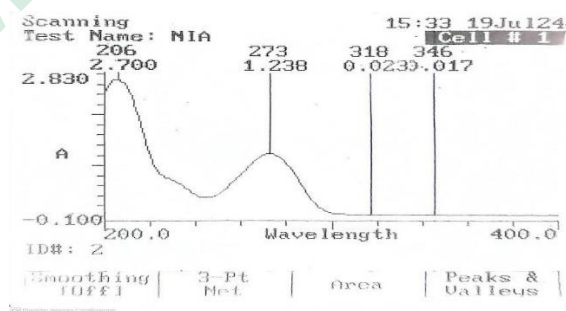
Tabel 9. Hasil *Scanning* Panjang Gelombang Maksimal

Sampel	Panjang gelombang (nm)
Kontrol positif	273
Menit ke-15	273
Menit ke-30	273
Menit ke-45	273

9. Penetapan Kadar Kafein dengan Spektrofotometri UV-Vis

a. Panjang gelombang maksimal

Panjang gelombang maksimal untuk menentukan daerah absorbs yang maksimal pada panjang gelombang tertentu. Penelitian ini mengukur standar kafein 18 ppm pada daerah 200-400 nm, sehingga diperoleh puncak panjang gelombang maksimal sebesar 273 nm dengan nilai absorbansi sebesar 1,238 (Gambar 6).

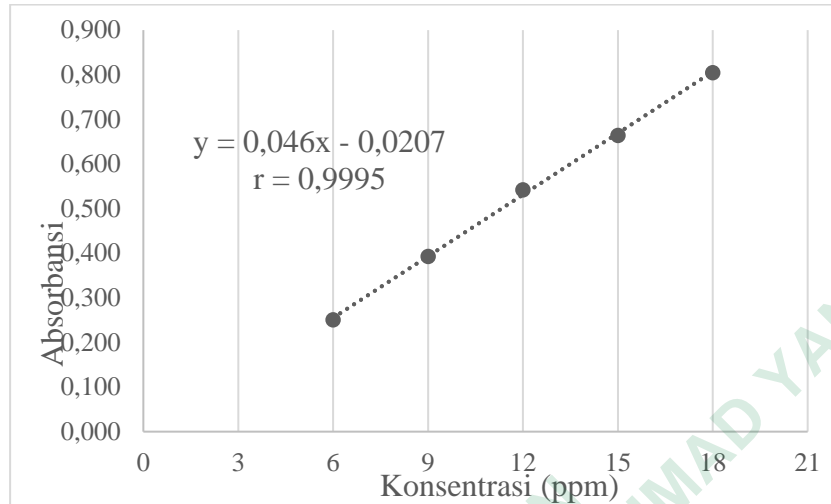


Gambar 6. Panjang Gelombang Maksimal (λ_{maks} 273 nm)

b. Pembuatan Kurva Baku

Penentuan kurva baku menggunakan seri konsentrasi standar kafein sebesar 6,

9, 12, 15 dan 18 ppm. Masing-masing konsentrasi diukur pada panjang gelombang 273 nm dengan instrument Spektrofotometer UV-Vis. Persamaan regresi linier diperoleh sebesar $y=0,046x-0,0207$ dengan nilai koefisiensi korelasi (r) adalah 0,9995 yang ditampilkan pada Gambar 7 (Gandjar & Rohman, 2008).



Gambar 7. Kurva Baku Kafein

c. Penetapan kadar kafein

Penetapan kadar kafein pada ekstrak biji kopi pada variasi waktu ekstraksi dengan persamaan regresi linier $y=0,046x-0,0207$ dapat dilihat pada Tabel 10 dan Lampiran 13. Rata-rata kadar kafein pada menit ke-15 sebesar 0,977 mgCE/mg, pada menit ke-30 sebesar 0,792 mgCE/mg dan pada menit ke-45 sebesar 0,979 mgCE/mg.

Tabel 10. Kadar Kafein pada Ekstrak Biji Kopi Robusta

Waktu (menit ke-)	Rep	Absorbansi (nm)	Kadar Kafein (ppm)	Kadar Kafein (mgCE/mg)	$\bar{x} \pm LE$ (mgCE/mg)	CV (%)
15	1	0,432	492,065	0,984	0,977±0,018	0,756
	2	0,430	489,891	0,980		
	3	0,424	483,370	0,967		
30	1	0,506	381,629	0,763	0,792±0,054	2,724
	2	0,529	398,294	0,797		
	3	0,542	407,713	0,815		
45	1	0,649	485,241	0,970	0,979±0,026	1,084
	2	0,650	485,966	0,972		
	3	0,665	496,834	0,994		

10. Analisis Data Statistik

Analisis kadar kafein menggunakan software SPSS yang bertujuan untuk membandingkan variabel bebas berupa variasi waktu ekstraksi dengan variabel terikat berupa kadar kafein pada Tabel 11. Analisis statistika menentukan data terdistribusi normal dan homogen menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dan uji *Levene*. Hasil penelitian dari uji normalitas dan uji homogenitas menunjukkan data terdistribusi normal dan homogen dengan nilai $p > 0,05$. Hasil tersebut dapat menggunakan analisis statistika parametrik yakni uji ANOVA dan uji *Post Test*. Hasil statistika tersebut mendapatkan nilai signifikansi ($p < 0,05$) sehingga dapat disimpulkan data ketiga dari variasi waktu dapat berbeda signifikan. Data analisis dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Analisis Data Statistika

Waktu	Normalitas (Uji <i>Shapiro Wilk</i>)	Homogenitas (Uji <i>Levene</i>)	ANOVA <i>One Way</i>	<i>Post-Hoc</i>
15	0,452 ^a			0,000 ^c 0,903
30	0,696 ^a	0,241 ^b	0,000 ^c	0,000 ^c 0,000 ^c
45	0,107 ^a			0,903 0,000 ^c

Keterangan:

a = Data terdistribusi Normal

b = Data terdistribusi homogen

c = Data berbeda signifikan

B. Pembahasan

Sampel penelitian ini mengambil buah kopi robusta yang berasal dari perkebunan salah satu petani Kopi Robusta di Balik Bukit, Liwa, Lampung Barat yang dianalisis kandungan kafein pada biji kopinya. Pada biji kopi robusta memiliki senyawa yang mendominasi yaitu kafein. Buah kopi disampling sejumlah 5 Kg dengan kriteria buah kopi berwarna merah dan menghasilkan dua biji kopi setiap buahnya (buah *cherry*). Buah kopi yang belum berwarna merah menandakan kopi belum matang sempurna, maka akan berpengaruh pada kualitas kopi (Widyasari *et al.*, 2023). Buah kopi yang sudah matang dan berwarna merah ditandai dengan menghasilkan buah biji kopi hijau dan lendir pada lapisan daging (Randriani & Dani, 2018). Dilakukan determinasi untuk memastikan kebenaran sampel penelitian dengan cara menyertakan foto buah, biji, batang pohon dan daun. Hasil determinasi sampel kopi robusta berupa

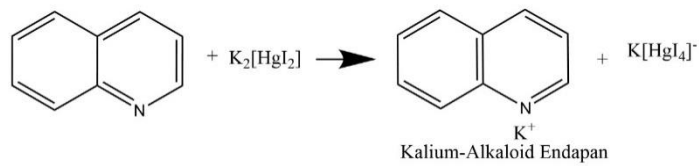
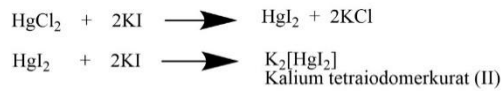
hasil dokumentasi buah, biji, batang pohon dan daun yang diserahkan di Laboratorium Pembelajaran Biologi Fakultas Sains dan Terapan Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta sehingga mendapatkan nomor SK 224/Lab.Bio/B/V/2024 dapat diamati pada Lampiran 4. Karakteristik jenis kopi robusta memiliki buah yang berwarna merah, berukuran kecil, jarak antar dompol rapat, daun lebih lancip dan batang bercabang sekunder pada Gambar 2 dan Lampiran 3 (Randriani & Dani, 2018).

Buah kopi sudah matang dengan sortasi basah menggunakan air mengalir untuk memudahkan pengupasan dan pencucian buah kopi. Pemilihan dan pengolahan kopi basah memiliki mutu yang lebih baik dibandingkan dengan pengolahan kopi kering. Metode pengolahan basah melalui tahapan yaitu perendaman, pengupasan dengan mesin *pulper* dan pencucian pada biji kopi agar menghilangkan sisa-sisa lendir pada kulit tanduk biji kopi (Sulistyaningtyas, 2017). Kemudian tiriskan biji kopi untuk mengurangi air pada biji guna menghindari adanya mikroba yang disebabkan oleh kelembapan pada biji kopi. Pengeringan sampel dengan oven dengan suhu 200°C selama 60 menit dapat mengurangi kadar air pada biji kopi robusta dan mencegah pertumbuhan organisme mikroskopis lainnya. Setelah proses pengeringan selesai, didinginkan biji kopi guna mencegah panas berlebih dan terlalu sering dipanggang hingga menjadi terbakar berlebih (*over roasted*) yang dapat mengubah kematangan, warna, rasa, dan berpotensi mempengaruhi kualitas produk akhir biji kopi (Nurhidayat, 2023). Dilakukan sortasi kering setelah pengeringan yaitu pemilihan biji kopi yang memenuhi kriteria yaitu tidak cacat, tidak gosong dan fisik utuh. Sampel biji kopi yang telah kering digiling menjadi bubuk menggunakan *grinder*. Proses ini dilakukan guna menghaluskan permukaan biji kopi. Kopi bubuk kemudian diayak melalui ayakan mesh 60 untuk memperkecil ukuran partikel sehingga mendapatkan bubuk yang homogen dan berukuran seragam (Nurhidayat, 2023). Dilakukan perhitungan rendemen untuk melihat perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan sampel. Nilai rendemen dikatakan baik jika nilainya >10% (Wardaningrum *et al.*, 2019). Hasil rendemen kopi robusta dapat dilihat pada Tabel 3 menunjukkan % rendemen pada biji mentah, biji sangrai dan serbuk sebesar 30%, 4,01% dan 84,35%. Berdasarkan penelitian Anggia & Wijayanti (2023), metode pengolahan basah pada kopi robusta menghasilkan rendemen biji kopi dan serbuk kopi sebesar 22,90% dan 70% sesuai pada penelitian ini. Hasil rendemen biji sangrai sebesar 4,01% disebabkan adanya pengurangan dari hasil sortir pada biji kopi mentah. Biji kopi mentah yang berlubang atau pecah dipisahkan dan disortir menyebabkan bobot biji kopi mentah berkurang.

Kondisi biji kopi mentah yang cacat akibat berlubang atau pecah menandakan tanaman kopi diserang hama tanaman dan menurunkan kualitas kopi sehingga dibutuhkan penyortiran pada biji kopi mentah untuk mempertahankan kualitas pada penelitian ini (Hidayat *et al.*, 2021).

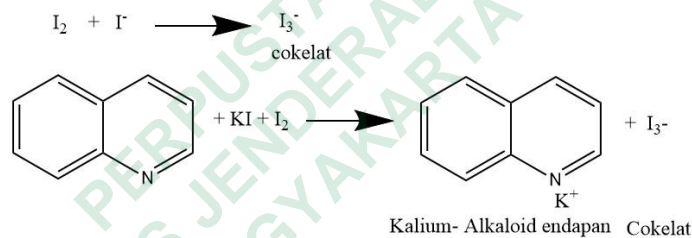
Uji organoleptik dilakukan untuk memberikan penilaian objektif dengan cara sederhana terhadap simplisia. Tes ini mengandalkan penggunaan indera untuk menggambarkan karakteristik sampel biji dan serbuk kopi berdasarkan warna, aroma, rasa dan keseragaman (Widyasari *et al.*, 2023). Hasil uji organoleptik ini dapat dilihat pada Tabel 4 yang menunjukkan warna coklat gelap, aroma khas kopi, rasa pahit sedikit asam dan seragam sesuai penelitian Widyasari *et al.*, (2023).

Analisis kualitatif dilakukan guna mengidentifikasi komponen senyawa yang ada dalam sampel. Pada uji ini menggunakan tiga pereaksi yaitu Pereaksi Mayer, Pereaksi Wagner dan Pereaksi Dragendorff. Uji alkaloid ini dilakukan dengan menambahkan amoniak dan kloroform yang bertujuan untuk memisahkan alkaloid yang terikat dan asam sulfat (H_2SO_4) yang berguna sebagai pembentuk garam alkaloid (Saputra *et al.*, 2022). Uji alkaloid digunakan dengan tiga pereaksi yaitu Mayer, Wagner dan Dragendorff (Marliana *et al.*, 2005). Hasil pengujian alkaloid pada serbuk kopi robusta terbentuk endapan kalium alkaloid menunjukkan hasil positif dengan tiga reagen tersebut. Kopi robusta mengandung senyawa alkaloid, terutama kafein merupakan salah satu senyawa alkaloid xantin di dalam kopi (Suaniti *et al.*, 2022). Pereaksi Mayer bertujuan untuk mengidentifikasi adanya alkaloid pada ekstrak kafein pada biji kopi. Hasil positif untuk alkaloid dalam Mayer ditunjukkan dengan munculnya endapan putih. Endapan ini dianggap sebagai kompleks kalium-alkaloid. Pada Mayer, merkuri (II) klorida bereaksi dengan kalium iodida untuk menghasilkan endapan merah merkuri (II) iodida. Ketika kalium iodida ditambahkan secara berlebihan, itu mengarah pada pembentukan kalium tetraiodomercurat (II) (Svehla, 1990). Alkaloid mengandung atom nitrogen dengan pasangan elektron tunggal, yang memungkinkan mereka membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam (McMurry, 2004). Selama berlangsungnya ujimayer, diyakini bahwa nitrogen dalam alkaloid bereaksi dengan ion K^+ dari kalium tetraiodomercuri (II), menghasilkan pembentukan kompleks kalium-alkaloid yang diendapkan. Perkiraan reaksi yang terjadi dapat dilihat pada Gambar 8.



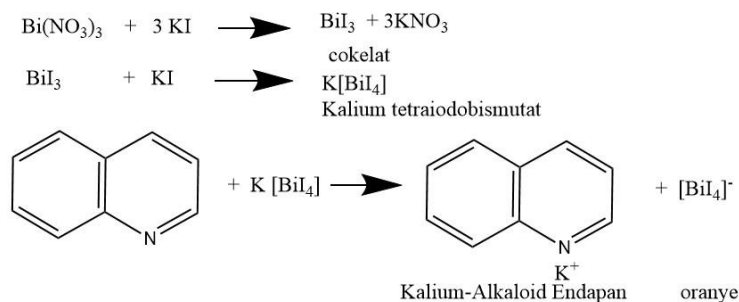
Gambar 8. Reaksi uji mayer terhadap alkaloid

Hasil positif untuk alkaloid dalam uji Wagner ditunjukkan dengan pembentukan endapan coklat muda hingga kuning. Endapan ini diyakini sebagai kompleks kalium-alkaloid. Saat menyiapkan reagen Wagner, yodium bereaksi dengan ion I^- dari kalium iodida untuk menghasilkan ion I_3^- berwarna coklat. Selama uji Wagner, ion logam K^+ membentuk ikatan kovalen koordinat dengan nitrogen dalam alkaloid, yang mengarah pada pembentukan kompleks kalium- alkaloid yang diendapkan. Reaksi dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Reaksi uji wagner terhadap alkaloid

Hasil positif untuk alkaloid dalam uji Dragendorff juga ditunjukkan dengan pembentukan endapan coklat muda hingga kuning. Endapan ini terdiri dari kompleks kalium-alkaloid. Dalam persiapan reagen Dragendorff, bismut nitrat dalam HCl untuk mencegah hidrolisis karena mudah dihidrolisis, yang mengarah pada pembentukan ion bismutil (BiO^+). Reaksi dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Reaksi uji Dragendorff terhadap alkaloid

Berdasarkan hasil uji kualitatif dengan uji Mayer, Wagner dan Dragendorff menunjukkan bahwa serbuk kopi robusta positif mengandung alkaloid yang ditunjukkan dengan adanya endapan berwarna putih. Hal ini sesuai dengan penelitian Surbakti *et al.*, (2018).

Serbuk kopi yang telah diuji kualitatif kemudian diekstraksi dengan metode *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE). Metode ekstraksi penelitian ini bertujuan membantu melarutkan suatu senyawa yang dibantu dengan getaran ultasonik <20. Pemilihan metode UAE ini karena lebih efisien dibandingkan dengan metode lainnya serta penggunaan pelarut yang lebih sedikit (Sakinah, 2019). Fatmawati *et al.*, (2002) menyebutkan pada penelitiannya menggunakan pelarut etanol 70% karena nilai kadar kafein yang didapatkan pada etanol 70% memiliki nilai yang lebih tinggi dibandingkan dengan etanol 96%. Selain itu, Fatmawati *et al.*, (2002) menyebutkan bahwa etanol 70% merupakan pelarut yang sifatnya semi polar dalam penggunaannya, artinya pelarut bisa mengekstrak senyawa-senyawa baik yang bersifat polar ataupun semipolar.

Berdasarkan pengeringan sampel yang dilakukan, jenis sangrai gelap (medium) pada serbuk kopi robusta menghasilkan kadar air (% MC) sebesar 3,40% yang dianalisis menggunakan alat *moisture analyzer*. Pada hasil tersebut sesuai dengan literatur menurut FHI (2008) bahwa kadar air yang ideal adalah <5%. Pengujian kadar air pada ekstrak kopi robusta memenuhi syarat yang baik menurut FHI, 2008 sebesar <10%. Dilakukan pengujian kadar air pada ekstrak untuk memastikan kadar air pada ekstrak memenuhi syarat. Pengujian kadar air ini bertujuan untuk memastikan kualitas sampel tetap terjaga selama penyimpanan, sehingga terhindar dari perkembangan biakan mikroba, bakteri dan kapang yang dapat merusak sampel (Suseno *et al.*, 2020).

Selanjutnya pemisahan kafein guna mendapatkan ekstrak kafein menggunakan ekstraksi cair-cair yang meliputi fase kloroform dan fase air menggunakan corong pisah. Kedua fase tersebut dapat di lihat pada Lampiran 10. Ekstraksi dilakukan dengan metode ini karena senyawa kafein larut dalam air dan sampel berada dalam bentuk larutan, maka metode ini sesuai untuk digunakan. Penambahan kalsium karbonat (CaCO_3) pada ekstraksi cair-cair ini sebagai pemisah antara kafein dan senyawa lain, membentuk kafein tetap dalam bentuk basa bebasnya (Hasibuan *et al.*, 2023). Penambahan kalsium karbonat (CaCO_3) di akhir dapat mempengaruhi hasil kadar kafein. Oleh karena itu, penambahan kalsium karbonat (CaCO_3) dilakukan di awal sehingga nilai kadar kafein tertinggi yang didapatkan akan sesuai secara urut yakni pada menit ke-45, menit ke-30 dan menit ke-15. Ekstrak kafein diuapkan untuk

dihitung nilai % rendemen ekstrak kafein dan menghasilkan ekstrak kafein. Nilai rendemen dikatakan baik jika nilainya $>10\%$ (Wardaningrum *et al.*, 2019). Nilai rendemen pada hasil ekstrak biji kopi robusta dari berbagai variasi waktu menghasilkan % rendemen yang bervariasi. Nilai rendemen paling tinggi diketahui pada menit ke-30 (36,930%) dibandingkan menit ke-15 (24,111%) dan menit ke-45 (22,170%). Hal ini menunjukkan hasil ekstraksi waktu menit ke-30 paling tinggi dibandingkan menit ke-15 dan menit ke-45. Faktor yang mempengaruhi perbedaan nilai rendemen pada menit ke-30 lebih tinggi dibandingkan menit 15 dan 45 yaitu kemungkinan pada menit ke-30 kadar air yang dihasilkan lebih tinggi sehingga diperlukan pengeringan lagi menggunakan *oven* hingga kadar air nya lebih kecil dibandingkan menit ke-45. Kemudian hasil rendemen ekstrak kafein tertinggi pada menit ke-30 sebesar (19,468%) dibandingkan pada menit ke-15 (11,224%) dan menit ke-45 (17,291%). Hal ini berkorelasi antara data % rendemen ekstrak biji kopi robusta dengan % rendemen ekstrak kafein yang menunjukkan hasil ekstraksi waktu menit ke-30 paling tinggi dibandingkan menit ke-15 dan menit ke-45 sehingga kedua data tersebut dianalisis dengan uji *Pearson*. Hasil uji *Pearson* diperoleh nilai korelasi sebesar 0,631 menunjukkan korelasi positif dengan data berbeda signifikan ($p > 0,05$).

Selanjutnya dilakukan uji kualitatif dengan *scanning* panjang gelombang maksimal untuk mengonfirmasi adanya senyawa kafein pada ekstrak dengan panjang gelombang tertentu. Kafein merupakan suatu alkaloid xantin yang memiliki gugus kromofor sehingga dapat dianalisis dengan Spektrofotometri UV-Vis (Carciochi *et al.*, 2021). Hasil *scanning* panjang gelombang maksimal pada hasil sampel dan standar kafein menunjukkan puncak pada 273 nm sebesar 1,238 pada Lampiran 11. Hal tersebut menunjukkan sampel biji kopi robusta mengandung alkaloid menggunakan berbagai pereaksi maupun *scanning* panjang gelombang maksimal, maka selanjutnya dikonfirmasi dengan uji kuantitatif untuk menentukan kadar kafein.

Metode kuantitatif yang diterapkan dalam penelitian ini adalah metode Spektrofotometri UV-Vis. Proses pengujian dimulai dengan membuat larutan baku kafein 200 ppm dan kurva baku dengan konsentrasi sebesar 6, 9, 12, 15 dan 18 ppm. Kemudian panjang gelombang maksimal diukur guna mengetahui panjang gelombang maksimal pada senyawa kafein sehingga didapatkan panjang gelombang maksimal sebesar 273 nm. Kurvabaku kafein dapat dilihat pada Lampiran 12, sehingga persamaan regresi lineary= $0,046x-0,0207$ memenuhi syarat linearitas yang baik dengan nilai r mendekati 1 ($\geq 0,999$) yang artinya hubungan antara konsentrasi dengan kadar

berbanding lurus yaitu semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi kadar. Berdasarkan hasil kadar kafein yang didapatkan regresi linear tersebut pada Tabel 9, yakni $0,977 \pm 0,018$ mgCE/mg pada menit ke-15, $0,792 \pm 0,054$ mgCE/mg pada menit ke-30 dan $0,979 \pm 0,026$ mgCE/mg pada menit ke-45. Didapatkan nilai kadar kafein pada menit ke-15 lebih tinggi dibandingkan menit ke-30 karena kadar air yang dihasilkan pada menit ke-30 lebih besar, sehingga kadar kafein yang didapatkan pada menit ke-30 lebih rendah. Oleh karena itu, diperlukan pengentalan kembali pada menit ke-30 lalu uji kadar air pada ekstrak menit ke-30 hingga kadar air yang didapatkan lebih rendah dari menit ke-45. Nilai kadar kafein yang didapatkan pada penelitian ini sesuai dengan penelitian Carciochi *et al.*, (2021) yang menyatakan nilai kadar kafein tertinggi pada menit ke-45. Oleh karena itu, bahwa waktu ekstraksi dapat mempengaruhi nilai kadar kafein pada biji kopi robusta yang diekstraksi dengan metode UAE.

Data kadar kafein yang diperoleh dan diolah dengan aplikasi SPSS Versi 29. *Software SPSS* tersebut digunakan bertujuan untuk menentukan data terdistribusi normal, homogen dan perbedaan data secara signifikan atau tidak antar data. Uji normalitas dapat digunakan dengan uji *Shapiro-Wilk*, sementara uji homogenitas dilakukan dengan uji *Levene's*. Menurut analisis *Shapiro-Wilk* dan uji *Levene's* (Tabel 10), antar data kadar kafein menunjukkan nilai $p > 0,05$ sehingga data homogen dan normal. Berdasarkan data yang dihasilkan normal dan homogen, maka dapat dilanjutkan dengan uji *One-Way ANOVA*. Hasil analisis *One-Way ANOVA* mendapatkan perbedaan data secara signifikan ($p < 0,05$). Oleh karena itu, dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc* menunjukkan data sampel menit ke-30 terhadap sampel ke-15 dan sampel menit ke-45 berbeda signifikan.

Berdasarkan hasil akhir pada analisis kuantitatif dan kualitatif dalam penelitian ini, diperoleh bahwa sampel kopi robusta dari perkebunan salah satu petani kopi robusta di Balik Bukit, Liwa, Lampung Barat mengandung alkaloid dengan nilai kadar kafein yang berbeda-beda pada masing-masing waktu ekstraksi secara signifikan.