

Dekafeinasi Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora* L.) menggunakan Pelarut Polar (Etanol dan Metanol)

Rahmana Emran Kartasasmita dan *Susan Addyantina

Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung, Jalan Ganesha 10 Bandung 40132

Abstrak

Biji kopi hijau robusta diekstraksi menggunakan air dan ekstrak diuapkan pelarutnya dengan *freeze-dryer*. Ekstrak kering yang diperoleh diekstraksi dengan alat Soxhlet menggunakan pelarut polar yaitu etanol dan metanol untuk mengurangi kadar kafein. Pengembalian aroma dilakukan dengan cara biji kopi dekafeinasi direndam dalam dispersi ekstrak kering (10% dalam air). Hasil penelitian menunjukkan kopi hasil dekafeinasi dengan etanol menghasilkan penurunan kadar kafein sebesar 79,713% dan hasil dekafeinasi dengan metanol menghasilkan penurunan kadar kafein sebesar 74,721%. Secara statistik, tidak terdapat perbedaan preferensi yang signifikan terhadap aroma dan rasa kopi pada aras kepercayaan 95% terhadap 30 panelis.

Kata kunci: dekafeinasi, biji kopi, robusta, etanol, metanol

Abstract

Robusta green coffee beans were extracted with water and the extract is dried by freeze-dryer. The extract was extracted using Soxhlet with polar solvents, ethanol and methanol, to reduce caffeine content. Decaffeinated coffee beans were soaked in dispersion of that extract (10% in water) to return the aroma. Results showed that the reduction level of caffeine content in ethanol-decaffeinated coffee beans is 79,713% and in methanol-decaffeinated coffee beans is 74,721%. Statistically, there were no significant differences of preference to the aroma and taste of coffee at 95% level of confidence of 30 panelists.

Keywords: decaffeination, coffee beans, robusta, ethanol, methanol

Pendahuluan

Kopi merupakan salah satu minuman dengan aroma dan rasa yang khas yang banyak digemari oleh berbagai kalangan di Indonesia. Salah satu kandungan pada biji kopi adalah kafein yang merupakan senyawa hasil metabolisme sekunder golongan alkaloid dan memiliki rasa pahit. Tingginya kadar kafein dalam biji kopi dapat meningkatkan kerja psikomotor, sekresi asam lambung, denyut jantung, frekuensi urinasi, dan ketegangan otot.

Di Indonesia terdapat dua jenis kopi yaitu kopi robusta dan kopi arabika. Kadar kafein pada biji kopi robusta (1,5-2,6%) lebih besar dari biji kopi arabika (0,9-1,4%) (Clarke dan Macrae 1988) sehingga kandungan kafein pada kopi robusta lebih berpotensi menimbulkan efek negatif kafein dalam tubuh terutama bagi individu yang mempunyai toleransi rendah terhadap kafein dan pecandu kopi dengan tingkat konsumsi tinggi. Pada penelitian ini dilakukan proses dekafeinasi biji kopi hijau robusta untuk mengatasi masalah tersebut.

Dekafeinasi kopi merupakan proses penurunan kadar kafein pada biji kopi hijau. Proses dekafeinasi kopi dengan menggunakan pelarut organik mempunyai kendala dalam mempertahankan aroma dan rasa kopi

sehingga dilakukan proses ekstraksi secara tidak langsung terhadap biji kopi menggunakan pelarut organik. Pelarut organik yang digunakan adalah pelarut polar yang relatif selektif terhadap kafein yaitu metanol dan etanol (Hudak 1978). Pada biji kopi yang telah mengalami proses ekstraksi, dilakukan proses dispersi untuk mengembalikan senyawa dan aroma yang ikut terekstraksi.

Penelitian ini bertujuan untuk menurunkan kadar kafein dalam biji kopi hijau robusta dan mempertahankan keaslian aroma serta rasa kopi.

Percobaan

Bahan

Biji kopi hijau robusta (*Coffea canephora* L.), kafein *pharmaceutical grade*, aquadest, aqua d.m., etanol (teknis), metanol (teknis), etil asetat (teknis), NH₄OH (teknis), kloroform (teknis), penampak bercak Dragendorff, asam sulfat 10% dalam metanol, plat KLT silika gel 60, plat KLT silika gel GF₂₅₄, parafin cair, benang kasur, kertas saring, dan kertas timbang.

Alat

Spektrofotometri UV/Vis Beckman DU650i, spektrofotometri FT/IR Jasco 4200, kromatografi gas

*Penulis korespondensi. E-mail: susan_addyantina@ymail.com

Hitachi G-5000, KLT densitometri CAMAG, kromatografi kolom klasik, seperangkat alat soxhlet, elektrotermal 9100, *freeze-dryer*, *grinder* Madato, pemanas magnetik, *magnetic stirrer*, *rotary evaporator*, lampu UV, desikator, oven, loyang, neraca analitik, dan peralatan standar laboratorium.

Ekstraksi Kafein dari Biji Kopi Hijau Robusta

Biji kopi hijau robusta diekstraksi dengan air pada suhu 80°C selama 6 jam disertai pengadukan. Ekstrak dikeringkan menggunakan *freeze-dryer* sehingga diperoleh ekstrak kering. Proses ekstraksi dilakukan sebanyak dua kali sehingga diperoleh dua ekstrak kering (tidak digabung). Ekstrak kering pertama diekstraksi dengan alat Soxhlet menggunakan etanol pada suhu 70°C dan ekstrak kering kedua diekstraksi dengan alat Soxhlet menggunakan metanol pada suhu 70°C. Ekstrak yang diperoleh diuapkan pelarutnya dengan *rotary- evaporator* untuk mendapatkan ekstrak kering. Penentuan waktu maksimum ekstraksi menggunakan KLT densitometri.

Fraksinasi, Pemurnian, Identifikasi, dan Uji Kemurnian Kafein

Ekstrak kering hasil ekstraksi pelarut organik dilakukan fraksinasi dengan metode kromatografi kolom klasik menggunakan eluen secara gradien. Fraksi-fraksi yang mengandung kafein disatukan dan dilakukan proses pemurnian dengan kromatografi lapis tipis preparatif menggunakan eluen etil asetat. Isolat kafein ditimbang, lalu diidentifikasi dan diuji kemurnian dengan spektrofotometri UV/Vis, spektrofotometri inframerah, uji titik leleh, dan uji KLT.

Pengembalian Aroma Biji Kopi Dekafeinasi, Pemanggangan, dan Penggilingan

Masing-masing ekstrak kering (hasil *freeze-dry*) yang telah diekstraksi dengan alat Soxhlet dikeringkan dan didispersikan dalam air (10% b/v). Biji kopi hasil ekstraksi dengan air dikeringkan dan direndam dalam dispersi ekstrak kering (hasil *freeze-dry*) selama 1 jam pada suhu ruang. Proses pemanggangan dilakukan dalam oven pada suhu 210°C selama 15 menit. Biji kopi digiling dengan *grinder* Madato menjadi serbuk kopi.

Penentuan Residu Pelarut Etanol dan Metanol

Penentuan kadar sisa pelarut etanol dan metanol ditentukan pada ekstrak kering (hasil *freeze-dry*) yang telah melalui proses Soxhletasi dan serbuk kopi yang telah dipanggang. Dibuat konsentrasi larutan standar etanol 10 ppm dan metanol 5 ppm dengan

pengenceran menggunakan aqua d.m. Ekstrak kering ditimbang sebanyak 50 mg dan ditambahkan larutan standar sampai 5 mL. Serbuk kopi ditimbang sebanyak 100 mg dan ditambahkan larutan standar sampai 5 mL. Kadar sisa pelarut ditentukan menggunakan kromatografi gas dengan kondisi pada Tabel 1. Sampel disuntikkan sebanyak 2 µL.

Tabel 1. Kondisi Sistem Kromatografi Gas

Parameter	Kondisi
Fasa diam	Kolom Propaq Q
Fasa gerak	Nitrogen
Detektor	FID (<i>Flame Ionization Detector</i>)
Suhu Oven	175°C
Suhu Injektor	185°C
Suhu Detektor	225°C
Sensitivitas Integrator	20
Noise	20
Tekanan H ₂	1,5 atm

Uji Panelis Aroma dan Rasa Kopi

Serbuk kopi panggang (hasil dekafeinasi dengan etanol, hasil dekafeinasi dengan metanol, non-dekafeinasi, dan hasil ekstraksi air tanpa proses dispersi) dibuat menjadi larutan kopi. Keempat larutan kopi diuji aroma dan rasa kepada 30 panelis yang memenuhi kriteria yaitu dalam kondisi sehat dan tidak mengkonsumsi kopi sebelum uji dilakukan.

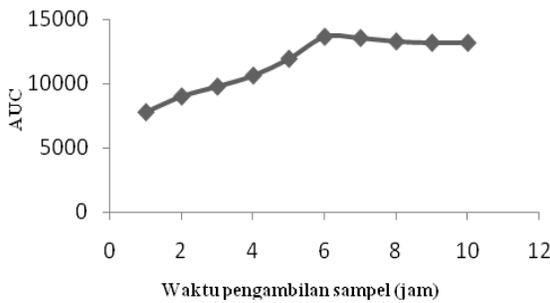
Penetapan Kadar Kafein dengan Spektrofotometri UV/Vis (Cunniff 1995)

Pembuatan kurva kalibrasi dilakukan dengan membuat larutan kafein pada rentang konsentrasi 4-9 ppm menggunakan pelarut kloroform dan diukur pada absorbansi maksimum pada λ 275 nm. Serbuk kopi dibasakan dengan NH₄OH, dipanaskan pada suhu 100°C selama 2 menit, didinginkan, dilarutkan dalam kloroform, dan disaring. Filtrat diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV/Vis pada λ 275 nm.

Hasil dan Pembahasan

Proses ekstraksi biji kopi hijau robusta menggunakan air dilakukan pada suhu 80°C selama 6 jam disertai pengadukan. Pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi biji kopi secara langsung adalah air, bukan pelarut organik. Hal ini dikarenakan jika menggunakan pelarut organik, maka residu pelarut organik dalam biji kopi akan tinggi dan akan menghasilkan bau pelarut organik dalam kopi. Ekstraksi dilakukan pada suhu 80°C dimana kelarutan kafein jauh lebih tinggi dengan adanya pemanasan. Walaupun kelarutan kafein lebih tinggi pada suhu

100°C, tetapi pada suhu di atas 80°C kelarutan senyawa yang menghasilkan aroma akan meningkat secara signifikan. Selain itu, pada suhu di atas 95°C aroma dan rasa kopi akan terdegradasi (Zeller 1985). Penentuan waktu maksimum ekstraksi dengan air dilakukan dengan pengambilan sampel (ekstrak air) sebanyak 1 mL setiap jam. Sebanyak 1 µL sampel ditotolkan pada plat KLT dan dikembangkan dengan etil asetat. Setelah dikembangkan, dilakukan pengukuran bercak dengan KLT densitometri sehingga diperoleh nilai AUC (*Area Under Curve*) tiap sampel. Grafik menunjukkan bahwa AUC optimum pada waktu 6 jam.



Gambar 2. Grafik AUC terhadap waktu pengambilan ekstrak air (jam).

Ekstrak air dihilangkan pelarutnya dengan *freeze-dryer*. Ekstrak kering yang diperoleh dilakukan proses ekstraksi dengan alat Soxhlet menggunakan pelarut polar yaitu etanol dan metanol secara terpisah untuk mengurangi kadar kafein. Penentuan waktu maksimum dilakukan dengan KLT densitometri dengan pengambilan sampel tiap tiga kali siklus pada Soxhlet. Grafik menunjukkan bahwa waktu yang diperlukan untuk mengekstraksi kafein dengan etanol

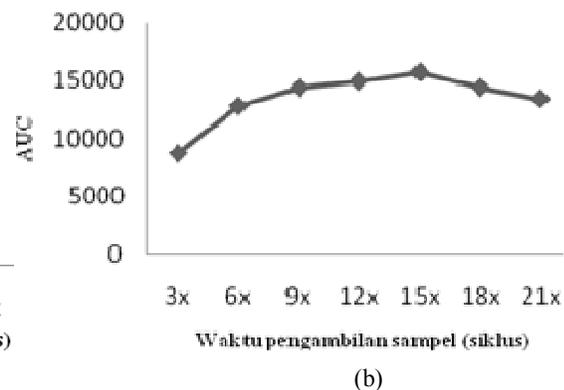
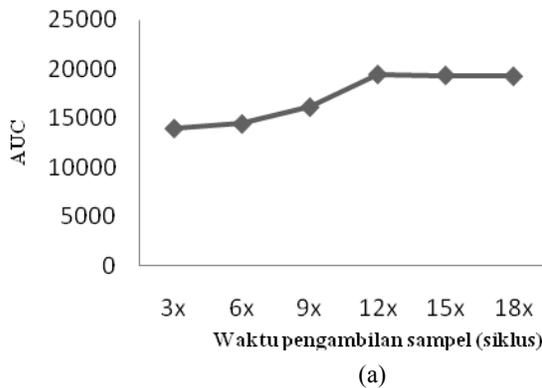
adalah 12 kali siklus pada Soxhlet dan metanol adalah 15 kali siklus pada Soxhlet.

Ekstrak pelarut diuapkan dengan *rotary evaporator*, lalu dilakukan fraksinasi menggunakan kromatografi kolom klasik dengan elusi secara gradien. Eluen yang digunakan adalah metilen klorida, metilen klorida: etil asetat (8:2), etil asetat, etil asetat: metanol (8:2), etil asetat: metanol (6:4), etil asetat: metanol (4:6), etil asetat: metanol (2:8), dan metanol. Fraksi-fraksi yang mengandung kafein disatukan dan dilakukan proses pemurnian menggunakan kromatografi lapis tipis preparatif dengan eluen etil asetat. Pita yang terbentuk dikerok, dilarutkan dengan metilen klorida, dan disaring. Isolat kafein ditimbang, lalu dilakukan identifikasi dan uji kemurnian menggunakan uji titik leleh, uji KLT (kromatografi lapis tipis), spektrofotometri UV/Vis, dan spektrofotometri inframerah. Hasil uji titik leleh ditampilkan pada Tabel 2.

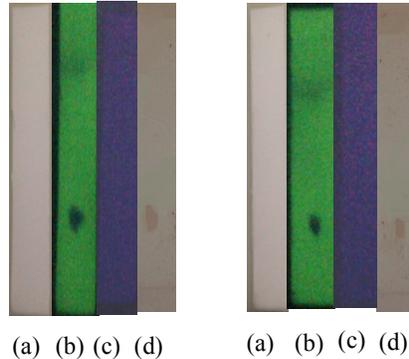
Pada tabel dapat dilihat bahwa rentang titik leleh tidak lebih dari 2°C dan berada dalam rentang titik leleh kafein menurut pustaka. Hal ini menunjukkan bahwa isolat kafein yang diperoleh telah murni. Dilakukan uji KLT, isolat kafein dilarutkan dengan metilen klorida, ditotolkan pada plat silika gel, dan dikembangkan dengan etil asetat.

Tabel 2. Titik Leleh Isolat Kafein

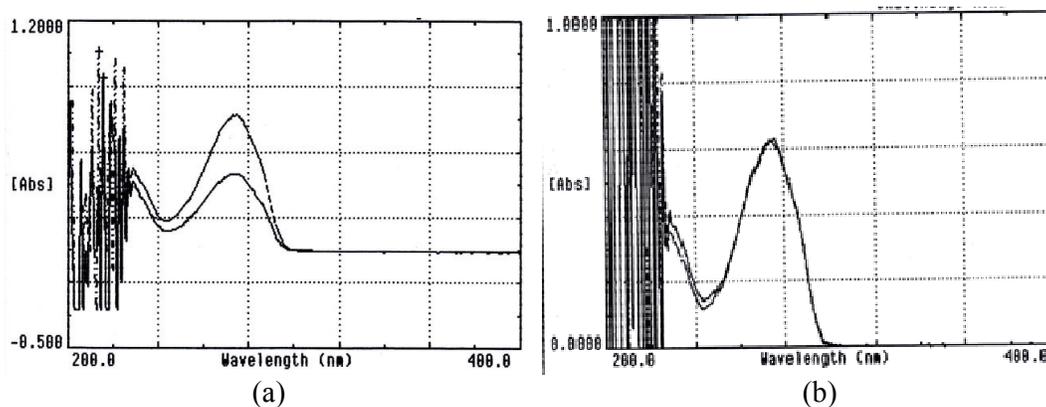
	Kafein (menurut pustaka)	Kafein (ekstrak etanol)	Kafein (ekstrak metanol)
Titik leleh (°C)	228 – 239	229,3–229,5	229,4–229,6



Gambar 3. Grafik AUC terhadap waktu pengambilan sampel (a) ekstraksi dengan etanol, (b) ekstraksi dengan metanol.



Gambar 4. KLT kafein hasil pemurnian (1) ekstrak etanol, (2) ekstrak metanol, dengan penampak bercak (a) sinar tampak, (b) sinar UV λ 254 nm, (c) sinar UV λ 366 nm, (d) H₂SO₄ 10% dalam metanol.



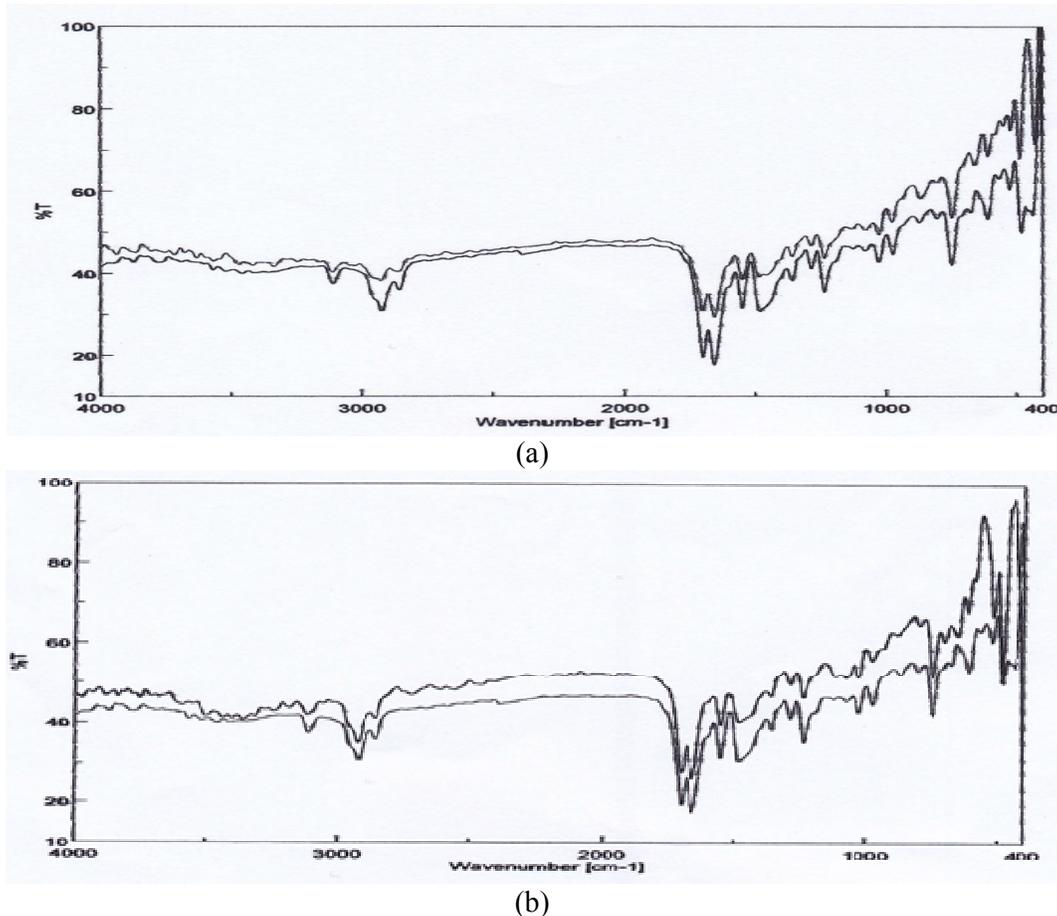
Gambar 5. Spektrum UV (a) kafein hasil pemurnian ekstrak etanol dengan kafein baku, (b) kafein hasil pemurnian ekstrak metanol dengan kafein baku.

Rf senyawa kafein dengan pengembang etil asetat adalah 0,27. Dari gambar di atas, dapat dilihat bahwa terdapat 1 bercak yang berpadar di bawah sinar UV λ 254 nm dan tidak terdapat bercak yang berpadar di bawah sinar UV λ 366 nm. Kafein menyerap energi pada λ 254 nm sehingga hanya terlihat dengan penampak bercak sinar UV λ 254 nm. Dengan penampak bercak H₂SO₄ 10% dalam metanol, hanya terlihat 1 bercak sama dengan bercak pada penampak bercak UV λ 254 nm. Hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat senyawa organik lain selain kafein.

Dengan metode spektrofotometri UV/Vis, kafein yang mempunyai ikatan rangkap terkonjugasi akan menyerap absorpsi pada panjang gelombang UV. Spektrum UV kafein hasil pemurnian identik dengan spektrum UV kafein baku. Melalui spektrofotometri inframerah (IM), diperoleh spektrum IM yang identik antara kafein hasil pemurnian dengan kafein baku baik dari gugus fungsi maupun daerah sidik jari. Dengan demikian, kafein yang diperoleh telah murni.

Penentuan residu pelarut organik menggunakan kromatografi gas dengan metode standar adisi satu titik. Metode ini dilakukan dengan menambahkan sejumlah senyawa yang telah diketahui konsentrasinya ke dalam larutan sampel. Kadar sisa pelarut dalam sampel dapat dihitung dengan mengetahui selisih AUC puncak waktu retensi pelarut organik tersebut. Pelarut sampel yang digunakan adalah aqua d.m. yang dapat melarutkan etanol dan metanol. Hasil penentuan kadar residu etanol dan metanol dalam ekstrak kering yang digunakan untuk ekstraksi pelarut organik dan serbuk kopi tertera dalam Tabel 3.

Kadar maksimum residu pelarut organik yang diperbolehkan *Belgian Law* dalam kopi dekafeinasi adalah 5 ppm (Van Rillaer 1982). Hasil penentuan kadar residu pelarut organik yang ditampilkan pada Tabel 3 dan Tabel 4 masih berada di bawah batas maksimum yang dipersyaratkan *Belgian Law*.



Gambar 6. Spektrum IM (a) kafein hasil pemurnian ekstrak etanol dengan kafein baku, (b) kafein hasil pemurnian ekstrak metanol dengan kafein baku.

Tabel 3. Hasil Penentuan Residu Pelarut Etanol

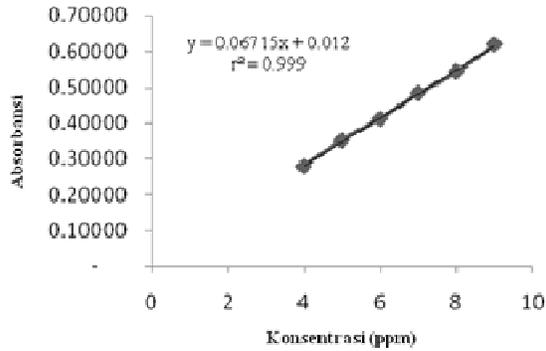
	Etanol 10 ppm	Etanol 10 ppm + 50 mg ekstrak	Etanol 10 ppm + 100 mg serbuk
AUC 1	51121	55635	50775
AUC 2	53254	63702	53991
Rata-rata	52187,5	59668,5	52383
Kadar etanol	143,348 ppm	1,873 ppm	

Tabel 4. Hasil Penentuan Residu Pelarut Metanol

	Metanol 5 ppm	Metanol 5 ppm + 50 mg ekstrak	Metanol 5 ppm +100 mg serbuk
AUC 1	8136	12439	8670
AUC 2	9010	10157	8543
Rata-rata	8573	11298	8656,5
Kadar metanol	158,929 ppm	2,435 ppm	

Penentuan kadar kafein dilakukan sesuai metode baku AOAC Internasional menggunakan spektrofotometri UV/Vis (Cunniff 1995). Penentuan persamaan kurva kalibrasi dilakukan dengan cara membuat larutan standar kafein dengan rentang konsentrasi sebesar 4-9 ppm dan diukur absorbansinya dengan menggunakan

spektrofotometri UV/Vis pada λ 275 nm, sehingga diperoleh persamaan regresi $y = 0,06715x + 0,012$. Dari kurva kalibrasi, dapat ditentukan kadar kafein dalam biji kopi robusta dengan berbagai perlakuan (Tabel 5 dan Tabel 6).



Gambar 7. Kurva kalibrasi kafein dengan rentang konsentrasi 4-9 ppm diukur absorbansi pada λ 275 nm.

Kadar kafein pada biji kopi robusta adalah 1,883% sesuai dengan pustaka yang menyatakan kadar kafein biji kopi robusta berada dalam rentang 1,5-2,6% (Clarke dan Macrae 1988). Terjadi penurunan kadar kafein pada biji kopi robusta setelah proses pemanggangan. Hal ini dikarenakan proses pemanggangan dilakukan di atas titik sublimasi kafein sehingga bentuk padat kafein dapat berubah menjadi bentuk gas pada saat proses pemanggangan. Efisiensi ekstraksi menggunakan pelarut etanol lebih besar daripada metanol sehingga penurunan kadar kafein pada kopi hasil dekafeinasi dengan etanol lebih besar dari metanol.

Setelah dilakukan proses ekstraksi dengan pelarut polar, ekstrak kering (hasil *freeze-dry*) didispersikan 10% b/v dalam air (Jones 1978). Biji kopi yang telah diekstraksi dengan air direndam dalam dispersi

selama 1 jam pada suhu ruang untuk mengembalikan senyawa yang memberikan aroma pada kopi.

Tabel 5. Efisiensi Ekstraksi Menggunakan Pelarut Polar

Efisiensi Ekstraksi	
Etanol	Metanol
44,162 %	24,283 %

Proses pemanggangan biji kopi menggunakan oven pada suhu 210°C selama 15 menit. Setelah dipanggang, biji kopi digiling dengan mesin penggiling dan dilakukan penentuan kadar kafein pada serbuk kopi. Pada tabel dapat dilihat bahwa kadar kafein dalam kopi hasil dekafeinasi dengan etanol dan metanol lebih besar daripada kopi hasil ekstraksi dengan air. Hal ini dikarenakan pada saat proses dispersi, kafein dalam ekstrak kering juga ikut berdifusi ke dalam biji kopi.

Penurunan kadar kafein hasil dekafeinasi dengan etanol sebesar 79,713% dan metanol sebesar 74,721%. Individu dapat mengonsumsi kopi hasil dekafeinasi dengan etanol lebih banyak lima kali dan kopi hasil dekafeinasi dengan metanol lebih banyak empat kali daripada kopi non-dekafeinasi.

Uji panelis aroma dan rasa pada kopi hasil dekafeinasi dengan etanol, hasil dekafeinasi dengan metanol, non-dekafeinasi, dan hasil ekstraksi dengan air dilakukan pada 30 orang panelis. Hasil uji diolah dengan metode Kolmogorov-Smirnov (Tabel 7 dan Tabel 8) dengan hipotesis nol adalah tidak terdapat perbedaan preferensi yang signifikan terhadap aroma dan rasa kopi.

Tabel 6. Kadar Kafein dalam Biji Kopi Robusta

Biji Kopi (tanpa perlakuan)	Biji kopi (ekstraksi dengan air)	Kadar Kafein		
		Proses Pemanggangan		
		Non-dekafeinasi	Dekafeinasi (etanol)	Dekafeinasi (metanol)
1,883 %	0,293 %	1,625 %	0,382 %	0,476 %

Tabel 7. Hasil Statistik Kolmogorov-Smirnov Aroma Kopi

	Frekuensi Observasi	Proporsi Observasi Kumulatif	Proporsi Ekspetasi Kumulatif	D
Kopi dekafeinasi (etanol)	6	0,2	0,25	0,05
Kopi dekafeinasi (metanol)	10	0,533	0,5	0,033
Kopi non-dekafeinasi	13	0,967	0,75	0,216
Kopi ekstraksi air	1	1	1	0

Tabel 8. Hasil Statistik Kolmogorov-Smirnov Rasa Kopi

	Frekuensi Observasi	Proporsi Observasi Kumulatif	Proporsi Ekspetasi Kumulatif	D
Kopi dekafeinasi (etanol)	5	0,167	0,25	0,083
Kopi dekafeinasi (metanol)	10	0,5	0,5	0
Kopi non-dekafeinasi	12	0,9	0,75	0,15
Kopi ekstraksi air	3	1	1	0

Berdasarkan hasil statistik, D_{max} untuk aroma adalah 0,216 dan D_{max} untuk rasa adalah 0,15. Nilai D pada aras kepercayaan 95% ($D(95\%)$) untuk 30 orang adalah 0,242. Kedua nilai D_{max} ini lebih kecil daripada nilai $D(95\%)$ sehingga hipotesis nol diterima, yaitu tidak terdapat perbedaan preferensi yang signifikan terhadap aroma dan rasa kopi pada aras kepercayaan 95% terhadap 30 panelis. Walaupun berdasarkan hasil statistik tidak terdapat perbedaan preferensi yang signifikan, tetapi terdapat perbedaan frekuensi observasi dimana jumlah panelis yang memilih kopi hasil ekstraksi dengan air paling sedikit baik dalam aroma maupun rasa. Hal ini menunjukkan proses dispersi dapat mengembalikan senyawa yang tertarik pada ekstrak air seperti senyawa yang memberikan aroma pada kopi.

Kesimpulan

Kadar kafein pada biji kopi hasil dekafeinasi menggunakan pelarut etanol adalah 0,382% dengan penurunan kadar kafein sebesar 79,713% dan pada biji kopi hasil dekafeinasi menggunakan pelarut metanol adalah 0,476% dengan penurunan kadar kafein sebesar 74,721%. Secara statistik, tidak terdapat perbedaan preferensi yang signifikan terhadap aroma dan rasa kopi pada aras kepercayaan 95% terhadap 30 panelis.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Dr.rer.nat Rahmana Emran Kartasmita dan Dr. As'ari Nawawi sebagai dosen pembimbing selama penelitian. Terima kasih juga kepada staf dan teman-teman di Kelompok Keilmuan Farmakokimia dan Biologi Farmasi yang telah membantu selama penelitian.

Daftar Pustaka

Clarke RJ, Macrae R (eds), 1988, Coffee Physiology, Elsevier Applied Science, England, 4-5.

Cunniff P (eds), 1995, Official Methods of Analysis of AOAC International, AOAC International, Virginia, USA, 30-1 – 30-3.

Hudak, 1978, Decaffeination of Green Coffee, United States Patent, 4, 81, 563, 1-5.

Jones, 1978, Decaffeination of Green Coffee, United States Patent, 4, 87, 562, 1-4.

Van Rillaer W, Janssens G, Beernaert H, 1982, Gas Chromatographic Determination of Residual Solvents in Decaffeinated Coffee, Z. Lebensm. Unters. Forch. 175(6): 413-415, doi:10.1007/BF01458926.

Zeller, 1985, Coffee Extract Decaffeination Method, United States Patent, 4,521,438, 1-5.