

**ANALISIS KADAR KAFEIN DENGAN METODE
KLT- DENSITOMETRI PADA PRODUK TEH
YANG BEREDAR DI JEMBER**

SKRIPSI



Oleh:

Nur Khomah Sabawanti

NIM. 19040095

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
JEMBER
2023**

**ANALISIS KADAR KAFEIN DENGAN METODE
KLT- DENSITOMETRI PADA PRODUK TEH
YANG BEREDAR DI JEMBER**

SKRIPSI

Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)



Oleh:

Nur Khomah Sabawanti

NIM. 19040095

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
JEMBER
2023**

LEMBAR PERSETUJUAN

Hasil Penelitian ini telah diperiksa oleh pembimbing dan telah disetujui untuk mengikuti seminar Hasil pada Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi Jember

Jember, 27 September 2023

Pembimbing Utama,



apt. Sholihatil Hidayati, M.Farm
NIDN. 0509088601

Pembimbing Anggota



apt. Dhina Ayu Susanti, M.Kes
NIDN. 0729098401

LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul "*Analisis Kadar Kafein dengan Metode KLT-Densitometri Pada Produk Teh Yang Beredar di Jember*" telah diuji dan disahkan oleh Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada:

Hari : Rabu

Tanggal : 27 September 2023

Tempat : Program Studi S1 Farmasi Universitas dr. Soebandi

Tim Penguji
Ketua Penguji,



Drs. Hendro Prasetyo, S.Kep.Ns., M.Kes.
NIDN.4027035901

Penguji II,



apt. Sholihatil Hidayati, M.Farm
NIDN. 0509088601

Penguji III,



apt. Dhina Ayu Susanti, M.Kes
NIDN. 0729098401

Mengesahkan,

Universitas dr. Soebandi

Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan



apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm
NIDN. 07030668903

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Nur Khomah Sabawanti

NIM : 19040095

Program Studi : Sarjana Farmasi

Menyatakan dengan ini sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Analisis Kadar Kafein dengan Metode KLT-Densitometri Pada Produk Teh Yang Beredar di Jember” adalah benar – benar karya sendiri kecuali kutipan yang telah disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institut dan buku kaya orang lain. Saya bertanggung jawab terhadap keabsahan isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta saya bersedia mendapatkan sanksi akademik jika di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 27 September 2023

Yang menyatakan,



Nur Khomah Sabawanti
NIM. 19040095

**ANALISIS KADAR KAFEIN DENGAN METODE
KLT- DENSITOMETRI PADA PRODUK TEH
YANG BEREDAR DI JEMBER**

Oleh

**Nur Khomah Sabawanti
NIM. 19040095**

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : apt. Sholihatil Hidayati, M.Farm

Dosen Pembimbing Anggota: apt. Dhina Ayu Susanti, M.Kes

HALAMAN PERSEMBAHAN

Teriring do'a dan Puji Syukur kepada Allah SWT berkat Rahmat dan Hidayah-Nya dalam memberikan kemudahan, petunjuk dan keyakinan serta kelancaran sehingga saya dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini:

Skripsi ini saya persembahkan kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan rahmat, taufik serta hidayah-nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Ayahanda saya Duweni Bagyo dan Sujoko serta ibu saya Parminah yang telah memberikan doa, dukungan, motivasi tiada henti, dan kebutuhan lainnya. Terimakasih telah berusaha memberikan yang terbaik sehingga saya mampu menyelesaikan skripsi ini dengan lancar.
3. Ketiga nenek saya tercinta yang selalu memberikan banyak do'a tiada henti.
4. Segenap Dosen Jurusan Farmasi yang telah memberikan ilmu.
5. Ibu apt. Sholihatil Hidayati, M.Farm dan Ibu apt. Dhina Ayu Susanti, M.Kes selaku dosen pembimbing I dan II saya yang telah memberikan semangat serta bimbingan dengan penuh kesabaran. Terimakasih atas bimbingan yang ibu berikan sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini dengan tepat waktu.

6. Laboran Farmasi ibu Nabila Hermawanti K.S., S.Farm dan Nanda Letitia Ivana, S.Si yang telah banyak membantu saya dalam penelitian ini hingga selesai.
7. Almamater Universitas dr. Soebandi Jember.
8. Teman – teman kontrakan Bata Merah (Warta, Rany, Mega, Intan) dan juga dikhususkan kepada Malinda, Mega Cahya, Warta, dan Intan yang telah banyak membantu dan menemani saya dalam penelitian serta banyak memberikan dukungan serta motivasi sehingga saya tidak malas dalam mengerjakan skripsi ini.

MOTTO

“ Pada akhirnya takdir Allah selalu baik. Walaupun terkadang perlu air mata untuk menerimanya “

-[Umar bin Al-Khattab]-

“ Jikalau kita letih karena kebaikan, maka sesungguhnya kelelahan itu akan hilang dan kebaikan akan kekal. Namun jikalau kita bersenang- senang dengan dosa maka sesungguhnya kesenangan itu akan hilang dan dosa itu akan kekal”

-[Umar bin Al-Khattab]-

“ Ketika kamu ikhlas menerima semua kekecewaan dalam hidup, maka Allah akan membayar tuntas kekecewaan dengan beribu -ribu kebaikan “

-[Ali bin abi thalib]-

“ Lakukan apapun yang ingin kamu lakukan, impianmu adalah milikmu sendiri, jangan perdulikan apa yang orang lain pikirkan tentang dirimu “

-[Huang Renjun NCT Dream]-

ABSTRAK

Khomah Sabawanti, Nur*, Hidayati, Sholihatil**, Susanti, Dhina Ayu***, 2023. **Analisis Kadar Kafein dengan Metode KLT- Densitometry Pada Produk Teh Yang Beredar di Jember.** Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember.

Latar belakang: Teh memiliki kandungan senyawa alkaloid utama salah satunya adalah kafein. Kafein sendiri memiliki efek farmakologi, tetapi kafein juga dapat menimbulkan efek samping negatif apabila dikonsumsi secara berlebihan. Berdasarkan SNI 01-7152-2006 kadar kafein yang diizinkan yaitu 150 mg/hari atau per sajian yang terdapat dalam makanan juga minuman, oleh karena itu dilakukan penelitian dengan tujuan mengetahui kadar kafein dalam produk teh yang beredar di Jember.

Metode: Desain penelitian yang digunakan adalah eksperimen laboratorium dengan menggunakan metode KLT- Densitometri. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak kental teh hitam, teh hijau dan teh oolong. Selanjutnya Analisis kadar kafein menggunakan metode KLT- Densitometri.

Hasil : Hasil dari penelitian ini berupa fase gerak dengan kloroform p.a: etanol p.a (99:1), dan hasil dari analisis yang dilakukan diketahui bahwa setiap 20 mg ekstrak kental teh mengandung rata-rata % kadar sebanyak 0,5360%, 0,4475%, dan 0,4666% dan kadar kafein setiap sajian atau per kantong secara berurut adalah teh hitam 16,08 mg, teh hijau 13,425 mg dan teh oolong 13,998 mg maka jika dalam 1 hari teh dikonsumsi sebanyak 3 kali maka kadar teh hitam, teh hijau dan teh oolong adalah 48,24 mg/hari, 40,275 mg/hari dan 41,994 mg/hari.

Kesimpulan: Berdasarkan hasil dari analisis yang dilakukan 3 jenis sampel teh yang digunakan masuk dalam persyaratan jumlah kandungan kafein pada makanan dan minuman serta memiliki kadar kafein di bawah kadar maksimal yang ditetapkan oleh pemerintah pada SNI 01-7152-2006 yaitu 150 mg/hari.

Kata Kunci: Jenis Teh, Analisis kadar, kafein, KLT-Densitometri

*Peneliti

**Pembimbing 1

*** Pembimbing 2

ABSTRACT

Khomah Sabawanti, Nur*, Hidayati, Shobayaril**, Susanti, Dhina Ayu***, 2023. ***Analysis of caffeine levels using the TLC- Densitometry method in tea products circulating in Jember.*** Thesis. Bachelor of Pharmacy Study Program, University of dr. Soebandi Jember.

Background: Tea contains major alkaloid compounds, one of which is caffeine. Caffeine itself has pharmacological effects, but caffeine can also cause negative side effects if consumed in excess. Based on SNI 01-7152-2006 the permitted caffeine level is 150 mg/day or per serving found in food and drinks, therefore research was carried out with the aim of finding out the caffeine levels in tea products circulating in Jember.

Method: The research design used was a laboratory experiment using the TLC- Densitometry method. The samples used in this research were thick extracts of black tea, green tea, and oolong tea. Next, analyze the caffeine levels using the TLC- Densitometry method.

Results: The results of this research are in the form of a mobile phase with chloroform p.a: ethanol p.a (99:1), and the results of the analysis carried out show that every 20 mg of thick tea extract contains an average % content of 0.5360%, 0.4475%, and 0.4666% and the caffeine content per serving or per bag respectively is black tea 16.08 mg, green tea 13.425 mg and oolong tea 13.998 mg so if in 1 day the tea is consumed 3 times then the levels of black tea, green tea and oolong tea is 48.24 mg/day, 40.275 mg/day and 41.994 mg/day.

Conclusion: Based on the results of the analysis carried out, the 3 types of tea samples used fall within the requirements for caffeine content in food and drinks and have caffeine levels below the maximum level set by the government in SNI 01-7152-2006, namely 150 mg/day.

Keywords: Types of Tea, Content Analysis, Caffeine, TLC-Densitometry

*Researcher

**Supervisor 1

*** Supervisor 2

KATA PENGANTAR

Puji Syukur kepada Allah SWT atas segala rahmat, serta hidayah-Nya yang sehingga peneliti dapat menyelesaikan penyusunan skripsi dengan judul “Analisis Kadar Kafein dengan Metode KLT-Densitometri Pada Produk Teh Yang Beredar di Jember” untuk salah satu syarat memperoleh gelar sarjana, dalam menyusun skripsi ini penulis dibimbing dan dibantu oleh karena itu penulis mengucapkan terimakasih terutama kepada:

1. Andi Eka Pranata, S.ST., S.Kep.,Ns.,M.Kes selaku Rektor Universitas dr. Soebandi Jember
2. Ibu apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi.
3. Ibu apt. Dhina Ayu Susanti, M.Kes selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi dan pembimbing II
4. Ibu apt. Sholihatil Hidayati, M.Farm selaku dosen pembimbing I.

Dalam menyusun skripsi ini penulis menyadari masih jauh dari kata sempurna, oleh karena itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran untuk perbaikan di masa mendatang.

Jember, 27 September 2023

Nur Khomah Sabawanti
NIM 19040095

DARTAR ISI

LEMBAR PERSETUJUAN	Error! Bookmark not defined.
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
MOTTO	ix
ABSTRAK.....	x
ABSTRACT.....	xi
KATA PENGANTAR.....	xii
DARTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xviii
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar belakang	1
1.2 Rumusan masalah.....	3
1.3 Tujuan penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Bagi Peneliti.....	4
1.4.2 Bagi Ilmu Pengetahuan	4
1.4.3 Bagi Masyarakat	4
1.5 Keaslian Penelitian	5
BAB 2 TINJAUAN PUATAKA.....	6
2.1 Tanaman Teh.....	6
2.1.1 Jenis Teh Berdasarkan Proses Pengolahan.....	8
2.1.2 Kandungan dan Manfaat Teh.....	11
2.2 Kafein	11
2.2.1 Pengertian Kafein dan Struktur Kafein	11
2.2.2 Sifat Kimia Kafein	13
2.3 Kandungan Kafein dari jenis Teh.....	14
2.4 Ekstraksi.....	15
2.4.1 Jenis Ekstraksi.....	15
2.4.2 Cara-cara Ekstraksi	16

2.5 Tinjauan Pelarut Metanol.....	20
2.6 Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	21
2.6.1 Sistem Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	22
2.7 Densitometri.....	23
BAB 3 KERANGKA KONSEP	26
3.1 Kerangka Konsep	26
BAB 4 METODE PENELITIAN	27
4.1 Desain Penelitian.....	27
4.2 Populasi dan Sampel.....	27
4.2.1 Populasi	27
4.2.2 Sampel.....	27
4.3 Variabel Penelitian	28
4.3.1 Variabel bebas (<i>Independent Variable</i>).....	28
4.3.2 Variabel Terikat (<i>Dependent Variable</i>).....	28
4.3.3 Variabel Kontrol	28
4.4 Tempat Penelitian.....	28
4.5 Waktu Penelitian	28
4.6 Definisi Operasional	29
4.7 Alat dan Bahan.....	30
4.8 Teknik Pengumpulan Data.....	30
4.8.1 Ekstraksi Maserasi	30
4.8.2 Optimasi Panjang Gelombang	31
4.8.3 Analisis Kadar Kafein menggunakan KLT-Densitometri.....	31
BAB 5 HASIL PENELITIAN.....	33
5.1 Identifikasi Kandungan Kafein Dengan KLT- Densitometri.....	33
5.1.1 Ekstraksi Maserasi	33
5.1.2 Uji Fase Gerak	33
5.1.3 Penentuan Panjang Gelombang	35
5.1.4 Nilai (<i>Retardation Faktor</i>) Standar dan Sampel.....	36
5.2 Analisis Kadar Kafein pada produk teh yang beredar di Jember berdasarkan ketentuan SNI.....	37
5.2.1 Penentuan Konsentrasi	37
5.2.2 Penentuan Kurva Baku	37
5.2.3 Penentuan nilai AUC dan % Kadar Kafein	38
5.2.4 Analisis kadar kafein pada produk teh berdasarkan ketentuan SNI.....	39
BAB 6 PEMBAHASAN	40

6.1 Mengidentifikasi Kandungan Senyawa Kafein Dengan Menggunakan Metode KLT-Densitometri.....	40
6.2 Menganalisis Kadar Kafein Pada Produk Teh Yang Beredar di Jember Berdasarkan Ketetapan SNI	44
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	47
7.1 Kesimpulan	47
7.2 Saran	47
7.2.1 Bagi Peneliti.....	48
7.2.2 Bagi ilmu pengetahuan.....	48
7.2.3 Bagi Masyarakat	48
DAFTAR PUSTAKA.....	49
LAMPIRAN	49

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian.....	5
Tabel 2.1 Kadar Kafein pada Tiap Jenis Teh per Cangkir.....	15
Tabel 4.1 Definisi Operasional.....	31
Tabel 5.1 Hasil ekstraksi maserasi produk teh.....	35
Tabel 5.2 Nilai Rf standar kafein dan Rf sampel.....	39
Tabel 5.3 Hasil perhitungan % kadar dan scanning KLT- Densitometri.....	40
Tabel 5.4 Analisis kadar kafein berdasarkan ketetapan SNI.....	41

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Teh	7
Gambar 2.2 Proses Pengolahan Teh.....	8
Gambar 2.3 Struktur Kimia Kafein	14
Gambar 3.1 Kerangka Konsep	27
Gambar 5.1 Fase gerak kloroform p.a : etanol p.a (99:1).....	35
Gambar 5.2 Panjang gelombang maksimum 275 nm	37
Gambar 5.3 Kurva baku standar kafein konsentrasi 25;250;450;500ppm.....	39

DAFTAR SINGKATAN

AUC : *Area under the curve*

CTC : *Crushing tearing curling*

FDA : *Food drug administration*

Ge : Germanium

HPLC : *High performance liquid chromatography*

KLT : Kromatografi lapis tipis

Mg : Magnesium

Mo : Molibdenium

Rf : *Retardation factor*

Se : Selenium

Zn : Seng

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Teh suatu jenis minuman yang paling banyak digemari dan paling banyak dikonsumsi di Dunia terbuat dari tanaman bernama *Camellia sinensis*. Selain sebagai minuman, teh juga dipercaya memiliki banyak manfaat dan khasiat bagi kesehatan tubuh seperti mampu mengobati serta mencegah beberapa jenis penyakit, contohnya kanker, jantung koroner, diabetes, mengurangi stres, untuk menstabilkan berat tubuh agar tetap ideal, juga dapat berfungsi sebagai penurunan tekanan darah, dan dapat juga digunakan sebagai bahan pelembut kulit (Verawati dkk., 2016). Terdapat beberapa senyawa kimia yang terkandung dalam teh yaitu aromatik, vitamin, mineral, protein, asam amino, resin, klorofil dan kandungan alkaloid utama salah satunya adalah kafein (Towaha, 2013).

Kafein merupakan senyawa alkaloid dengan rumus kimia $C_8H_{10}N_4O_2$, umumnya dikenal sebagai 1,3,7-*trimethylxanthine* atau 1,3,7-*trimethyl-2,6-* dioxopurin. Kafein dapat meningkatkan kinerja psikomotor sehingga tubuh akan tetap terjaga selain itu kafein juga memberikan efek fisiologis yaitu berupa peningkatan energi (Asfar, 2017). Meski kafein memiliki efek farmakologi, tetapi kafein juga dapat menimbulkan efek samping negatif apabila dikonsumsi secara berlebihan. Manfaat dari kafein sendiri dapat diperoleh jika penggunaannya sesuai dengan anjuran dosis yang sudah ditetapkan (Arwangga dkk., 2016). Jumlah atau dosis kafein yang tepat dapat memberikan manfaat kesehatan seperti diuretik, efek positif pada sistem saraf pusat, astringen, antiasma,

meningkatkan sekresi asam dan pepsin, meningkatkan metabolisme asam lemak bebas dan glukosa plasma (Gutiérrez dkk., 2020).

Berdasarkan FDA (*Food Drug Administration*) kadar kafein yang diizinkan adalah 100 sampai 200 mg/hari (Fahmi Arwangga dkk., 2016). Sedangkan menurut SNI 01-7152-2006 menyatakan bahwa ketetapan bioaktif kafein dalam pangan memiliki batas maksimum yaitu 150 mg/hari atau per sajian yang terdapat dalam makanan juga minuman (Fahmi Arwangga dkk., 2016). Adapun mengonsumsi teh lebih dari dua cangkir per hari memiliki resiko terhadap kesehatan karena dalam satu cangkir teh mengandung 40 sampai 100 mg kafein. Efek samping negatif jika kafein dikonsumsi dalam jumlah berlebih diantaranya yaitu tremor, gugup, kegelisahan, kejang, hipertensi hingga bisa menyebabkan kematian (Verawati dkk., 2016).

Pemisahan senyawa kafein dalam teh salah satunya dengan metode ekstraksi. Proses ekstraksi merupakan suatu metode yang digunakan untuk memisahkan senyawa organik dari campuran senyawa lain. Secara teliti metode ini melarutkan satu atau lebih senyawa dalam pelarut yang sesuai. Kafein yang terdapat pada daun teh berbentuk basa bebas sehingga dapat larut dalam pelarut organik (Chaugule dkk., 2019). Salah satu pelarut organik yang dapat digunakan untuk melarutkan kafein adalah metanol, sehingga digunakan metanol sebagai pelarutnya, metanol dikenal sebagai pelarut polar yang memiliki keunggulan karena mampu melarutkan senyawa polar seperti golongan fenolik (asam fenolik, flavonoid, tanin dan lignin) (Triani dan Rahmawati, 2017).

Analisis kadar kafein pada teh dapat menggunakan metode KLT- Densitometri karena dapat digunakan sebagai analisis kadar senyawa aktif yang terdapat dalam bahan

alam maupun senyawa sintetis dengan baik. Metode KLT-Densitometri memiliki banyak kelebihan salah satunya memiliki spesifikasi yang tinggi, metode ini dapat dilakukan dengan mudah dan cepat, hasil yang didapatkan dapat dipercaya, pemilihan fase gerak memiliki fleksibilitas yang besar, biaya yang harus dikeluarkan juga relatif lebih murah salah satunya dengan pelarut yang digunakan sedikit dan *silica gel* sebagai fase diam mudah didaur ulang (Savitri dan Megantara, 2019).

Terdapat beberapa jenis teh yang beredar di Jember seperti teh hitam, teh hijau, dan teh oolong. Berdasarkan latar belakang di atas peneliti merasa butuh untuk melakukan penelitian ini. Oleh karena itu dilakukan penelitian dengan tujuan mengetahui kadar kafein dalam produk teh yang beredar di Jember.

1.2 Rumusan masalah

Berapakah analisis kadar kafein pada produk teh yang beredar di Jember berdasarkan ketentuan SNI?

1.3 Tujuan penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui kadar kafein pada produk teh yang beredar di Jember berdasarkan ketentuan SNI

1.3.2 Tujuan Khusus

- 1) Mengidentifikasi kandungan kafein dengan metode KLT- Densitometri pada produk teh yang beredar di Jember.
- 2) Menganalisis kadar kafein pada produk teh yang beredar di Jember berdasarkan ketentuan SNI

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Hasil penelitian ini dapat menjadi tambahan ilmu bagi peneliti yang dapat diterapkan dalam kehidupan sehari-hari.

1.4.2 Bagi Ilmu Pengetahuan

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bagi ilmu pengetahuan mengenai analisis kadar kafein dengan metode KLT- Densitometri pada produk teh yang beredar di Jember berdasarkan ketentuan SNI

1.4.3 Bagi Masyarakat

Penelitian ini dapat menjadi sumber informasi bagi pembaca mengenai kadar kafein pada jenis teh, sehingga bisa digunakan sebagai referensi untuk mengonsumsi jenis teh dengan tepat.

1.5 Keaslian Penelitian

Tabel 1. 1 Keaslian Penelitian

Judul Penelitian	Persamaan	Perbedaan
Penetapan Kadar Kafein Pada Teh Kering Kemasan Produksi Industri Teh di Pekalongan (Widhyani dkk., 2021)	a. Menggunakan sampel teh	a. Menggunakan metode HPLC, sedangkan peneliti menggunakan metode KLT-Densitometri b. Ekstraksi menggunakan metode refluks, sedangkan peneliti sampel diekstraksi menggunakan metode maserasi
Penetapan Kadar Konsumsi Kafein Dalam Minuman Teh Seduhan Yang Beredar di Pasaran Secara KLT-Densitometri (Verawati ddk., 2016)	a. Menggunakan metode KLT-Densitometri b. Menggunakan sampel teh	a. Menggunakan sampel teh celup, sedangkan peneliti menggunakan teh kering kemasan. b. Sampel teh hanya diekstraksi dengan cara penyajian biasa yaitu diseduh dengan air panas selama 2 menit, sedangkan peneliti sampel teh diekstraksi menggunakan metode maserasi dan diuapkan sehingga didapat ekstrak kental
Isolasi Kafein Dengan Metode Sublimasi dari Fraksi Etil Asetat Serbuk Daun Teh Hitam (Camelia sinensis) (Wilantari, 2018)	a. Menggunakan metode KLT-Densitometri b. Menggunakan sampel teh	a. Menggunakan satu sampel teh yaitu daun teh hitam, sedangkan peneliti menggunakan tiga sampel produk teh yaitu teh hitam, teh hijau dan teh oolong yang beredar di Jember b. Menggunakan metode digesti, sedangkan peneliti menggunakan metode maserasi

BAB 2 TINJAUAN PUATAKA

2.1 Tanaman Teh

Teh merupakan minuman yang terbuat dari pucuk termuda daun tanaman teh *Camellia sinensis*, yang telah mengalami proses pengolahan seperti pelayuan, oksidasi, enzimatis, penggilingan dan pengeringan (Towaha, 2013). Teh sudah lama dikenal dalam kehidupan masyarakat Indonesia. Beberapa senyawa kimia dalam teh dapat memberikan kesan warna, rasa, dan aroma yang menyenangkan bagi peminumnya, sehingga hingga saat ini teh menjadi salah satu minuman yang paling digemari (Anjarsari, 2016). Semua jenis teh tersebut dibuat dari bahan baku yang sama yaitu spesies *Camellia sinensis*. Terdapat dua varietas utama tanaman teh yang dibudidayakan secara komersial, yaitu *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze var. *sinensis* dan *Camellia sinensis* (Master) Kitamura var. *assamica*. *Camellia sinensis* (L.). O. Kuntze var. Tanaman teh dapat mentolerir suhu dingin maupun panas (Rohdiana, 2015).

Menurut (Dahlia, 2014) tanaman teh *Camellia sinensis* diklasifikasikan seperti dibawah:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Sub divisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledonae</i>
Sub kelas	: <i>Dialypetalae</i>
Ordo	: <i>Guttiferales (Clusiales)</i>

Familia : *Camelliaceae (Theaceae)*

Genus : *Camellia*

Spesies : *Camellia Sinensis*



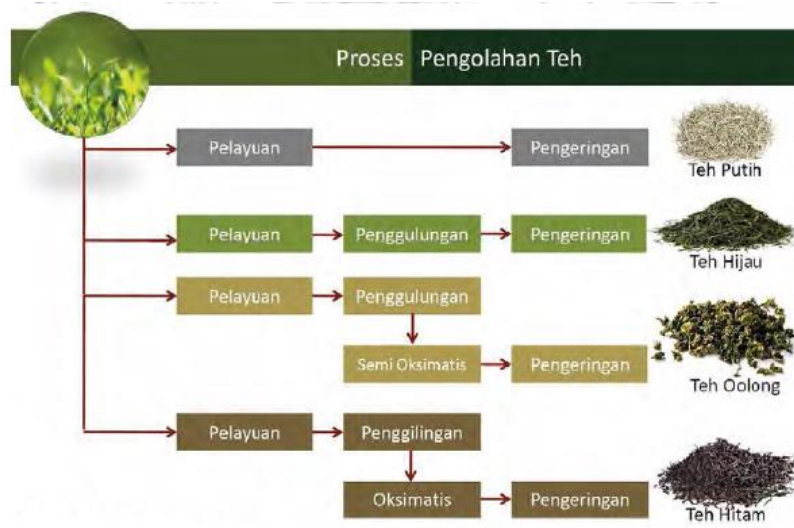
Gambar 2.1 Tanaman Teh (Maghiszha, 2019)

Tanaman teh merupakan tanaman perdu yang tumbuh di daerah tropis dan subtropis. Tanaman teh bisa mencapai tinggi 914 cm, namun biasanya selalu dipotong sepanjang 60-150 cm untuk perawatan. Daun teh muda berwarna hijau pucat dengan bulu-bulu putih di bagian bawah daun, sedangkan daun teh tua berwarna hijau tua (Dahlia, 2014). Tanaman teh cocok ditanam di daerah pegunungan, tanaman teh harus memiliki kecocokan iklim dan tanah agar tanaman dapat tumbuh dengan baik, tanaman teh dapat tumbuh dengan baik pada ketinggian 250-1.200 mdpl. Dalam membudidayakan tanaman teh harus memperhatikan faktor iklim, seperti suhu udara yang baik antara 13-15° C, kelembaban relatif per hari >70%, curah hujan tahunan minimal 2000 mm, dan curah hujan minimal 60 mm/bulan. Tanah yang cocok untuk menanam tanaman teh adalah tanah yang subur dan kaya bahan organik (Muchtar, 2021).

Teh juga terbukti memiliki banyak manfaat bagi kesehatan tubuh, antara lain anti kanker, antioksidan, anti mikroba, anti bakteri, anti arterosklerosis, mendukung kesehatan jantung, diabetes, meningkatkan sistem kekebalan tubuh, menurunkan kolesterol, mencegah karies gigi dan bau mulut, memperlancar aliran urin, mencegah stroke dan menurunkan tekanan darah tinggi (Noriko, 2013).

2.1.1 Jenis Teh Berdasarkan Proses Pengolahan

Menurut Rohdiana 2015, berdasarkan pengolahannya, teh dibedakan menjadi teh tidak terfermentasi (teh putih dan teh hijau), teh semi terfermentasi (teh oolong), teh terfermentasi (teh hitam). Di bawah ini adalah diagram sederhana pengolahan teh



Gambar 2.2 Proses Pengolahan Teh (Rohdiana, 2015)

1) Teh Putih (*White tea*)

Di antara sekian banyak jenis teh yang ada, teh putih atau dikenal juga dengan sebutan teh putih merupakan teh yang pengolahannya paling sederhana yaitu pelayuan dan pengeringan. Bahan baku yang digunakan dalam proses pembuatan teh putih hanya berasal dari pucuk dan dua lembar daun di bawahnya. Proses pelayuan teh putih dapat dilakukan dengan menggunakan panas sinar matahari langsung. Secara umum proses pelayuan ini mampu menurunkan kadar air teh hingga 12%. Setelah itu, daun teh yang sudah kering dikeringkan dengan alat pengering. Pucuk teh berikutnya kualitasnya *silver needle*, namun dua daun di bawahnya akan berwarna *white poeny* (Rohdiana, 2015).

2) Teh Hijau (*Green tea*)

Secara umum teh hijau dibedakan menjadi teh hijau China (*penning type*) dan teh hijau Jepang (*steaming type*). Prinsip dasar pengolahan teh hijau Cina dan Jepang adalah menonaktifkan enzim polifenol oksidase untuk menghambat oksidase yang mengubah polifenol menjadi senyawa yang dapat teroksidasi dalam bentuk *teaflaven* dan *tearubigin*. Dalam proses pengolahan teh hijau China menggunakan mesin pelayuan yang disebut *retary panner* digunakan untuk menonaktifkan enzim. Sedangkan, proses teh hijau Jepang menggunakan *steamer* untuk menonaktifkan enzimnya. Daun teh yang telah layu, selanjutnya digulung dan dikeringkan hingga kadar air yang diinginkan (Rohdiana,

2015). Teh hijau juga biasa digunakan untuk membantu proses pencernaan karena memiliki kemampuan dalam membunuh bakteri (Tuty, 2017).

3) Teh oolong

Dalam proses ini, setelah teh sampai di pabrik, daun teh dikeringkan secepat mungkin di bawah sinar matahari langsung dan digulung secara merata menggunakan tangan atau mesin. Tujuan dari penggulangan halus itu sendiri adalah untuk mengoksidasi sebagian polifenol yang terkandung dalam daun teh. Proses ini bisa disebut proses semi oksimatis. Ketika daun teh setengah teroksidasi, daun teh dikeringkan (Rohdiana, 2015).

4) Teh Hitam (*Black tea*)

Dibandingkan jenis teh lainnya, teh hitam paling banyak diproduksi yaitu sekitar 78%, disusul teh hijau sebesar 20%, sisanya teh oolong dan teh putih yaitu 20%. Teh hitam merupakan teh yang pengolahannya cukup rumit. Berdasarkan prosesnya, teh hitam dibedakan menjadi dua, yaitu. teh hitam ortodoks dan *crushing-tearing-curling* (CTC). Pada pengolahan teh hitam ortodoks, daun teh layu selama 14-18 jam. Setelah layu, daun teh digulung, digiling dan dioksimatis selama kurang lebih selama 1 jam. Sementara itu, proses pengolahan CTC, Setelah kering, daun teh digulung, digiling dan diseduh selama kurang lebih 1 jam. Sementara itu. Proses berikutnya adalah pengeringan yaitu proses yang

memiliki tujuan untuk menghentikan proses oksimatis dan menurunkan kadar air. Teh kering berikutnya disortasi dan degrading untuk menghasilkan jenis mutu teh tertentu (Rohdiana, 2015).

2.1.2 Kandungan dan Manfaat Teh

Teh mengandung bahan-bahan yang sangat bermanfaat seperti kafein, polifenol catechin dan minyak essensial. Teh juga mengandung alkaloid yang bersama sama dengan polifenol teh akan membentuk rasa yang menyegarkan. Teh tersebut mengandung beberapa vitamin seperti vitamin C, vitamin B, vitamin A, yang aktivitasnya diduga menurun akibat pengolahan tersebut. Terdapat juga jenis mineral di dalamnya terutama fluoride yang berfungsi sebagai penguat struktur tulang dan gigi (Anggraini, 2017). Selain manfaat teh, ada juga zat yang kurang baik bagi tubuh, zat tersebut adalah kafein. Meski konsumsi kafein aman, namun konsumsi zat ini secara berlebihan dapat menimbulkan reaksi yang tidak diinginkan seperti gemetar, gugup, gelisah, kejang, tekanan darah tinggi, bahkan kematian (Verawati dkk., 2016).

2.2 Kafein

2.2.1 Pengertian Kafein dan Struktur Kafein

Kafein merupakan senyawa xanthine alkaloid kristal dengan rasa pahit yang bertindak sebagai stimulan diuretik dan psikoaktif ringan (Maramis dan Citraningtyas, 2013). Kafein juga merupakan sistem saraf pusat dan stimulan

metabolisme. Kafein juga menghambat phosphodiesterase dan memiliki efek antagonis pada reseptor di sistem saraf pusat. Efek pada sistem saraf pusat, terutama pusat yang lebih tinggi, yang dapat menyebabkan peningkatan aktivitas mental dan kewaspadaan (Novita dkk., 2017).

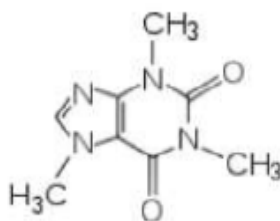
Kafein merupakan senyawa yang mirip dengan alkaloid heterosiklik golongan *methylxanthine*, yaitu senyawa organik yang mengandung nitrogen dengan struktur siklik atau disebut bisiklik. Molekul ini terdapat secara alami pada banyak tumbuhan sebagai pestisida alami yang dapat melumpuhkan dan membunuh serangga yang biasanya memakan tumbuhan. Kafein merupakan senyawa alkaloid yang ditemukan secara alami pada lebih dari 60 jenis tanaman. Kafein diproduksi secara komersial dengan mengekstraksinya dari tanaman tertentu dan juga secara sintetis. Tujuan produksi kafein adalah untuk mengidentifikasi kebutuhan industri minuman. Menurut FDA (*Food Drug Administration*), dosis kafein yang diperbolehkan adalah 100-200 mg/hari, menurut SNI 01-7152-2006 batas maksimal kafein pada makanan dan minuman adalah 150 mg/hari dan 50 mg/sajian. Kafein merupakan salah satu jenis senyawa alkaloid yang banyak ditemukan pada biji kopi, daun teh, dan biji coklat (Maramis, 2013).

Kandungan kafein pada daun teh kurang dari 2%. Kadar kafein yang tinggi dapat menyebabkan takikardia, dan bahkan pada individu yang rentan, kafein dapat menyebabkan aritmia, seperti kontraksi ventrikel pada bayi prematur. Orang yang mengonsumsi terlalu banyak kafein bisa menderita aritmia

ini. Kafein yang digunakan sebagai stimulan bisa membuat ketagihan jika dikonsumsi lebih dari 20 cangkir sehari. Kafein memiliki aksi farmakologi terpenting yaitu antagonis reseptor antagonis yang dapat mempengaruhi sistem saraf pusat dan menyebabkan gangguan kualitas tidur (Daswin, 2013).

Kafein 1,3,5-trimethylxanthin dalam bentuk murni berbentuk kristal berwarna putih dengan massa molar 194,19 gram/mol, mudah larut dalam air dan pelarut organik serta meleleh pada suhu 234°C - 239°C (Rasyid dkk., 2013).

2.2.2 Sifat Kimia Kafein



Nama lain	: 1,3,5-trimethylxanthine, theine, methyltheobromine
Wujud	: Bubuk putih tidak berbau
Berat molekul	: 194,19 g/mol
Densitas	: 1,23 g/cm ³ , solid
Titik leleh	: 227 – 228 ⁰ C (anhydrous) 234 – 235 ⁰ C (monohydrate)
Titik didih	: 178 ⁰ C

Kelarutan dalam air : 2,17 g/ 100 ml (25 °C)
 18,0 g/ 100 ml (80 °C)
 67,0 g/ 100 ml (100 °C)

Rumus molekul : $C_8H_{10}N_4O_2$

Gambar 2.3 Struktur Kimia Kafein(Purba, 2018)

2.3 Kandungan Kafein dari jenis Teh

Minuman teh yang biasa dikonsumsi masyarakat mempunyai beberapa perbedaan baik warna maupun rasa. Perbedaan rasa dan warna bergantung pada tanaman teh yang digunakan, termasuk di mana teh ditanam, cara pengolahannya, dan cara pembuatan teh. Namun tidak hanya kopi dan coklat, teh juga mengandung kafein yang cukup tinggi. Tergantung pada jenis tehnya, kandungan kafein pada setiap jenis teh berbeda-beda. Di bawah ini adalah tabel kandungan kafein per cangkir jenis teh (Aatuti, 2020).

Tabel 2.1 Kadar Kafein pada Tiap Jenis Teh per Cangkir (Aatuti, 2020).

No	Jenis Teh	Kadar Kafein
1.	Teh hitam	60-90 mg
2.	Teh oolong	50-75 mg
3.	Teh hijau	35-70 mg
4.	Teh putih	30-50 mg

Dari tabel di atas terlihat bahwa jenis teh yang paling banyak mengandung kafein adalah teh hitam dengan kadar 60 hingga 90 mg. Faktanya, teh hitam merupakan teh yang paling banyak dikonsumsi dan digemari masyarakat, terutama sebagai produk

kemasan di Indonesia. Menurut Asosiasi Industri Minuman Ringan (Asrim) pada tahun 2014, 2 miliar liter teh kemasan, atau 0,5 kilogram daun teh per orang per tahun, dikonsumsi di Indonesia. Sementara itu, batas aman yang direkomendasikan untuk orang dewasa di atas 19 tahun adalah sekitar 400 liter mg per hari. Namun, untuk menghindari efek negatif kafein, dianjurkan untuk mengurangi konsumsi kafein sehingga dianjurkan jumlahnya menjadi sekitar 200 mg. (Aatuti, 2021).

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu metode pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan kelarutan dua cairan tidak larut yang berbeda, biasanya air dan beberapa pelarut organik lainnya. Ada beberapa metode yang dapat digunakan untuk ekstraksi, salah satu metode yang paling umum adalah metode perendaman.

Setelah proses ekstraksi, pelarut dapat dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Ekstrak primer biasanya lebih sulit diisolasi menggunakan metode pemisahan individual yang digunakan untuk memisahkan senyawa individual. Oleh karena itu, ekstrak asli harus dipisahkan menjadi fraksi-fraksi yang mempunyai polaritas dan ukuran molekul yang sama dengan bahan yang kita gunakan. (Mukhrani, 2014). Penambahan pelarut pada suatu bahan didasarkan pada sifat disolusi pelarut yang digunakan dan sifat komponen yang akan dilarutkan. Senyawa polar mudah larut dalam pelarut polar, sedangkan pelarut nonpolar mudah larut dalam pelarut nonpolar (Taroreh dkk., 2015).

2.4.1 Jenis Ekstraksi

Secara umum metode ekstraksi dapat dibagi menjadi dua macam yakni ekstraksi bertingkat dan ekstraksi tunggal. Ekstraksi bertingkat merupakan ekstraksi yang dilakukan dengan berbagai pelarut yang memiliki kepolaran berbeda dan bertingkat, dari yang kurang polar menjadi yang lebih polar.

Sehingga diharapkan dapat memisahkan komponen-komponen berdasarkan kepolarannya, selain itu komponen yang diekstraksi sekaligus terfraksinasi ke dalam golongan senyawa yang berlainan berdasarkan kepolarannya. Kelebihan menggunakan metode ekstraksi ini ialah dapat menghasilkan rendemen yang besar dengan senyawa yang berbeda tingkat kepolarannya. Ekstraksi tunggal dilakukan dengan melarutkan bahan yang akan diekstrak dengan satu jenis pelarut. Kelebihan dari metode ini yaitu lebih sederhana dan tidak memerlukan banyak waktu, akan tetapi rendemen yang dihasilkan hanya sedikit (Taroreh dkk., 2015).

2.4.2 Cara-cara Ekstraksi

Cara-cara ekstraksi menurut Marjoni (2016)

1) Berdasarkan bentuk substansi dalam campuran

(1) Ekstraksi padat-cair

Proses ekstraksi padat-cair ini merupakan proses pemisahan zat yang paling banyak ditemukan pada bahan alam. Proses ini melibatkan zat-zat dalam campuran dan memerlukan kontak yang sangat lama antara pelarut dan padatan. Kesempurnaan proses ekstraksi sangat ditentukan oleh. Kesempurnaan proses ekstraksi sangat ditentukan oleh sifat

dari bahan alam dan juga sifat dari bahan yang akan diekstraksi.

(2) Ekstraksi cair – cair

Ekstraksi ini dilakukan apabila substansi yang akan diekstraksi berbentuk cairan di dalam campurannya.

2) Berdasarkan penggunaan panas

(1) Ekstraksi secara dingin

Tujuan dari metode ekstraksi dingin adalah untuk mengekstraksi senyawa dalam simplisia yang tidak tahan terhadap panas atau labil terhadap panas. Ekstraksi dingin dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu sebagai berikut:

a) Maserasi

Maserasi adalah suatu proses ekstraksi sederhana dimana suatu zat sederhana direndam selama jangka waktu tertentu dalam satu atau campuran pelarut pada suhu kamar, terlindung dari cahaya.

b) Perkolasi

Perkolasi adalah suatu proses dimana bahan aktif diekstraksi dengan cara ekstraksi dingin dengan mengalirkan pelarut secara terus menerus di atas simplisia selama jangka waktu tertentu.

(2) Ekstraksi panas

Metode panas digunakan jika senyawa-senyawa dalam simplisia pasti dapat menahan panas. Metode ekstraksi yang membutuhkan panas diantaranya:

a) Seduhan

adalah cara ekstraksi paling sederhana dimana Anda cukup merendam kesederhanaan dalam air panas selama waktu tertentu (5-10 menit).

b) Coque (penggodokan)

Merupakan proses penyarian dimana simplisia direbus dengan api langsung dan hasilnya dapat langsung digunakan sebagai obat, baik lengkap dengan ampasnya maupun hasil rebusannya saja tanpa ampas.

c) Infusa

Infusa merupakan sediaan cair yang dibuat dengan cara menyari simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit. Kecuali dinyatakan lain, infusa dilakukan dengan cara sebagai berikut: "Simplisia dengan derajat kehalusan tertentu dimasukkan ke dalam panci infusa, kemudian ditambahkan air secukupnya. Panaskan campuran di atas penangas air

selama 15 menit, dihitung mulai suhu 90°C sambil sekali-sekali diaduk. Saring selagi panas menggunakan kain flannel, tambahkan air panas secukupnya melalui ampas sehingga diperoleh volume infus yang dikehendaki”.

d) Digesti

Digestasi adalah proses ekstraksi yang cara kerjanya hampir sama dengan maserasi, hanya saja digesti menggunakan pemanasan rendah pada suhu $30-40^{\circ}\text{C}$. Metode ini biasanya digunakan untuk simplisia yang tersari baik pada suhu biasa.

e) Dekokta

Proses penyarian secara dekokta hampir sama dengan infusa, perbedaannya hanya terletak pada lamanya waktu pemanasan. Waktu pemanasan pada dekokta lebih lama dibanding metode infusa, yaitu 30 menit dihitung setelah suhu mencapai 90°C . Metode ini sudah sangat jarang digunakan karena selain proses penyariannya yang kurang sempurna dan juga tidak dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang bersifat yang termolabil.

f) Refluks

Proses penyarian secara dekokta hampir sama dengan infusa, perbedaannya hanya terletak pada lamanya waktu pemanasan. Waktu pemanasan pada dekokta lebih lama dibanding metode infusa, yaitu 30 menit dihitung setelah suhu mencapai 90°C. Metode ini sudah sangat jarang digunakan karena selain proses penyariannya yang kurang sempurna dan juga tidak dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang bersifat yang termolabil.

g) Soxhletasi

Proses soxhletasi merupakan proses ekstraksi panas yang menggunakan alat khusus berupa ekstraktor Soxhlet. Suhu yang digunakan lebih rendah dibandingkan suhu refluks.

2.5 Tinjauan Pelarut Metanol

Pemilihan pelarut yang tepat merupakan faktor penting dalam proses ekstraksi. Pelarut yang mampu melarutkan sebagian besar zat terlarut yang diinginkan dalam sampel digunakan.

Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah metanol. Metanol atau sering disebut metil alkohol merupakan pelarut universal yang mampu mengekstraksi seluruh

senyawa metabolit polar dan non polar dengan cara yang sederhana, sehingga proses ekstraksi dapat dilakukan secara optimal (Salamah dan Erlinda, 2015). Berat molekul metanol lebih rendah sehingga kebutuhan reaksi alkoholisasi lebih rendah (15-20%) dibandingkan dengan pelarut etanol (30%) (Devitria dkk., 2013). Metanol juga merupakan pelarut organik yang lebih polar dibandingkan etanol karena memiliki atom C lebih sedikit. Metanol dapat menarik flavonoid, alkaloid, saponin dan steroid dari tanaman (Apriasari, 2015).

2.6 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi adalah metode yang digunakan untuk memisahkan campuran komponen. Pemisahan campuran komponen didasarkan pada distribusi komponen dalam fase gerak dan fase diam. Kromatografi lapisan udara umumnya digunakan untuk tujuan analisis kuantitatif dan preparatif. Suhu sistem KLT terdiri dari fase diam dan fase gerak (Jayanti dkk., 2015). KLT banyak digunakan di laboratorium, teknik ini mirip dengan kromatografi kertas. Namun, KLT menggunakan fase diam dari lapisan adsorben seperti silika gel, aluminium, selulosa atau substrat inert. Dibandingkan dengan kromatografi kertas, KLT memiliki keunggulan kecepatan yang lebih cepat, pemisahan dan seleksi yang lebih baik antara adsorben yang berbeda. KLT adalah alat yang paling berguna untuk memantau kemajuan reaksi kimia organik dan menguji kemurnian zat organik dalam fitokimia dan bioteknologi. Seperti semua teknik kromatografi, KLT memanfaatkan perbedaan afinitas analit terhadap fase gerak dan fase

diamnya untuk mencapai pemisahan campuran molekul zat organik (Kumar *dan* Pandey, 2013).

Plat KLT dapat berupa plat kaca, logam atau plastik yang dilapisi dengan lapisan tipis adsorben padat (silica gel atau aluminium). Sebagian kecil dari campuran yang dianalisis diamati di dekat bagian bawah plat. Plat KLT kemudian diletakkan pada bagian bawah *chamber* (*floating chamber*) sehingga hanya bagian bawahnya saja yang terendam dalam cairan. Cairan ini sering disebut eluen, yang bertindak sebagai fase gerak, yang kemudian perlahan-lahan naik ke atas pelat KLT melalui aksi kapiler. (Kumar *dan* Pandey, 2013).

Retardation faktor (R_f) merupakan parameter yang digunakan untuk menggambarkan migrasi senyawa dalam KLT. Nilai R_f ditentukan oleh jarak senyawa dari titik awal dan jarak tepi depan pelarut dari titik awal. Angka R_f berkisar antara 0,00 hingga 1,00 dan hanya dapat ditentukan hingga dua angka desimal (Susiyati, 2017).

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh zat terlarut}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak}}$$

2.6.1 Sistem Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

1) Fase diam

Fase diam yang paling umum digunakan dalam KLT adalah adsorben. Adsorben yang paling banyak digunakan adalah silika gel, aluminium oksida, solar sulfur, selulosa dan turunannya, poliamida, dll. Tentu saja silika gel adalah yang paling banyak digunakan, yang

menyebabkan perbedaan tergantung pada metode produksinya, sehingga bahan standar yang diterima adalah gel Merck "G" yang diperkenalkan ke pasaran oleh Stahl pada tahun 1958. Adsorben seperti alumina dan silika gel mengandung kadar air yang sangat mempengaruhi resolusinya (Susiyati, 2017).

2) Fase gerak

Fase gerak adalah media transpor yang terdiri dari satu atau lebih pelarut. Fase gerak berpindah ke permukaan fase diam, yang merupakan lapisan berpori karena adanya gaya kailer. Pelarut yang digunakan hanya tingkat analitik. Sistem pelarut multikomponen harus berupa campuran yang sesederhana mungkin, yang mengandung tidak lebih dari tiga komponen. Perbandingan pencampuran dinyatakan dalam bagian volume sehingga volume totalnya adalah 100 (Susiyati, 2017).

2.7 Densitometri

Metode KLT-Densitometri merupakan metode analisis alternatif yang menggunakan metode kromatografi sebagai metode analisisnya. Metode KLT-Densitometri dapat digunakan untuk memisahkan beberapa senyawa untuk tujuan isolasi masing-masing analit (Santiago, 2013). KLT-Densitometri merupakan campuran metode kromatografi lapis tipis dengan alat densitometri, kromatografi lapis tipis

merupakan metode pemisahan analit dengan memanfaatkan interaksi antara fase diam dan fase gerak untuk memisahkan analit (Lade dkk., 2014).

Pemisahan senyawa bergantung pada sifat fisika kimia dari analit dengan fase diam dan fase gerak yang ada. KLT-Densitometri adalah teknik kromatografi yang digunakan untuk analisis kualitatif atau kuantitatif campuran senyawa. KLT-Densitometri dapat digunakan dalam analisis kualitatif untuk mengidentifikasi senyawa standar dalam sampel dan dalam analisis kuantitatif untuk menghitung jumlah sampel. Data yang diperoleh dengan metode analisis densitometri memberikan parameter pembacaan KLT berupa faktor retardasi, resolusi, faktor asimetri dan faktor tailing. Densitometer bekerja dengan penyerapan atau fluoresensi. Densitometer memiliki sumber cahaya berupa monokromator untuk analisis pada panjang gelombang berbeda, sistem pemfokusan cahaya pada pelat, pengganda foton, dan perekam untuk pendeteksian (Gandjar dan Rohman, 2018). Panjang gelombang pembacaan oleh densitometri yaitu 190- 800 nm. Metode KLT - Densitometri dapat memisahkan beberapa senyawa di saat bersamaan dengan kondisi yang sesuai dan relatif lebih murah. Ketika dibandingkan dengan metode lain seperti *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC), HPTLC atau kromatografi gas (Pyka, 2014).

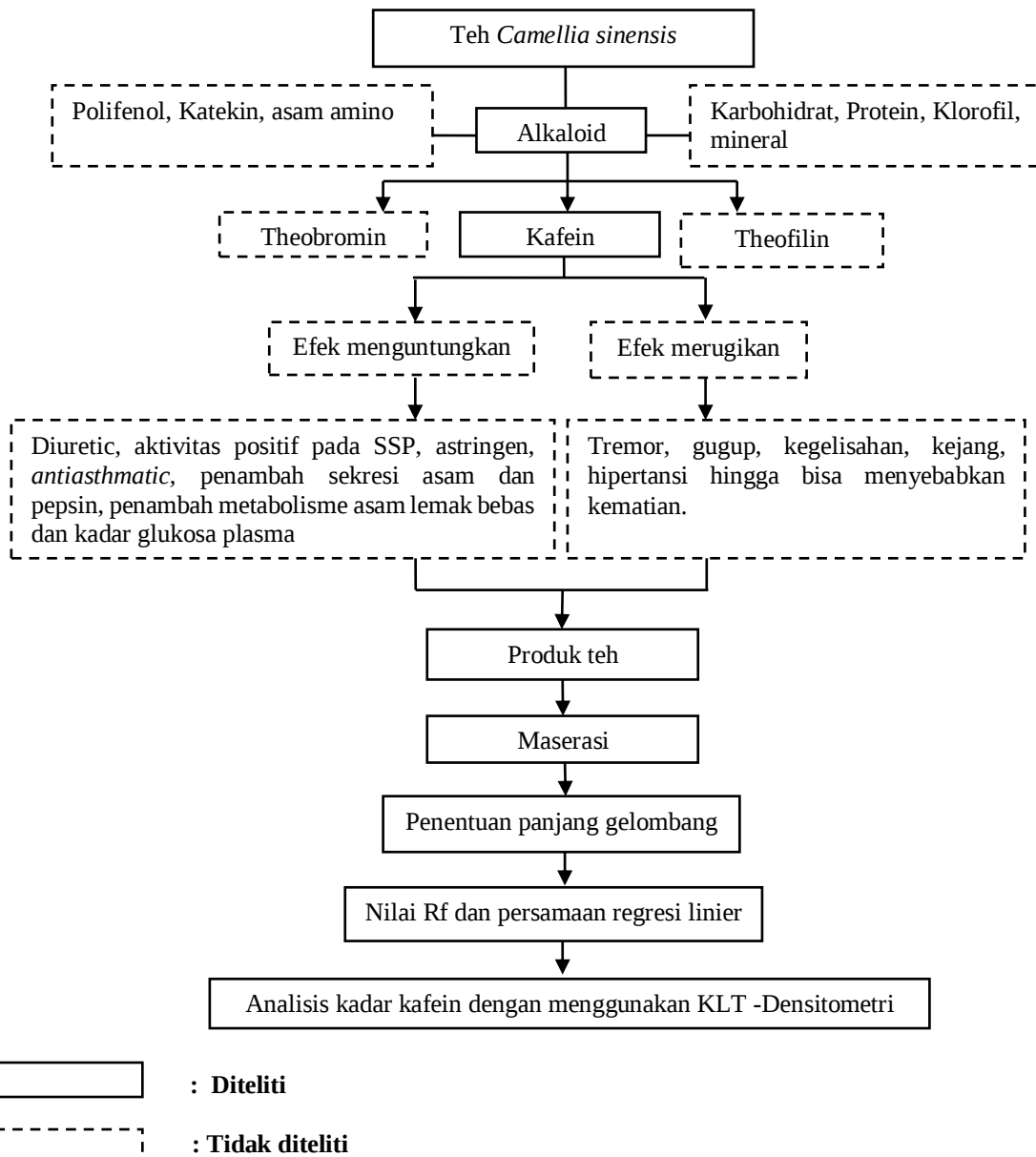
Analisis kadar suatu senyawa dengan metode ini dilakukan dengan mengukur kerapatan titik penotolan senyawa yang dipisahkan dengan cara KLT. Umumnya, pengukuran kerapatan titik dibandingkan dengan kerapatan titik senyawa standar yang terkolusi. Alat densitometri memiliki sumber cahaya yang bergerak melintasi titik

pemisahan pelat kromatografi tempat penentuan kadar komponen. Pelat tersebut digerakkan sepanjang berkas cahaya yang berasal dari sumber cahaya.

Bercak yang kecil dan intens menghasilkan puncak yang sempit dan tajam pada kurva serapan, sedangkan bercak yang lebar menghasilkan puncak kurva serapan yang luas dan tumpul (Gandjar dan Rohman, 2018). Densitometer memiliki 3 sumber radiasi tergantung pada panjang gelombang yang digunakan. Lampu tungsten digunakan untuk mengukur rentang cahaya tampak (400-800 nm) dan untuk pengukuran daerah ultraviolet (190-400 nm) digunakan lampu *deuterium*. Fluoresensi zat bercahaya sendiri (*self-fluorescence*) diukur dengan lampu uap merkuri bertekanan tinggi dengan panjang gelombang 254-578 nm (Pyka, 2014).

BAB 3 KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Desain penelitian adalah suatu rencana penelitian yang memberikan informasi untuk memperoleh data atau fakta dalam menjawab suatu masalah penelitian yang terdiri dari beberapa komponen yang bersama-sama membentuk makna dari desain penelitian (Lapau, 2015). Dalam penelitian ini desain yang digunakan adalah eksperimen laboratorium dengan menggunakan metode KLT-Densitometri.

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi

Populasi adalah suatu wilayah umum yang terdiri dari objek atau obyek yang mempunyai ciri-ciri dan karakteristik tertentu yang peneliti telah tentukan untuk kemudian dipelajari dan diambil kesimpulannya (Sugiyono, 2017). Populasi yang digunakan oleh peneliti dalam penelitian ini adalah produk teh yang beredar di Jember.

4.2.2 Sampel

Sampel adalah bagian dari populasi tersebut (Sugiyono, 2016). Sampel penelitian ini yang digunakan adalah teh hijau, teh hitam dan teh oolong yang beredar di Jember.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel bebas (*Independent Variable*)

Variabel bebas pada penelitian ini adalah teh hijau, teh hitam dan teh oolong.

4.3.2 Variabel Terikat (*Dependent Variable*)

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar kafein.

4.3.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol pada penelitian ini adalah metode maserasi produk teh, metode KLT-Densitometri.

4.4 Tempat Penelitian

Tempat penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas dr. Soebandi, untuk proses ekstraksi maserasi atau pengolahan sampel, kemudian dilanjutkan dengan menggunakan Laboratorium Kimia Farmasi Universitas dr. Soebandi untuk proses analisis kadar kafein pada produk teh.

4.5 Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus 2023.

4.6 Definisi Operasional

Definisi dari operasional adalah suatu atribut atau sifat atau nilai dari objek atau kegiatan yang mempunyai variasi tertentu yang diperoleh peneliti untuk dapat dipelajari dan kemudian dapat kesimpulan (Sugiyono, 2016).

Tabel 4.1 Definisi operasional

Variabel Penelitian	Definisi operasional	Indikator	Cara ukur	Alat ukur	Skala	Hasil ukur
Teh hitam, teh hijau, teh oolong	Dilakukan dengan cara maserasai selama 24 jam, kemudian diuapkan diatas <i>water bath</i> dengan suhu 60° C	Diperoleh ekstrak kental	Hasil dari ekstraksi produk teh ditimbang dan hitung % rendemennya	Timbangan analitik	Rasio	%Rendemen
kadar kafein	Kadar kafein dapat diperoleh apabila dilakukan pengukuran AUC standar pada panjang gelombang maksimum yang telah ditentukan sebelumnya dengan metode KLT-Densitometri sehingga didapatkan data kurva baku berupa AUC	Didapatkan data kurva baku berupa nilai AUC setelah dilakukan pengukuran dengan KLT-Densitometri	Hasil dari pengukuran nilai AUC sampel yang di dapat dibuat persamaan garis $y = bx + a$ hubungan antara konsentrasi dengan respon (AUC). Dengan memasukan nilai AUC sampel ke dalam (y) pada persamaan regresi linier yang telah dipilih sehingga diperoleh nilai (x).	KLT-Densitometri	Rasio	Kadar kafein

4.7 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi timbangan analitik (pa224c ohaus), mikro pipet, *water bath*, aluminium foil, perkamen, kertas saring, alat glass, vial, pipet tetes, *chamber* (CAMAG), cawan porselin, plat *silika gel* 60 F₂₅₄, KLT-Densitometri (CAMAG) (Milanda, 2021).

Pada penelitian ini bahan yang digunakan meliputi produk teh hijau, teh hitam dan teh oolong, kloroform p.a, metanol, metanol p.a, etanol p.a, kafein.

4.8 Teknik Pengumpulan Data

4.8.1 Ekstraksi Maserasi

Sampel produk teh yang digunakan dalam penelitian merupakan 3 produk teh yang beredar di Jember dengan jenis teh yang berbeda. Sampel yang telah dikumpulkan kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk kemudian sampel diambil sebanyak 5 gram, masukan ke dalam beaker glass 500 mL dan masing-masing *beaker glass* diberi penanda dengan sampel teh hitam, teh hijau, dan teh oolong. Kemudian ditambahkan metanol sebanyak 250 mL tutup beaker glass dengan aluminium foil. Selanjutnya didiamkan kurang lebih selama 24 jam dan dilakukan pengadukan sesekali untuk meratakan larutan sampel, larutan disaring dengan kertas saring Whatman PTFE 0,45 µm. Kemudian dilakukan penguapan diatas *water bath* dengan suhu 60° C hingga diperoleh ekstrak kental (Milanda, 2021).

4.8.2 Optimasi Panjang Gelombang

Optimasi panjang gelombang dilakukan pada rentang gelombang 200–400 nm. Panjang gelombang dipilih berdasarkan panjang gelombang dengan intensitas spektrum tertinggi (Milanda, 2021).

4.8.3 Analisis Kadar Kafein menggunakan KLT-Densitometri

1) Pembuatan standar baku kafein

Timbang sekitar 25 mg kafein dan larutkan dalam labu ukur 50 ml dengan kloroform sampai tanda batas, sehingga konsentrasi larutan stok kafein adalah 500 ppm. Kemudian dari larutan stok di pipet dibuat dengan masing – masing konsentrasi 25; 50; 100; 150; 200; 250; 300; 350; 400; 450 dan 500 ppm sebagai larutan standar.

2) Pembuatan larutan sampel

Ditimbang masing – masing 20 mg setiap sampel yang di replikasi masing – masing 4 dan 3 kali sehingga didapatkan konsentrasi 2000 ppm.

3) Penentuan kurva baku

Disiapkan larutan sampel yang sebelumnya telah dibuat dan larutan seri kafein dengan konsentrasi 25; 50; 100; 150; 200; 250; 300; 350; 400; 450 dan 500 ppm, kemudian di totolkan dengan menggunakan mikropipet sebanyak 20 μ l pada lempeng silica gel 60 F₂₅₄ dengan ukuran yang sama 20 x 10 cm yang telah diaktivasi pada suhu 110⁰ C selama kurang lebih 30 menit. Setiap totolan diberi jarak 1 cm, jarak dari

samping kanan ke kiri adalah 1 cm, dan jarak dari bawah 1 cm. Lempeng KLT dielusi hingga jarak 75 mm pada chamber yang telah dijenuhkan dengan fase gerak kloroform p.a : etanol p.a (99:1).

4) Penentuan nilai Rf

Retardation faktor (Rf) merupakan parameter yang digunakan untuk menggambarkan migrasi senyawa dalam KLT. Nilai Rf ditentukan oleh jarak senyawa dari titik awal dan jarak tepi depan pelarut dari titik awal. Angka Rf berkisar antara 0,00 hingga 1,00 dan hanya dapat ditentukan hingga dua angka desimal, nilai Rf alkaloid yang baik umumnya berada pada rentang 0,2 – 0,8 (Susiyati, 2017). Nilai atau harga Rf dapat dihitung dengan rumus.

$$Rf = \frac{\text{Jarak yang ditempuh zat terlarut}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak}}$$

Lempeng kemudian dikeringkan dan dibaca serapan menggunakan densitometer dengan panjang gelombang maksimal yang telah didapatkan sebelumnya (Syahila, 2018).

BAB 5 HASIL PENELITIAN

5.1 Identifikasi Kandungan Kafein Dengan KLT- Densitometri

5.1.1 Ekstraksi Maserasi

Maserasi adalah metode ekstraksi yang paling umum dilakukan dengan cara memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam suatu wadah yang ditutup rapat pada suhu kamar. Cara ini dapat juga menghindari resiko kerusakan senyawa yang bersifat termolabil dalam tanaman (Tetti, 2014). Pada proses ekstraksi maserasi ini telah diperoleh beberapa data nilai yang dapat dilihat pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1 Hasil ekstraksi maserasi produk teh

Jenis teh	Berat serbuk (g)	Berat ekstrak kental (g)	% Rendemen
Teh hitam	5 gram	1,17 gram	23,4 %
Teh hijau	5 gram	1,63 gram	32,6%
Teh oolong	5 gram	1,13 gram	22,6%

5.1.2 Uji Fase Gerak

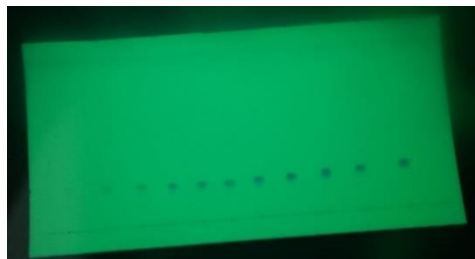
Pada penelitian ini peneliti menggunakan konsentrasi fase gerak kloroform pa : etanol pa dengan konsentrasi (99:1) v/v, dikarenakan fase gerak ini yang sesuai dimana standar dan juga sampel dapat memisah dengan baik. Dapat dilihat pada Gambar 5.1



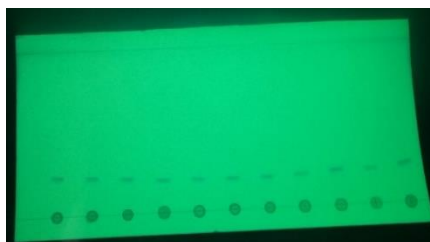
Gambar 5.1 Fase gerak kloroform p.a : etanol p.a (99:1)

Keterangan	: Hasil percobaan penotolan standar kafein dan sampel
Fase gerak	: kloroform p.a : etanol p.a (99:1)
Fase diam	: Silika gel F ₂₅₄
Bercak penotolan	: Bercak penotolan kiri standar kafein bercak penotolan kanan sampel teh hijau
Deteksi	: UV 254 nm

Hasil percobaan fase gerak dengan 1 standar dan 1 sampel didapatkan spot bercak sampel yang telah sejajar dengan spot bercak baku kafein yang dapat disimpulkan bahwa fase gerak tersebut dapat memisah dengan baik antara standar dan juga sampel



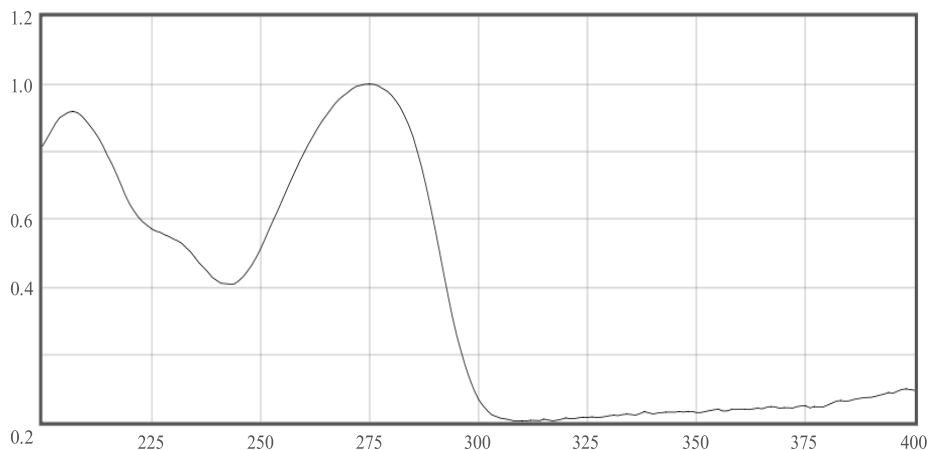
Keterangan : Hasil penotolan standar
 Fase gerak : kloroform p.a : etanol p.a (99:1)
 Fase diam : Silika gel F₂₅₄
 Bercak : Bercak penotolan standar kafein kiri ke kanan konsentrasi
 penotolan 25,50,100,150,200,250,300,350,400,450, dan 500 ppm
 Deteksi : UV 254 nm



Keterangan : Hasil penotolan standar
 Fase gerak : kloroform p.a : etanol p.a (99:1)
 Fase diam : Silika gel F₂₅₄
 Bercak : Bercak penotolan sampel kiri ke kanan teh hitam 4 totolan, teh
 penotolan hijau 4 totolan, dan teh oolong 3 totolan
 Deteksi : UV 254 nm

5.1.3 Penentuan Panjang Gelombang

Untuk menentukan panjang gelombang maksimum untuk penelitian ini pembacaan pada panjang gelombang dilakukan antara 200-400 nm, kemudian diukur pada spektrum dan panjang gelombang maksimumnya dapat dilihat. Hasil penentuan panjang gelombang dapat dilihat pada Gambar 5.2



Gambar 5.2 Panjang gelombang maksimum 275 nm

5.1.4 Nilai (*Retardation Faktor*) Standar dan Sampel

Penentuan nilai R_f menggunakan 2 lempeng dimana lempeng satu terdapat 11 konsentrasi standar kafein serta lempeng kedua terdapat 3 sampel dengan masing - masing teh hitam 4 replikasi, teh hijau 4 replikasi, dan teh oolong 3 replikasi kemudian lempeng dielusi dengan fase gerak kloroform : etanol (99:1) dengan menggunakan fase diam *silica gel* F₂₅₄, dan kemudian dilakukan *scanning* pada panjang gelombang 275 nm dengan menggunakan *TLC densitometry scanner*, kemudian R_f yang dipilih yaitu R_f yang mendekati kriteria standar kafein. Berdasarkan pengukuran, Nilai R_f standar kafein dan sampel dapat dilihat pada Tabel 5.2.

Tabel 5.2 Nilai Rf standar kafein dan Rf sampel

Jenis teh	Replikasi	Rf	Standar kafein	Rf
Teh hitam	Pada replikasi 2	0,236	Pada konsentrasi 1 (25 ppm)	0,216
	Pada replikasi 3	0,233	Pada konsentrasi 6 (250 ppm)	0,226
	Pada replikasi 4	0,228	Pada konsentrasi 10 (450 ppm)	0,217
	Pada replikasi 1	0,225	Pada konsentrasi 11 (500 ppm)	0,212
Teh hijau	Pada replikasi 2	0,216		
	Pada replikasi 3	0,214		
	Pada replikasi 1	0,200		
Teh oolong	Pada replikasi 2	0,200		
	Pada replikasi 3	0,205		

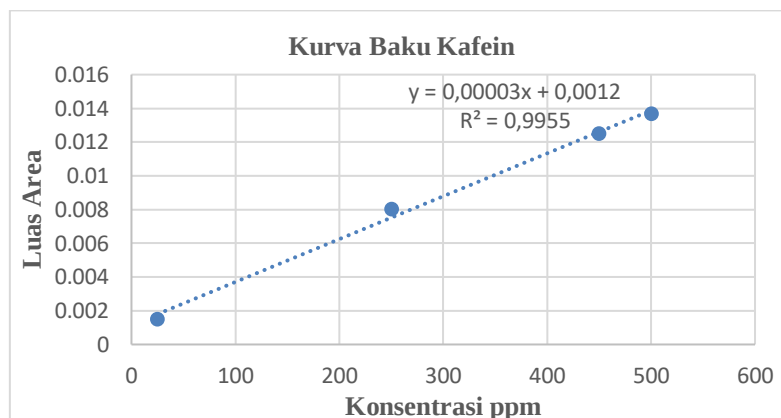
5.2 Analisis Kadar Kafein pada produk teh yang beredar di Jember berdasarkan ketetapan SNI

5.2.1 Penentuan Konsentrasi

Penelitian yang telah dilakukan dengan menggunakan konsentrasi awal yaitu sebesar 400; 600; 800; 1000; dan 1200 ppm yang dilanjutkan dengan penotolan sebanyak 20 μ l ke atas lempeng *silica gel* F₂₅₄. Hasil yang didapatkan yaitu bercak penotolan yang terlalu pekat dari sampel. Oleh karena itu, dilakukan perubahan konsentrasi dalam penelitian ini yaitu 25; 50; 100; 150; 200; 250; 300; 350; 400; 450 dan 500 ppm.

5.2.2 Penentuan Kurva Baku

Peneliti menggunakan 11 konsentrasi standar dengan masing – masing 25; 50; 100; 150; 200; 250; 300; 350; 400; dan 500 ppm, berdasarkan perhitungan didapatkan hasil regresi linier yang dapat dilihat pada Gambar 5.2. Sehingga dipilih 4 konsentrasi untuk mendapatkan kurva baku kafein yang digunakan dalam menghitung % kadar kafein dalam jenis teh.



Gambar 5.3 Kurva baku standar kafein konsentration 25;250;450;500ppm

5.2.3 Penentuan nilai AUC dan % Kadar Kafein

Hasil dari penelitian ini didapatkan nilai kadar kafein pada ekstrak kental teh hitam, teh hijau, dan teh oolong dengan menggunakan *scanning* densitometri. Berdasarkan hasil *scanning* tersebut nilai AUC dan % kadar dapat dilihat pada Tabel 5.3.

Tabel 5.3 Hasil perhitungan % kadar dan *scanning* KLT- Densitometri

Jenis teh	Replikasi	AUC	% Kadar	Rata – rata % kadar per 20 mg sampel teh
Teh Hitam	Pada replikasi 2	0,01018	0,7446	0,5360%
	Pada replikasi 3	0,00393	0,2252	
	Pada replikasi 4	0,00890	0,6384	
Teh Hijau	Pada replikasi 1	0,00545	0,3541	0,4475%
	Pada replikasi 2	0,00686	0,4646	
	Pada replikasi 3	0,00752	0,5240	
Teh oolong	Pada replikasi 1	0,00932	0,6766	0,4666%
	Pada replikasi 2	0,00177	0,0475	
	Pada replikasi 3	0,00935	0,6757	

5.2.4 Analisis kadar kafein pada produk teh berdasarkan ketentuan SNI

Hasil analisis menunjukkan bahwa ketiga nilai rata-rata kandungan kafein untuk ekstrak kental 20 mg masuk dalam persyaratan jumlah kandungan kafein pada makanan dan minuman serta memiliki kadar kafein di bawah kadar maksimal yang ditetapkan oleh pemerintah pada SNI 01-7152-2006, jumlah maksimum kafein dalam makanan dan minuman adalah 150 mg per hari. Data hasil analisis kadar kafein berdasarkan ketentuan SNI dapat dilihat pada Tabel 5.4

Tabel 5.4 Analisis kadar kafein berdasarkan ketentuan SNI

Jenis teh	Rata – rata % kadar per 20 mg sampel teh	Kadar per-kantong (mg)	Kadar per 3x1 (mg/hari)	Ketetapan SNI (mg/hari)	Keterangan
Teh Hitam	0,5360%	16,08 mg	48,24 mg/hari	150 mg/hari	Sesuai ketentuan
Teh Hijau	0,4475%	13,425 mg	40,275 mg/hari	150 mg/hari	Sesuai ketentuan
Teh oolong	0,4666%	13,998 mg	41,994 mg/hari	150 mg/hari	Sesuai ketentuan

BAB 6 PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas dr. Soebandi Jember dan Laboratorium Kimia Universitas dr. Soebandi Jember yang dilakukan pada bulan Agustus dengan judul analisis kadar kafein pada produk teh yang beredar di Jember dengan metode Kromatografi Lapis Tipis KLT-Densitometri dengan menggunakan fase gerak kloroform p.a : etanol p.a (99: 1) dan menggunakan fase diam *silica gel* F₂₅₄.

6.1 Mengidentifikasi Kandungan Senyawa Kafein Dengan Menggunakan

Metode KLT-Densitometri

Mengidentifikasi kandungan senyawa kafein dengan KLT-Densitometri karena sederhana, serta tidak memerlukan pelarut atau sampel yang banyak. Tujuan dari mengidentifikasi senyawa kafein sendiri yaitu untuk mengetahui ada dan tidaknya kafein dalam sampel. Sampel yang digunakan disini yaitu ekstrak kental teh hitam, teh hijau, dan teh oolong yang telah dimaserasi menggunakan pelarut metanol dan kemudian diekstraksi dengan suhu 60⁰ C di atas *water bath*. *Silica gel* F₂₅₄ digunakan sebagai fase padat, bersifat polar dan berpendar pada sinar UV 254 nm. Fase gerak yang digunakan adalah kloroform p.a : etanol p.a (99:1). Kafein murni digunakan sebagai standar karena standar tersebut mengharuskannya murni atau tunggal, artinya hanya mengandung satu jenis senyawa dan memiliki struktur yang mirip atau identik dengan senyawa uji. Sinar UV 254 nm digunakan untuk mendeteksi bercak penotolan.

Pada penelitian ini terlebih dahulu membuat ekstrak kental dari teh hitam, teh hijau dan teh oolong. Pada tahap ekstraksi digunakan metode ekstraksi perendaman karena memiliki beberapa keunggulan yaitu peralatan yang digunakan sangat sederhana, teknik kerja yang relatif sederhana dan mudah dalam pelaksanaannya, biaya pengoperasian yang relatif rendah, efisien dalam pelarut (Marjoni, 2016). Teh hitam, teh hijau, dan teh oolong digunakan sebagai sampel bubuk, yang digiling menjadi bubuk dengan tujuan untuk meningkatkan permukaan kontak antara sampel dan pelarut yang digunakan. Memperkecil ukuran partikel sangat berpengaruh terhadap jumlah senyawa yang akan tertarik ketika proses perendaman. Semakin kecil ukuran partikel sampel yang digunakan, maka semakin besar pula luas permukaan yang bersentuhan dengan pelarut yang digunakan dan akan semakin besar pula senyawa yang kepolaran yang sama dengan pelarut untuk lebih optimal dalam mengekstrak senyawa yang diinginkan untuk tertarik (Makanjulo, 2017). Faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi meliputi waktu, suhu, jenis pelarut, perbandingan bahan terhadap pelarut, dan ukuran partikel (Sarah dkk., 2019). Kafein dalam daun teh berbentuk basa bebas sehingga bisa larut dalam pelarut organik (Chaugule dkk., 2019). Penggunaan metanol sebagai pelarut dikarenakan sifatnya yang universal, dimana dapat mengekstraksi seluruh metabolit polar maupun non-polar, sehingga proses ekstraksi dapat dilakukan secara optimal, metanol juga merupakan pelarut organik yang lebih polar dibandingkan etanol karena memiliki atom karbon yang lebih sedikit, sehingga metanol dapat menarik lebih banyak senyawa secara optimal (Salamah dan Erlinda, 2015).

Teh yang telah dikumpulkan kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk kemudian sampel diambil sebanyak 5 gram, masukan ke dalam beaker glass 500 mL dan masing-masing *beaker glass* diberi penanda dengan sampel teh hitam, teh hijau, dan teh oolong. Kemudian ditambahkan metanol sebanyak 250 mL tutup beaker glass dengan aluminium foil. Selanjutnya didiamkan kurang lebih selama 24 jam dan dilakukan pengadukan sesekali untuk meratakan larutan sampel, larutan disaring dengan kertas saring Whatman PTFE 0,45 μm . Kemudian dilakukan penguapan diatas *water bath* dengan suhu 60° C hingga diperoleh ekstrak kental (Milanda, 2021). Tujuan dari proses pemanasan sendiri adalah untuk memisahkan pelarut dengan ekstrak yang kemudian diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental kemudian dapat disimpan dalam kulkas dengan tujuan agar ekstrak dapat bertahan lama dan tidak ditumbuhi oleh jamur dan juga menggunakan ekstrak kental diharapkan senyawa yang diinginkan dapat terdeteksi dengan sempurna ketika ditotolkan dan dilakukan proses pembacaan dengan KLT- Densitometri. Hasil dari proses ekstraksi maserasi ini didapatkan berat ekstrak kental teh hitam, teh hijau dan teh oolong berturut yaitu sebanyak 1,17 gram, 1,63 gram, dan 1,13 gram dengan nilai % rendemen berturut- turut 23,4%, 32,6%, dan 22,6%

Selanjutnya berdasarkan uji fase gerak, yang dilakukan dengan cara melarutkan standar kafein sebanyak 25 mg ke dalam labu ukur 50 ml sehingga didapat standar baku kafein 500 ppm kemudian diencerkan menjadi 25; 50; 100; 150; 200; 250; 300; 350; 400 ; 450 dan 500 ppm, masing- masing sampel sebanyak 20 mg dilarutkan ke dalam labu ukur 10 ml sehingga didapat teh hitam 4 replikasi, teh hijau 4 replikasi dan teh oolong 3 replikasi. Selanjutnya ditotolkan standar dan sampel pada lempeng sebanyak

20 μ l, lempeng dielusi hingga eluen mencapai garis tanda batas atas yang telah ditentukan sebelumnya. Fase gerak yang digunakan yaitu berupa kloroform p.a dan juga etanol p.a dengan perbandingan 99:1, didapatkan hasil yaitu standar dan juga sampel yang dapat memisah dengan baik. Fase gerak didapatkan dari penelitian terdahulu dengan menggunakan metode yang sama dan sampel yang sama yaitu teh. Fase gerak kloroform dan juga etanol dipilih karena kafein memiliki sifat nonpolar dan akan cenderung berinteraksi dengan fase gerak yang nonpolar juga, oleh karena itu perbandingan komposisi dipilih dengan komposisi yang lebih besar dari etanol, semakin tinggi komposisi fase gerak yang berinteraksi dengan senyawa kafein, menyebabkan proses pemisahan kafein pada plat KLT akan lebih mudah tampak pada permukaan plat KLT.

Pemilihan panjang gelombang sangat penting dalam penelitian, panjang gelombang maksimum mempunyai sensitivitas yang maksimum, sehingga pada panjang gelombang tersebut perubahan per satuan konsentrasi larutan sudah tepat. Terdapat ikatan rangkap pada struktur molekul kafein, dimana bagian ini bertugas menyerap cahaya yang disebut kromofor. Semakin panjang ikatan rangkap dua atau rangkap tiga dalam suatu molekul, maka semakin mudah molekul tersebut menyerap cahaya (Syafiratul, 2016). Daerah di sekitar panjang gelombang maksimum dibentuk seperti kurva serapan linier sehingga mematuhi hukum *Lambert-Beer* apabila dilakukan pengukuran ulang hasil yang didapat cukup konstan. *Scanning* dilakukan pada panjang gelombang 200-400 nm dengan menggunakan densitometri. Pemilihan panjang gelombang antara 200-400 dikarenakan panjang gelombang maksimum kafein memiliki

serapan cahaya didaerah ultraviolet pada panjang gelombang 200-300 nm (Fajriana *and* Fajriati, 2018). Panjang gelombang yang diperoleh dari hasil *scanning* diperoleh panjang gelombang maksimum sebesar 275 nm yang berarti pada larutan standar maupun pada sampel, panjang gelombang tersebut mempunyai serapan maksimum pada panjang gelombang 275 nm. Hasil dari pembacaan pada KLT-Densitometri diperoleh nilai R_f yang terpilih yaitu standar 1 (25 ppm) = 0,216, standar 6 (250 ppm) = 0,226, standar 10 (450 ppm) = 0,217, standar 11 (500 ppm) = 0,212 dan nilai R_f teh hitam replikasi 2 = 0,236 , teh hitam replikasi 3 = 0,234, teh hitam replikasi 4 = 0,228, teh hijau replikasi 1 = 0,225, teh hijau replikasi 2 = 0,216, teh hijau replikasi 3 = 0,214, teh oolong replikasi 1 = 0,205, teh oolong replikasi 2 = 0,205, teh oolong replikasi 3 = 0,205. Sesuai dengan ketentuan nilai R_f yang didapat bahwa, dikatakan baik dan diterima pada nilai 0,2 sampai 0,8, Pada standar kafein terdapat titik jelas pada gambar hasil dari penotolan dimana titik sampel sejajar dengan standar kafein, dan dapat disimpulkan bahwa semua sampel memang mengandung kafein (Susiyanti, 2017).

6.2 Menganalisis Kadar Kafein Pada Produk Teh Yang Beredar di Jember

Berdasarkan Ketetapan SNI

Dari penelitian digunakan konsentrasi 25, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 dan 500 ppm. Tujuan dari penentuan kurva baku yaitu untuk mendapatkan persamaan regresi linier yang selanjutnya digunakan untuk menghitung % kadar kafein dari teh hitam, teh hijau dan teh oolong. kemudian dipilih konsentrasi terbaik sehingga mendapatkan konsentrasi 25;250;450;500 ppm dan persamaan regresi linier yang di

peroleh yaitu dengan nilai $y = 0,00003x + 0,0012$ dan $r^2 = 0,9955$. Kurva baku merupakan kurva yang didapat dengan memasukan nilai konsentrasi sebagai (x) dan nilai AUC sebagai (y). Hasil Pembuatan kurva baku digunakan untuk mencari persamaan regresi linier, hasil nilai linearitas ditunjukkan dengan nilai koefisien korelasi (r). Nilai (r) yang diperoleh mendekati satu yang menunjukkan bahwa persamaan regresi tersebut linier (Hani dan Novena, 2019). Hasil dari kurva baku yang didapat dari penelitian, sesuai dengan teori yang sudah dijelaskan bahwa nilai (r) dalam penelitian mendekati satu yang artinya absorbansi dan konsentrasi memiliki korelasi yang kuat.

Penentuan AUC dan % kadar yang digunakan, AUC adalah area di bawah kurva area, yang menunjukkan tingkat akurasi model empiris dan perhitungan yang disebut *Area Under Curve* (AUC). AUC merupakan daerah berbentuk persegi yang nilainya selalu bernilai antara 0 dan 1. Random Performance menghasilkan nilai AUC sebesar 0,5 karena kurva yang didapatkan berupa garis diagonal antara titik (0,0) dengan titik (1,1). Jika diperoleh $AUC < 0,5$ maka keakuratan model statistik estimasi sangat rendah dan terdeteksi sangat buruk ketika menggunakan model tersebut (Zahtira dan Brodjol, 2022). Kadar diperoleh dengan memasukan nilai AUC sampel ke dalam (y) pada persamaan regresi linier yang telah dipilih sehingga diperoleh nilai (x) yaitu kadar dalam sampel. Nilai rata-rata % Kadar kafein yang diperoleh dari ekstrak kental berdasarkan perhitungan teh hitam, teh hijau dan teh oolong secara berurutan yaitu 0,5360%, 0,4475%, dan 0,4666%.

Berdasarkan FDA (*Food Drug Administration*) kadar kafein yang diizinkan adalah 100 sampai 200 mg/hari (Fahmi Arwangga dkk., 2016). Sedangkan menurut SNI

01-7152-2006 menyatakan bahwa ketetapan bioaktif kafein dalam pangan memiliki batas maksimum yaitu 150 mg/hari atau per sajian yang terdapat dalam makanan juga minuman (Fahmi Arwangga dkk., 2016). Khusus pada teh hitam, kandungan kafein dalam 100 gram teh sekitar 2,5-4,5% atau kandungan kafeinnya bervariasi antara 20-90 mg kafein (Muhamad, 2017). Adapun mengonsumsi teh lebih dari dua cangkir per hari memiliki resiko terhadap kesehatan karena dalam satu cangkir teh mengandung 40 sampai 100 mg kafein (Verawati dkk., 2016). Pada penelitian ini kandungan kafein pada teh hitam paling tinggi diantara kedua jenis teh lainnya, hal ini disebabkan proses produksi dari ke tiga sampel teh tersebut yakni proses pemetikan kuncup daun teh, proses pelayuan, proses fermentasi dan proses penggulungan (Ratih dan Hanny, 2016). Berdasarkan hasil dari analisis yang dilakukan diketahui bahwa setiap 20 mg rata-rata % kadar ekstrak kental teh mengandung 0,5360%, 0,4475%, dan 0,4666% kadar kafein untuk masing-masing teh dan untuk kadar setiap sajian atau per kantong secara berurut adalah teh hitam 16,08 mg, teh hijau 13,425 mg dan teh oolong 13,998 mg maka jika dalam 1 hari teh dikonsumsi sebanyak 3 kali maka kadar teh hitam, teh hijau dan teh oolong adalah 48,24 mg/hari, 40,275 mg/hari dan 41,994 mg/hari. Berdasarkan hasil yang didapat dapat disimpulkan bahwa 3 jenis sampel teh yang digunakan masuk dalam persyaratan jumlah kandungan kafein pada makanan dan minuman serta memiliki kadar kafein di bawah kadar maksimal yang ditetapkan oleh pemerintah pada SNI 01-7152-2006.

BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

- 1) Dari scanning KLT-Densitometri didapat nilai Rf standar baku kafein berturut-turut adalah 0,216; 0,226; 0,217; 0,212 dan nilai Rf teh hitam 0,236; 0,233; 0,228, teh hijau 0,225; 0,215; 0,214 dan teh oolong 0,200; 0,200; 0,205. Sesuai dengan ketentuan jika nilai Rf (*Retardation Faktor*) yang didapat, dikatakan baik dan diterima pada nilai 0,2 sampai 0,8, dan ketika uji fase gerak spot bercak sampel yang dilihat sejajar dengan spot bercak baku kafein yang dapat disimpulkan semua sampel benar – benar mengandung kafein.
- 2) Berdasarkan hasil dari analisis yang dilakukan jika dalam 1 hari teh dikonsumsi sebanyak 3 kali maka kadar teh hitam, teh hijau dan teh oolong adalah 48,24 mg/hari, 40,275 mg/hari dan 41,994 mg/hari maka dapat disimpulkan bahwa 3 jenis sampel teh yang digunakan masuk dalam persyaratan jumlah kandungan kafein pada makanan dan minuman serta memiliki kadar kafein di bawah kadar maksimal yang ditetapkan oleh pemerintah pada SNI 01-7152-2006.

7.2 Saran

7.2.1 Bagi Peneliti

Saran bagi peneliti selanjutnya diharapkan dapat menggunakan sampel lain seperti minuman teh kemasan siap saji, dari coklat atau biji kopi.

7.2.2 Bagi ilmu pengetahuan

Dapat dipertimbangkan kembali dari hasil penelitian ini dapat dikembangkan lebih lanjut mengenai analisis kadar kafein menggunakan KLT–Densitometri dengan pelarut lain dengan konsentrasi standar yang berbeda.

7.2.3 Bagi Masyarakat

Hendaknya bagi masyarakat dalam mengonsumsi minuman teh tidak lebih dari 3 cangkir per-hari seperti yang telah disarankan SNI.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, s., Ruslan., dan Agrippina, W. (2016). Skrining fitokimia tanaman obat di kabupaten bima. *Jurnal Cakra Kimia*, 4(1), 71–76.
- Anggraini Tuty. (2017). *Proses dan Manfaat Teh* (I. Rambe (ed.); Cetakan pertama). Padang : Rumahkayu Pustaka Utama.
<https://opac.perpusnas.go.id/DetailOpac.aspx?id=1076734>.
- Apriasari, M. . (2015). Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol dan Metanol Batang Pisang Mauli 100%. *Stomatognatic*, 12(1), 26–29.
- Asfar, A. M. I. A. (2017). Teh Instan Rendah Kafein dari Teh Hitam (*Camelia sinensis O.K Var Assamica*). PROSIDING Seminar Nasional “Tellu Cappa,” September, 1–10.
- Astuti, R., Fadilla, A, R. (2020). *Hibiscus Sabdariffa* (Rosela) Sebagai Alternatif Minuman Teh Berkafein Rendah. *Jurnal Cedekia Sambas*, 1(2), 69-77.
- Chaugule, A., Patil, H., Pagariya, S., & Ingle, P. (2019). *Extraction of Caffeine. International Journal of Advanced Research in Chemical Science*, 6(9), 11–19.
<https://doi.org/10.20431/2349-0403.0609002>.
- Dahlia, D. (2014). Pemberian Ekstrak Teh Putih (*Camellia sinensis*) Oral Mencegah Dislipidemia pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Wistar yang Diberi Diet Tinggi Lemak. *Skripsi. Universitas Udayana*.
- Daswin N, S. N. (2013). Pengaruh kafein terhadap kualitas tidur mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara. *E-Jurnal FK-USU*, 1, 1 (1).
[http://download.garuda.kemdikbud.go.id/article.php?article=1423226&val=4098&title=Pengaruh Kafein Terhadap Kualitas Tidur Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara](http://download.garuda.kemdikbud.go.id/article.php?article=1423226&val=4098&title=Pengaruh%20Kafein%20Terhadap%20Kualitas%20Tidur%20Mahasiswa%20Fakultas%20Kedokteran%20Universitas%20Sumatera%20Utara).
- Devitria, R., Nurhayati., dan Sofia, A. (2013). Sintesis Biodiesel Dengan Katalis Heterogen Lempung Cengar Yang Diaktivasi Dengan NaOH Pengaruh Waktu Reaksi Dan Rasio Molar Minyak: Metanol. *J. Ind.Che.Acta*, 3(2), 39–44.
- Dewi Anjarsari, I. R. (2016). Katekin teh Indonesia : prospek dan manfaatnya. *Kultivasi*, 15(2), 99–106. <https://doi.org/10.24198/kultivasi.v15i2.11871>.

- Fahmi Arwangga, A., Raka Astiti Asih, I. A., & Sudiarta, I. W. (2016). Analisis Kandungan Kafein Pada Kopi Di Desa Sesaot Narmada Menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Kimia*, 10(1), 110–114.
<https://doi.org/10.24843/jchem.2016.v10.i01.p15>.
- Gandjar, L., Rohman, A. (2018). *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Belajar. Yogyakarta.
- Gutiérrez-grijalva, E. P., Gutiérrez-grijalva, E. P., López-, L. X., Contreras-angulo, L. A., Elizalde-romero, C. A., & Heredia, J. B. (2020). *Properties (Issue June)*.
<https://doi.org/10.1007/978-981-15-2361-8>.
- Jayanti, R., Aprilia, H., dan Lukmayani, Y. (2015). Jayanti, R., Aprilia, H., dan Lukmayani, Y.,. Analisis Bahan Kimia Obat (BKO) Glibenklamid Dalam Sediaan Jamu Diabetes Yang Beredar Dipasaran. *Prosiding Penelitian SPeSIA 2015*. Surabaya: Prodi Farmasi FMIPA Unisba, 649–653.
- Kumar, S. & Pandey, A. (2013). *Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. The ScientificWorld Journal*, 1–16.
- Lade, B., Patil, A.S., Paikrao, H.M., Kale, A.S., Hire, K. . (2014). *A Comprehensive Working. Principles and Applications of Thin Layer Chromatography. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*.
- Lapau. (2015). *Metode Penelitian Kesehatan: Metode Ilmiah Penulisan Skripsi, Tesis, dan Disertasi*. Jakarta: Yayasan Pustaka Obor Indonesia.
- Lenny, Novita., & Barita, A. (2017). Penetapan Kadar Kafein Pada Minuman Berenergi Sediaan Sachet Yang Beredar Di Sekitar Pasar Petisah Medan. *Skripsi. Universitas Sari Mutiara Indonesia*.
- Maghiszha, D. F. (2019). Teh (*Camellia Sinensis*). Available at:
<https://www.google.co.id/amp/s/www.tribunnewswiki.com/amp/2019/07/3%0A1/teh-camellia-sinensis>.
- Marjoni, R. 2016 *Dasar-Dasar Fitokimia untuk Diploma III Farmasi*. Jakarta: CV. Trans Info Media
- Milanda, R. D. (2021). Ekstrak Metanol Pada Sampel Teh Hitam Dari PTPN XII Lawang Jawa Timur Menggunakan KLT-Densitometri. *Skripsi. Universitas dr. Soebandi Jember*.
- Minarno, E. B. (2015). Skrining Fitokimia dan Kandungan Total Flavonoid Pada Buah *Carica pubescens* Lenne & K. Koch Di Kawasan Bromo, Cangar, Dan Dataran Tinggi Dieng. *Jurnal El-Hayah*, 5(2), 73–82.

- Muchtar, J. (2021). Budidaya Tanaman Teh. Balai Penelitian Teh Dan Kina Gambung, December, 12.
https://www.researchgate.net/publication/357027441_Budidaya_Tanaman_Teh.
- Mukhriani. (2014). Farmaknosi analisis. Universitas Islam Negeri (IUN) ALuddin, 1–188. <http://repositori.uin-alauddin.ac.id/id/eprint/438>.
- Muhamad, A. and Akbar, I. (2017) ‘Efektifitas Penurunan Kadar Kafein pada Teh Hitam dengan Metode Ekstraksi’, 4(2), pp. 100–102.
- Noriko, N. (2013). “Potensi Daun Teh (*Camellia sinensis*) dan Daun *Antinganting* (*Acalypha indica* L.) dalam Menghambat Pertumbuhan *Salmonella typhi*.” *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains Dan Teknologi*., 2. No.2.
- Purba, R. R. T. P., & G. A. (2018). Dekafeinasi biji kopi robusta melalui proses ekstraksi dengan pelarut aquadest (variabel jumlah pelarut dan kecepatan pengaduk terhadap kadar kafein terekstraksi). *Jurnal Inovasi Proses*, 3(1), 10–1.
- Pyka, A. (2014). *Detection Progress of Selected Drugs in TLC. BioMed Research International*, 19. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1155/2014/732078>.
- Rasyid, Roslinda., Sanjaya, Winaldi Fitra., Zulharmita. 2013. Penetapan Kadar Kofein Daun Kopi Kawa (*Coffea Robusta*, Lind). *Jurnal Farmasi Higea*, Vol. 5, No.2, pp.137-143
- Rialita Kesia Maramis. Gayatri Citraningtyas1), F. W. (2013). Frequently Asked Questions about Caffeine. *Jurnal*, 2(4), 123.
- Rohdiana, D. (2015). Teh: proses, karakteristik & komponen fungsionalnya. *Jurnal Foodreview Indonesia*, 10(8), 34–37.
<https://www.gamboeng.comapplication/modules/arsip/files/5aae0b0d3d3abf595dd9bf3f0ac8e0d6.pdf>.
- Salamah, N., dan Erlinda, W. (2015). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kelengkeng (*Euphoria longan* (L.) Steud) Dengan Metode Penangkapan Radikal 2,2’-Difenil-1-Pikrilhidrazil. *Pharmaciana*, 5(1), 25–34.
- Santiago. M., S. S. (2013). Thin Layer Chromatography (M. In & Enzymology (eds.)).
- Savitri, A., & Megantara, S. (2019). Metode KLT-Densitometri Sebagai Penetapan Kadar Bahan Aktif Sediaan Farmasi. *Farmaka*, 17, 455–463.
- Sugiyono. (2016). Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif, R&D. Bandung : IKAPI.

- Sugiyono. (2017). Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif, dan R&D. Bandung : Alfabeta, CV.
- Susiyati, L. (2017). Pengaruh Waktu Penyeduhan Terhadap Kadar Kafein Pada Teh Kemasan. In Karya Tulis Ilmiah. Tegal: D III Politeknik Harapan Bersama.
- Syahila, P. N. (2018). Pengaruh Suhu Dan Waktu Ekstraksi Terhadap Kadar Kafein Dalam Teh Hijau Produksi Kemuning Laporan Tugas Akhir, p. 38.
- Taroreh, M., Raharjo S., Hastuti P., M. A. (2015). Ekstraksi Daun Gedi (*Abelmoschus manihot L*) Secara Sekuensial dan Aktivitas Antioksidannya. Vol. 35, N.
- Tetti, M. (2014). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. Jurnal Kesehatan, 7 (2): 361-367
- Towaha. (2013). Kandungan Senyawa Kimia pada Daun Teh (*Camelia sinensis*). Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri. *Jurnal Penelitian*, 3(19), 12–16.
- Triani, Rahmawati, dan M. T. (2017). Aktivitas Antifungi Ekstrak Metanol Jamur Kuping Hitam (*Auricularia polytricha*(Mont.) Sacc.) Terhadap *Aspergillus flavus* (Uh 26). *J Labora Med.* 1(2):14–20.
- Verawati, Harun, S., & Satria, B. (2016). Penetapan kadar konsumsi kafein dalam minuman teh seduhan yang beredar di pasaran secara klt - densitometri. Jurnal Farmasi Dan Kesehatan, 4, 43–45.
- Widhyani, R., Rahmasari, K. S., Kristiyanti, R., & Slamet. (2021). Penetapan Kadar Kafein Pada Teh Kering Kemasan Produksi Industri Teh di Pekalongan. *Jurnal Ilmu Farmasi*, 12(1), 29–35.
- Wilantari, P. D. (2018). Isolasi Kafein Dengan Metode Sublimasi Dari Dengan Fraksi Etil Asetat Serbuk Daun *Camelia Sinensis*. *Jurnal Farmasi Udayana*, 8(1), 53. <https://doi.org/10.24843/jfu.2018.v07.i02.p03>.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Dokumentasi Penelitian

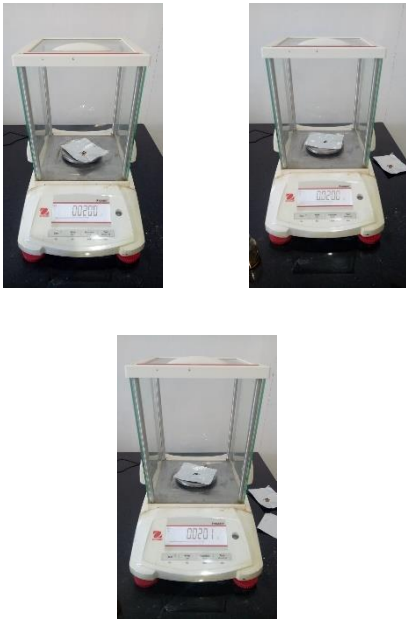
Gambar	Keterangan
	Gambar 1. Penimbangan Teh Oolong
	Gambar 2. Penimbangan Teh Hijau
	Gambar 3. Penimbangan Teh Hitam
	Gambar 4. Hasil Maserasi 24 jam
	Gambar 5. Proses Penguapan diatas <i>water bath</i>



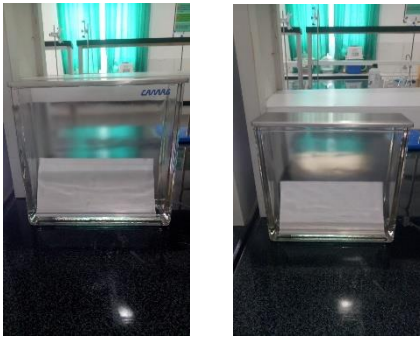
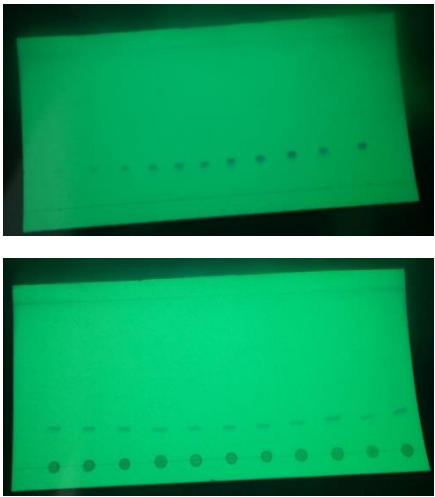
Gambar 6. Ekstrak kental Teh Hitam, Teh Hijau, Teh Oolong



Gambar 10. Penimbangan Ekstrak Kental Teh Hitam 4 Raplikasi

	Gambar 11. Penimbangan Ekstrak Kental Teh Hijau 4 Raplikasi
	Gambar 13. Penimbangan Ekstrak Kental Teh Oolong 3 Raplikasi

	Gambar 14. Penimbangan baku kafein
	Gambar 15. Larutan Baku Induk Kafein (Standar)
	Gambar 16. Pengenceran Larutan Induk Kafein Konsentrasi 25, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 dan 500 ppm
	Gambar 17. Replikasi Sampel

	Gambar 18. Elusi lempeng klt
	Gambar 19. Deteksi Bercak dibawah Sinar UV 254 nm

Lampiran 2. Perhitungan ekstraksi maserasi

Keterangan	Penimbangan bahan	Pelarut
Teh Hitam	5 gram	250 ml metanol
Teh Hijau	5 gram	250 ml metanol
The Oolong	5 gram	250 ml metanol

Jenis teh	Berat serbuk (g)	Berat ekstrak kental (g)	% Rendemen
Teh hitam	5 gram	1,17 gram	23,4 %
Teh hijau	5 gram	1,63 gram	32,6%
Teh oolong	5 gram	1,13 gram	22,6%

Lampiran 3. Perhitunagn Konsentrasi Kurva Baku

1) Larutan Induk

$$\frac{x}{50 \text{ ml}} \times 1000 = 500 \text{ ppm}$$

$$x = 25 \text{ mg (Penimbangan Stndar Baku Kafein)}$$

2) Larutan Standar

Digunakan rumus pengenceran => $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$

$$\text{a) } \frac{x}{10 \text{ ml}} \times 500 \text{ ppm} = 25 \text{ ppm}$$

$$x = 0,5 \text{ ml (Jumlah pemipetan larutan Induk)}$$

$$\text{b) } \frac{x}{5 \text{ ml}} \times 500 \text{ ppm} = 50 \text{ ppm}$$

$$x = 0,5 \text{ ml (Jumlah pemipetan larutan Induk)}$$

$$\text{c) } \frac{x}{5 \text{ ml}} \times 500 \text{ ppm} = 100 \text{ ppm}$$

$$x = 1 \text{ ml (Jumlah pemipetan larutan Induk)}$$

$$d) \frac{x}{5 \text{ ml}} \times 500 \text{ ppm} = 150 \text{ ppm}$$

x = 1,5 ml (Jumlah pemipetan larutan Induk)

$$e) \frac{x}{5 \text{ ml}} \times 500 \text{ ppm} = 200 \text{ ppm}$$

x = 2 ml (Jumlah pemipetan larutan Induk)

$$f) \frac{x}{5 \text{ ml}} \times 500 \text{ ppm} = 250 \text{ ppm}$$

x = 2,5 ml (Jumlah pemipetan larutan Induk)

$$g) \frac{x}{5 \text{ ml}} \times 500 \text{ ppm} = 300 \text{ ppm}$$

x = 3 ml (Jumlah pemipetan larutan Induk)

$$h) \frac{x}{5 \text{ ml}} \times 500 \text{ ppm} = 350 \text{ ppm}$$

x = 3,5 ml (Jumlah pemipetan larutan Induk)

$$i) \frac{x}{5 \text{ ml}} \times 500 \text{ ppm} = 400 \text{ ppm}$$

x = 4 ml (Jumlah pemipetan larutan Induk)

$$j) \frac{x}{5 \text{ ml}} \times 500 \text{ ppm} = 450 \text{ ppm}$$

x = 4,5 ml (Jumlah pemipetan larutan Induk)

$$k) \frac{x}{5 \text{ ml}} \times 500 \text{ ppm} = 500 \text{ ppm}$$

x = 5 ml (Jumlah pemipetan larutan Induk)

3) Larutan Sampel

$$\frac{x}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 2000 \text{ ppm}$$

$$x = 20 \text{ mg (Penimbangan Sampel)}$$

Diketahui persamaan regresi:

$$a = 0,0012$$

$$b = 0,00003$$

$$r = 0,9955$$

$$y = 0,00003x + 0,0012 \text{ dan } r^2 = 0,9955$$

Lampiran 4. Perhitungan analisi kadar kafein pada produk teh

1) Sampel teh hitam replikasi 2

$$y_1 = 0,01018$$

$$y = 0,00003x + 0,0012$$

$$0,01018 = 0,00003x + 0,0012$$

$$x = \frac{0,01018 - 0,0012}{0,00003}$$

$$= 229,3333 \text{ ng}$$

- Konsentrasi kafein total dalam volume penotolan 20 μ l (0,02 ml)

$$= \frac{229,3333 \text{ ng}}{0,02} = \mathbf{14966,66 \text{ ng/ml}}$$

- Massa kafein dalam volume larutan sampel

$$= 14966,66 \text{ ng/ml} \times 10 \text{ ml} = \mathbf{0,149666 \text{ mg}}$$

- Kadar kafein total

$$= \frac{\text{Massa kafein dalam ekstrak}}{\text{Massa sampel}}$$

$$= \frac{0,149666 \text{ mg}}{20,1 \text{ mg}} = \mathbf{0,007446 \text{ mg}}$$

- % Kadar kafein total

$$= \frac{\text{Massa kafein dalam ekstrak}}{\text{Massa sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,007446 \text{ mg}}{20,1 \text{ mg}} \times 100 \% = \mathbf{0,74461 \%}$$

2) Sampel teh hitam replikasi 3

$$y_1 = 0,00393$$

$$y = 0,00003x + 0,0012$$

$$0,00393 = 0,00003x + 0,0012$$

$$x = \frac{0,00393 - 0,0012}{0,00003}$$

$$= 91 \text{ ng}$$

- Konsentrasi kafein total dalam volume penotolan 20 μ l (0,02 ml)

$$= \frac{91 \text{ ng}}{0,02} = \mathbf{4550 \text{ ng/ml}}$$

- Massa kafein dalam volume larutan sampel

$$= 4550 \text{ ng/ml} \times 10 \text{ ml} = \mathbf{0,0455 \text{ mg}}$$

- Kadar kafein total

$$= \frac{\text{Massa kafein dalam ekstrak}}{\text{Massa sampel}}$$

$$= \frac{0,0455 \text{ mg}}{20,2 \text{ mg}} = \mathbf{0,002252 \text{ mg}}$$

- % Kadar kafein total

$$= \frac{\text{Massa kafein dalam ekstrak}}{\text{Massa sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,0455 \text{ mg}}{20,2 \text{ mg}} \times 100 \% = \mathbf{0,2252 \%}$$

3) Sampel teh hitam replikasi 4

$$y_1 = 0,00890$$

$$y = 0,00003x + 0,0012$$

$$0,00890 = 0,00003x + 0,0012$$

$$x = \frac{0,00890 - 0,0012}{0,00003}$$

$$= \mathbf{256,6666 \text{ ng}}$$

- Konsentrasi kafein total dalam volume penotolan 20 μ l (0,02 ml)

$$= \frac{256,6666 \text{ ng}}{0,02} = \mathbf{12833,33 \text{ ng/ml}}$$

- Massa kafein dalam volume larutan sampel

$$= 12833,33 \text{ ng/ml} \times 10 \text{ ml} = \mathbf{0,128333 \text{ mg}}$$

- Kadar kafein total

$$= \frac{\text{Massa kafein dalam ekstrak}}{\text{Massa sampel}}$$

$$= \frac{0,128333 \text{ mg}}{20,1 \text{ mg}} = \mathbf{0,006384 \text{ mg}}$$

- % Kadar kafein total

$$= \frac{\text{Massa kafein dalam ekstrak}}{\text{Massa sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,128333 \text{ mg}}{20,1 \text{ mg}} \times 100 \% = \mathbf{0,63847 \%}$$

4) Sampel teh hijau replikasi 1

$$y_1 = 0,00545$$

$$y = 0,00003x + 0,0012$$

$$0,00545 = 0,00003x + 0,0012$$

$$x = \frac{0,00545 - 0,0012}{0,00003}$$

$$= \mathbf{141,6666 \text{ ng}}$$

- Konsentrasi kafein total dalam volume penotolan 20 μ l (0,02 ml)

$$= \frac{141,6666 \text{ ng}}{0,02} = \mathbf{7083,333 \text{ ng/ml}}$$

- Massa kafein dalam volume larutan sampel

$$= 7083,333 \text{ ng/ml} \times 10 \text{ ml} = \mathbf{0,0708333 \text{ mg}}$$

- Kadar kafein total

$$= \frac{\text{Massa kafein dalam ekstrak}}{\text{Massa sampel}}$$

$$= \frac{0,0708333 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} = \mathbf{0,003541 \text{ mg}}$$

- % Kadar kafein total

$$= \frac{\text{Massa kafein dalam ekstrak}}{\text{Massa sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,00708333 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} \times 100 \% = \mathbf{0,3541 \%}$$

5) Sampel teh hijau replikasi 2

$$y_1 = 0,00686$$

$$y = 0,00003x + 0,0012$$

$$0,00686 = 0,00003x + 0,0012$$

$$x = \frac{0,00686 - 0,0012}{0,00003}$$

$$= \mathbf{188,6666 \text{ ng}}$$

- Konsentrasi kafein total dalam volume penotolan 20 μ l (0,02 ml)

$$= \frac{188,6666 \text{ ng}}{0,02} = \mathbf{9433,3333 \text{ ng/ml}}$$

- Massa kafein dalam volume larutan sampel

$$= 9433,3333 \text{ ng/ml} \times 10 \text{ ml} = \mathbf{0,09433 \text{ mg}}$$

- Kadar kafein total

$$= \frac{\text{Massa kafein dalam ekstrak}}{\text{Massa sampel}}$$

$$= \frac{0,09433 \text{ mg}}{20,3 \text{ mg}} = \mathbf{0,00464 \text{ mg}}$$

- % Kadar kafein total

$$= \frac{\text{Massa kafein dalam ekstrak}}{\text{Massa sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,09433 \text{ mg}}{20,3 \text{ mg}} \times 100 \% = \mathbf{0,4646 \%}$$

6) Sampel teh hijau replikasi 3

$$y_1 = 0,00752$$

$$y = 0,00003x + 0,0012$$

$$0,00752 = 0,00003x + 0,0012$$

$$x = \frac{0,00752 - 0,0012}{0,00003}$$

$$= \mathbf{89 \text{ ng}}$$

- Konsentrasi kafein total dalam volume penotolan 20 μ l (0,02 ml)

$$= \frac{89 \text{ ng}}{0,02} = \mathbf{4450 \text{ ng/ml}}$$

- Massa kafein dalam volume larutan sampel

$$= 4450 \text{ ng/ml} \times 10 \text{ ml} = \mathbf{0,0445 \text{ mg}}$$

- Kadar kafein total

$$= \frac{\text{Massa kafein dalam ekstrak}}{\text{Massa sampel}}$$

$$= \frac{0,0445 \text{ mg}}{20,1 \text{ mg}} = \mathbf{0,0022029 \text{ mg}}$$

- % Kadar kafein total

$$= \frac{\text{Massa kafein dalam ekstrak}}{\text{Massa sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,445 \text{ mg}}{20,1 \text{ mg}} \times 100 \% = \mathbf{0,220297 \%}$$

7) Sampel teh Oolong replikasi 1

$$y_1 = 0,00932$$

$$y = 0,00003x + 0,0012$$

$$0,00932 = 0,00003x + 0,0012$$

$$x = \frac{0,00932 - 0,0012}{0,00003}$$

$$= \mathbf{270,6666 \text{ ng}}$$

- Konsentrasi kafein total dalam volume penotolan 20 μ l (0,02 ml)

$$= \frac{270,6666 \text{ ng}}{0,02} = \mathbf{13533,33 \text{ ng/ml}}$$

- Massa kafein dalam volume larutan sampel

$$= 13533,33 \text{ ng/ml} \times 10 \text{ ml} = \mathbf{0,13533 \text{ mg}}$$

- Kadar kafein total

$$= \frac{\text{Massa kafein dalam ekstrak}}{\text{Massa sampel}}$$

$$= \frac{0,13533 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} = \mathbf{0,0067666 \text{ mg}}$$

- % Kadar kafein total

$$= \frac{\text{Massa kafein dalam ekstrak}}{\text{Massa sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,13533 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} \times 100 \% = \mathbf{0,67666 \%}$$

8) Sampel teh Oolong replikasi 2

$$y_1 = 0,00177$$

$$y = 0,00003x + 0,0012$$

$$0,00177 = 0,00003x + 0,0012$$

$$x = \frac{0,00177 - 0,0012}{0,00003}$$

$$= \mathbf{19 \text{ ng}}$$

- Konsentrasi kafein total dalam volume penotolan 20 μ l (0,02 ml)

$$= \frac{19 \text{ ng}}{0,02} = \mathbf{950 \text{ ng/ml}}$$

- Massa kafein dalam volume larutan sampel

$$= 950 \text{ ng/ml} \times 10 \text{ ml} = \mathbf{0,0095 \text{ mg}}$$

- Kadar kafein total

$$= \frac{\text{Massa kafein dalam ekstrak}}{\text{Massa sampel}}$$

$$= \frac{0,0095 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} = \mathbf{0,000475 \text{ mg}}$$

- % Kadar kafein total

$$= \frac{\text{Massa kafein dalam ekstrak}}{\text{Massa sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,00955 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} \times 100 \% = \mathbf{0,0475\%}$$

9) Sampel teh Oolong replikasi 3

$$y_1 = 0,00935$$

$$y = 0,00003x + 0,0012$$

$$0,00935 = 0,00003x + 0,0012$$

$$x = \frac{0,00935 - 0,0012}{0,00003}$$

$$= \mathbf{271,6666 \text{ ng}}$$

- Konsentrasi kafein total dalam volume penotolan 20 μ l (0,02 ml)

$$= \frac{271,6666 \text{ ng}}{0,02} = \mathbf{13583,33 \text{ ng/ml}}$$

- Massa kafein dalam volume larutan sampel

$$= 13583,33 \text{ ng/ml} \times 10 \text{ ml} = \mathbf{0,135833 \text{ mg}}$$

- Kadar kafein total

$$= \frac{\text{Massa kafein dalam ekstrak}}{\text{Massa sampel}}$$

$$= \frac{0,135833 \text{ mg}}{20,1 \text{ mg}} = \mathbf{0,006757 \text{ mg}}$$

- % Kadar kafein total

$$= \frac{\text{Massa kafein dalam ekstrak}}{\text{Massa sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,135833 \text{ mg}}{20,1 \text{ mg}} \times 100 \% = \mathbf{0,67578 \%}$$

Lampiran 5. Perhitungan analisis kadar kafein per kantong atau per sajian (3 gram)

- 1) $\frac{0,5360}{100} \times 3000 \text{ mg} = \mathbf{16,08 \text{ mg}}$
- 2) $\frac{0,4475}{100} \times 3000 \text{ mg} = \mathbf{13,425 \text{ mg}}$
- 3) $\frac{0,4666}{100} \times 3000 \text{ mg} = \mathbf{13,998 \text{ mg}}$

Lampiran 6. Perhitungan analisis kadar kafein per 3 kali sehari

- 1) $16,08 \text{ mg} \times 3 = \mathbf{48,24 \text{ mg/hari}}$
- 2) $13,425 \text{ mg} \times 3 = \mathbf{40,275 \text{ mg/hari}}$
- 3) $13,998 \text{ mg} \times 3 = \mathbf{41,994 \text{ mg/hari}}$

Analysis: wanti 4_9_2023 std_20230610_225639

Path: Home/Stikes

Based on method: wanti 4_9_2023 std

Created	10-Jun-2023 22:56:43	visionCATSuser
Modified	10-Jun-2023 23:14:49	visionCATSuser
Last HPTLC log	10-Jun-2023 23:14:49	Analysis modified
Explorer notes		

Track	Vial ID	Description	Volume	Position	Type
1	S1	STD 1	20.0 µl	N/A	Reference
2	S2	STD 2	20.0 µl	N/A	Reference
3	S3	STD 3	20.0 µl	N/A	Reference
4	S4	STD 4	20.0 µl	N/A	Reference
5	S5	STD 5	20.0 µl	N/A	Reference
6	S6	STD 6	20.0 µl	N/A	Reference
7	S7	STD 7	20.0 µl	N/A	Reference
8	S8	STD 8	20.0 µl	N/A	Reference
9	S9	STD 9	20.0 µl	N/A	Reference
10	S10	STD 10	20.0 µl	N/A	Reference
11	S11	STD 11	20.0 µl	N/A	Reference
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					
21					
22					
23					

Track Assignment notes

A track marked with  means: the application type is overridden in some evaluation(s).

System setup:

Software	Server DESKTOP-9FP6PG6, version 3.0.20196.1
Chamber	N/A
Manual application	N/A
TLC Scanner 4	S/N:270739

Chromatography

Plate layout:

Stationary phase	Merck, HPTLC Silica gel 60 F ₂₅₄
Plate format	200 x 100 mm
Application type	User
Application	Position Y: 10.0 mm, length: 5.0 mm, width: 0.0 mm
Track	First position X: 10.0 mm, distance: 8.0 mm
Solvent front position	90 mm
Notes	

Application 1 - Manual application:

Notes

Development 1 - Chamber:

Tank	TTC 20x10
Mobile phase	Chloroform : Ethanol = 99 : 1
Saturation time	20 min
Use saturation pad	true
Use smartALERT	false
Volume front through	10 ml
Volume rear through	20 ml
Drying time	5 min
Drying temperature	Room temperature
Notes	

Scan developed plate 1a - TLC Scanner 4 (S/N: 270739):

Scanner type	Single λ
Optimization for	Resolution
Measurement mode	Absorbance
Filter	n/a
Detector mode	Automatic
Scanning speed	20 mm/s
Data resolution	100 μ m/step
Slit	10 x 0.2 mm, macro
Partial scan	No
Lamp	Deuterium
Wavelength(s)	254 nm
Instrument diagnostics	Valid diagnostics
Step status	⚠ Step was restored
Documentation step label	
Notes	

Spectrum Scan developed plate 1b - TLC Scanner 4 (S/N: 270739):

Scanner type	Spectrum
Optimization for	Resolution
Measurement mode	Absorbance
Filter	n/a
Detector mode	Automatic
Spectrum speed	20 nm/s
Data resolution	1 nm
Slit	10 x 0.2 mm, macro
Lamp	Deuterium
Wavelength range	200 nm to 400 nm
Reference spectrum	Per plate, X=10.0 mm, Y=10.0 mm
Purity	No
Instrument diagnostics	Valid diagnostics
Step status	⚠ Step was restored
Documentation step label	
Notes	

Substance cafein (R_F 0.220 +/- 0.010):

wanti 4 9 2023

visionCA

Track	R _F	X (mm)	Y (mm)
1	0.216	10.0	27.3
2	0.230	18.0	28.4
3	0.216	26.0	27.3
4	0.230	34.0	28.4
5	0.230	42.0	28.4
6	0.226	50.0	28.1
7	0.223	58.0	27.8
8	0.220	66.0	27.6
9	0.216	74.0	27.3
10	0.217	82.0	27.4
11	0.212	90.0	27.0

Scan developed plate 1c - TLC Scanner 4 (S/N: 270739):

Scanner type	Single λ
Optimization for	Resolution
Measurement mode	Absorbance
Filter	n/a
Detector mode	Automatic
Scanning speed	20 mm/s
Data resolution	100 μ m/step
Slit	10 x 0.2 mm, macro
Partial scan	No
Lamp	Deuterium
Wavelength(s)	275 nm
Instrument diagnostics	Valid diagnostics
Step status	⚠ Step was restored
Documentation step label	
Notes	

System suitability tests:

SST settings:

SST tracks	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11
------------	-----------------------------------

Substance 2 cafein

Substance name	2 cafein
R _F	0.230
ΔR_F	0.010
Step	
λ	
Status	⚙ Not computed
Description	

Substance 4 cafein

Substance name	4 cafein
R _F	0.230
ΔR_F	0.010
Step	
λ	
Status	⚙ Not computed
Description	

Substance 5 cafein

wanti 4 9 2023

Substance name	5 cafein
R_F	0.230
ΔR_F	0.010
Step	
λ	
Status	⚙ Not computed
Description	

Substance 6 cafein	
Substance name	6 cafein
R_F	0.226
ΔR_F	0.010
Step	
λ	
Status	⚙ Not computed
Description	

Substance 7 cafein	
Substance name	7 cafein
R_F	0.223
ΔR_F	0.010
Step	
λ	
Status	⚙ Not computed
Description	

Substance 8 cafein	
Substance name	8 cafein
R_F	0.220
ΔR_F	0.010
Step	
λ	
Status	⚙ Not computed
Description	

Substance 10 cafein	
Substance name	10 cafein
R_F	0.218
ΔR_F	0.010
Step	
λ	
Status	⚙ Not computed
Description	

Substance 1 cafein	
Substance name	1 cafein
R_F	0.216
ΔR_F	0.010
Step	
λ	
Status	⚙ Not computed
Description	

Substance 3 cafein	
--------------------	--

wanti 4 9 2023

visionCA

Substance name	3 cafein
R_F	0.216
ΔR_F	0.010
Step	
λ	
Status	⚙ Not computed
Description	

Substance 9 cafein	
Substance name	9 cafein
R_F	0.216
ΔR_F	0.010
Step	
λ	
Status	⚙ Not computed
Description	

Substance 11 cafein	
Substance name	11 cafein
R_F	0.213
ΔR_F	0.010
Step	
λ	
Status	⚙ Not computed
Description	

Data acquisition

Application 1 - Manual application:

Executed	10-Jun-2023 22:58:01 visionCATSuser
----------	-------------------------------------

Development 1 - Chamber:

Executed	10-Jun-2023 22:58:04 visionCATSuser
----------	-------------------------------------

Scan developed plate 1a - TLC Scanner 4 (S/N: 270739):

Executed	10-Jun-2023 22:58:07 visionCATSuser
----------	-------------------------------------

Scan:

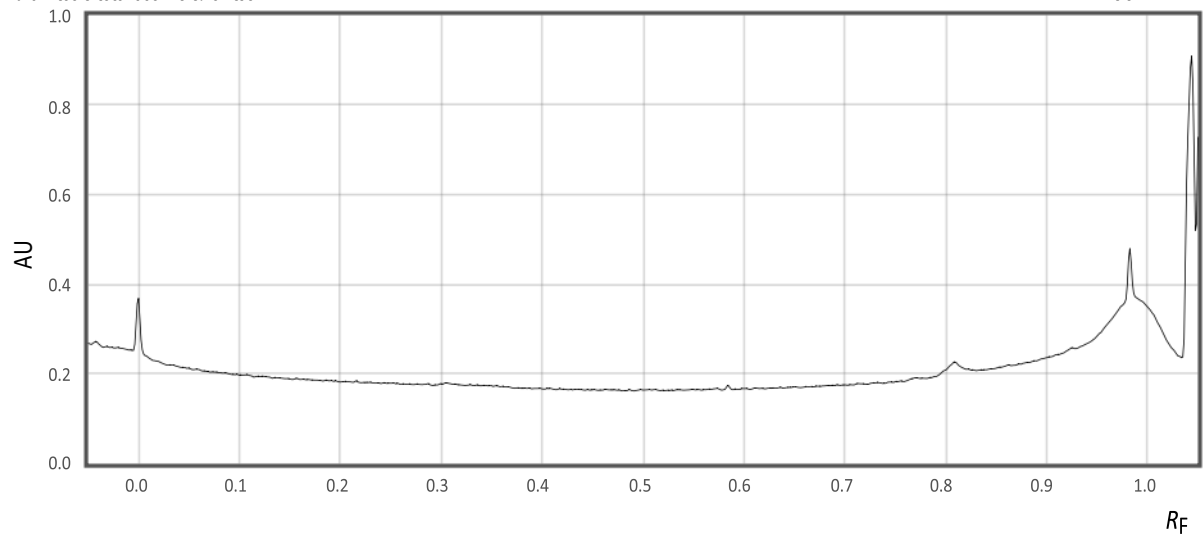
Wavelength	254 nm
------------	--------

Track 1:

Type	Single λ
------	------------------

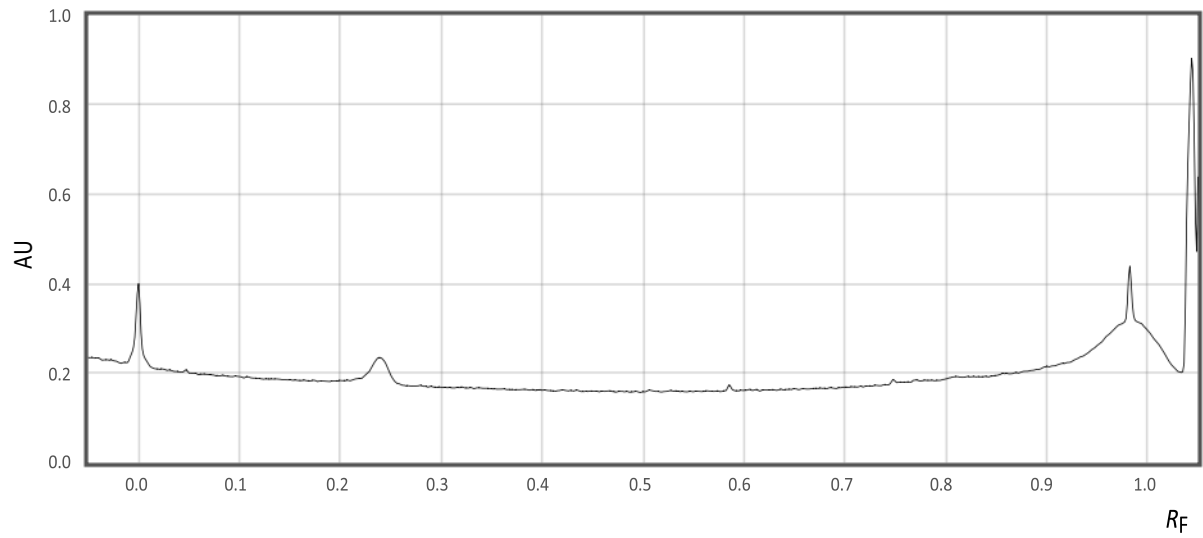
wanti 4 9 2023
11-00370610-005000

visionCA
1.0.0



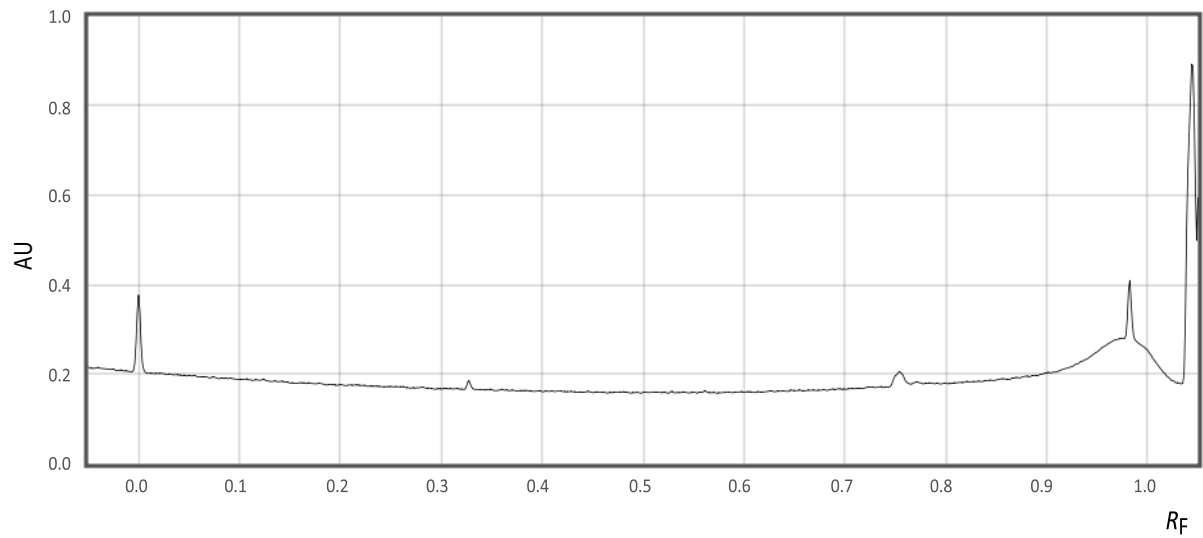
Track 2:

Type Single λ

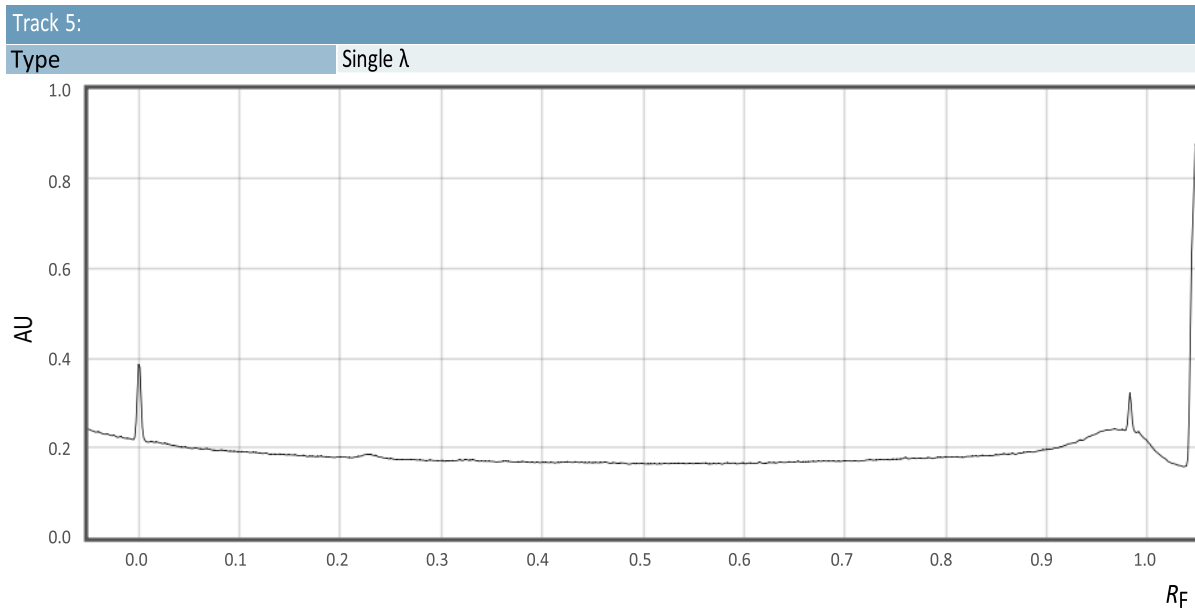


Track 3:

Type Single λ

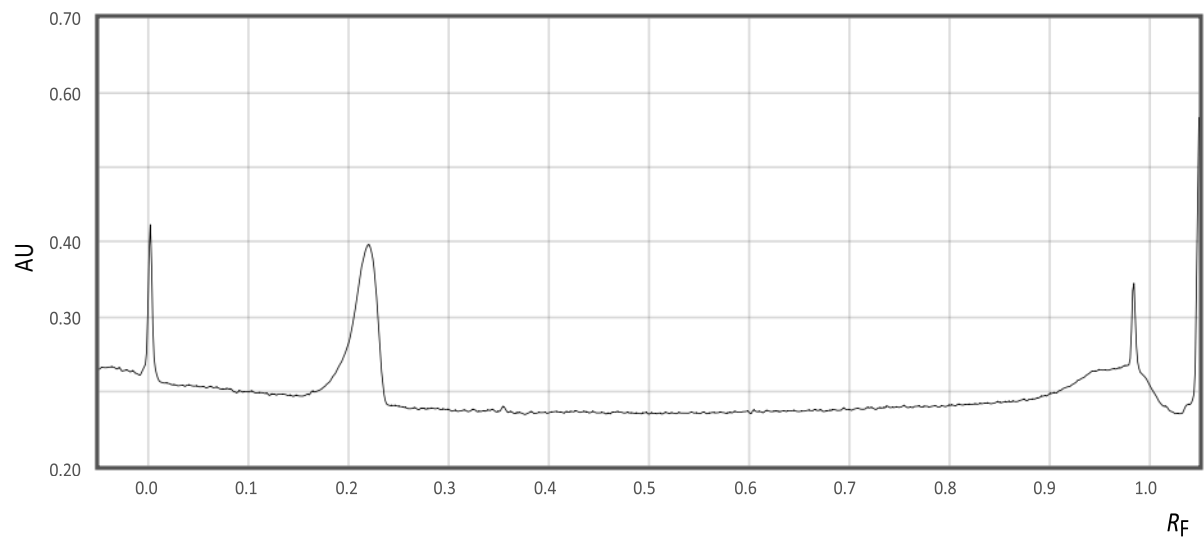
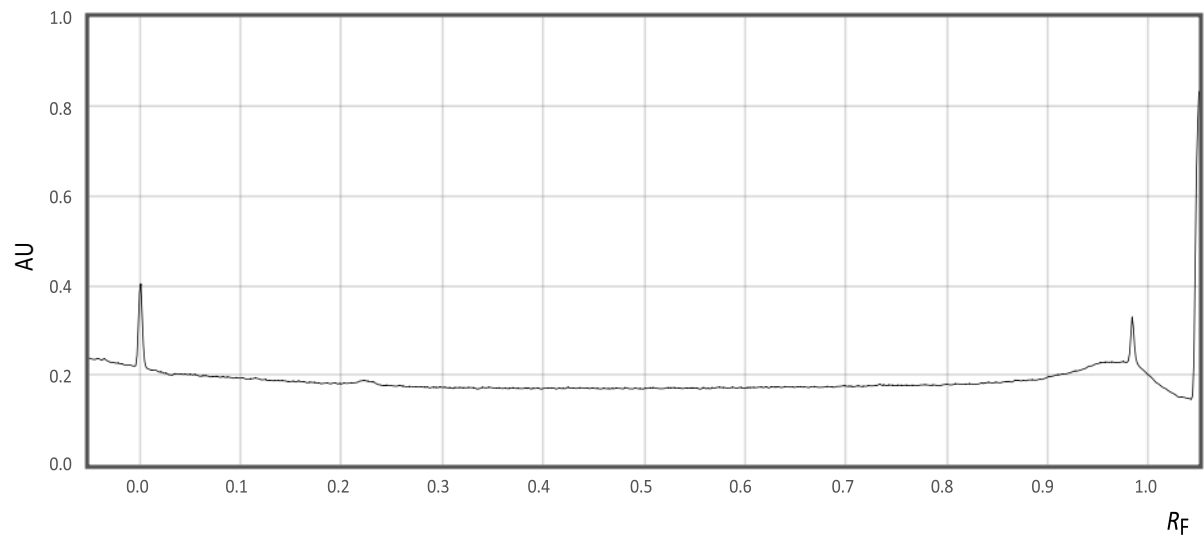
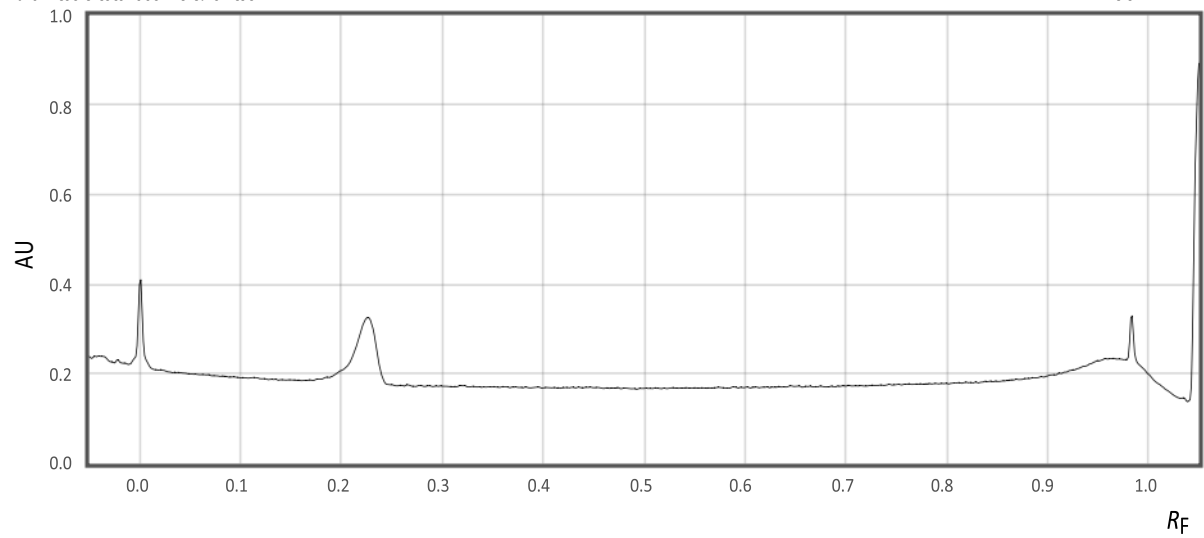


Type	Single λ
------	------------------



Type	Single λ
------	------------------

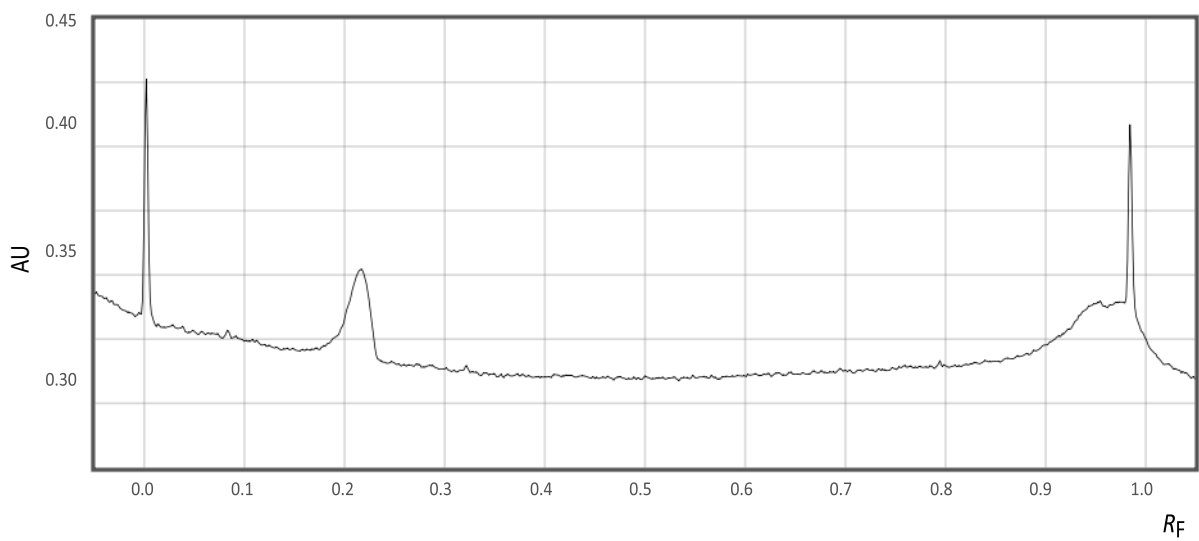
wanti 4 9 2023
11-00370010-005000



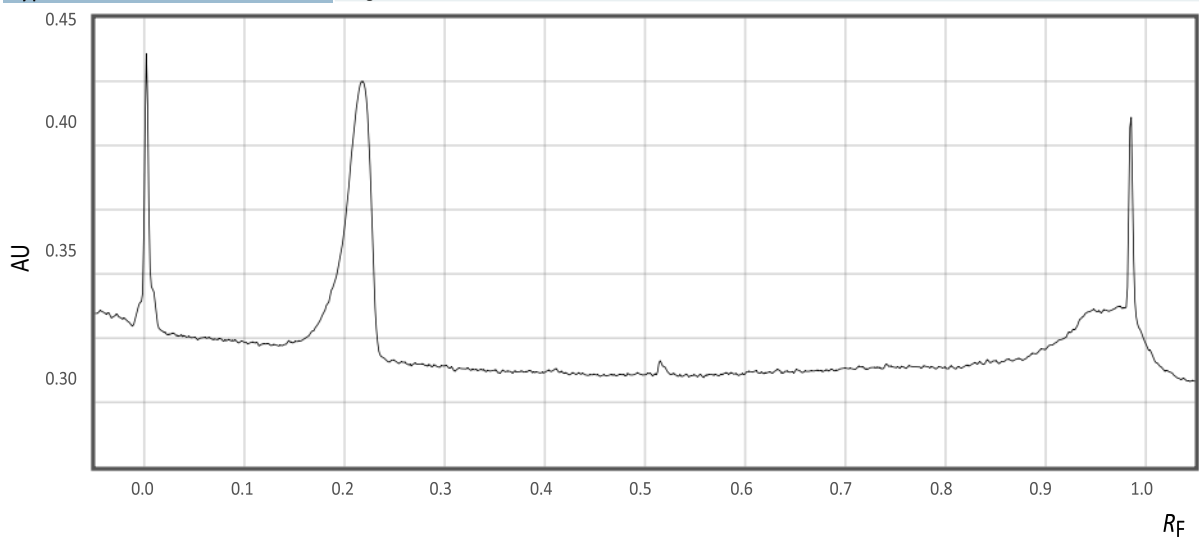
wanti 4 9 2023

visionCA

Track 9:
Type Single λ

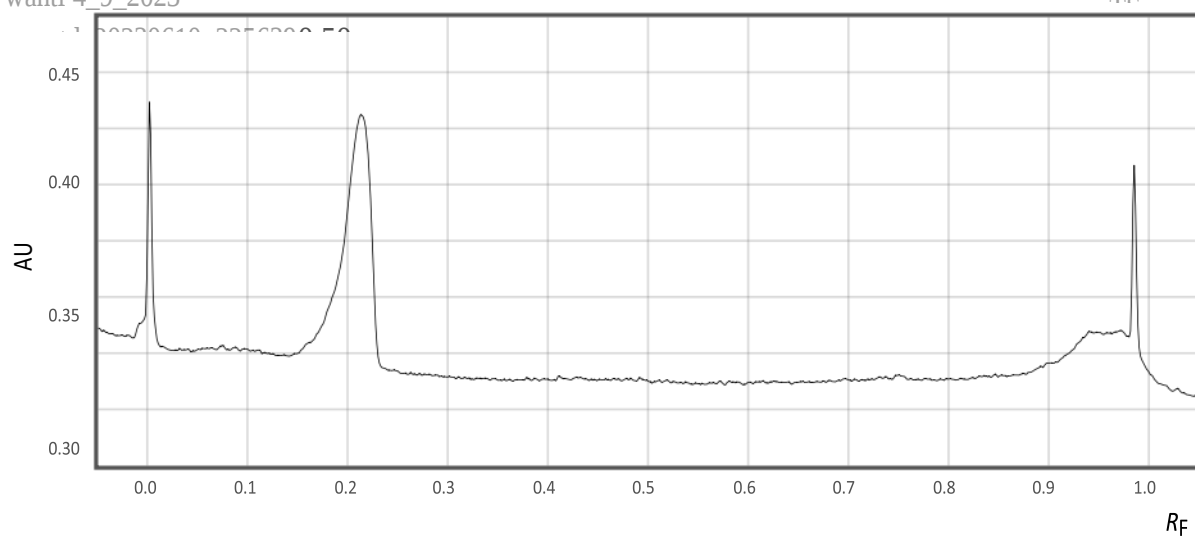


Track 10:
Type Single λ



Track 11:
Type Single λ

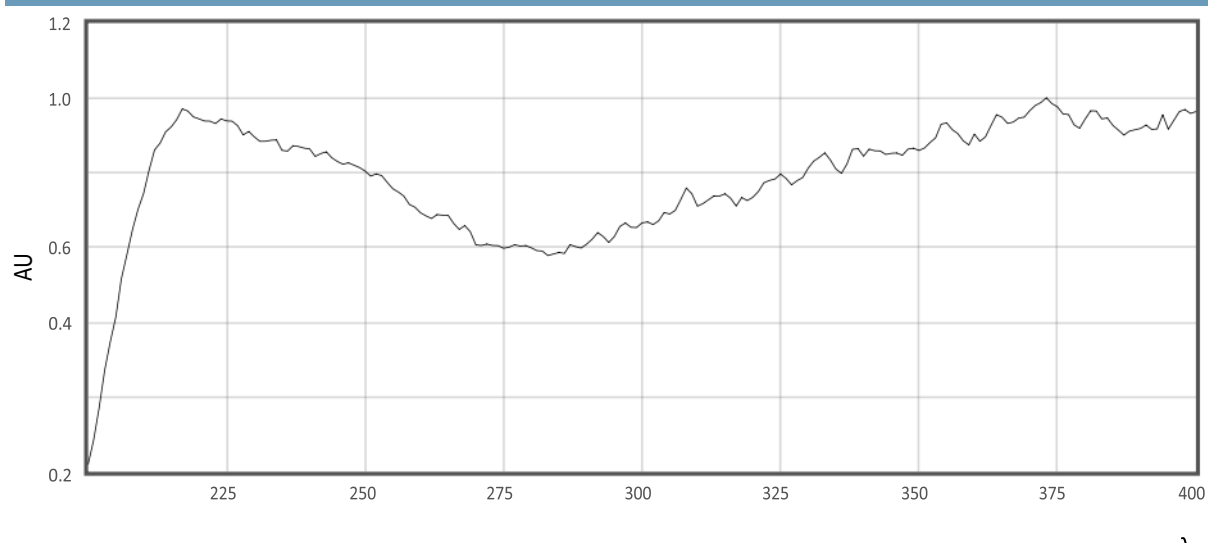
wanti 4_9_2023



Spectrum Scan developed plate 1b - TLC Scanner 4 (S/N: 270739):

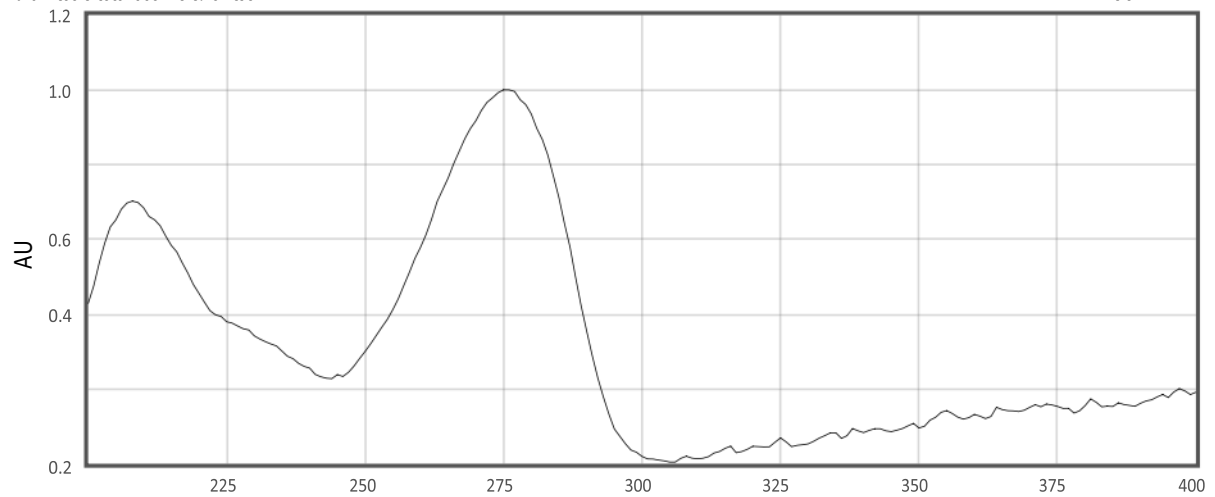
Executed 10-Jun-2023 23:01:32 visionCATSuser

Substance cafein (R_F 0.220 +/- 0.010):

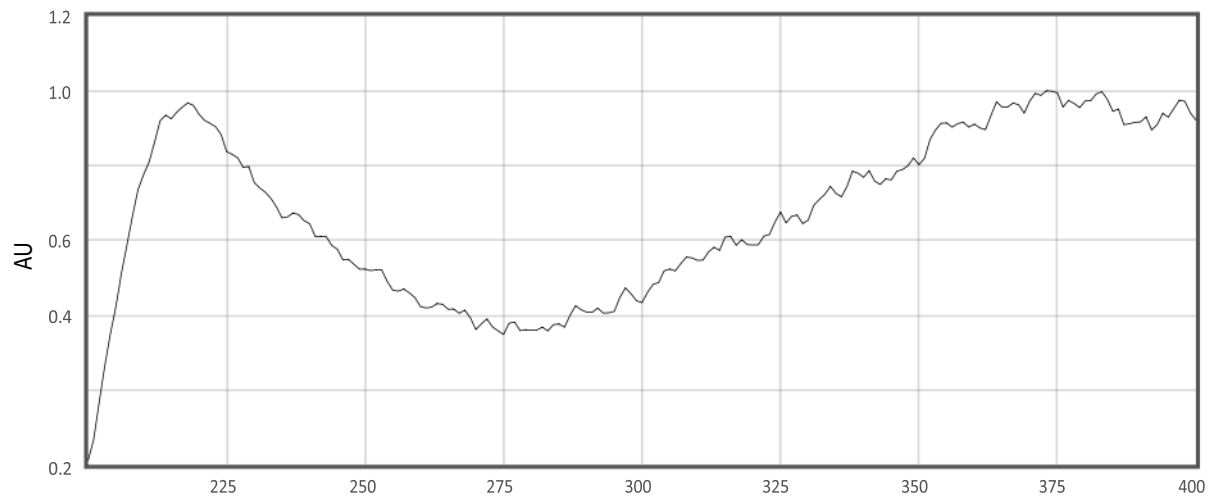


Tr. 2 R 0.230 (18.0 mm, 28.4 mm)

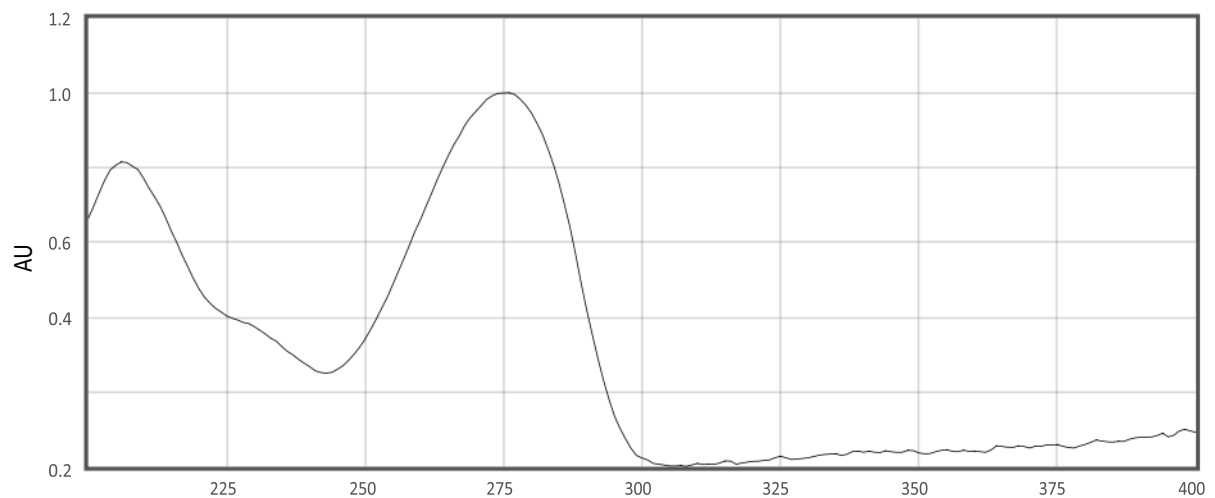
wanti 4 9 2023
14 00370040-005000



Tr. 3 R 0.216 (26.0 mm, 27.3 mm)

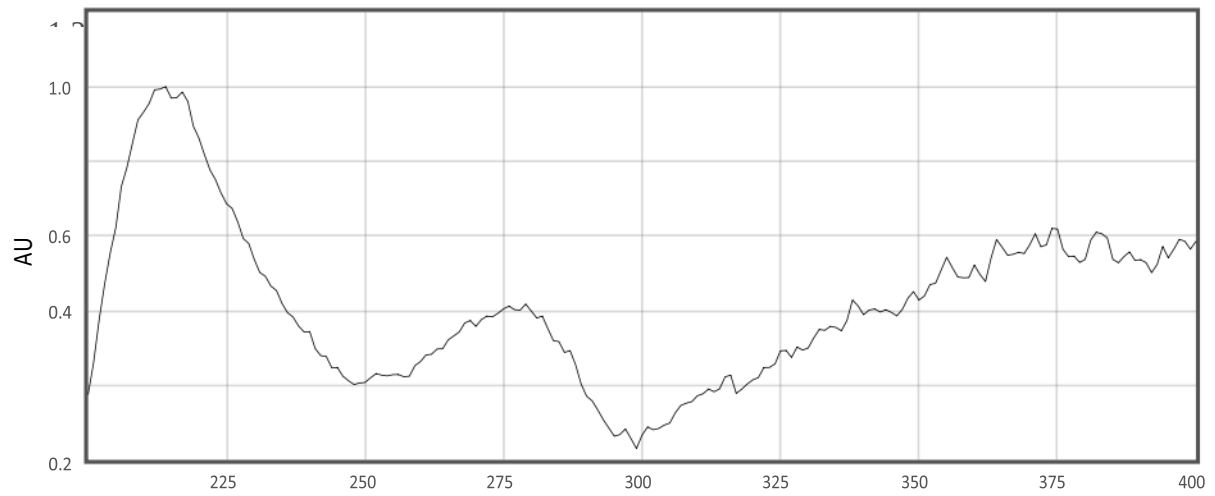


Tr. 4 R 0.230 (34.0 mm, 28.4 mm)

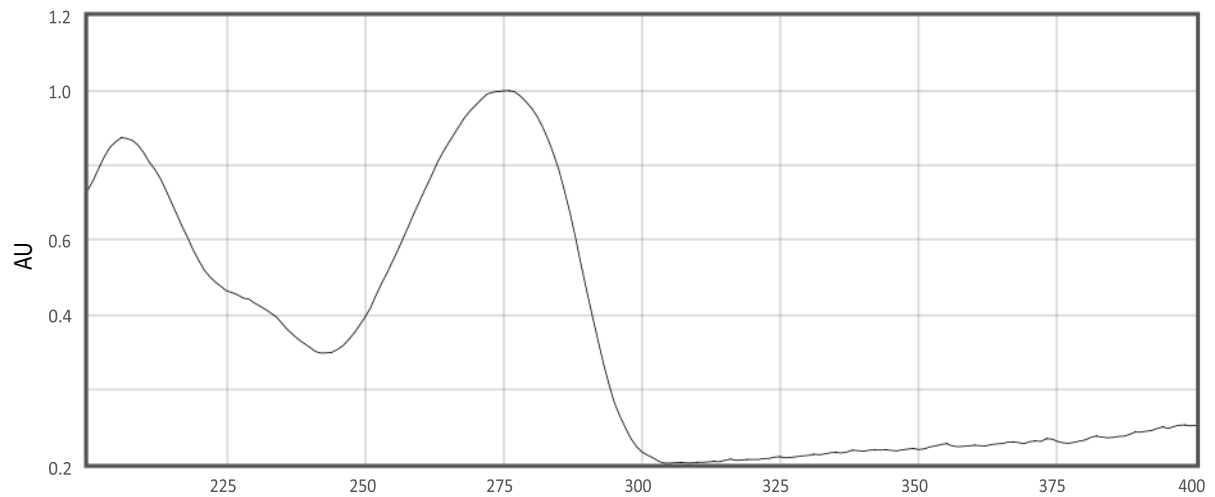


wanti 4 9 2023

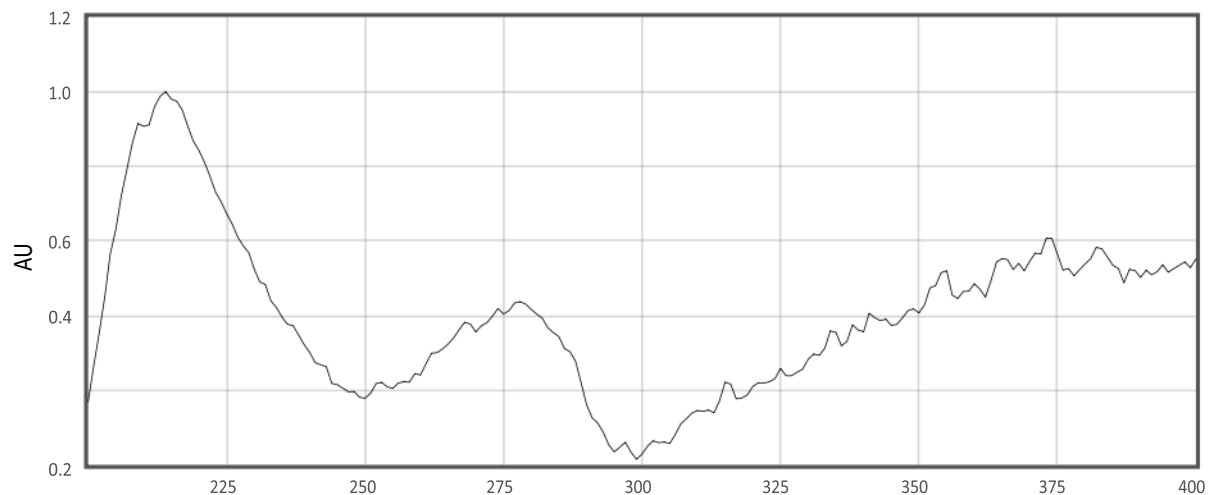
Tr. 5 R 0.230 (42.0 mm, 28.4 mm)



Tr. 6 R 0.226 (50.0 mm, 28.1 mm)

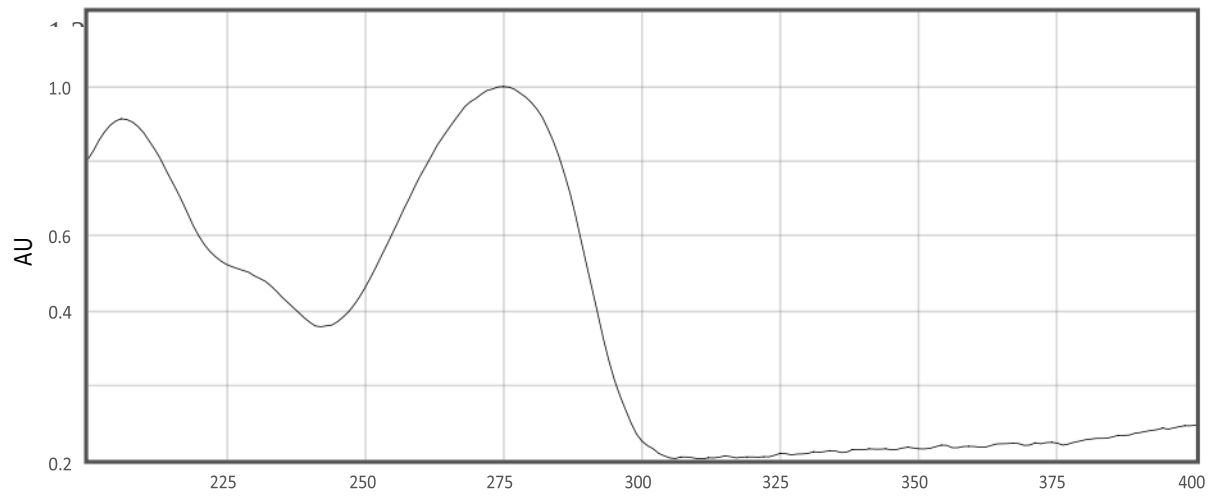


Tr. 7 R 0.223 (58.0 mm, 27.8 mm)

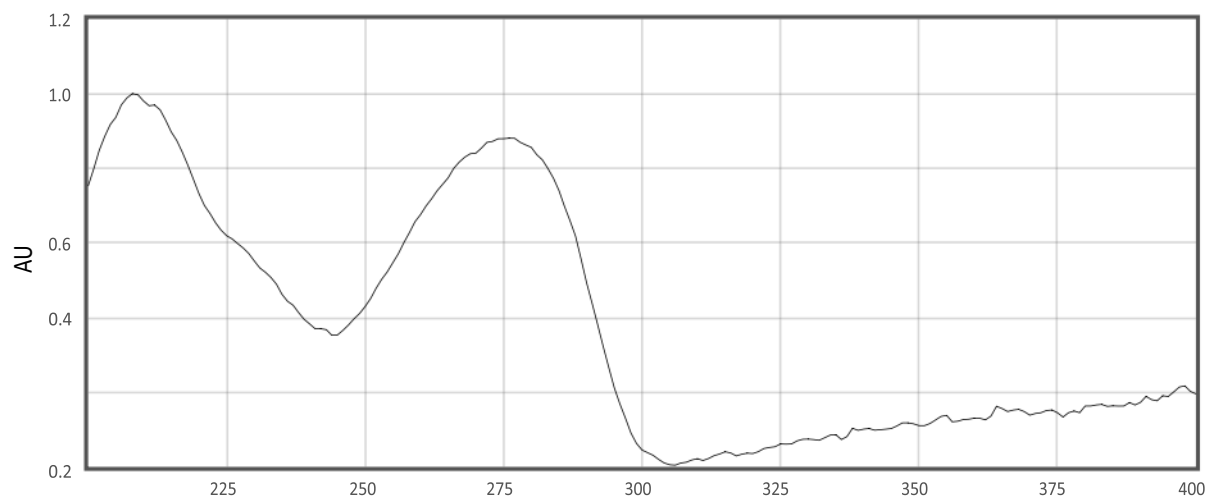


wanti 4 9 2023

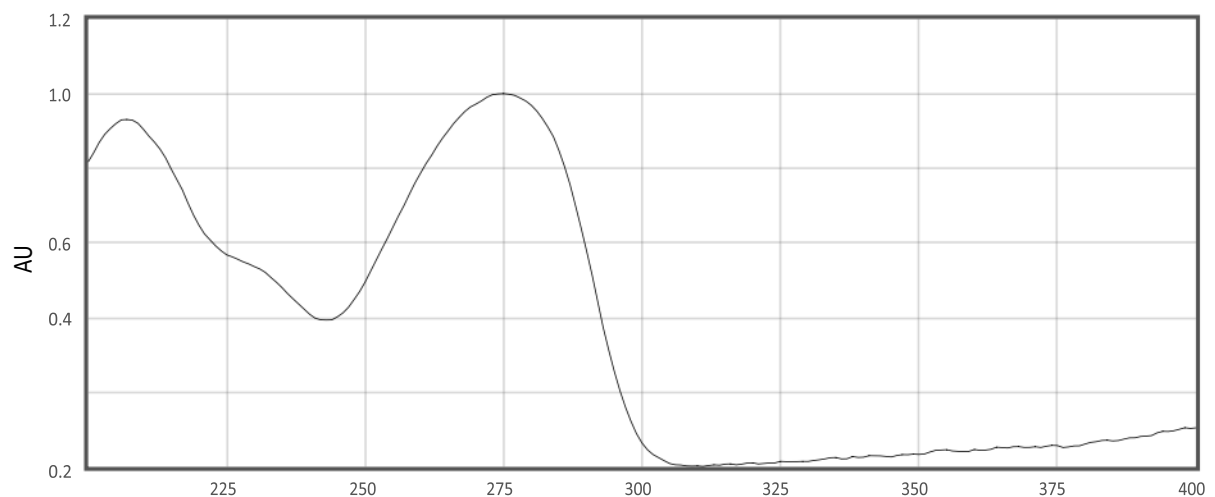
Tr. 8 R 0.220 (66.0 mm, 27.6 mm)



Tr. 9 R 0.216 (74.0 mm, 27.3 mm)



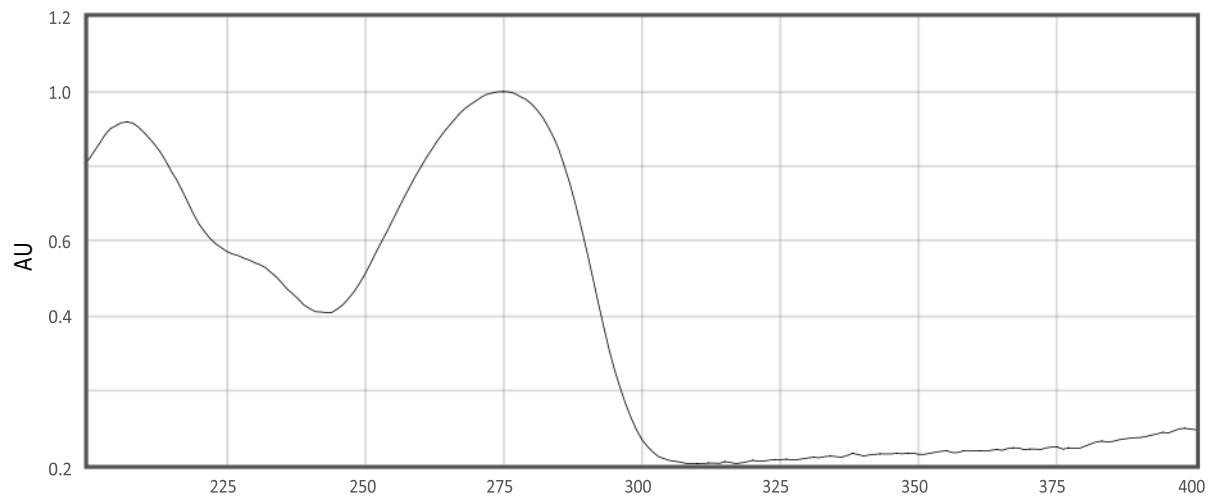
Tr. 10 R 0.217 (82.0 mm, 27.4 mm)



wanti 4 9 2023

Tr. 11 R 0.212 (90.0 mm, 27.0 mm)

visionCA



Spectrum correlation data:

Substance name	Track	R _F	r(s,m)	r(e,m)	Ref. spectrum	Correlation
cafein	1	0.216	0.000000	0.000000	Tr. 2, Rf 0.230, Sub. cafein	0.444913
cafein	2	0.230	0.000000	0.000000	Tr. 1, Rf 0.216, Sub. cafein	0.444913
cafein	3	0.216	0.000000	0.000000	Tr. 2, Rf 0.230, Sub. cafein	0.448205
cafein	4	0.230	0.000000	0.000000	Tr. 3, Rf 0.216, Sub. cafein	0.543515
cafein	5	0.230	0.000000	0.000000	Tr. 4, Rf 0.230, Sub. cafein	0.205277
cafein	6	0.226	0.000000	0.000000	Tr. 5, Rf 0.230, Sub. cafein	0.221136
cafein	7	0.223	0.000000	0.000000	Tr. 6, Rf 0.226, Sub. cafein	0.274272
cafein	8	0.220	0.000000	0.000000	Tr. 7, Rf 0.223, Sub. cafein	0.258865
cafein	9	0.216	0.000000	0.000000	Tr. 8, Rf 0.220, Sub. cafein	0.980683
cafein	10	0.217	0.000000	0.000000	Tr. 9, Rf 0.216, Sub. cafein	0.982758
cafein	11	0.212	0.000000	0.000000	Tr. 10, Rf 0.218, Sub. cafein	0.999787

Scan developed plate 1c - TLC Scanner 4 (S/N: 270739):

Executed 10-Jun-2023 23:05:33 visionCATSuser

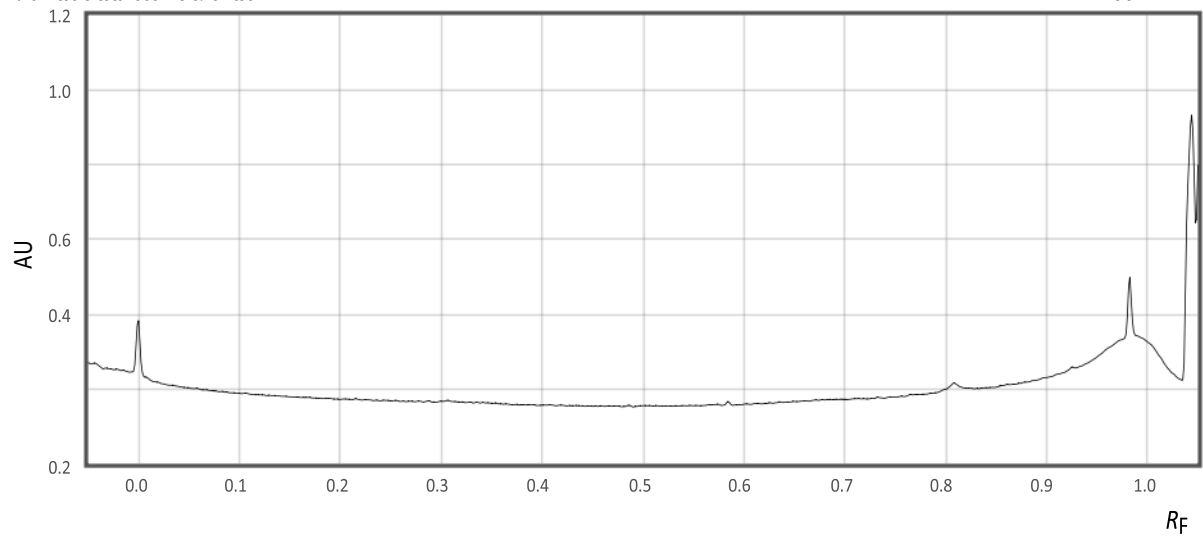
Scan:

Wavelength 275 nm

Track 1:

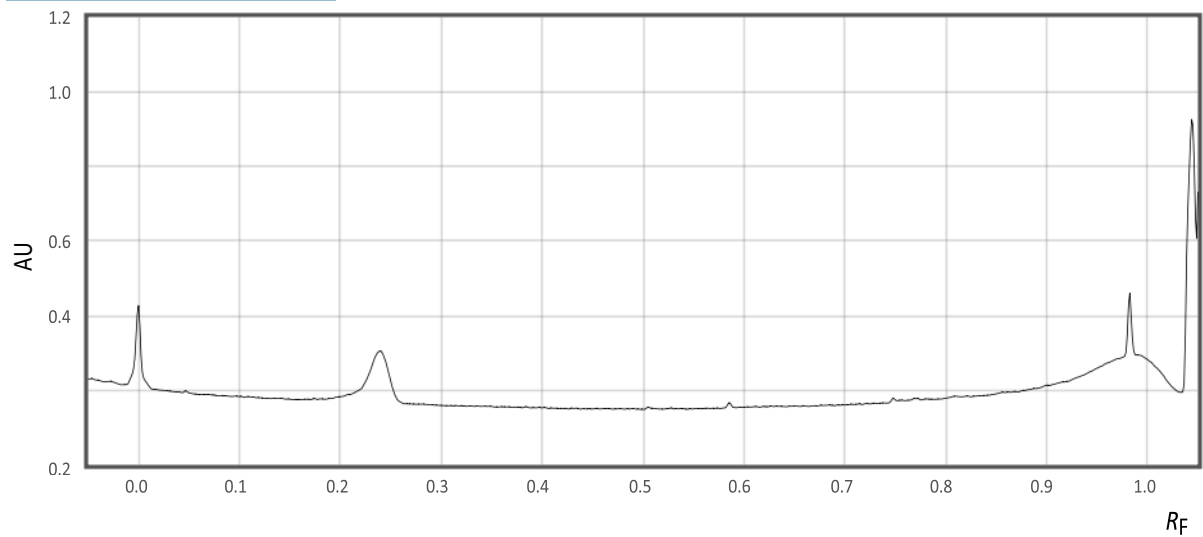
Type Single λ

wanti 4 9 2023
10-06-2023 23:14:49



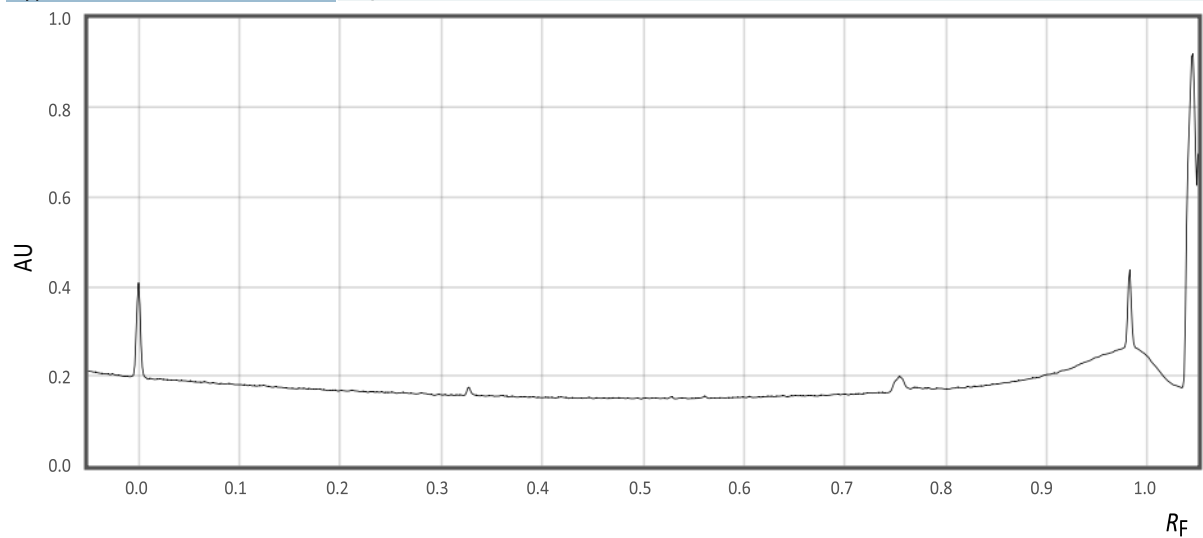
Track 2:

Type Single λ

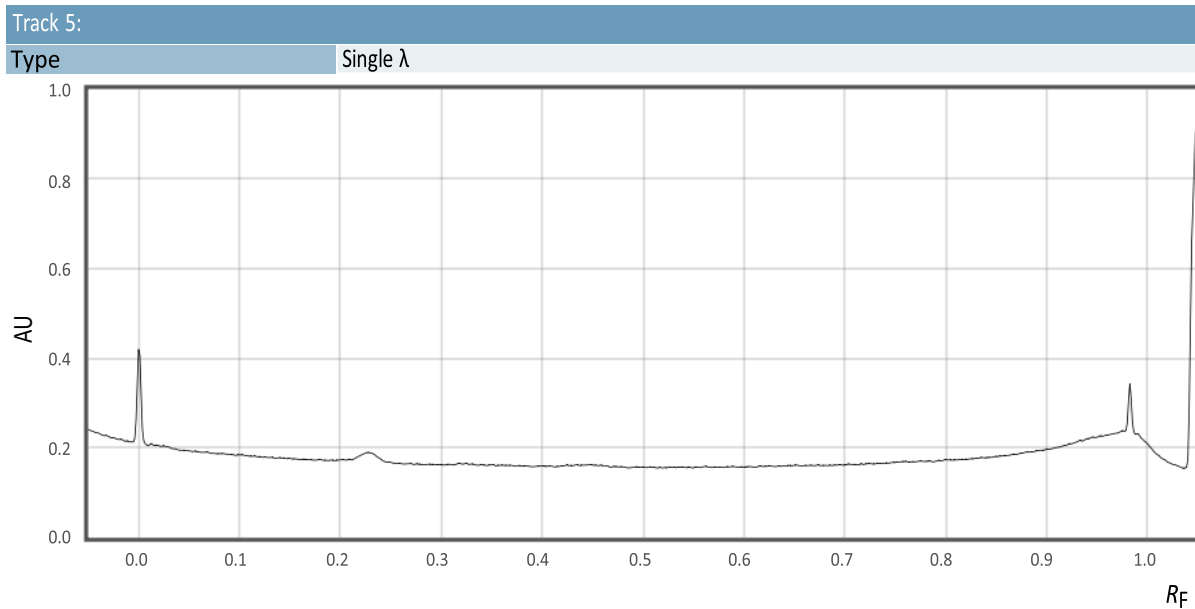


Track 3:

Type Single λ

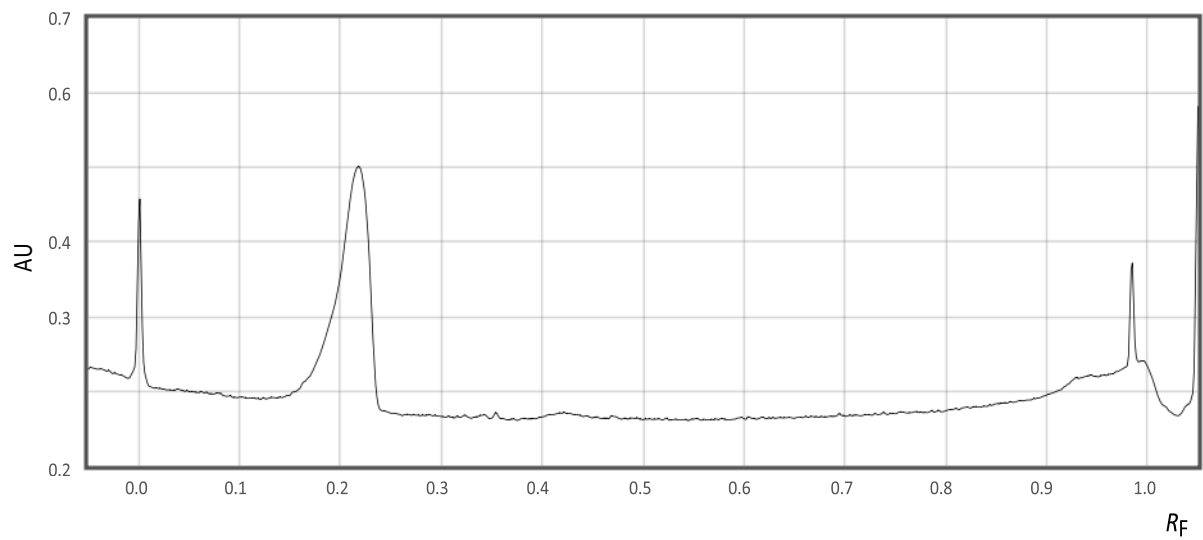
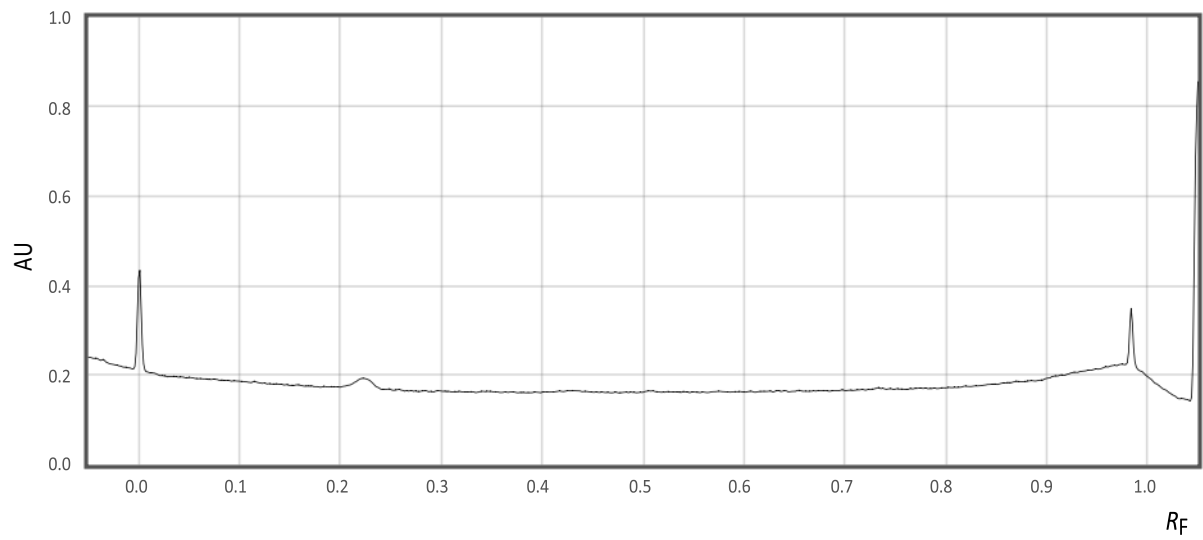
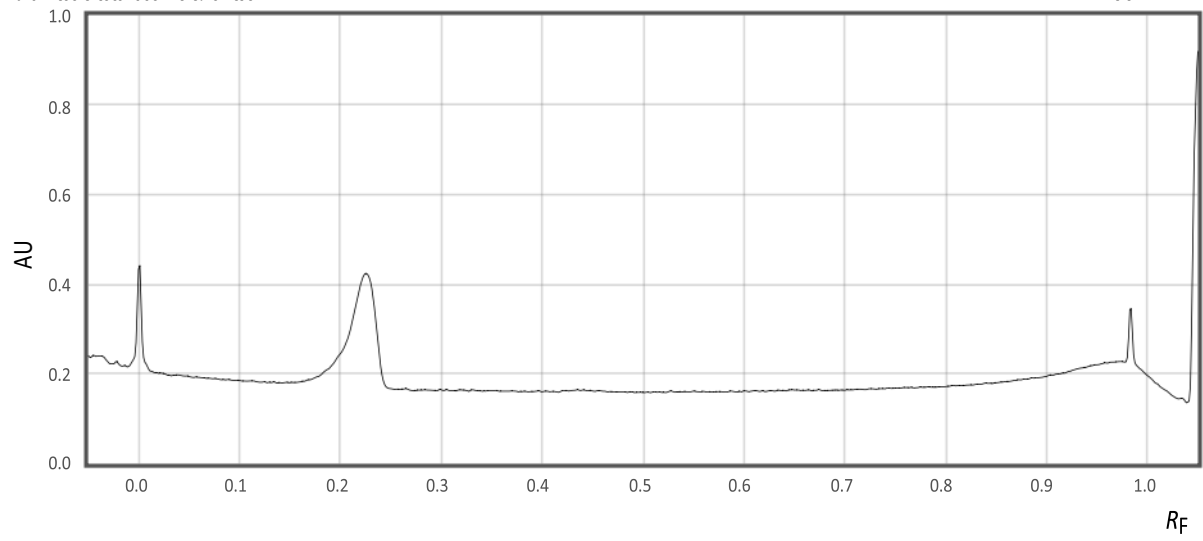


Type	Single λ
------	------------------

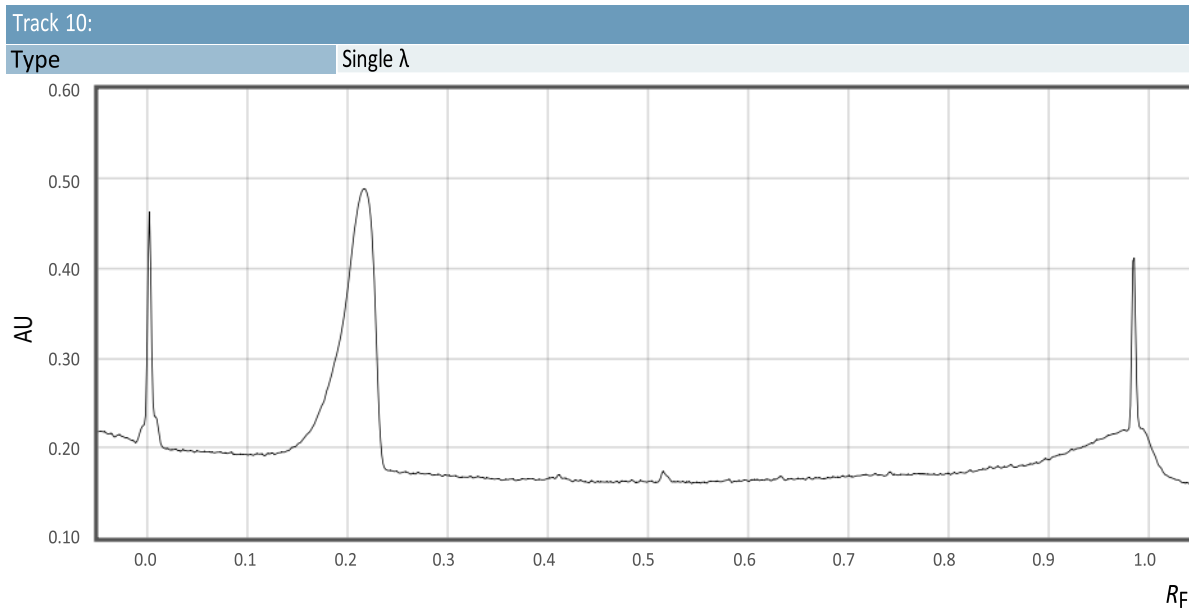


Type	Single λ
------	------------------

wanti 4 9 2023
11-00370010-005000

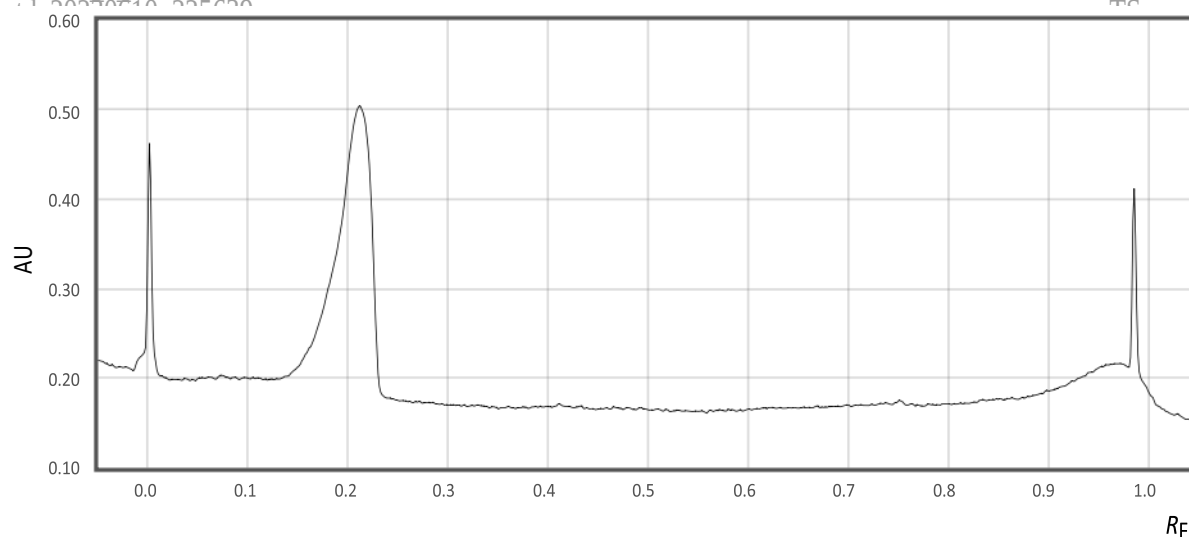


Type	Single λ
------	------------------



Type	Single λ
------	------------------

wanti 4 9 2023
11-00370010-005000



Evaluation 1 :

Locked	No
Step	Scan developed plate 1c
Concentration unit type	Mass / volume
Notes	

Definition:

References:

S1		
Substance Name	Concentration	Purity
3 cafein	25.000 µg/ml	100.00 %
S2		
Substance Name	Concentration	Purity
3 cafein	50.000 µg/ml	100.00 %
S3		
Substance Name	Concentration	Purity
3 cafein	100.000 µg/ml	100.00 %
S4		
Substance Name	Concentration	Purity
3 cafein	150.000 µg/ml	100.00 %
S5		
Substance Name	Concentration	Purity
3 cafein	200.000 µg/ml	100.00 %
S6		
Substance Name	Concentration	Purity
3 cafein	250.000 µg/ml	100.00 %
S7		
Substance Name	Concentration	Purity
3 cafein	300.000 µg/ml	100.00 %

wanti 4 9 2023

S8

Substance Name	Concentration	Purity
3 cafein	350.000 µg/ml	100.00 %

S9

Substance Name	Concentration	Purity
3 cafein	400.000 µg/ml	100.00 %

S10

Substance Name	Concentration	Purity
3 cafein	450.000 µg/ml	100.00 %

S11

Substance Name	Concentration	Purity
3 cafein	500.000 µg/ml	100.00 %

Samples:

Vial ID	Amount	Volume solution	Reference amount	Related to
---------	--------	-----------------	------------------	------------

Integration parameters:

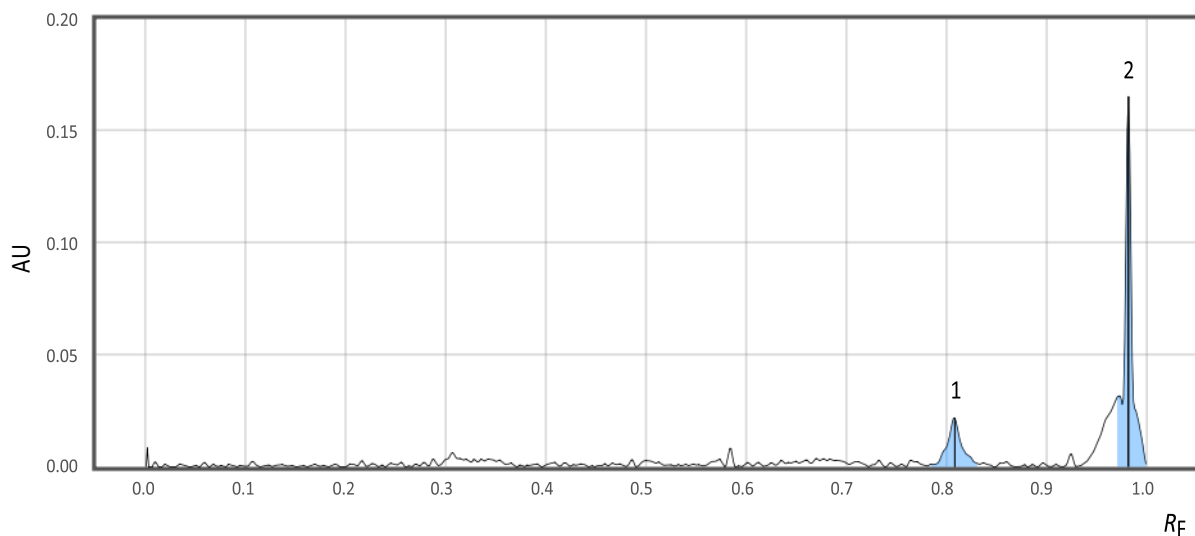
Bounds	[0.000,1.000]
Smoothing	Savitzky-Golay of order 3 and window 7
Baseline correction	Lowest slope with noise 0.05
Profile subtraction	None
Peaks detection	Gauss (legacy) with sensitivity 0.1, separation 1 and threshold 0.1

Scan:

Wavelength	275 nm
------------	--------

Track 1:

Type	Reference
Vial ID	S1
Description	STD 1
Volume	20.0 µl



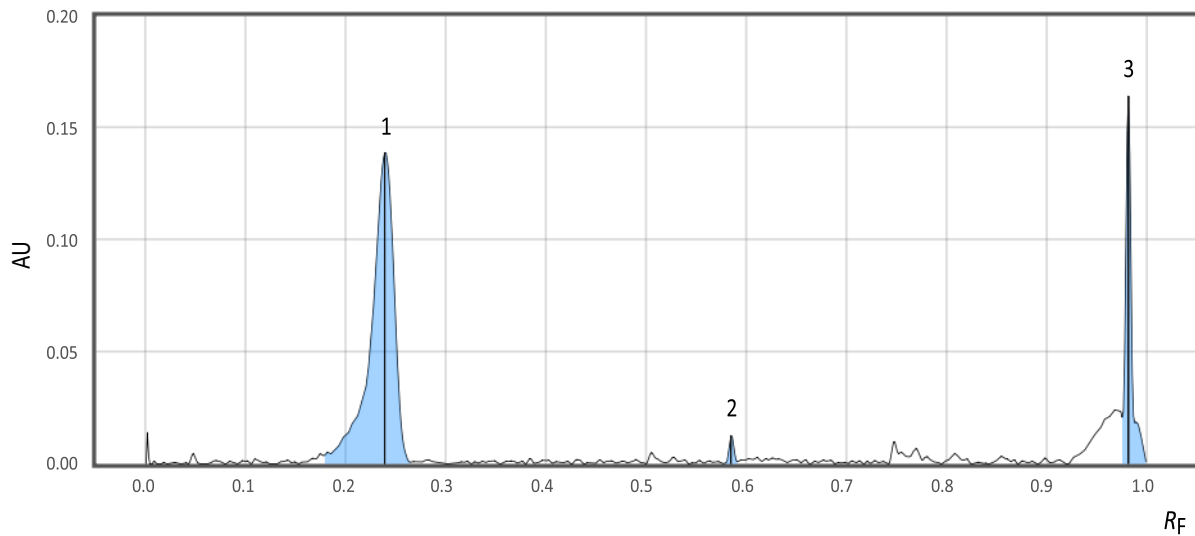
wanti 4 9 2023

visionCA

Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	R _F	H	R _F	H	%	R _F	H	A	%		
1	0.782	0.0008	0.809	0.0219	11.68	0.834	0.0012	0.00037	19.68	No	
2	0.966	0.0261	0.983	0.1654	88.32	1.000	0.0012	0.00152	80.32	No	

Track 2:

Type	Reference
Vial ID	S2
Description	STD 2
Volume	20.0 µl

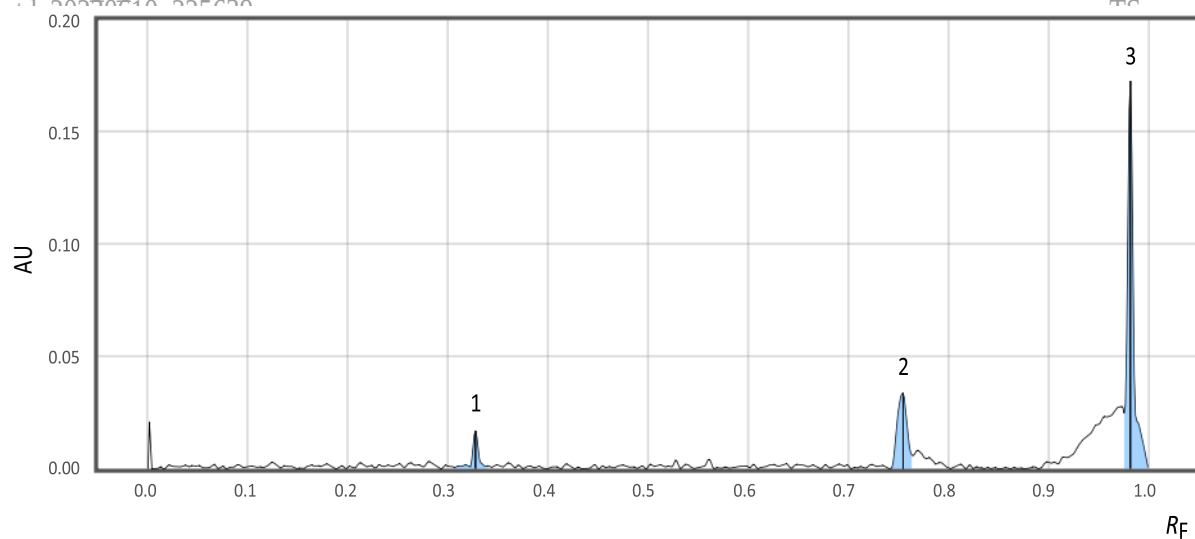


Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	R _F	H	R _F	H	%	R _F	H	A	%		
1	0.179	0.0039	0.239	0.1390	44.01	0.265	0.0007	0.00369	75.48	No	3 cafein
2	0.578	0.0001	0.585	0.0125	3.97	0.591	0.0010	0.00007	1.45	No	
3	0.976	0.0208	0.983	0.1643	52.01	1.000	0.0009	0.00113	23.07	No	

Track 3:

Type	Reference
Vial ID	S3
Description	STD 3
Volume	20.0 µl

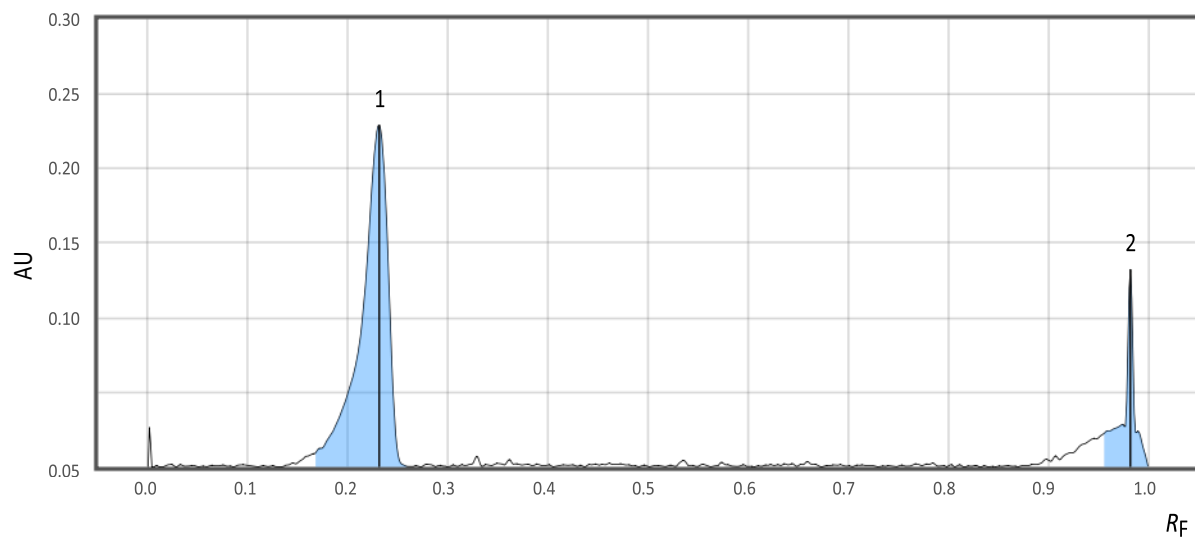
wanti 4 9 2023



Peak #	Start		Max			End		Area		Manual	Substance Name
	R_F	H	R_F	H	%	R_F	H	A			
1	0.306	0.0005	0.328	0.0169	7.56		0.0006	0.00013	7.45	No	
	0.741	0.0000	0.755	0.0337	15.10		0.0058	0.00039	22.88	No	

Track 4:

Type Vial	Reference
ID	S4 STD
Description	4

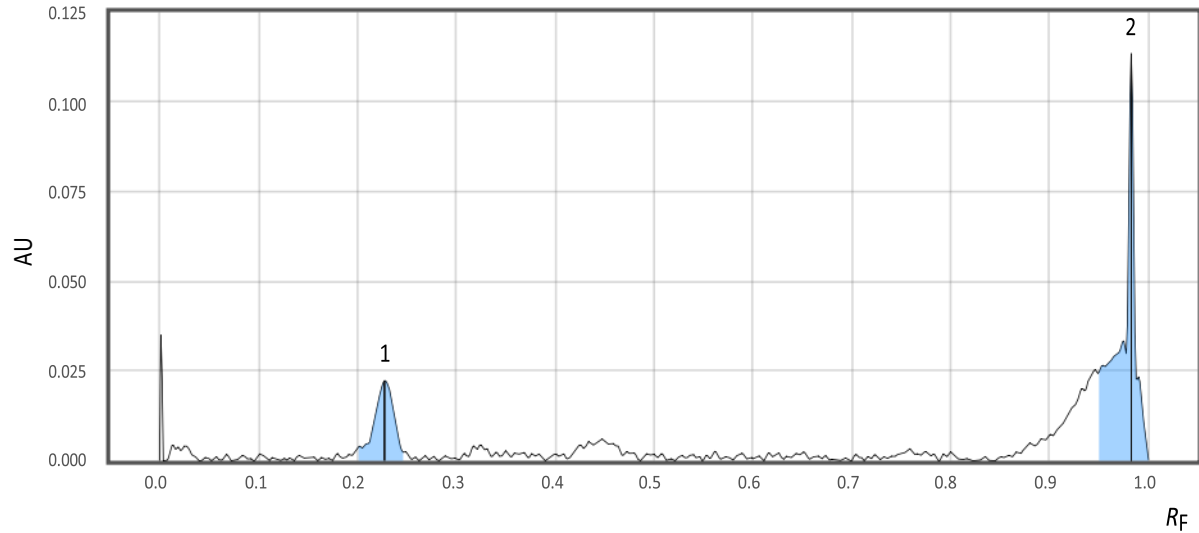


Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	R_F	H	R_F	H	%	R_F	H	A	%		
1	0.168	0.0093	0.231	0.2290	63.39	0.261	0.0002	0.00705	82.28	No	3 cafein
2	0.956	0.0224	0.983	0.1322	36.61	1.000	0.0004	0.00152	17.72	No	

Track 5:

wanti 4 9 2023

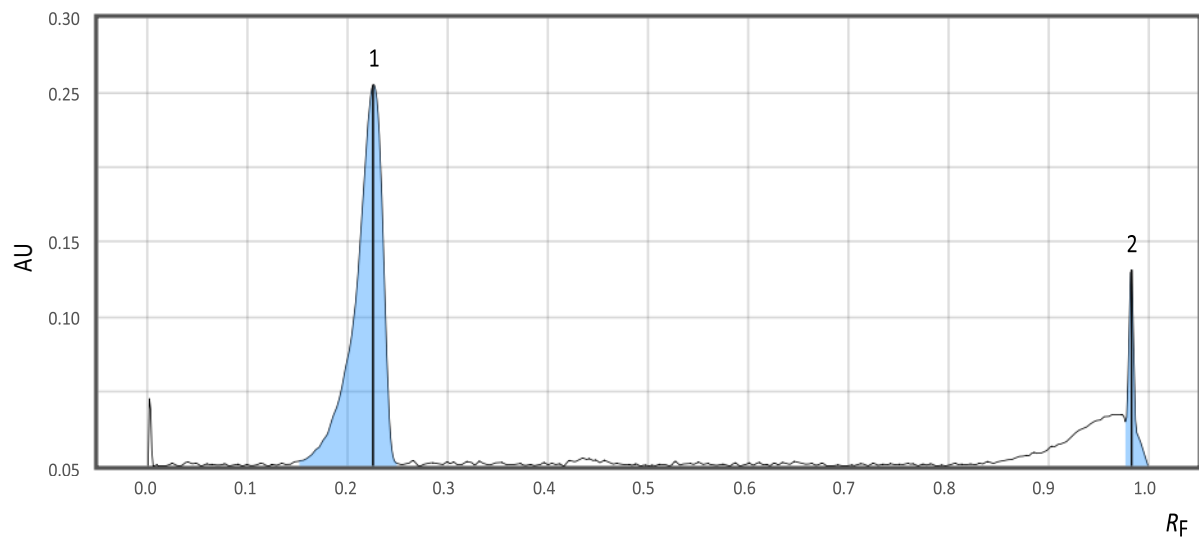
Type	Reference
Vial ID	S5
Description	STD 5
Volume	20.0 µl



Peak #	Start		Max			End		Area		Manual	Substance Name
	R _F	H	R _F	H	%	R _F	H	A			
1	0.199	0.0028	0.228	0.0223	16.42	0.247	0.0024	0.00052	24.04	No	

Track 6:

Type Vial	Reference
ID	S6 STD
Description	6



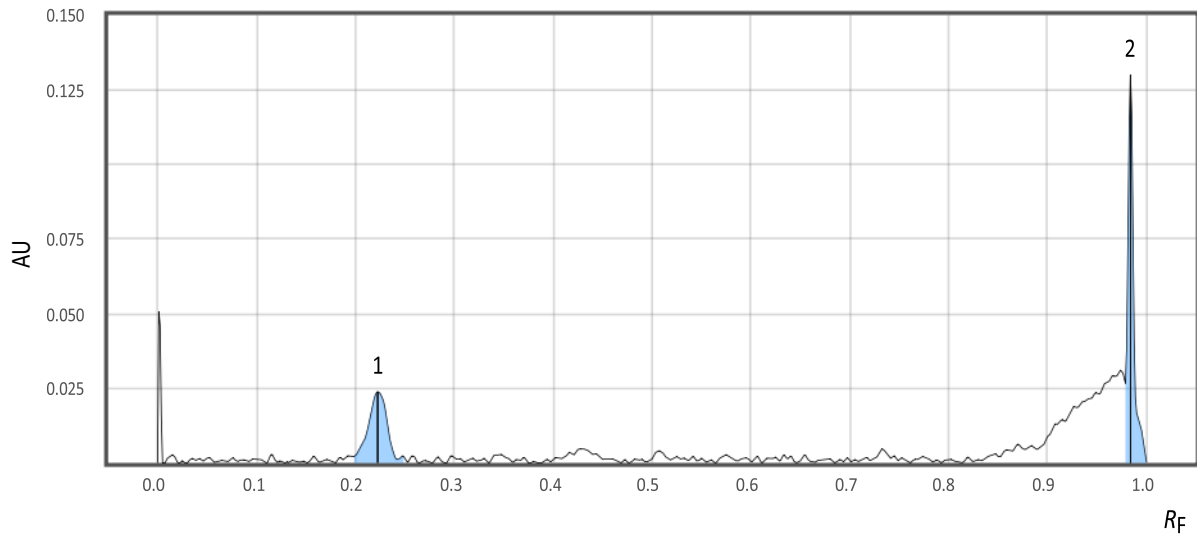
Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	R _F	H	R _F	H	%	R _F	H	A	%		
1	0.149	0.0029	0.225	0.2552	66.03	0.254	0.0008	0.00806	89.30	No	3 cafein
2	0.978	0.0296	0.984	0.1313	33.97	1.000	0.0002	0.00097	10.70	No	

wanti 4 9 2023

visionCA

Track 7:

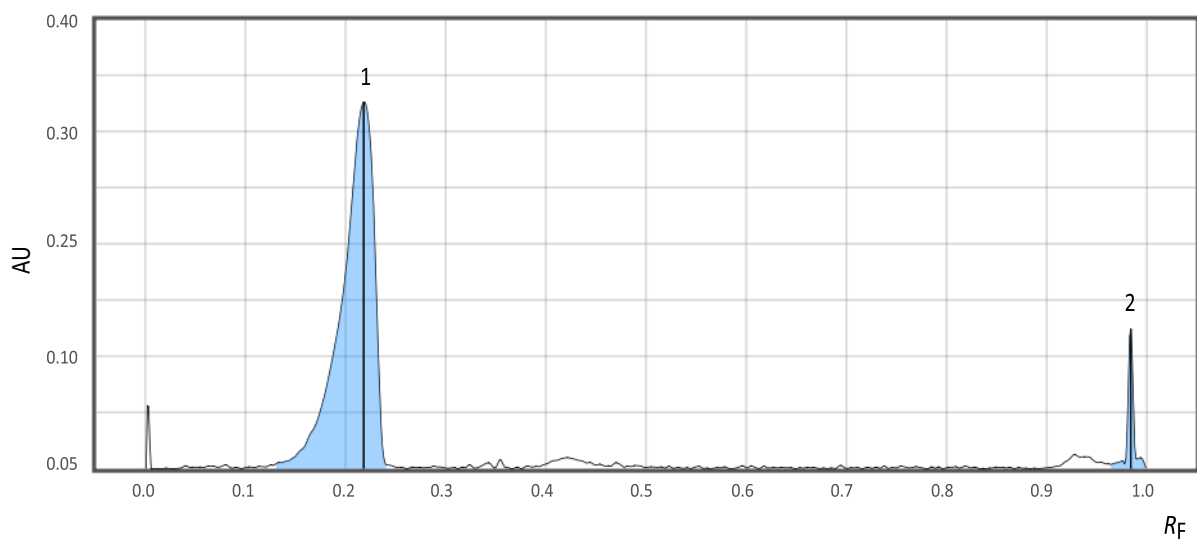
Type	Reference
Vial ID	S7
Description	STD 7
Volume	20.0 µl



Peak #	Start		Max				End		Area		Manual	Substance Name
	R _F	H	R _F	H	%		R _F	H	A			
1	0.199	0.0021	0.223	0.0238	15.49	0.253	0.0003	0.00054	37.65	No		

Track 8:

Type Vial	Reference
ID	S8 STD
Description	8



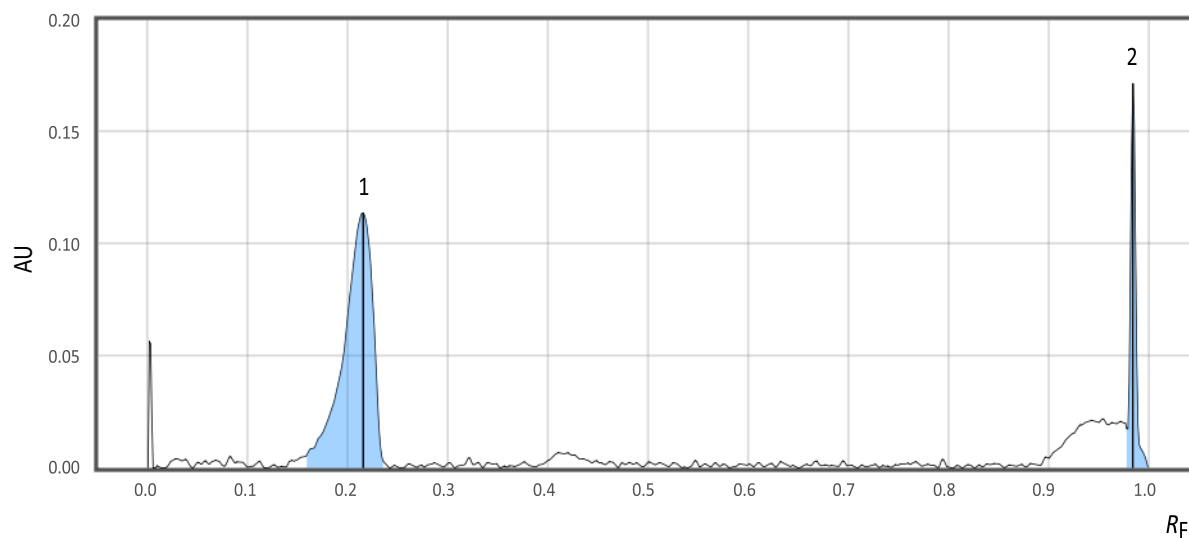
Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	R _F	H	R _F	H	%	R _F	H	A	%		
1	0.129	0.0036	0.217	0.3269	72.41	0.241	0.0032	0.01224	93.63	No	3 cafein
2	0.965	0.0038	0.985	0.1246	27.59	1.000	0.0005	0.00083	6.37	No	

wanti 4 9 2023

visionCA

Track 9:

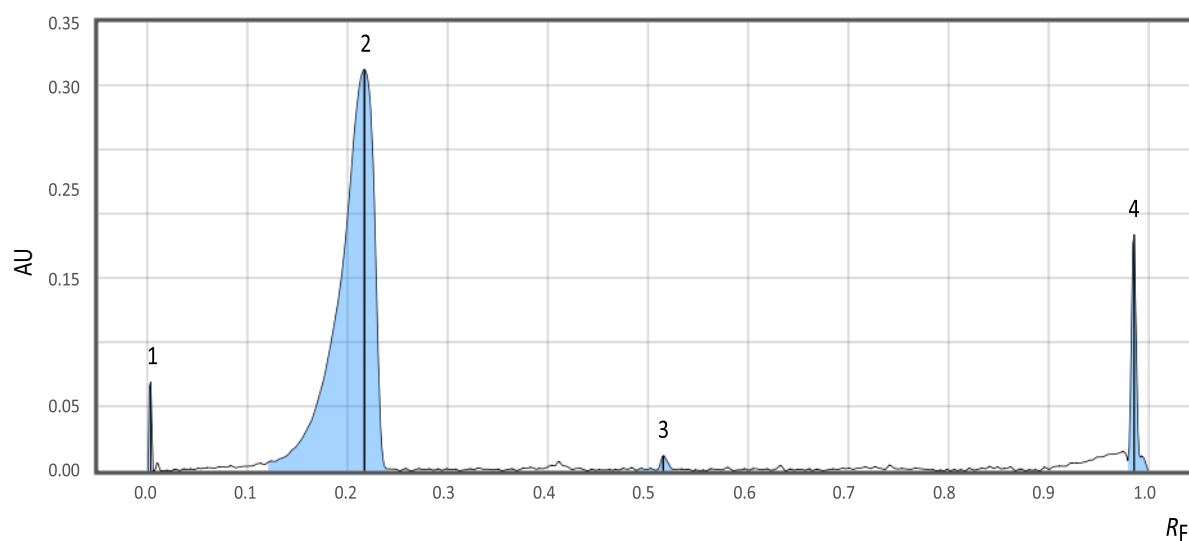
Type	Reference
Vial ID	S9
Description	STD 9
Volume	20.0 µl



Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	R _F	H	R _F	H	%	R _F	H	A	%		
1	0.159	0.0058	0.215	0.1139	39.88	0.241	0.0000	0.00382	78.49	No	3 cafein
2	0.979	0.0174	0.985	0.1717	60.12	1.000	0.0002	0.00105	21.51	No	

Track 10:

Type	Reference
Vial ID	S10
Description	STD 10
Volume	20.0 µl



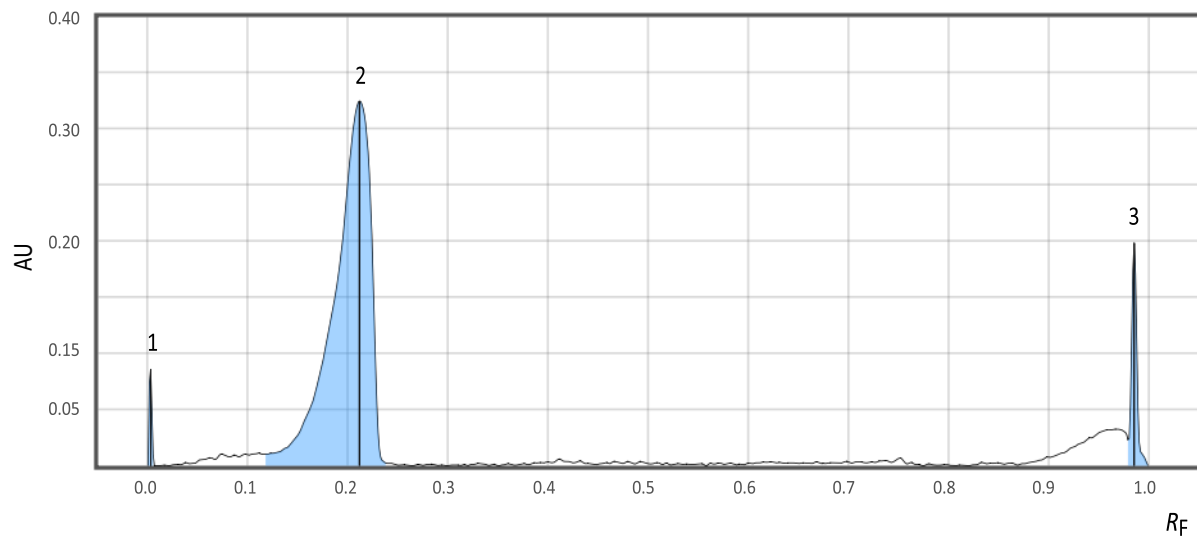
wanti 4 9 2023

visionCA

Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	R _F	H	R _F	H	%	R _F	H	A	%		
1	0.000	0.0000	0.003	0.0691	11.96	0.005	0.0000	0.00021	1.48	No	3 cafein
2	0.120	0.0067	0.216	0.3129	54.17	0.240	0.0014	0.01252	89.69	No	
3	0.489	0.0003	0.515	0.0116	2.00	0.526	0.0010	0.00012	0.87	No	
4	0.980	0.0079	0.986	0.1841	31.87	1.000	0.0003	0.00111	7.95	No	

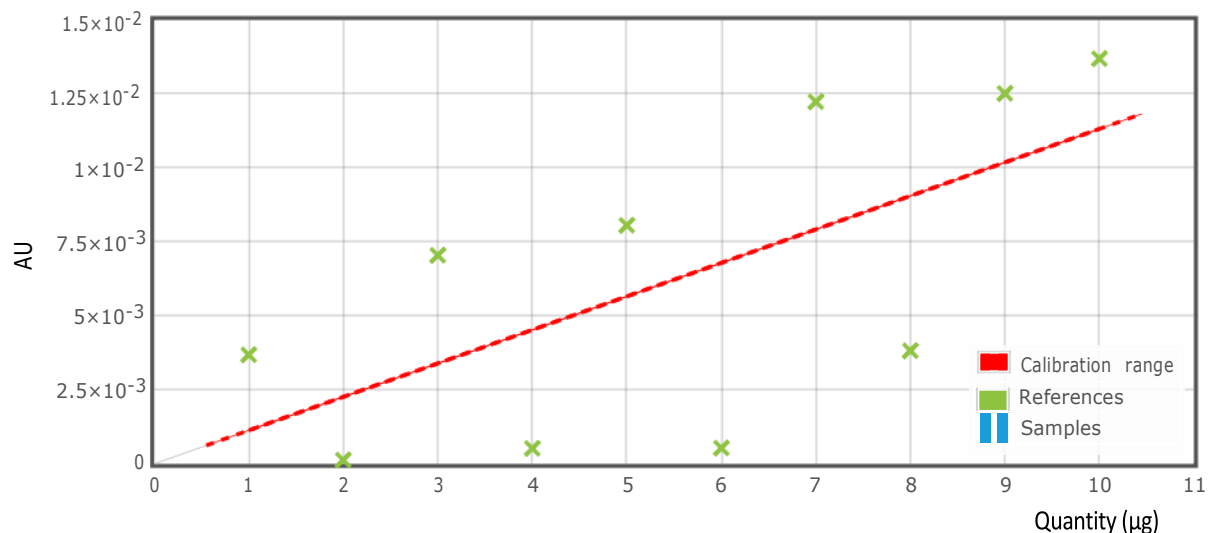
Track 11:

Type	Reference
Vial ID	S11
Description	STD 11
Volume	20.0 µl



Peak #	Start		Max			End		Area		Manual	Substance Name
	R _F	H	R _F	H	%	R _F	H	A			
1	0.000	0.0000	0.003	0.0858	14.08	0.006	0.0000	0.00027	1.79	No	3 cafein
2	0.116	0.0102	0.211	0.3251	53.35	0.239	0.0021	0.01369	90.18	No	
3	0.980	0.0230	0.986	0.1985	32.58	1.000	0.0001	0.00122	8.03	No	

Calibration results:



wanti 4_9_2023

Regression mode	Linear-1
Range deviation	5.00 %
Related substances	Default
Number of references	10
Calibration function	$y = 1.132 \times 10^{-9} x$
Coefficient of variation	CV 60.62 %
Correlation coefficient	R=0.655748

Results:

Substance having no available results

 3 cafein	There wasn't any sample application available in the assignments for this substance. Please check that the peaks were correctly detected and assigned for this substance.
--	---

A track marked with  means: this result is outside the regression range given by the reference assignments, but is included in the results because it is in the allowed range deviation.

Analyst:

Reviewer:

Analysis: wanti 4_9_2023_20230610_223224

Path: Home/Stikes

Based on method: wanti 4_9_2023

Created	10-Jun-2023 22:32:26	visionCATSuser
Modified	10-Jun-2023 22:47:44	visionCATSuser
Last HPTLC log	10-Jun-2023 22:47:44	Analysis modified
Explorer notes		

Track	Vial ID	Description	Volume	Position	Type
1	S1	sampel 1 rep 1	20.0 µl	N/A	Sample
2	S2	sampel 1 rep 2	20.0 µl	N/A	Sample
3	S3	sampel 1 rep 3	20.0 µl	N/A	Sample
4	S4	sampel 1 rep 4	20.0 µl	N/A	Sample
5	S5	sampel 2 rep 1	20.0 µl	N/A	Sample
6	S6	sampel 2 rep 2	20.0 µl	N/A	Sample
7	S7	sampel 2 rep 3	20.0 µl	N/A	Sample
8	S8	sampel 2 rep 4	20.0 µl	N/A	Sample
9	S9	sampel 3 rep 1	20.0 µl	N/A	Sample
10	S10	sampel 3 rep 2	20.0 µl	N/A	Sample
11	S11	sampel 3 rep 3	20.0 µl	N/A	Sample
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					
21					
22					
23					

Track Assignment notes

A track marked with  means: the application type is overridden in some evaluation(s).

Report generation: 10-Jun-2023 23:14:49 -

Id: 77717

27 -

System setup:

Software	Server DESKTOP-9FP6PG6, version 3.0.20196.1
Chamber	N/A
Manual application	N/A
TLC Scanner 4	S/N:270739

Chromatography

Plate layout:

Stationary phase	Merck, HPTLC Silica gel 60 F ₂₅₄
Plate format	200 x 100 mm
Application type	User
Application	Position Y: 10.0 mm, length: 5.0 mm, width: 0.0 mm
Track	First position X: 10.0 mm, distance: 8.0 mm
Solvent front position	90 mm
Notes	

Application 1 - Manual application:

wanti

Notes

Development 1 - Chamber:

Tank	TTC 20x10
Mobile phase	Chloroform : Ethanol = 99 : 1
Saturation time	20 min
Use saturation pad	true
Use smartALERT	false
Volume front through	10 ml
Volume rear through	20 ml
Drying time	5 min
Drying temperature	Room temperature
Notes	

Scan developed plate 1a - TLC Scanner 4 (S/N: 270739):

Scanner type	Single λ
Optimization for	Resolution
Measurement mode	Absorbance
Filter	n/a
Detector mode	Automatic
Scanning speed	20 mm/s
Data resolution	100 μ m/step
Slit	10 x 0.2 mm, macro
Partial scan	No
Lamp	Deuterium
Wavelength(s)	254 nm
Instrument diagnostics	Valid diagnostics
Step status	⚠ Step was restored
Documentation step label	
Notes	

Spectrum Scan developed plate 1b - TLC Scanner 4 (S/N: 270739):

Scanner type	Spectrum
Optimization for	Resolution
Measurement mode	Absorbance
Filter	n/a
Detector mode	Automatic
Spectrum speed	20 nm/s
Data resolution	1 nm
Slit	10 x 0.2 mm, macro
Lamp	Deuterium
Wavelength range	200 nm to 400 nm
Reference spectrum	Per plate, X=10.0 mm, Y=10.0 mm
Purity	No
Instrument diagnostics	Valid diagnostics
Step status	⚠ Step was restored
Documentation step label	
Notes	

Substance TEH (R_F 0.249 +/- 0.044):

wanti

visionCA

Track	R_F	X (mm)	Y (mm)
1	0.217	10.0	27.4
2	0.236	18.0	28.9
3	0.234	26.0	28.7
4	0.228	34.0	28.2
5	0.225	42.0	28.0
6	0.216	50.0	27.3
7	0.214	58.0	27.1
8	0.205	66.0	26.4
9	0.205	74.0	26.4
10	0.205	82.0	26.4
11	0.205	90.0	26.4

Scan developed plate 1c - TLC Scanner 4 (S/N: 270739):

Scanner type	Single λ
Optimization for	Resolution
Measurement mode	Absorbance
Filter	n/a
Detector mode	Automatic
Scanning speed	20 mm/s
Data resolution	100 μ m/step
Slit	10 x 0.2 mm, macro
Partial scan	No
Lamp	Deuterium
Wavelength(s)	275 nm
Instrument diagnostics	Valid diagnostics
Step status	⚠ Step was restored
Documentation step label	
Notes	

System suitability tests:

SST settings:

SST tracks	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11
------------	-----------------------------------

Substance TEH HITAM 2

Substance name	TEH HITAM 2
R_F	0.236
ΔR_F	0.010
Step	
λ	
Status	⚙ Not computed
Description	

Substance TEH HITAM 3

Substance name	TEH HITAM 3
R_F	0.234
ΔR_F	0.010
Step	
λ	
Status	⚙ Not computed
Description	

Substance TEH HITAM 4

wanti

Substance name	TEH HITAM 4
R_F	0.228
ΔR_F	0.010
Step	
λ	
Status	⚙ Not computed
Description	

Substance TEH HIJAU 1	
Substance name	TEH HIJAU 1
R_F	0.225
ΔR_F	0.010
Step	
λ	
Status	⚙ Not computed
Description	

Substance TEH HITAM 1	
Substance name	TEH HITAM 1
R_F	0.218
ΔR_F	0.010
Step	
λ	
Status	⚙ Not computed
Description	

Substance TEH HIJAU 2	
Substance name	TEH HIJAU 2
R_F	0.216
ΔR_F	0.010
Step	
λ	
Status	⚙ Not computed
Description	

Substance TEH HIJAU 3	
Substance name	TEH HIJAU 3
R_F	0.214
ΔR_F	0.010
Step	
λ	
Status	⚙ Not computed
Description	

Substance TEH HIJAU 4	
Substance name	TEH HIJAU 4
R_F	0.205
ΔR_F	0.010
Step	
λ	
Status	⚙ Not computed
Description	

Substance TEH OLONG 1	
-----------------------	--

wanti

Substance name	TEH OLONG 1
R_F	0.205
ΔR_F	0.010
Step	
λ	
Status	⚙ Not computed
Description	

Substance TEH OLONG 2	
Substance name	TEH OLONG 2
R_F	0.205
ΔR_F	0.010
Step	
λ	
Status	⚙ Not computed
Description	

Substance TEH OLONG 3	
Substance name	TEH OLONG 3
R_F	0.205
ΔR_F	0.010
Step	
λ	
Status	⚙ Not computed
Description	

Data acquisition

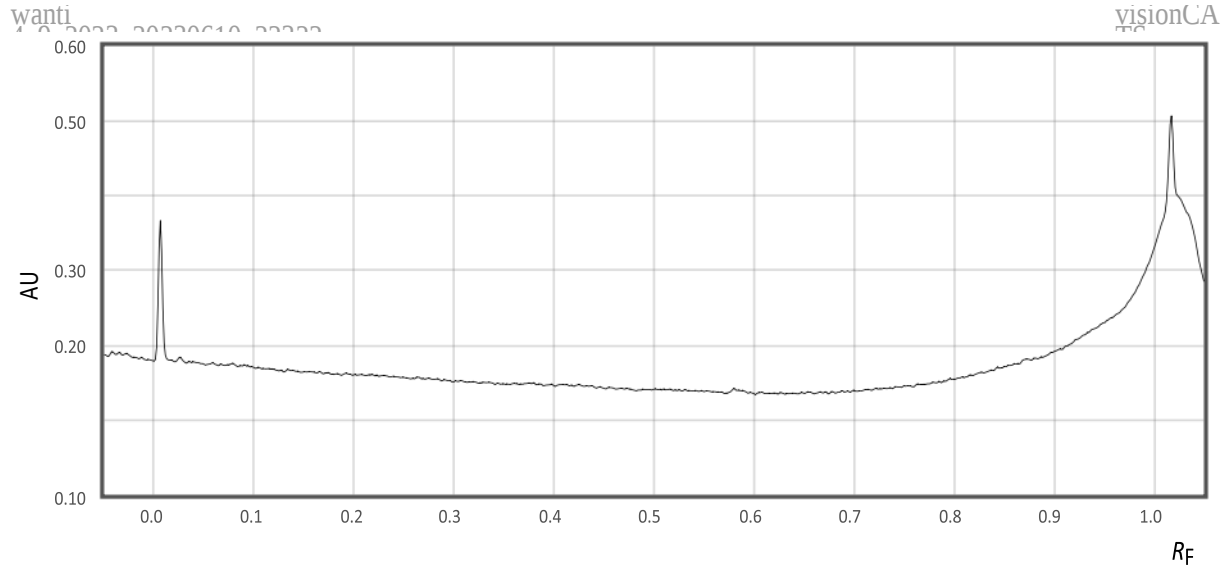
Application 1 - Manual application:	
Executed	10-Jun-2023 22:33:15 visionCATSuser

Development 1 - Chamber:	
Executed	10-Jun-2023 22:33:18 visionCATSuser

Scan developed plate 1a - TLC Scanner 4 (S/N: 270739):	
Executed	10-Jun-2023 22:33:20 visionCATSuser

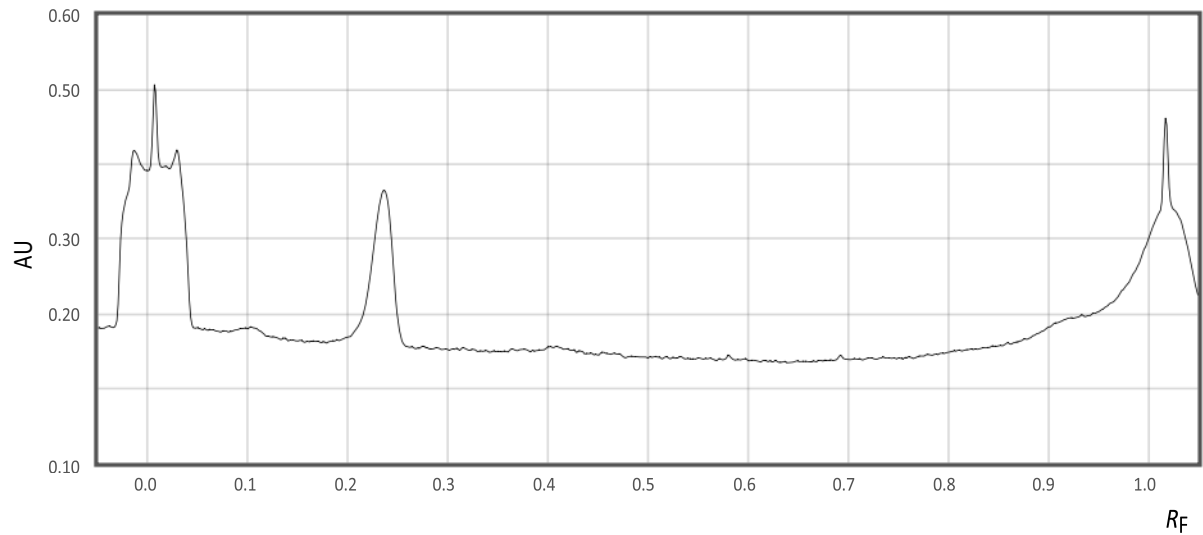
Scan:	
Wavelength	254 nm

Track 1:	
Type	Single λ



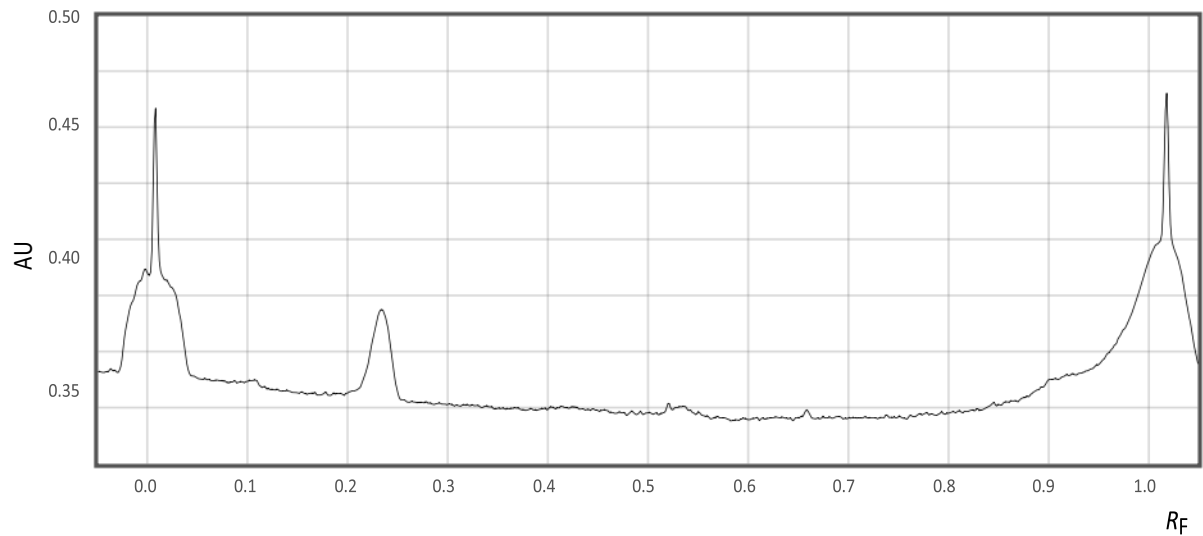
Track 2:

Type Single λ



Track 3:

Type Single λ

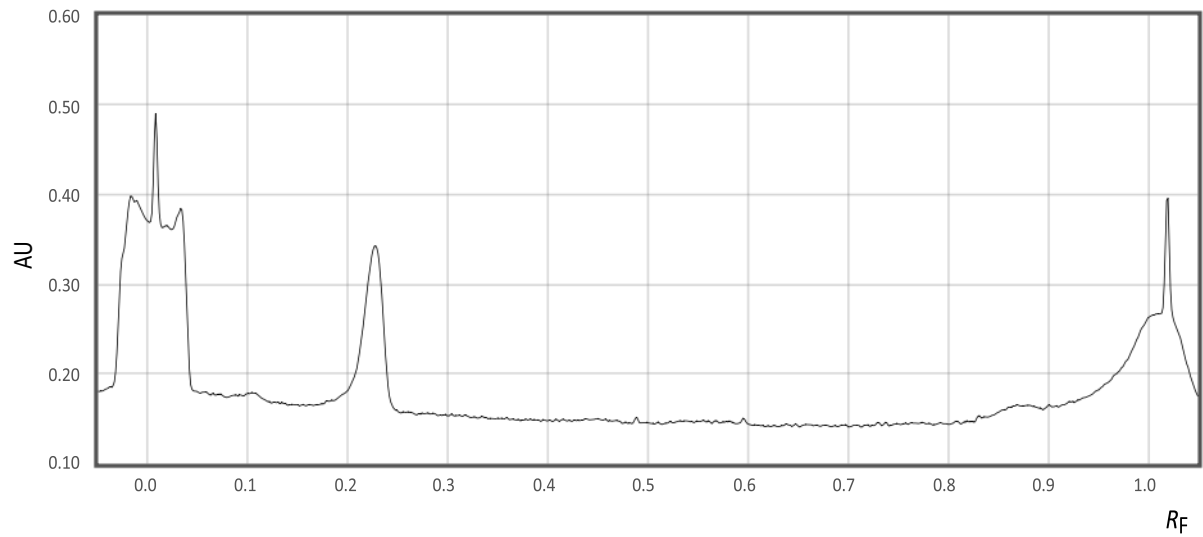


wanti
wa 0000 00000010 00000

visionCA

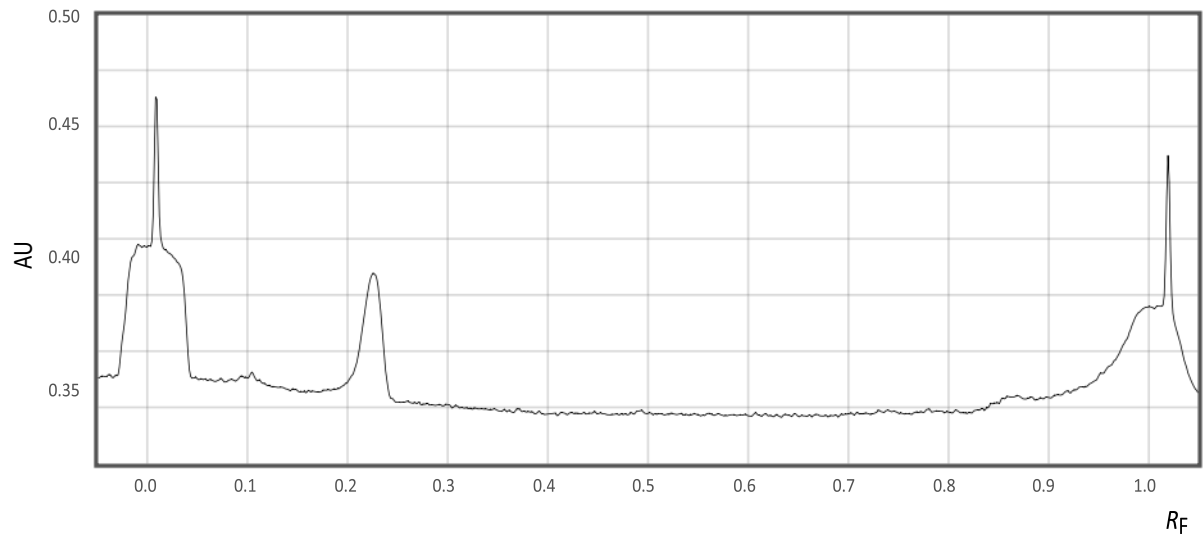
Track 4:

Type Single λ



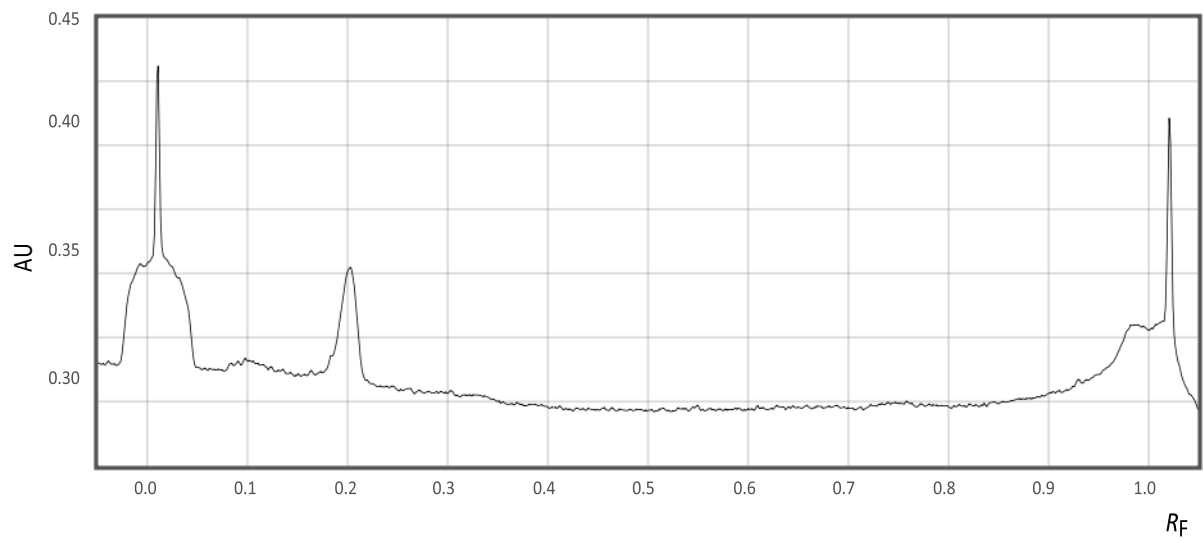
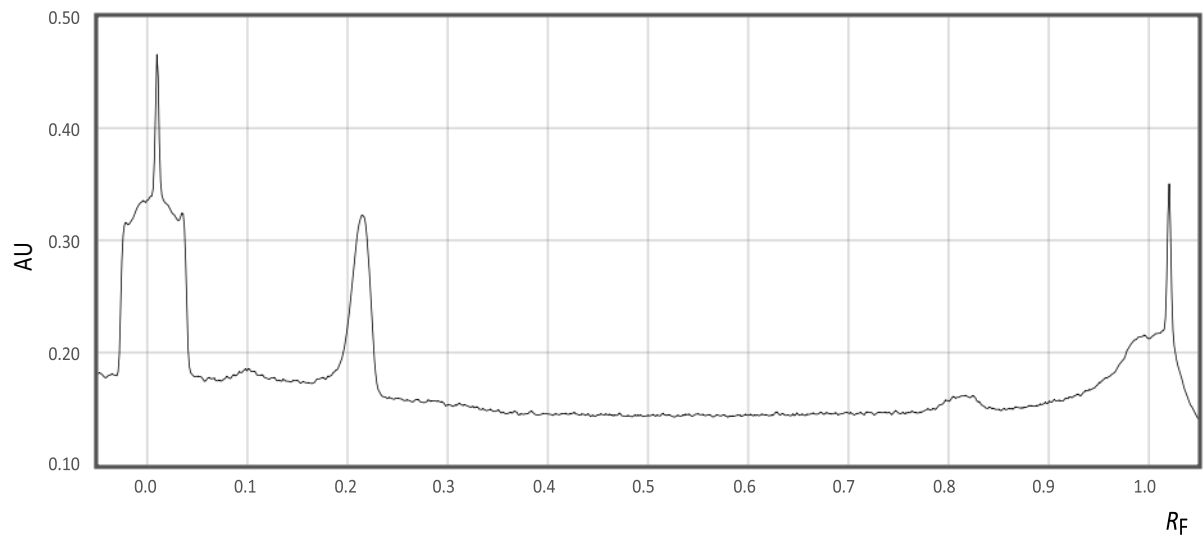
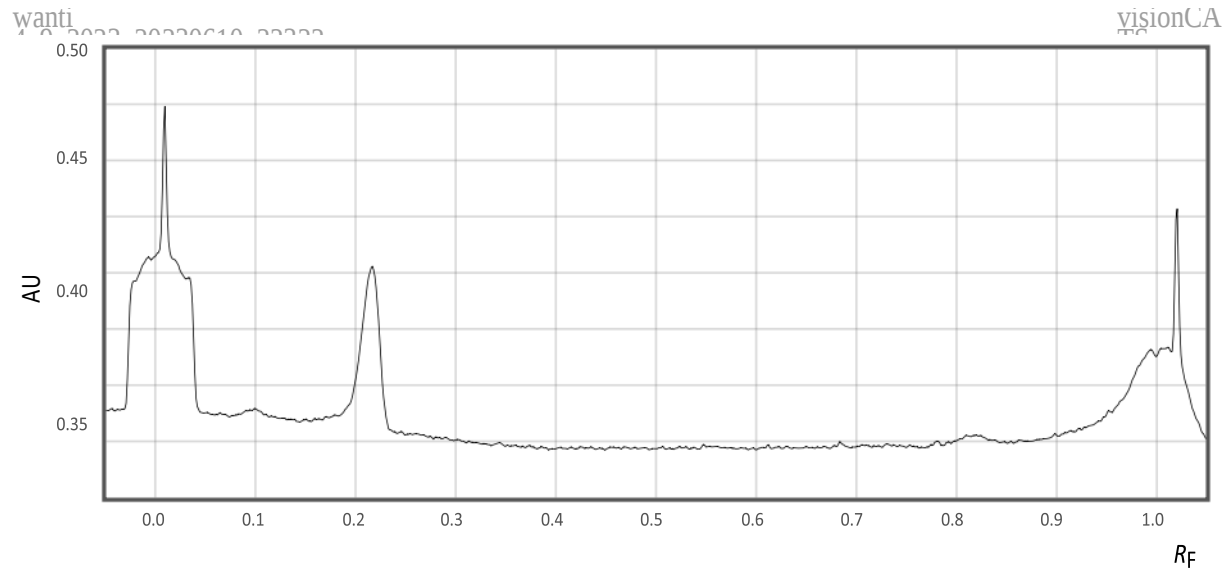
Track 5:

Type Single λ



Track 6:

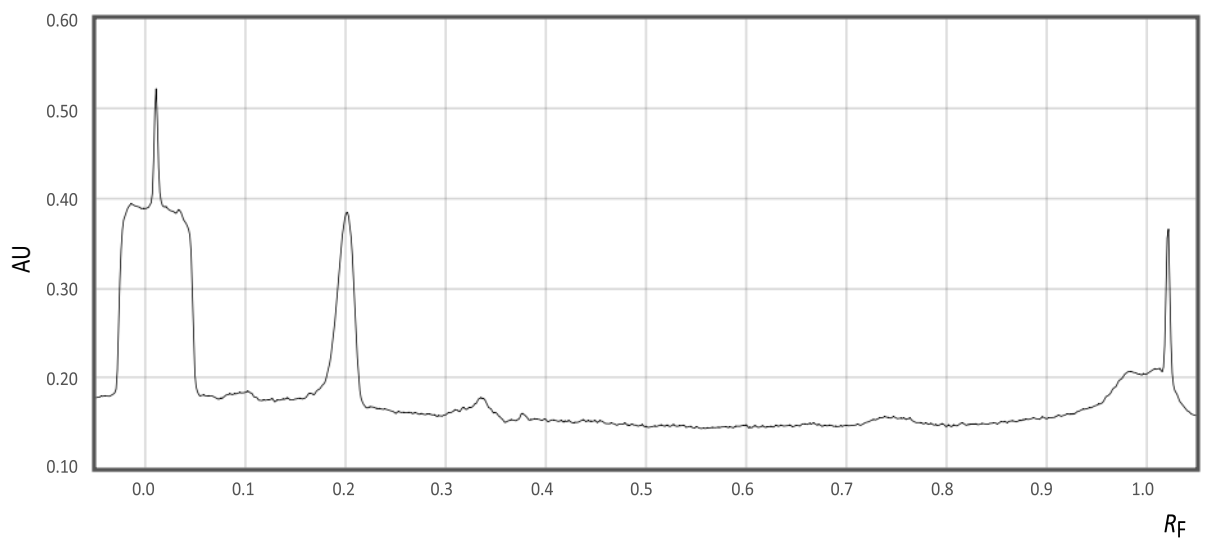
Type Single λ



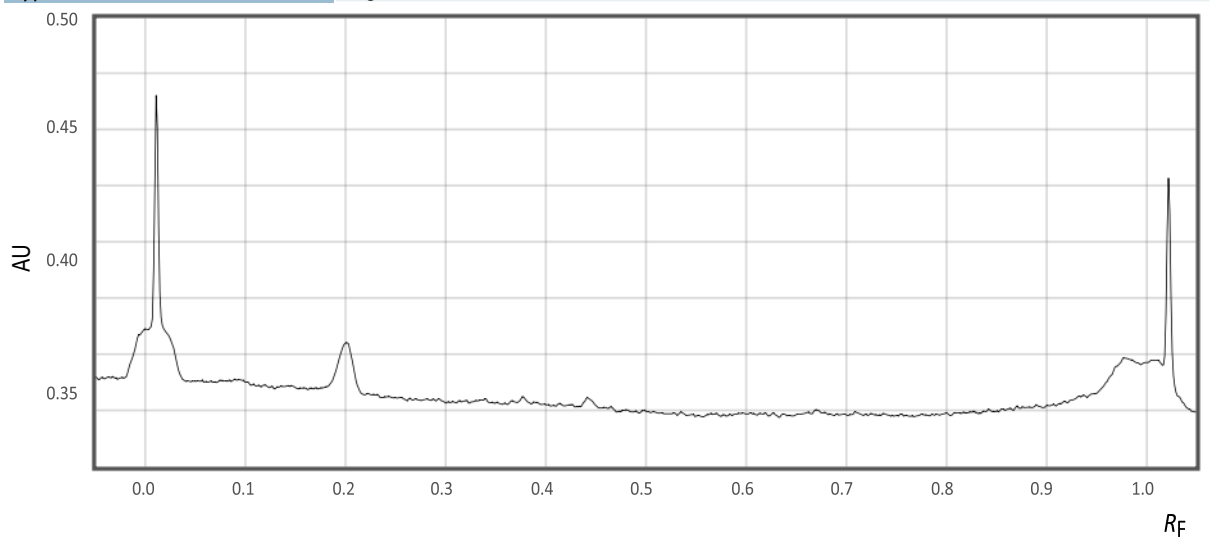
wanti
wa 0000 00000010 00000

visionCA

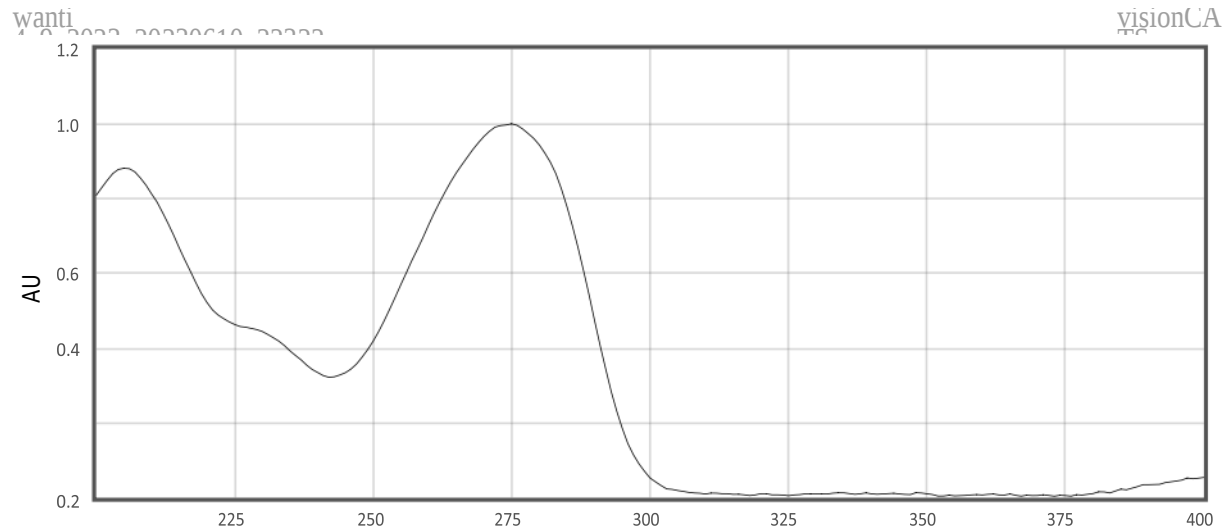
Track 9:
Type Single λ



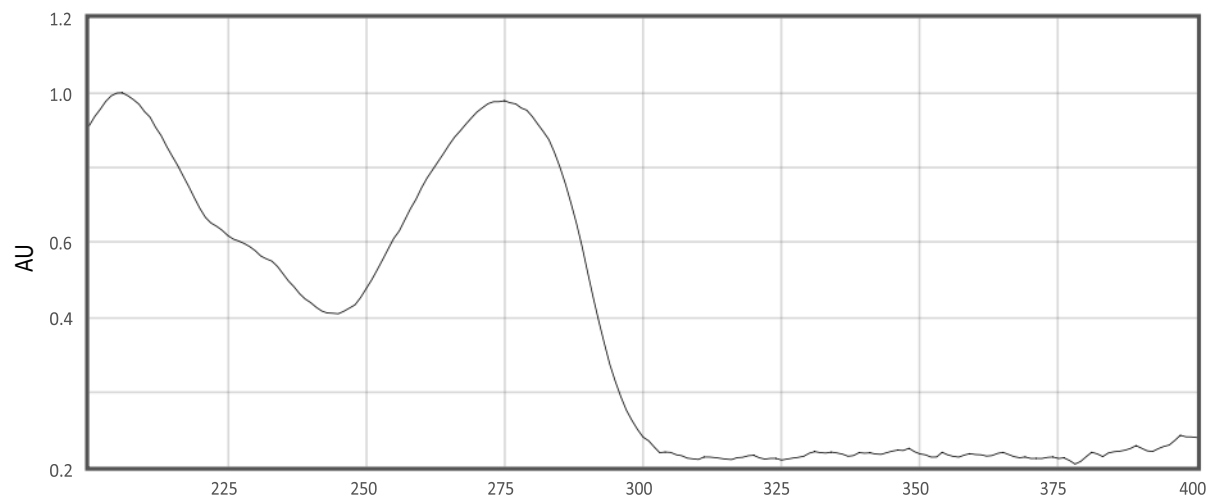
Track 10:
Type Single λ



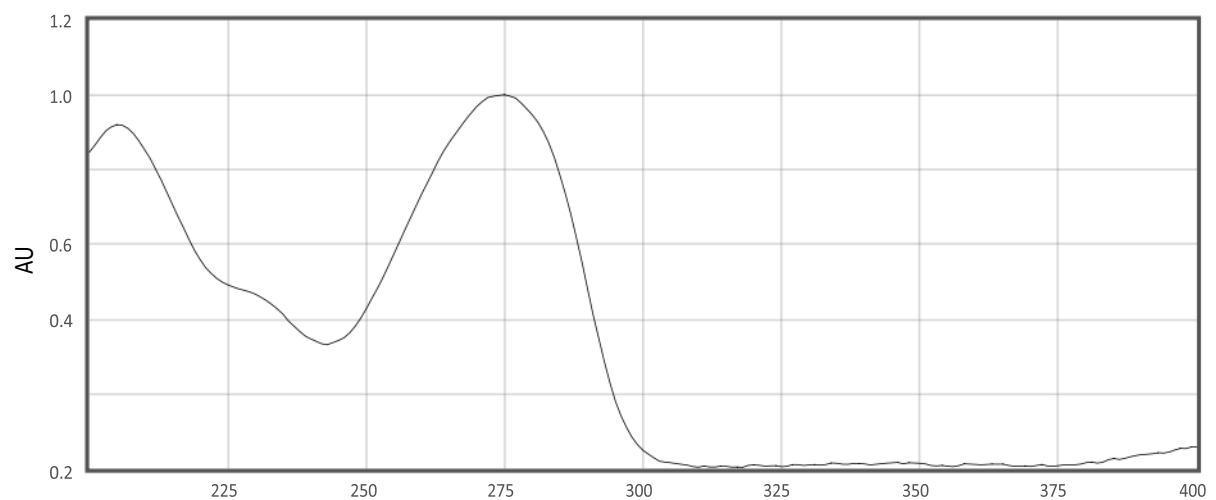
Track 11:
Type Single λ



Tr. 3 R 0.234 (26.0 mm, 28.7 mm)



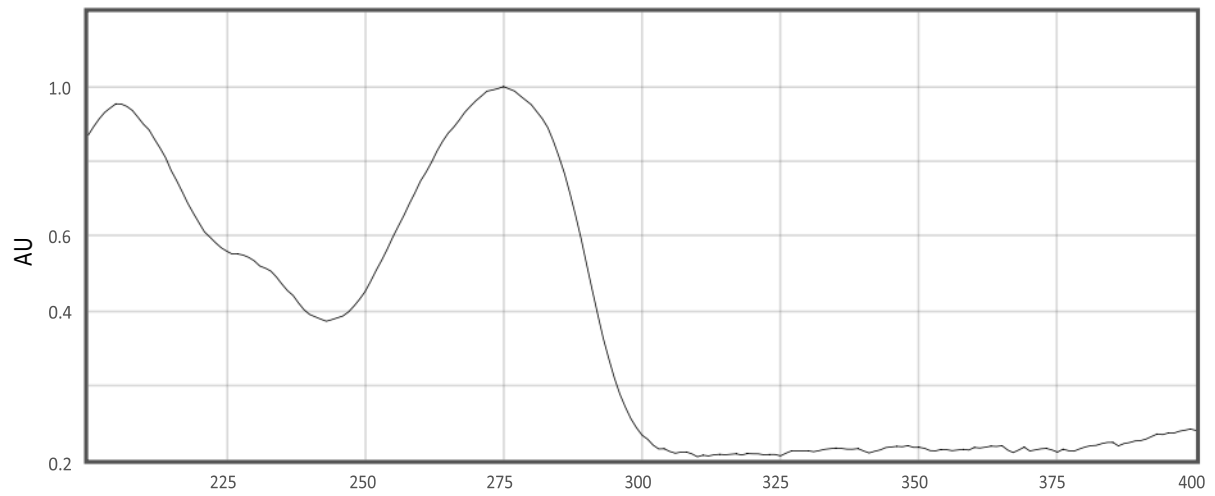
Tr. 4 R 0.228 (34.0 mm, 28.2 mm)



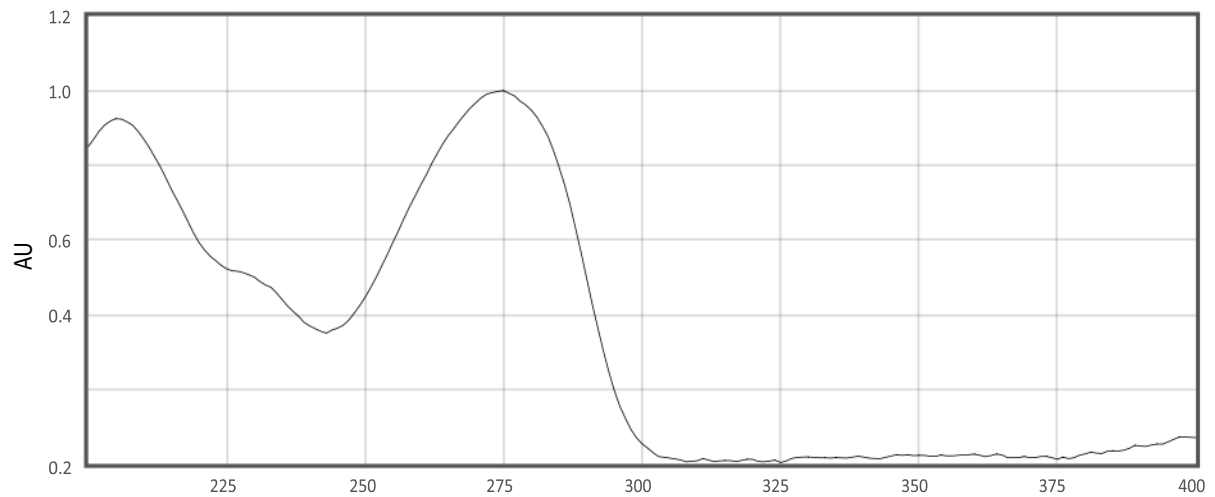
wanti

visionCA

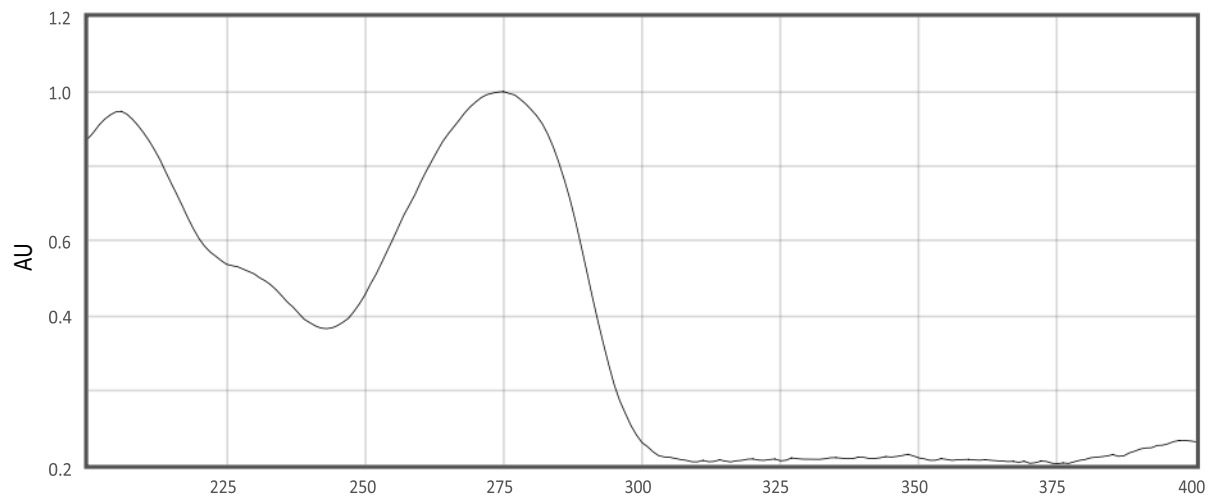
Tr. 5 R 0.225 (42.0 mm, 28.0 mm)



Tr. 6 R 0.216 (50.0 mm, 27.3 mm)



Tr. 7 R 0.214 (58.0 mm, 27.1 mm)



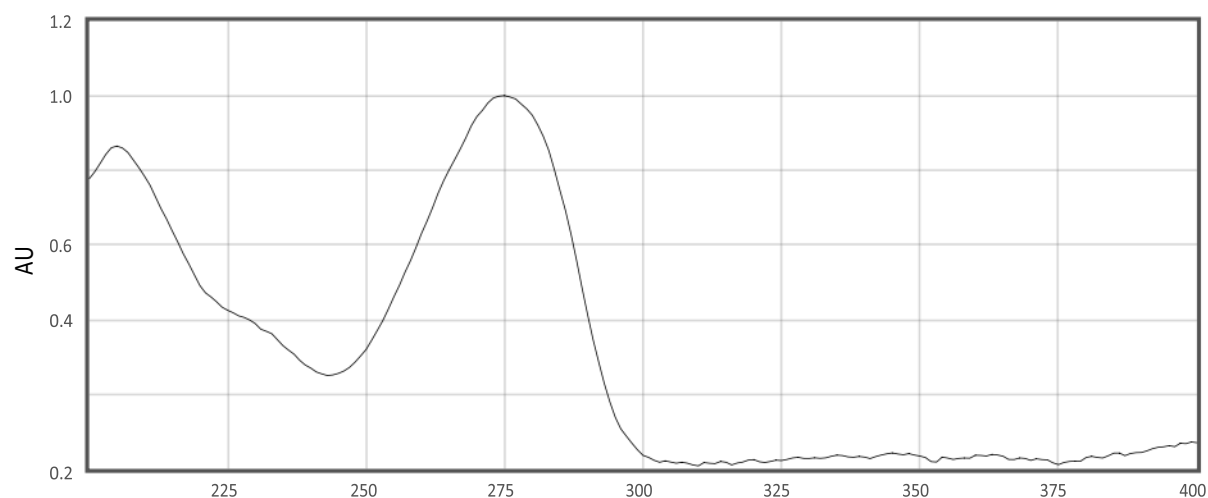
Tr. 8 R 0.205 (66.0 mm, 26.4 mm)

Tr. 9 R 0.205 (74.0 mm, 26.4 mm)

Tr. 10 R 0.205 (82.0 mm, 26.4 mm)

wanti

Tr. 11 R 0.205 (90.0 mm, 26.4 mm)



Spectrum correlation data:

Substance name	Track	R_f	$r(s,m)$	$r(e,m)$	Ref. spectrum	Correlation
TEH	1	0.217	0.000000	0.000000	Tr. 2, R_f 0.236, Sub. TEH	0.692212
TEH	2	0.236	0.000000	0.000000	Tr. 1, R_f 0.218, Sub. TEH	0.692212
TEH	3	0.234	0.000000	0.000000	Tr. 2, R_f 0.236, Sub. TEH	0.990863
TEH	4	0.228	0.000000	0.000000	Tr. 3, R_f 0.234, Sub. TEH	0.994146
TEH	5	0.225	0.000000	0.000000	Tr. 4, R_f 0.228, Sub. TEH	0.998471
TEH	6	0.216	0.000000	0.000000	Tr. 5, R_f 0.225, Sub. TEH	0.999468
TEH	7	0.214	0.000000	0.000000	Tr. 6, R_f 0.216, Sub. TEH	0.999780
TEH	8	0.205	0.000000	0.000000	Tr. 7, R_f 0.214, Sub. TEH	0.996821
TEH	9	0.205	0.000000	0.000000	Tr. 8, R_f 0.205, Sub. TEH	0.992588
TEH	10	0.205	0.000000	0.000000	Tr. 9, R_f 0.205, Sub. TEH	0.897204
TEH	11	0.205	0.000000	0.000000	Tr. 10, R_f 0.205, Sub. TEH	0.889686

Scan developed plate 1c - TLC Scanner 4 (S/N: 270739):

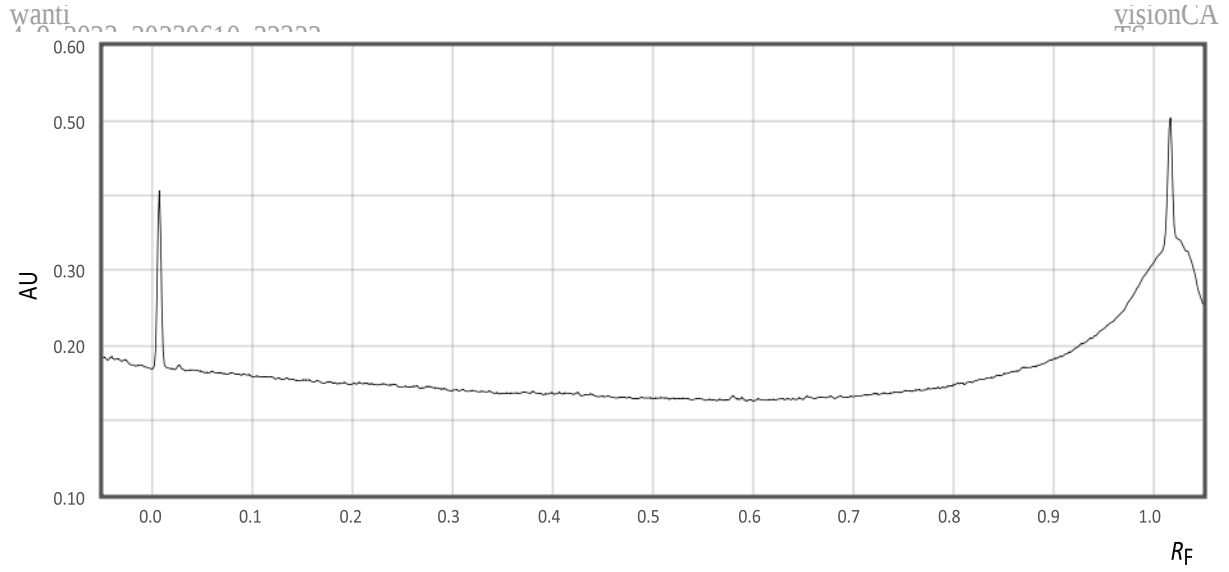
Executed	10-Jun-2023 22:40:58 visionCATSuser
----------	-------------------------------------

Scan:

Wavelength 275 nm

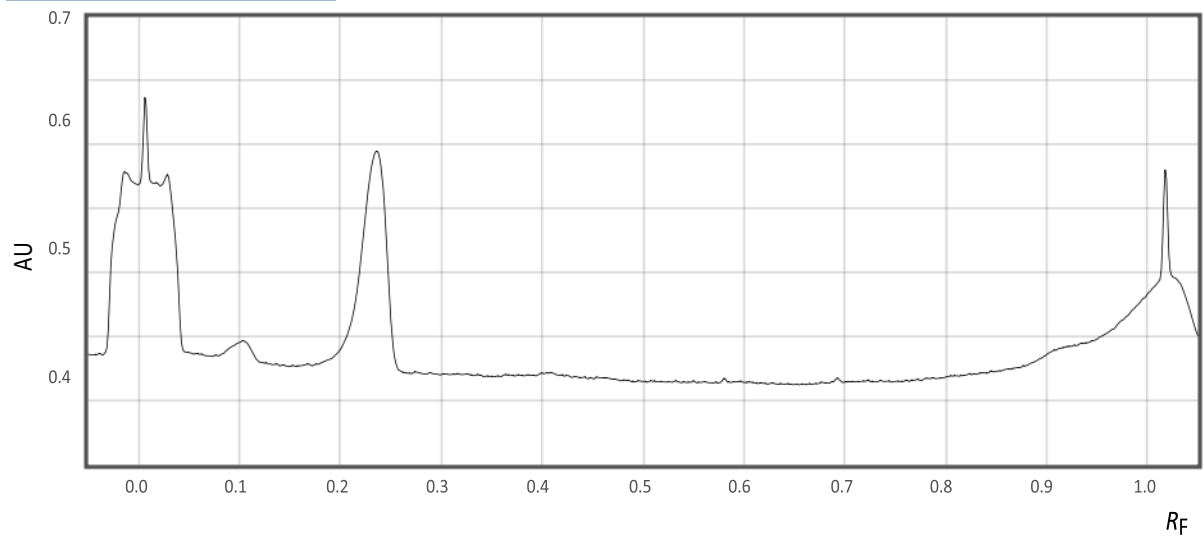
Track 1:

Type	Single λ
------	------------------



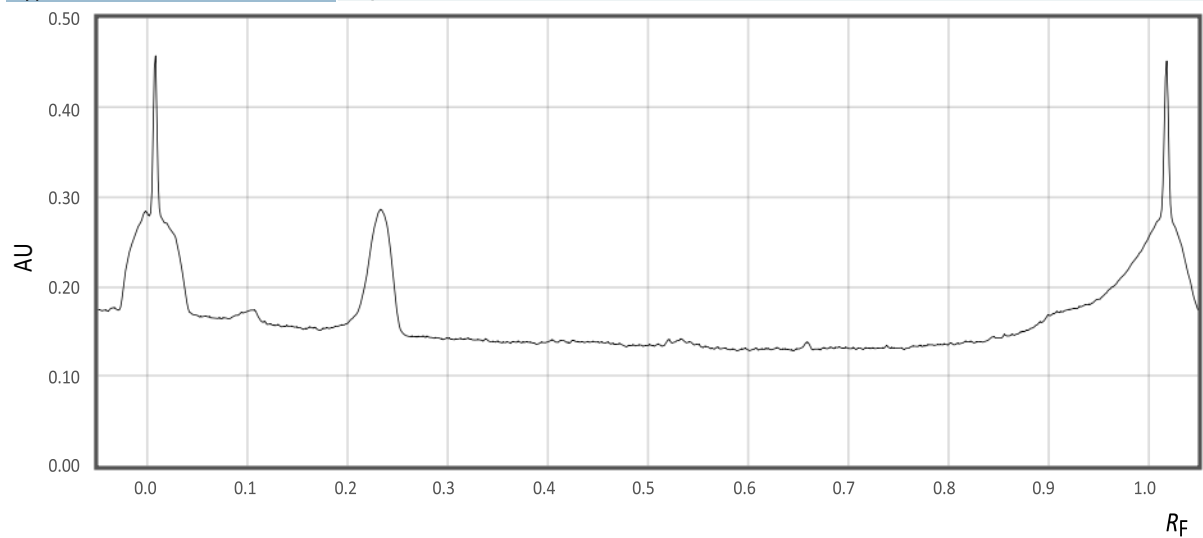
Track 2:

Type	Single λ
------	------------------



Track 3:

Type	Single λ
------	------------------

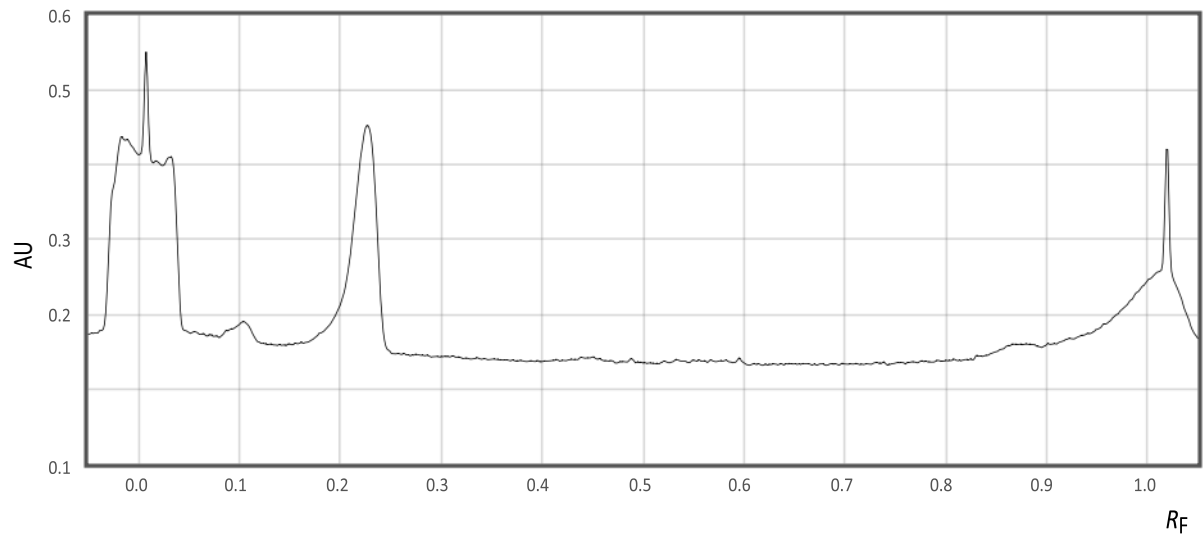


wanti
wanti 00000010 00000

visionCA

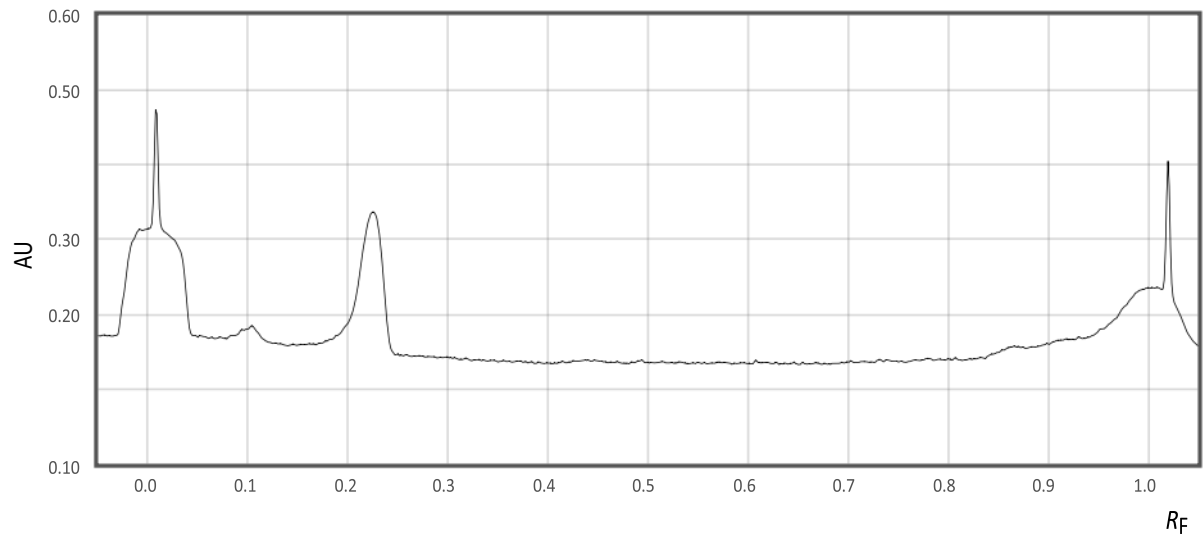
Track 4:

Type Single λ



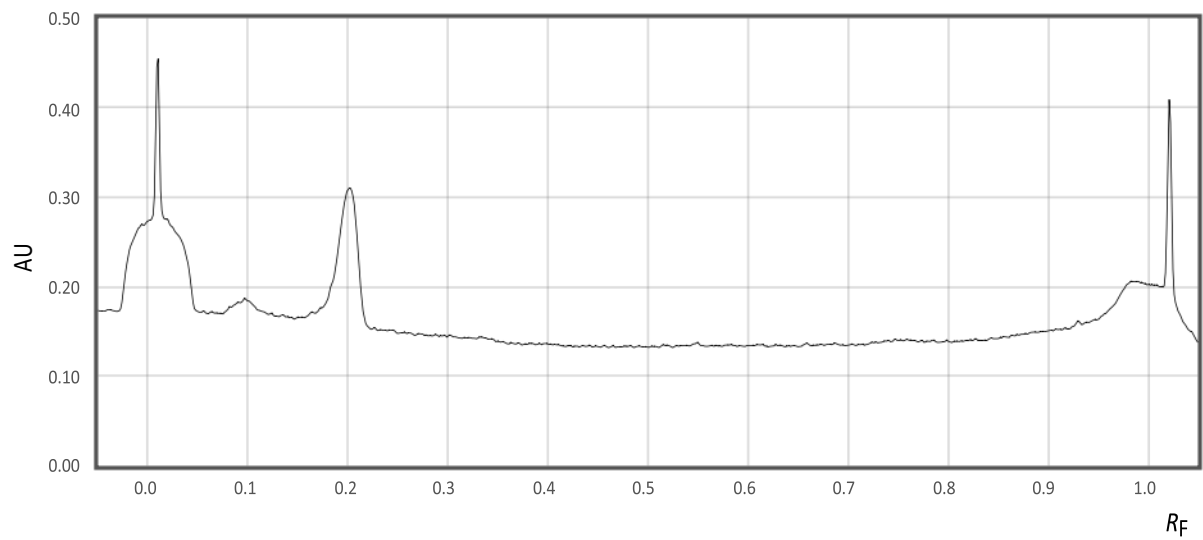
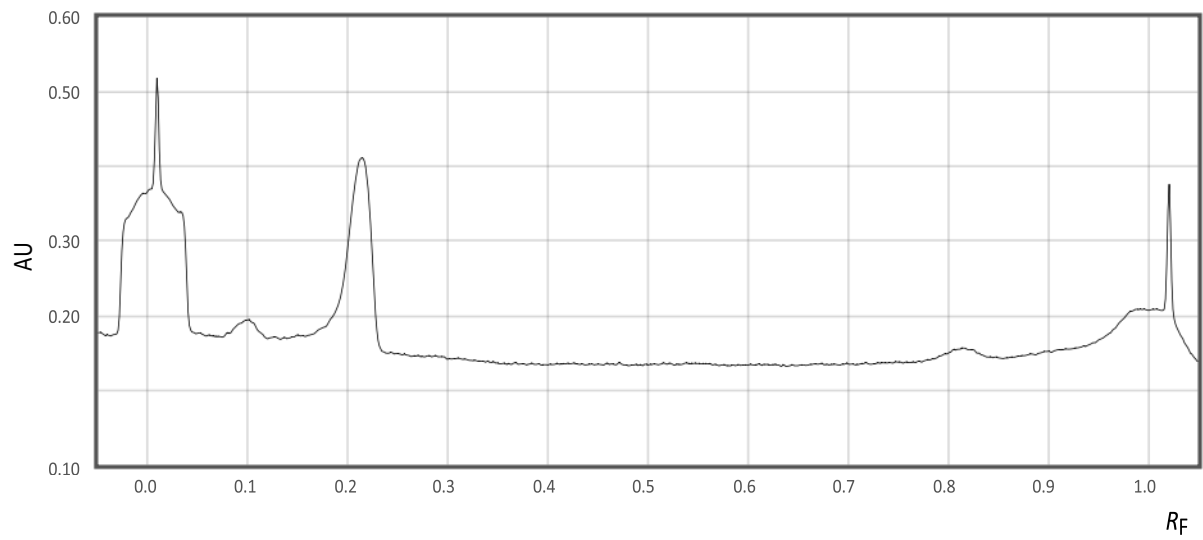
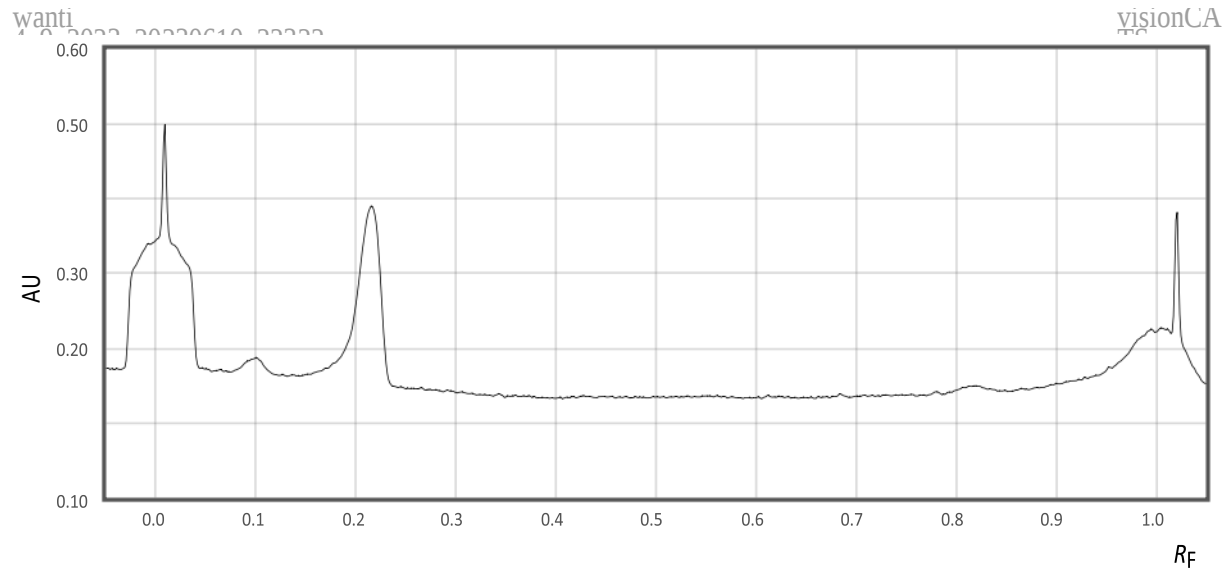
Track 5:

Type Single λ



Track 6:

Type Single λ

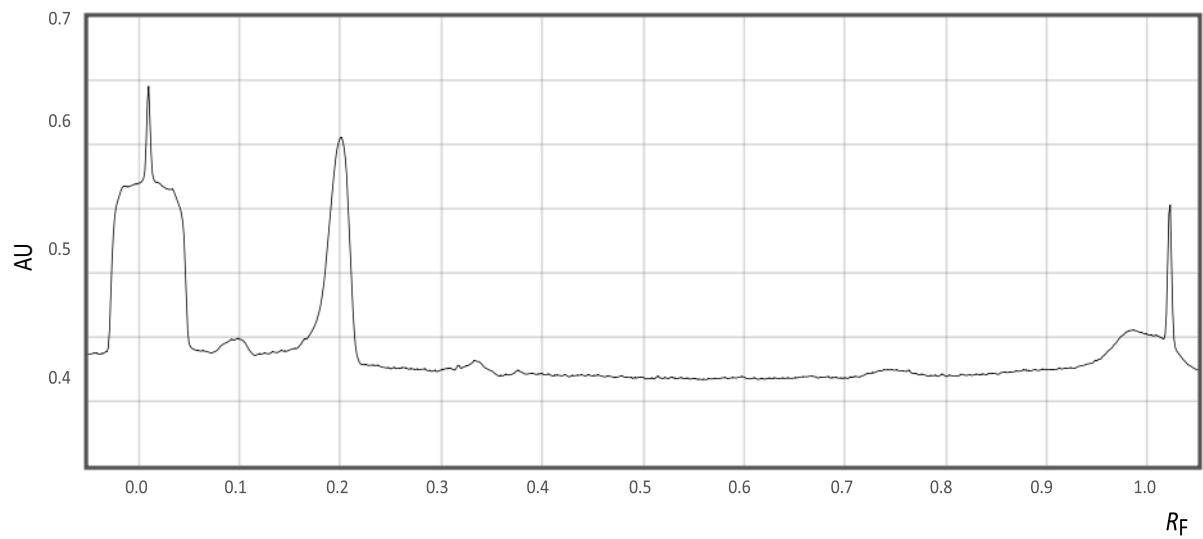


wanti

visionCA

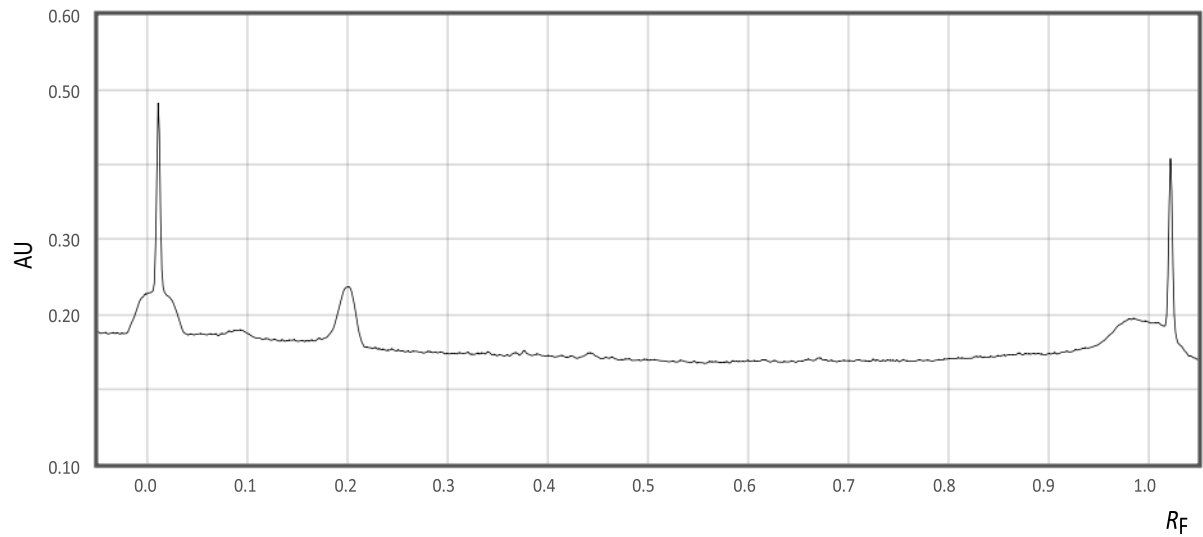
Track 9:

Type	Single λ
------	------------------



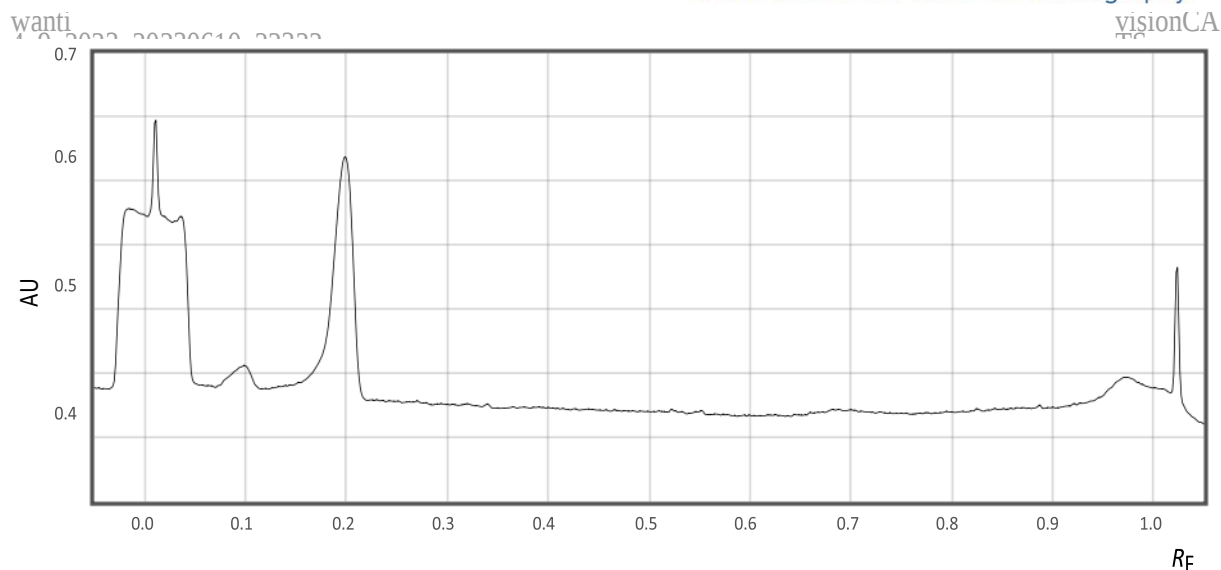
Track 10:

Type	Single λ
------	------------------



Track 11:

Type	Single λ
------	------------------



Evaluation 1 :

Locked	No
Step	Scan developed plate 1c
Concentration unit type	Mass / volume
Notes	

Definition:

References:

Samples:

Vial ID	Amount	Volume solution	Reference amount	Related to
S1		0.00 ml		
S2		0.00 ml		
S3		0.00 ml		
S4		0.00 ml		
S5		0.00 ml		
S6		0.00 ml		
S7		0.00 ml		
S8		0.00 ml		
S9		0.00 ml		
S10		0.00 ml		
S11		0.00 ml		

Integration parameters:

Bounds	[0.000,1.000]
Smoothing	Savitzky-Golay of order 3 and window 7
Baseline correction	Lowest slope with noise 0.05
Profile subtraction	None
Peaks detection	Gauss (legacy) with sensitivity 0.1, separation 1 and threshold 0.1

Scan:

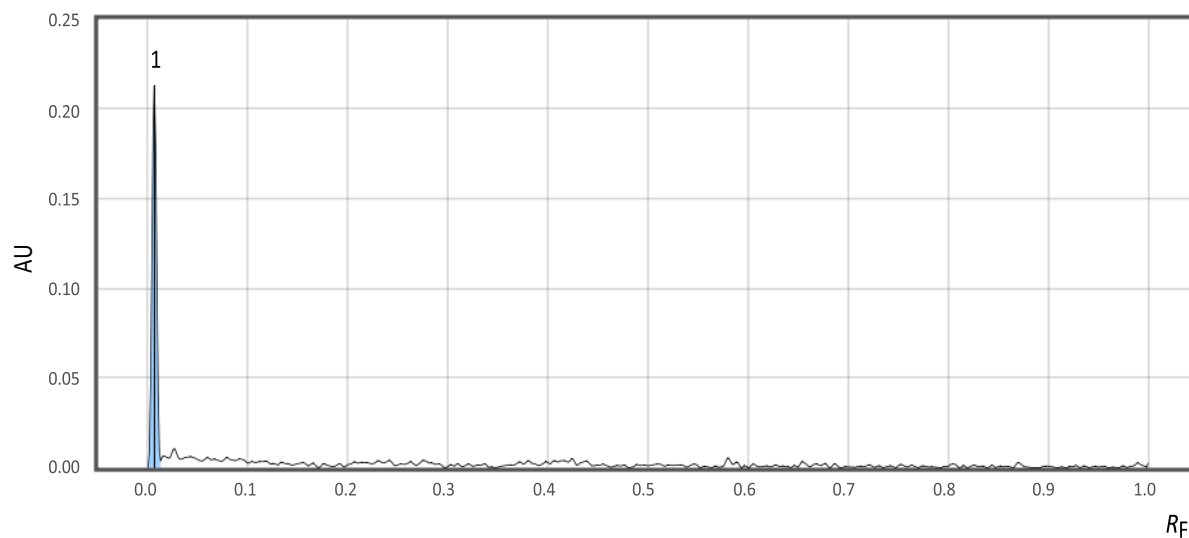
Wavelength	275 nm
------------	--------

Track 1:

wanti

visionCA

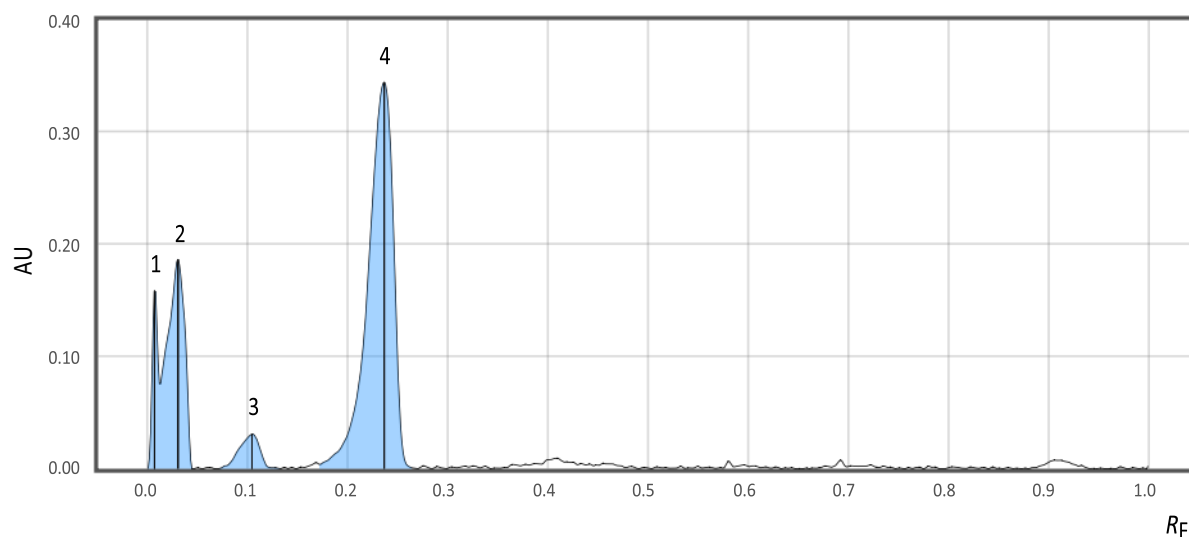
Type	Sample
Vial ID	S1
Description	sampel 1 rep 1
Volume	20.0 µl



Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	R _F	H	R _F	H	%	R _F	H	A	%		
1	0.000	0.0000	0.006	0.2129	100.00	0.013	0.0038	0.00114	100.00	No	TEH HITAM 3

Track 2:

Type	Sample
Vial ID	S2
Description	sampel 1 rep 2
Volume	20.0 µl



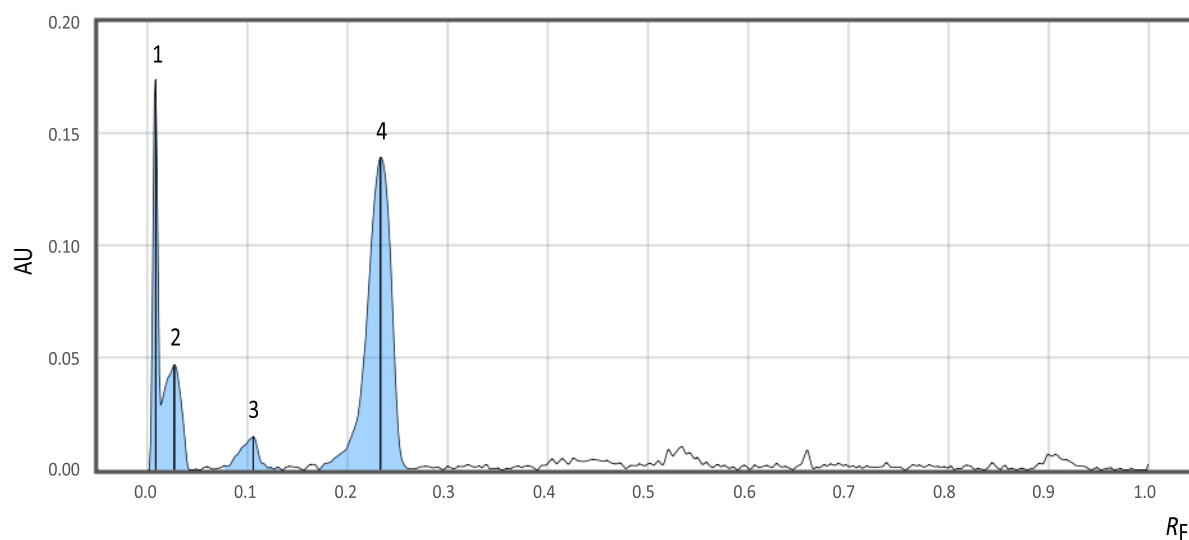
Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	R _F	H	R _F	H	%	R _F	H	A	%		
1	0.000	0.0000	0.006	0.1585	21.99	0.013	0.0757	0.00112	7.08	No	TEH HITAM 3
2	0.013	0.0757	0.030	0.1866	25.89	0.044	0.0000	0.00377	23.83	No	
3	0.068	0.0000	0.104	0.0309	4.29	0.133	0.0000	0.00073	4.64	No	
4	0.171	0.0038	0.236	0.3446	47.82	0.268	0.0003	0.01018	64.45	No	

wanti

visionCA

Track 3:

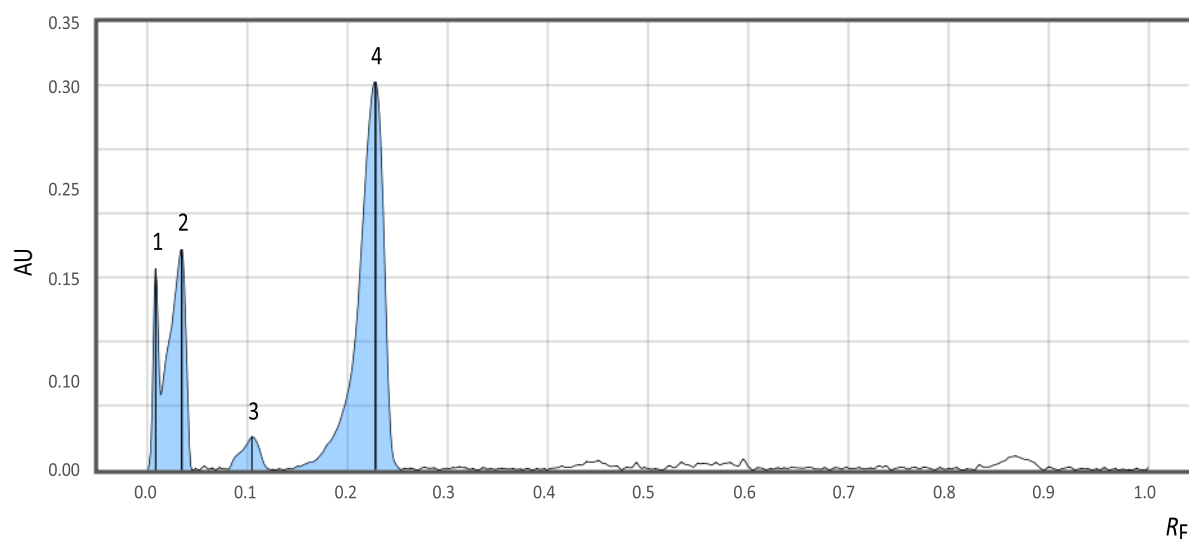
Type	Sample
Vial ID	S3
Description	sampel 1 rep 3
Volume	20.0 µl



Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	R _F	H	R _F	H	%	R _F	H	A	%		
1	0.001	0.0000	0.007	0.1742	46.38	0.013	0.0290	0.00100	16.16	No	TEH HITAM 3
2	0.013	0.0290	0.026	0.0470	12.50	0.041	0.0000	0.00092	14.89	No	
3	0.074	0.0012	0.105	0.0148	3.94	0.134	0.0000	0.00033	5.37	No	
4	0.171	0.0000	0.233	0.1396	37.18	0.260	0.0004	0.00393	63.58	No	

Track 4:

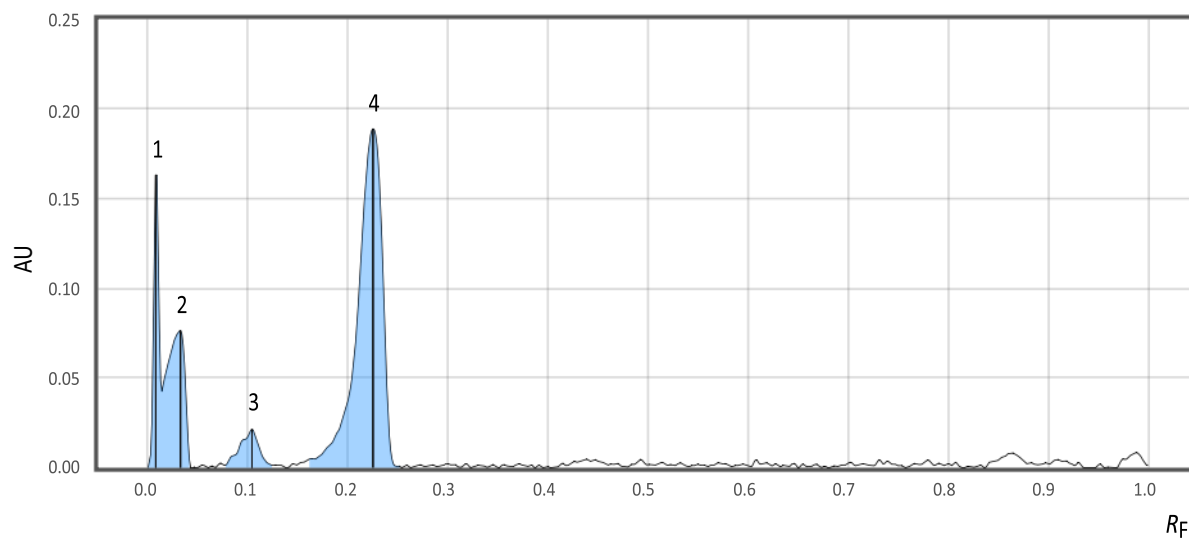
Type	Sample
Vial ID	S4
Description	sampel 1 rep 4
Volume	20.0 µl



Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	R _F	H	R _F	H	%	R _F	H	A	%		
1	0.000	0.0000	0.007	0.1572	23.89	0.013	0.0587	0.00099	7.25	No	TEH HITAM 3
2	0.013	0.0587	0.034	0.1723	26.17	0.044	0.0000	0.00327	23.83	No	
3	0.079	0.0005	0.104	0.0257	3.90	0.128	0.0000	0.00055	4.00	No	
4	0.145	0.0009	0.228	0.3031	46.04	0.253	0.0001	0.00890	64.92	No	

Track 5:

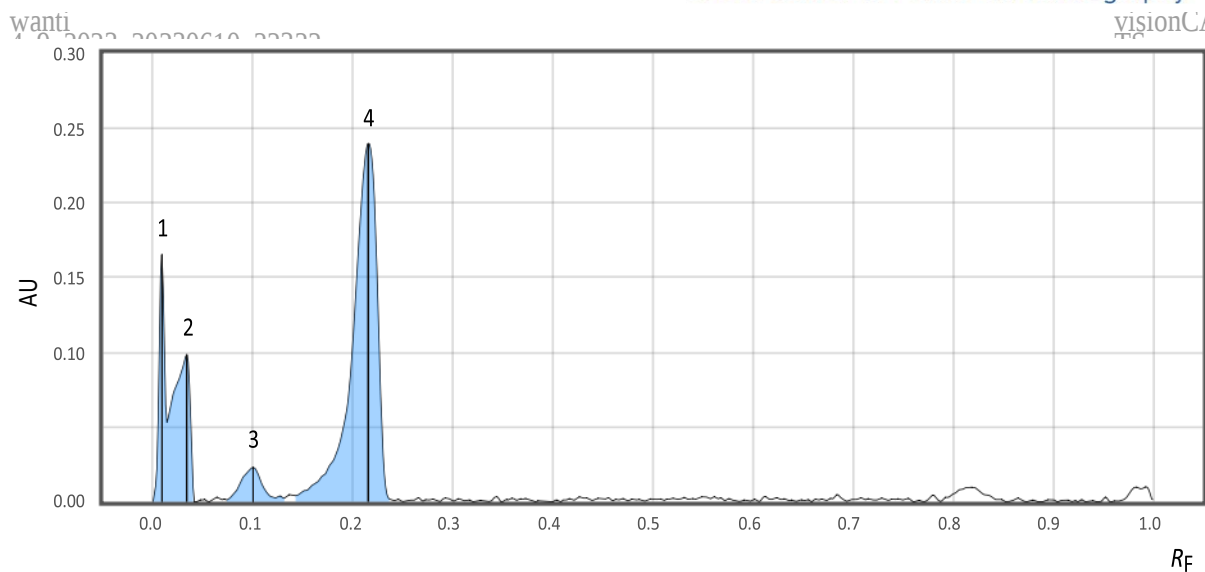
Type	Sample
Vial ID	S5
Description	sampel 2 rep 1
Volume	20.0 µl



Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	R _F	H	R _F	H	%	R _F	H	A	%		
1	0.000	0.0000	0.007	0.1631	36.26	0.014	0.0426	0.00103	12.06	No	TEH HITAM 3
2	0.014	0.0426	0.033	0.0763	16.98	0.043	0.0000	0.00160	18.71	No	
3	0.077	0.0014	0.104	0.0215	4.77	0.125	0.0013	0.00047	5.53	No	
4	0.161	0.0048	0.225	0.1888	41.99	0.253	0.0004	0.00545	63.70	No	

Track 6:

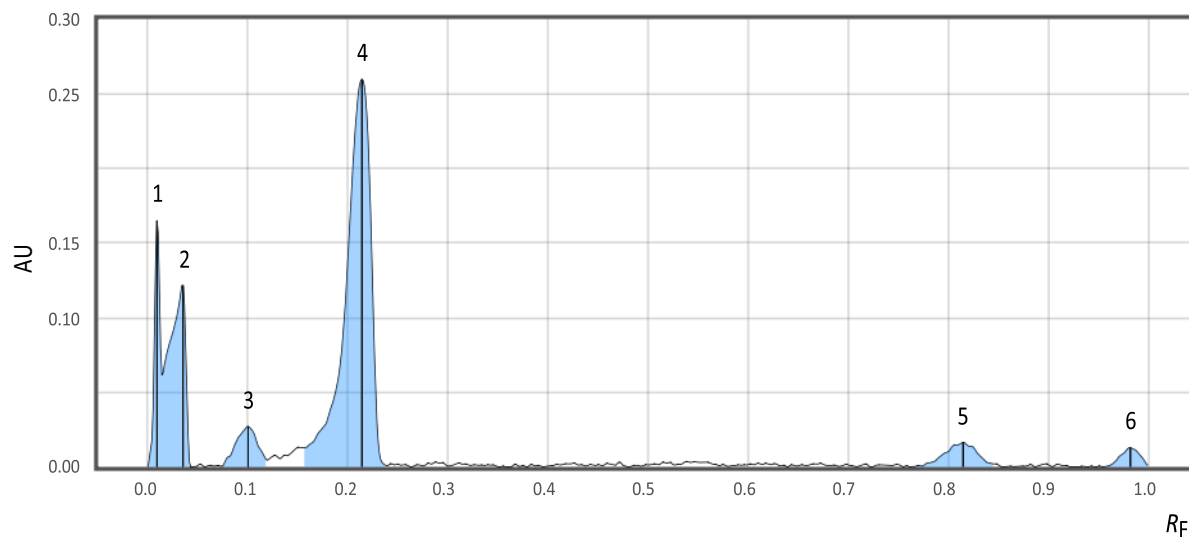
Type	Sample
Vial ID	S6
Description	sampel 2 rep 2
Volume	20.0 µl



Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	R _F	H	R _F	H	%	R _F	H	A	%		
1	0.000	0.0000	0.009	0.1653	31.40	0.014	0.0531	0.00106	10.12	No	TEH HITAM 3
2	0.014	0.0531	0.034	0.0983	18.68	0.041	0.0000	0.00194	18.59	No	
3	0.074	0.0012	0.100	0.0231	4.39	0.131	0.0024	0.00058	5.58	No	
4	0.142	0.0041	0.215	0.2395	45.52	0.240	0.0010	0.00686	65.71	No	

Track 7:

Type	Sample
Vial ID	S7
Description	sampel 2 rep 3
Volume	20.0 µl



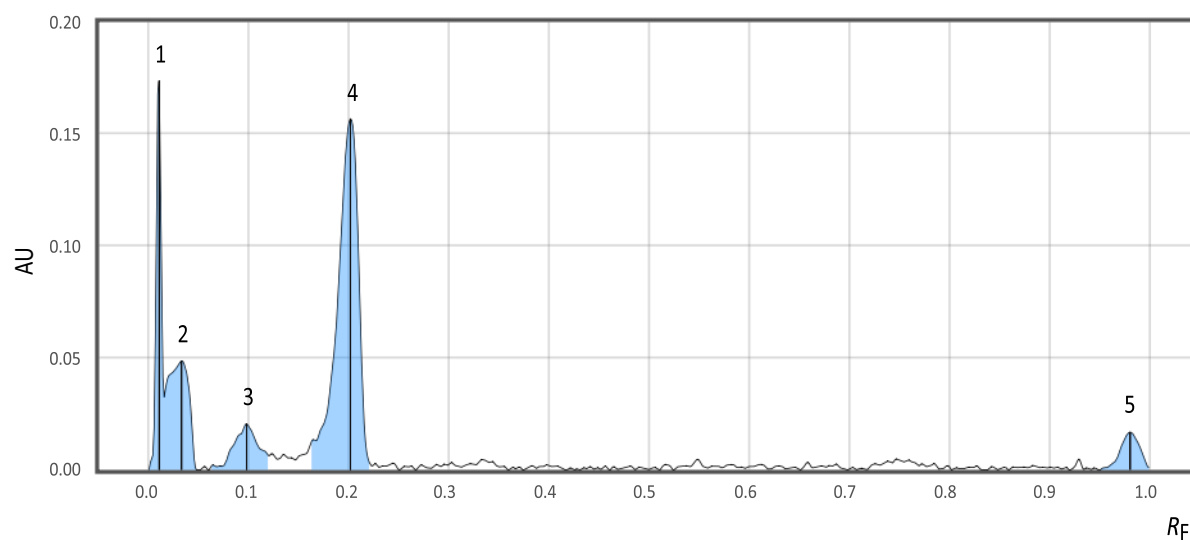
Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	R _F	H	R _F	H	%	R _F	H	A	%		
1	0.000	0.0000	0.009	0.1650	27.39	0.014	0.0615	0.00106	8.46	No	TEH HITAM 3
2	0.014	0.0615	0.035	0.1214	20.16	0.043	0.0000	0.00233	18.69	No	
3	0.074	0.0003	0.100	0.0270	4.49	0.119	0.0046	0.00068	5.46	No	
4	0.156	0.0128	0.214	0.2595	43.10	0.237	0.0011	0.00752	60.19	No	
5	0.767	0.0003	0.815	0.0165	2.73	0.845	0.0020	0.00061	4.90	No	
6	0.955	0.0000	0.983	0.0128	2.13	1.000	0.0010	0.00029	2.30	No	

wanti

visionCA

Track 8:

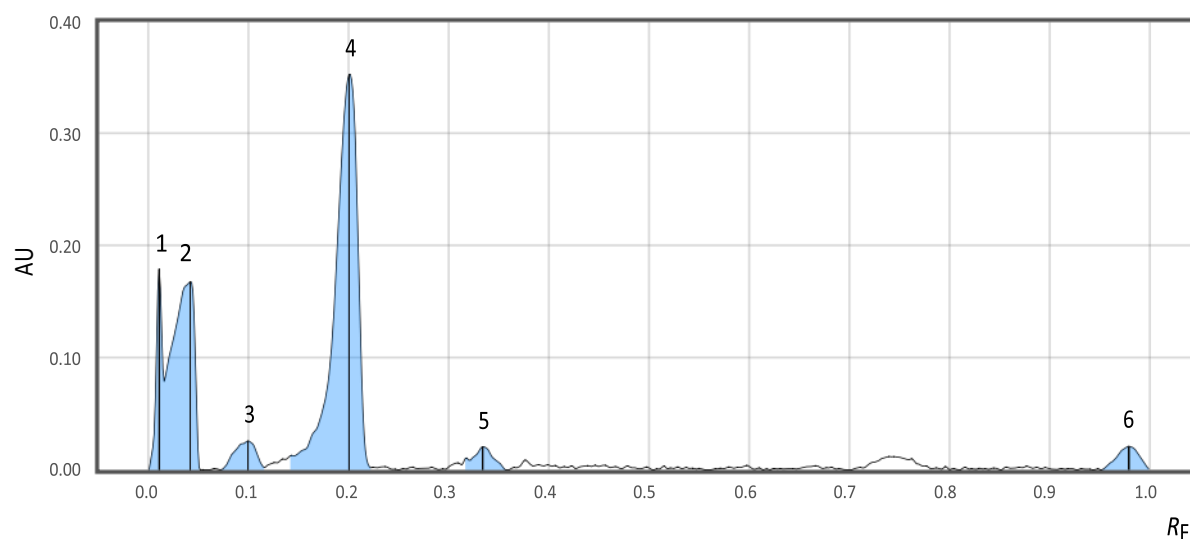
Type	Sample
Vial ID	S8
Description	sampel 2 rep 4
Volume	20.0 µl



Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	R _F	H	R _F	H	%	R _F	H	A	%		
1	0.000	0.0000	0.010	0.1737	41.72	0.015	0.0326	0.00103	14.73	No	TEH HITAM 3
2	0.015	0.0326	0.033	0.0485	11.65	0.048	0.0000	0.00120	17.09	No	
3	0.061	0.0009	0.098	0.0205	4.93	0.120	0.0063	0.00058	8.20	No	
4	0.161	0.0113	0.201	0.1568	37.65	0.223	0.0018	0.00383	54.62	No	
5	0.950	0.0000	0.981	0.0169	4.05	1.000	0.0010	0.00038	5.35	No	

Track 9:

Type	Sample
Vial ID	S9
Description	sampel 3 rep 1
Volume	20.0 µl

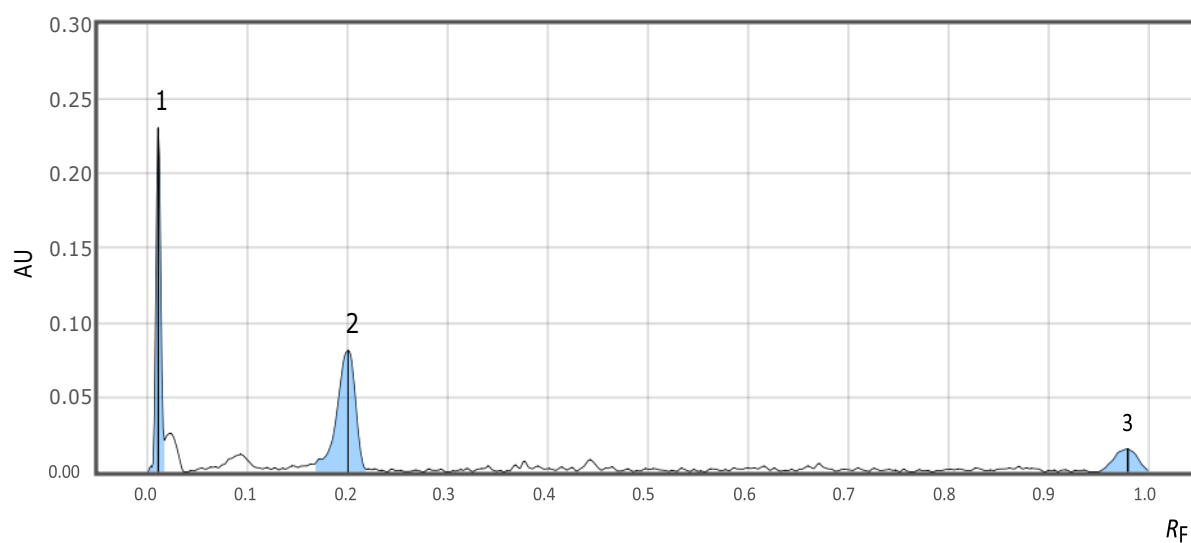


visionCA

Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	R _F	H	R _F	H	%	R _F	H	A	%		
1	0.000	0.0000	0.010	0.1793	23.35	0.015	0.0792	0.00125	7.54	No	TEH HITAM 3
2	0.015	0.0792	0.041	0.1682	21.90	0.051	0.0000	0.00435	26.25	No	
3	0.071	0.0000	0.099	0.0257	3.35	0.115	0.0022	0.00064	3.88	No	
4	0.139	0.0106	0.200	0.3531	45.97	0.221	0.0019	0.00932	56.16	No	
5	0.315	0.0081	0.334	0.0208	2.70	0.359	0.0000	0.00048	2.92	No	
6	0.953	0.0000	0.980	0.0210	2.74	1.000	0.0010	0.00054	3.25	No	

Track 10:

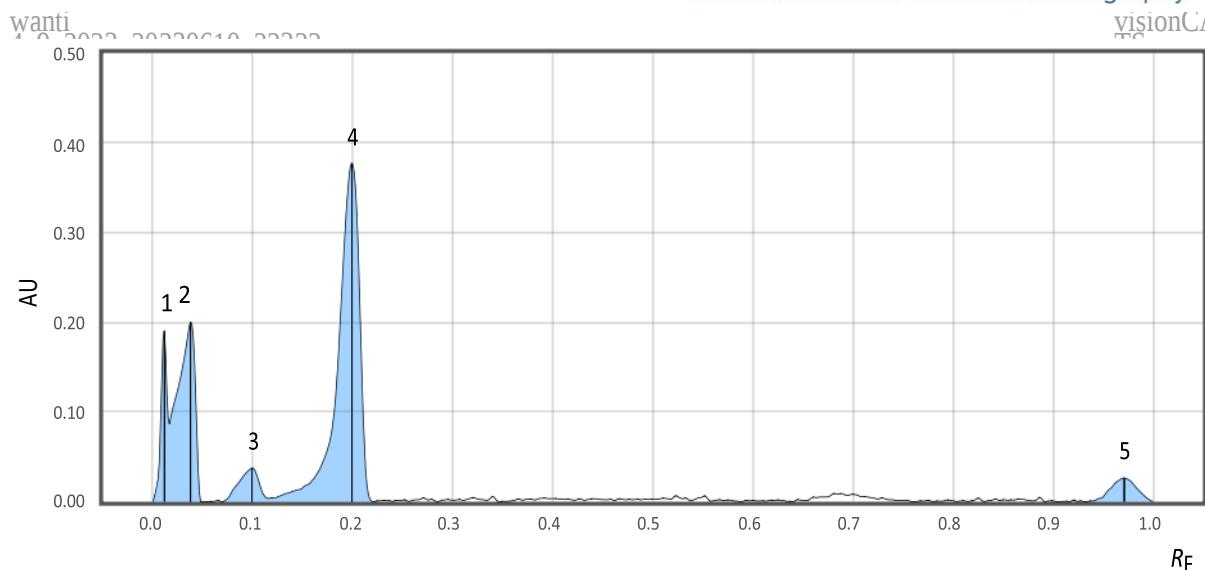
Type	Sample
Vial ID	S10
Description	sampel 3 rep 2
Volume	20.0 µl



Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	R _F	H	R _F	H	%	R _F	H	A	%		
1	0.000	0.0000	0.010	0.2304	70.43	0.016	0.0211	0.00129	37.12	No	TEH HITAM 3
2	0.168	0.0058	0.200	0.0814	24.88	0.219	0.0017	0.00177	50.83	No	
3	0.950	0.0000	0.980	0.0154	4.70	1.000	0.0008	0.00042	12.04	No	

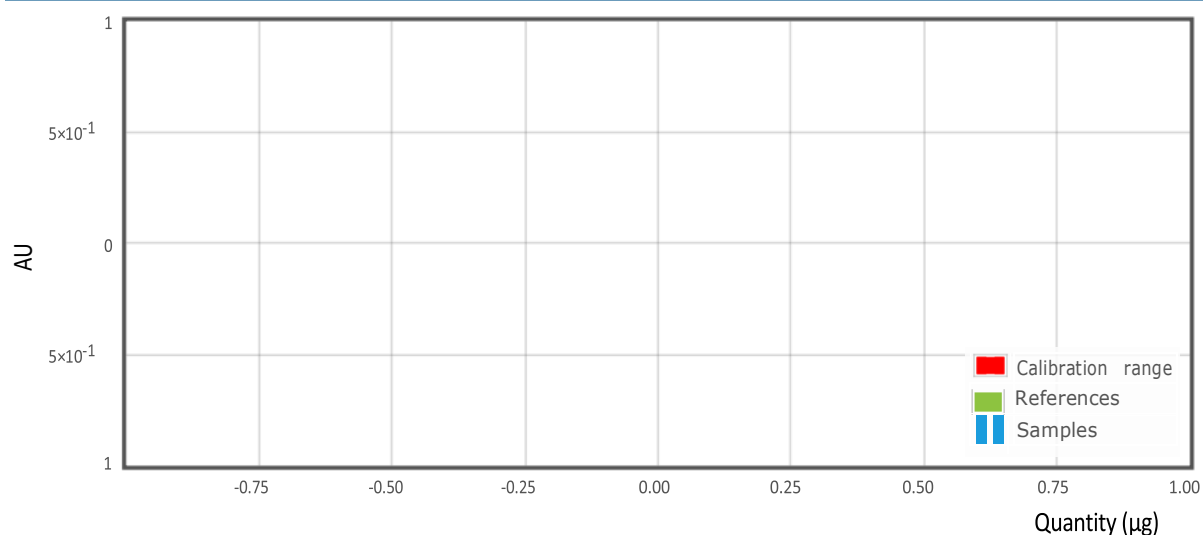
Track 11:

Type	Sample
Vial ID	S11
Description	sampel 3 rep 3
Volume	20.0 µl



Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	R _F	H	R _F	H	%	R _F	H	A	%		
1	0.000	0.0000	0.011	0.1901	22.86	0.016	0.0867	0.00140	8.48	No	TEH HITAM 3
2	0.016	0.0867	0.037	0.2000	24.06	0.048	0.0000	0.00407	24.71	No	
3	0.070	0.0000	0.099	0.0375	4.51	0.115	0.0035	0.00087	5.27	No	
4	0.116	0.0037	0.199	0.3775	45.40	0.220	0.0000	0.00935	56.73	No	
5	0.934	0.0000	0.971	0.0264	3.17	1.000	0.0004	0.00079	4.81	No	

Calibration results:



Regression mode	Linear-1
Range deviation	5.00 %
Related substances	Default
Number of references	0
Calibration function	$y=0x$
Coefficient of variation	CV 0.00 %
Correlation coefficient	n/a
	There wasn't any reference application available in the assignments for this substance. Please check that the peaks were correctly detected and assigned for this substance.

