

## Penetapan Kadar Kafein Pada Teh Kering Kemasan Produksi Industri Teh di Pekalongan

Rina Widhyani<sup>1</sup>, Khusna Santika Rahmasari<sup>1\*</sup>, Wirasti<sup>1</sup>, Rini Kristiyanti<sup>2</sup>, Slamet<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Sarjana Farmasi, Universitas Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan, Indonesia

<sup>2</sup>Program Studi Diploma Kebidanan, Universitas Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan, Indonesia

\*Email: khusnasantika@gmail.com

---

### Abstract

*Caffeine is one of the main alkaloid compounds in tea. The maximum limit of caffeine compounds in beverage food products based on SNI 01-7152-2006 is 50 mg / serving. Pekalongan has a packaged dry tea industry with a variety of brands, so caffeine content testing is required. This study aims to determine the differences in caffeine content in packaged dry tea produced by the tea industry in Pekalongan which is analyzed and to determine the caffeine content of all brands of tea samples that meet the maximum caffeine content requirements. The method used is the reverse phase High Performance Liquid Chromatography (HPLC) method with octadecyl silica C18 as stationary phase, methanol for HPLC mobile phase with a flow rate of 1 mL / minute and a wavelength of 274 nm. The results showed that there were differences in caffeine content in packaged dry tea produced by the tea industry in Pekalongan. The level of caffeine is 1.753 mg / g (T1), 4,870 mg / g (T2), 5,157 mg / g (T3), 2,394 mg / g (T4), 3,601 mg / g (T5), 3,275 mg / g (T6), 3,900 mg / g (T7), 3,725 mg / g (T8), 7,048 mg / g (T9) and 5,348 mg / g (T10). The ten brands of tea samples in a dose of 5 grams per serving have a caffeine content that meets the maximum limit requirements according to SNI 01-7152-2006, namely 50mg / serving with the highest caffeine content in sample T9. The ten brands of tea samples are safe for consumption*

**Keywords:** Tea; Pekalongan; Caffeine; HPLC; Maximum Limit.

### Abstrak

Kafein adalah salah satu kandungan senyawa alkaloid utama teh. Batas maksimum senyawa kafein dalam produk pangan minuman berdasarkan SNI 01-7152-2006 yaitu 50 mg/sajian. Pekalongan mempunyai industri teh kering kemasan dengan merk yang beragam, sehingga diperlukan pengujian kadar kafein. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan kadar kafein pada teh kering kemasan produksi Industri teh di Pekalongan yang dianalisis dan untuk mengetahui kadar kafein semua merk sampel teh memenuhi persyaratan kadar maksimal kafein. Metode yang digunakan adalah metode High Performance Liquid Chromatography (HPLC) fase terbalik dengan fase diam oktadesil silika C18, fase gerak metanol for HPLC dengan laju alir 1 mL/menit dan panjang gelombang 274 nm. Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan kadar kafein pada teh kering kemasan produksi industri teh di Pekalongan. Kadar kafeinya yaitu sebesar 1,753 mg/g (T1), 4,870 mg/g (T2), 5,157 mg/g (T3), 2,394 mg/g (T4), 3,601 mg/g (T5), 3,275 mg/g (T6), 3,900 mg/g (T7), 3,725 mg/g (T8), 7,048 mg/g (T9) dan 5,348 mg/g (T10). Kesepuluh merk sampel teh dalam takaran 5 gram tiap penyajian memiliki kadar kafein yang memenuhi persyaratan batas maksimal menurut SNI 01-7152-2006 yaitu sebesar 50mg/sajian dengan kadar kafein tertinggi pada sampel T9. Kesepuluh merk sampel teh aman untuk dikonsumsi

**Kata Kunci:** Teh; Pekalongan; Kafein; HPLC; Batas Maksimal.

---

## 1. PENDAHULUAN

Teh adalah minuman yang sudah sangat dikenal dan disukai masyarakat dunia serta banyak dikonsumsi dalam kehidupan sehari-hari. Teh termasuk kedalam komoditi hasil perkebunan dengan jumlah produksi yang besar. Teh (*Camellia sinensis*) merupakan tanaman yang termasuk kedalam famili *Theaceae* diyakini mempunyai manfaat untuk kesehatan.

Manfaat teh diantaranya menurunkan kadar kolesterol, pengobatan diabetes, mengurangi risiko penyakit jantung, kanker, obesitas dan sebagainya. Kandungan senyawa kimia daun teh diantaranya yaitu senyawa aromatis, senyawa enzimatis, vitamin, mineral, protein, asam amino, resin, klorofil dan zat warna lain, senyawa golongan fenol dan bukan fenol. Adapun kandungan senyawa alkaloid utama dari teh salah satunya adalah senyawa kafein (Towaha, 2013).

Kafein merupakan senyawa alkaloid dengan rumus senyawa kimia  $C_8H_{10}N_4O_2$ , dan rumus bangun 1,3,7-trimethylxanthine. Kafein memiliki bentuk kristal padat dan dimorfik, memiliki rasa pahit, berwarna putih atau kekuningan dan tidak berbau (Koch dkk., 2017). Kafein juga memiliki manfaat untuk kesehatan.

Konsumsi kafein dengan takaran atau dosis yang pas dapat memberikan manfaat untuk kesehatan, seperti diuretik, aktivitas positif pada SSP, astringen, *antiasthmatic*, penambah sekresi asam dan pepsin, penambah metabolisme asam lemak bebas dan kadar glukosa plasma (Koch dkk., 2017). Manfaat kafein hanya dapat diperoleh jika pengonsumsiannya sesuai dengan anjuran dosis akan tetapi, kafein juga dapat menimbulkan efek samping jika dikonsumsi secara berlebihan. Efek samping tersebut diantaranya yaitu menyebabkan gugup, tremor, kegelisahan, mual, hipertensi hingga kejang dan kematian (Arwangga dkk., 2016).

Menurut SNI 01-7152-2006 menyatakan bahwa ketentuan senyawa bioaktif kafein yang terkandung dalam produk pangan minuman memiliki batas maksimum 50mg/sajian dan 150mg/hari.

Adapun berdasarkan penelitian terdahulu menyebutkan bahwa dalam secangkir teh terdapat sekitar 50–70 mg kandungan kafein (Bylund dkk, 2016). Untuk itu, perlu adanya pengonsumsi kafein dengan takaran yang tepat.

Pekalongan mempunyai industri teh dengan merk yang beragam. Di Pekalongan, teh dengan wangi bunga melati adalah produk teh yang paling banyak diminati dan banyak diproduksi oleh pabrik maupun industri rumah tangga. Terdapat banyak merk teh kering kemasan produksi industri teh di Pekalongan, kafein yang terkandung di dalamnya juga dapat memiliki kadar yang berbeda karena dipengaruhi oleh banyak faktor dari tahap pemetikan teh hingga teh tersebut menjadi suatu produk. Mengingat terdapat batas pengonsumsi kafein dan adanya efek buruk yang ditimbulkan dari pengonsumsi kafein secara berlebihan serta belum ada penelitian mengenai analisis kadar kafein dalam masing-masing merk teh kering kemasan produksi pekalongan, maka diperlukan analisis kadar kafein pada teh kering kemasan produksi industri teh di Pekalongan.

Berdasarkan penelitian terdahulu, metode HPLC dapat digunakan dalam penetapan kadar kafein (Chrismaaji, 2018). Metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) memiliki kecepatan dan kepekaan analisis yang tinggi. Penelitian terdahulu juga membuktikan bahwa kadar kafein dapat dianalisis secara kuantitatif dengan menggunakan metode HPLC (Abbood dan Aldiab, 2017), (Luo dkk., 2012), (Sherstha dkk., 2016), (Theppakorn dkk., 2014), maka metode ini dapat digunakan dalam analisis kadar kafein.

Analisis kadar kafein dalam teh ataupun produk teh dapat dilakukan dengan menggunakan metode HPLC yang merupakan jenis kromatografi dengan menggunakan fase gerak cair yang dialirkan melalui kolom sebagai fase diam menuju ke detektor dengan bantuan pompa dan menghasilkan kromatogram dari senyawa yang dianalisis (Suprianto, 2018). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya perbedaan kadar kafein pada teh

kering kemasan produksi industri teh di Pekalongan dan untuk mengetahui kadar kafein dari kesepuluh merk teh yang memenuhi persyaratan batas maksimum kafein pada peraturan SNI 01-7152-2006. Pengonsumsi kafein dibawah batas maksimum diharapkan dapat memberikan efek baik untuk kesehatan.

## 2. METODE

### 2.1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat HPLC merk Shimadzu Fase terbalik LC-2010C dengan detector UV, kolom C<sub>18</sub> dimensi 250 × 4,6 mm dan ukuranpori 5 µm, spektrofotometri UV-Vis, neraca analitik, seperangkat alat refluks, *hot plate*, mikro filter 0,45 µm, kertas saring, corong kaca, blender, ayakan mesh 40, kain flanel dan alat-alat gelas.

### 2.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah 10 sampel teh yang diproduksi di Pekalongan, dengan ijin P-IRT/BPOM. Metanol<sup>for</sup>HPLC, metanol p.a, alkohol 96%, kloroform p.a, aquabides, kafein p.a, Pb(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>p.a, NH<sub>3</sub> 21%, NaOH p.a dan Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>p.a.

### 2.3. Penyerbukan dan ekstraksi dengan metode refluks

Sampel teh dipisahkan dari campuran bunga melati dalam kemasan, kemudian diblender dan diayak dengan ayakan mesh 40. Serbuk halus teh sebanyak 20 gram dilarutkan dengan 140 mL aquadest dan direfluks dengan suhu 100°C selama 60 menit. Campuran panas disaring dengan kain flanel, kemudian filtrat ditetesi Pb(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub> hingga terbentuk endapan. Disaring, lalu filtrat dibasakan dengan NaOH 10 N hingga pH 9. Diekstraksi kedalam corong pisah dengan kloroform 10 mL dengan tiga kali pengulangan, lalu ditampung fase kloroform.

### 2.4. Kristalisasi sublimasi

Digunakan rangkaian alat kristalisasi berupa cawan porselen berisikan fase

kloroform ekstrak kafein, ditutup dengan kertas saring dan corong kaca yang diletakan secara terbalik. Ujung dan dinding corong kaca ditutup dengan tisu yang telah dibasahi dengan aquades. Suhu *hot plate* diatur sebesar 120 °C. Ditunggu hingga kristal kafein terbentuk yaitu kristal berwarna putih/putih kekuningan (Wilantari dkk., 2018).

### 2.5. Uji dengan ReagenParry

Sejumlah kristal dari masing-masing merk teh dilarutkan dalam alkohol, kemudian ditambahkan reagen parry dan NH<sub>3</sub>. Hasil menunjukkan positif terdapat kafein jika larutan berwarna hijau/biru tua.

### 2.6. Pembuatan larutan induk dan larutan seri kafein

Larutan induk dibuat dari kafein sebanyak 50 mg dan dilarutkan dalam labu ukur dengan aquabidest ad 50 mL. Sementara itu, larutan seri dibuat dengan konsentrasi 25, 40, 50, 100, 150, 200 dan 250 µg/mL dari larutan induk kafein, disonikasi, lalu disaring dengan mikro filter.

### 2.7. Penentuan panjang gelombang maksimum kafein

Diukur serapan kafein dari salah satu larutan seri konsentrasi dengan spektrofotometri UV-Vis pada rentang λ200–400 nm, kemudian ditentukan panjang gelombang maksimum (λ<sub>max</sub>).

### 2.8. Penyiapan sampel dan fase gerak

Kristal dari masing-masing sampel dilarutkan dengan aquabidest hingga 10 mL, disonikasi, kemudian disaring dan dimasukkan kedalam vial HPLC.

### 2.9. Penetapan Kadar

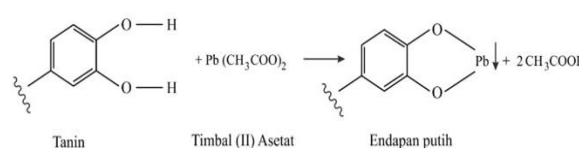
Larutan sampel yang telah dipreparasi diinjeksikan sejumlah 20 µL ke dalam sistem HPLC dengan fase gerak metanol<sup>for</sup>HPLC. Kecepatan alir yang digunakan adalah 2,0 mL/menit pada kondisi isokratik selama 3 menit dengan detektor UV pada panjang gelombang maksimum 274 nm. Dilakukan replikasi sebanyak tiga kali. Hasil yang akan

diperoleh adalah berupa kromatogram yang akan menunjukkan nilai AUC (*Area Under Curve*). Kadar kafein masing-masing sampel dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier yang diperoleh.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 3.1. Ekstraksi Metode Refluks

Ekstrak yang didapat berupa larutan encer berwarna coklat tua, sesuai dengan hasil ekstrak teh dari penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa ekstrak teh berwarna kecoklatan (Wilantari dkk., 2018). Filtrat yang didapatkan lebih sedikit dari total pelarut semula karena terdapat pelarut yang berperan membasahi pori-pori sampel sehingga serbuk sampel teh dapat mengembang dan mengeluarkan zat kafein dengan adanya pelarut yang panas (Kumalasari dan Andiarna, 2020). Penambahan  $Pb(CH_3COO)_2$  kedalam filtrat menghasilkan endapan putih.  $Pb(CH_3COO)_2$  merupakan larutan logam berat yang terutama berfungsi untuk mengendapkan tanin yang banyak terkandung dalam ekstrak teh. Sebagaimana reaksi kimia pada Gambar 3.1.



**Gambar 3.1.** Reaksi Kimia Tanin Dengan Timbal (II) Asetat

Ekstrak dibasakan sampai pH 9 untuk mengubah kafein teh yang semula dalam bentuk garam larut air menjadi bentuk basa yang larut dalam kloroform. Ekstrak dilakukan penarikan kafein dengan kloroform p.a sebanyak tiga kali pengulangan agar kafein dapat tertarik secara maksimal. Fase kloroform dari masing-masing sampel T1-T10 ini berwarna bening sampai sedikit kekuningan, sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa fase kloroform dari

ekstrak teh berwarna sedikit kekuningan (Aufa dkk, 2018).

#### 3.2. Kristalisasi Sublimasi

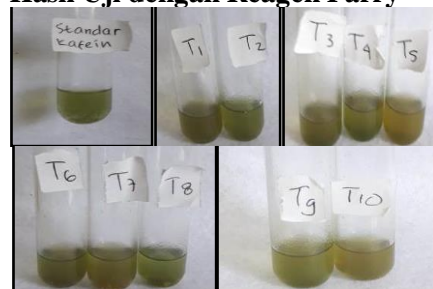
Kristalisasi adalah proses pembentukan kristal padat dari presipitasi larutan, didalamnya terjadi transfer massa zat terlarut (kafein) dari larutan (fase kloroform) untuk membentuk padatan kristal kafein (Yafi dkk., 2015). Suhu *hot plate* diatur sebesar 120 °C. Pengaturan suhu ini didasarkan atas ketentuan suhu mikrosublimesi kafein yaitu suhu pemanas diatas 110 °C karena harus melewati titik didih kafein agar kafein yang terdapat didalam fase kloroform berubah menjadi gas kemudian mengkristal.

Kesepuluh merk sampel teh menghasilkan kristal sebagaimana tercantum dalam Tabel 3.1. Kristal yang diperoleh berwarna putih kekuningan. Warna ini sesuai dengan ketentuan warna kristal kafein yaitu warna putih hingga kekuningan (Koch dkk., 2017).

**Tabel 3.1.** Hasil Kristal Dari Sampel

Sampel	Kristal
T1	Ada
T2	Ada
T3	Ada
T4	Ada
T5	Ada
T6	Ada
T7	Ada
T8	Ada
T9	Ada
T10	Ada

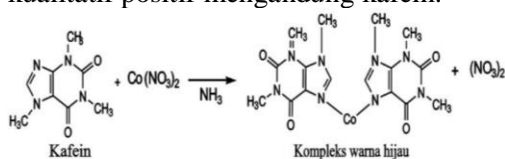
#### 3.3. Hasil Uji dengan Reagen Parry



**Gambar 3.2.** Hasil Uji Parry

Keberadaan senyawa kafein ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau pada hasil uji parry sebagaimana

Gambar 3.2. Kesepuluh merk sampel teh memiliki hasil yang sama. Hal ini menunjukkan semua sampel secara kualitatif positif mengandung kafein.



**Gambar 3.3.** Reaksi Kimia Kafein Dengan Reagen Parry (Mutmainnah, 2017)

Kompleks warna hijau yang terbentuk memiliki reaksi kimia sebagaimana Gambar 3.3. Reagen parry dibuat dengan melarutkan cobalt nitrat ( $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ ) dengan metanol. Ion cobalt dari cobalt nitrat memiliki muatan dua positif sehingga mengikat gugus nitrogen dari kafein dan membentuk kompleks berwarna hijau/biru tua.

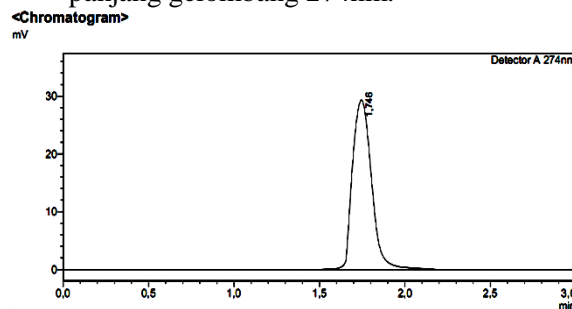
### 3.4. Panjang Gelombang Maksimal Kafein

Penetapan  $\lambda_{\text{max}}$  dilakukan karena pada  $\lambda_{\text{max}}$  memiliki kepekaan yang paling maksimal saat pengukuran absorbansi, sehingga  $\lambda_{\text{max}}$  ini dapat mengukur hingga perubahan yang besar dari absorbansi konsentrasi larutan sampel (Gandjar dan Rohman, 2014). Nilai absorbansi dapat terbaca oleh spektrofotometer UV-Vis karena, pada struktur kimia senyawa kafein terdapat gugus kromofor yang dapat menyerap radiasi UV pada spektrofotometer UV-Vis dan gugus aoksokrom yang dapat meningkatkan penyerapan radiasi UV jika terikat dengan gugus kromofor (Chrismaaji, 2018). Hasil pengukuran  $\lambda_{\text{max}}$  yang didapatkan adalah 273,5nm. Hasil ini mirip dengan hasil penelitian terdahulu yang menyebutkan bahwa  $\lambda_{\text{max}}$  kafein adalah 274nm (Koch dkk., 2017).

### 3.5. High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Analisis kadar kafein teh kering kemasan produksi industri teh di Pekalongan ini dilakukan dengan metode HPLC fase terbalik. Digunakan fase diam oktadesil silika C18 dan fase gerak metanol *for* HPLC dengan kecepatan alir

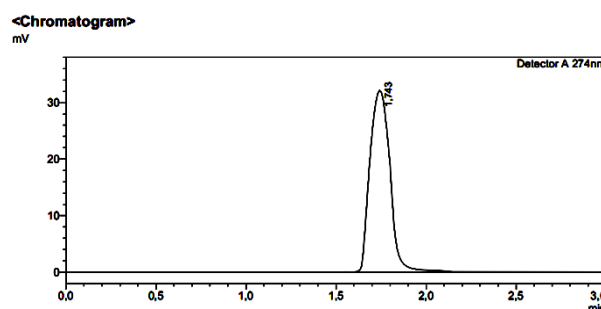
1 mL/menit. Detektor yang digunakan yaitu detektor UV dengan pengaturan panjang gelombang 274nm.



**Gambar 3.4.** Kromatogram Standar Kafein Konsentrasi 50  $\mu\text{g/mL}$

Hasil kromatogram standar kafein tanpa senyawa pengotor ditunjukkan pada Gambar 3.4. Bentuk kromatogram simetris dan mempunyai profil yang sama. Kromatogram mulai terlihat pada sekitar menit ke-1,6 dan puncak kromatogram terdeteksi pada sekitar menit ke-1,7. Begitu juga untuk kromatogram yang dihasilkan oleh analit.

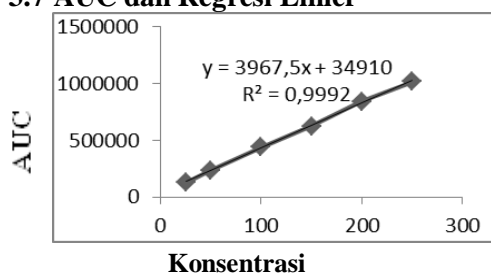
Digunakan fase gerak murni yaitu metanol *for* HPLC dengan maksud agar tidak ada pengotor maupun gangguan bentuk kromatogram yang tidak simetris. Kromatogram sampel (Gambar 3.5) merupakan kromatogram kafein karena memiliki waktu retensi sesuai dengan standar kafein.



**Gambar 3.5.** Kromatogram Sampel T1.

Waktu retensi yang dihasilkan dari standar kafein seri konsentrasi yaitu sekitar 1,74 menit. Waktu retensi sampel T1-T10 yaitu sekitar 1,74 dan 1,75 menit. Waktu retensi sampel mirip dan menunjukkan senyawa kafein dari sampel teh.

### 3.7 AUC dan Regresi Linier



**Gambar 3.6.** Kurva Standar Kafein

Nilai AUC dari seri konsentrasi standar kafein menentukan linieritas (Gandjar dan Rohman, 2012). Hasil linieritas dapat dilihat pada Gambar 3.6. Nilai  $r = 0,9992$  menunjukkan nilai yang baik karena bernilai  $r \geq 0,99$ . Hal ini menunjukkan hubungan peningkatan konsentrasi dan respon instrumen yang linier (AOAC, 2013). Persamaan regresi linier yang didapatkan dari AUC seri konsentrasi standar kafein digunakan untuk mensubstitusikan nilai AUC analit sampel T1-T10.

### 3.6. Konsentrasi Kafein Pada Sampel Teh

Konsentrasi kafein pada masing-masing sampel teh diperoleh dari perhitungan nilai AUC tiap replikasi sampel. Nilai ini disubstitusikan pada persamaan regresi linier yang didapatkan. Masing-masing sampel memiliki konsentrasi kafein yang berbeda.

### 3.7. Kadar Kafein Pada Sampel Teh

Kadar adalah banyaknya kandungan suatu senyawa dalam sampel. Kadar (b/b) kafein artinya berat kafein yang terkandung dalam tiap bobot sampel. Hasil kadar sebagaimana Tabel 3.2.

**Tabel 3.2.** Hasil Kadar Kafein Sampel T1-T10

Nama Sampel	Kadar kafein				
	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rata-rata	SD
T1	1,761	1,870	1,629	1,753	0,120
T2	4,886	4,871	4,854	4,870	0,016
T3	5,123	5,205	5,144	5,157	0,042
T4	2,239	2,404	2,540	2,394	0,151
T5	3,557	3,581	3,667	3,601	0,058
T6	3,266	3,203	3,356	3,275	0,076
T7	3,993	3,882	3,826	3,900	0,085
T8	3,719	3,702	3,755	3,725	0,027
T9	7,078	7,062	7,004	7,048	0,039
T10	5,442	5,266	5,337	5,348	0,089

Masing-masing sampel memiliki kadar kafein yang berbeda. Sampel T1 memiliki kadar kafein paling rendah dan sampel T9 memiliki kadar kafein paling tinggi. Semakin rendah kandungan kafein dalam teh maka semakin baik kualitasnya. Adapun menurut takaran penyajian tiap 5 gram teh kering (Tabel 3.3), semua merk sampel teh, memiliki kadar kafein yang memenuhi persyaratan SNI 01-7152-2006 yang menyatakan bahwa ketentuan senyawa bioaktif kafein yang terkandung dalam produk pangan minuman memiliki batas maksimum 50 mg/sajian.

**Tabel 3.3.** Rata-Rata Kadar Kafein/5g

Nama sampel	Rata-rata kadar kafein tiap 5 gram
T1	8,765 mg
T2	24,350 mg
T3	25,785 mg
T4	11,970 mg
T5	18,005 mg
T6	16,375 mg
T7	19,500 mg
T8	18,625 mg
T9	35,240 mg
T10	26,740 mg

## 4. KESIMPULAN

Terdapat perbedaan kadar kafein pada teh kering kemasan produksi industri teh di Pekalongan. Semua merk sampel teh dalam takaran 5 gram tiap penyajian memiliki kadar kafein yang memenuhi persyaratan batas maksimal menurut SNI 01-7152-2006 yaitu sebesar 50mg/sajian dengan kadar kafein tertinggi pada sampel T9. Kesepuluh merk sampel teh aman untuk dikonsumsi.

## REFERENSI

- Abbood, A., and Aldiab, D. 2017. HPLC Determination of Caffeine in Some Beverages and Pharmaceutical Dosage Forms Available in Syrian Market. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*. 3 (10), 1174-1179.
- Arwangga, A.F., Asih, I.A.R.A., and Sudiarta, I.W. 2016. Analisis Kandungan Kafein pada Kopi di Desa Sesaot Narmada Menggunakan

- Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Kimia*. 1 (10), 110-114.
- AOAC. 2013. *Guidline for Dietary Suplements and Botanical*. Maryland, USA: Pharmaceutical Press
- Aufa, A., Afina., Purwaningsih, A., Muthoharoh, A., Kartika A., dan Azizah, A. 2018. Isolasi Kafein dari Teh Hitam (*Camellia sinensis*) Siap Seduh Merk X dengan Analisis Kualitatif Secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Spektrometer UV-Vis. *Laporan Penelitian*. Farmasi STIKES Bhakti Mandala Husada Slawi.
- Bylund, D.B. 2016 *Caffeine*. NE, USA: University of Nebraska Medical Center. Doi: 10.1016/B978-0-12-801238-3.98866-4
- Chrismaaji, D.Y. 2018. Penetapan Kadar Kafein dalam Kopi Bubuk Murni Robusta Merk "X" dengan Metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) Fase Terbalik. *Skripsi*. Universitas Sanata Dharma.
- Gandjar, I.G., dan Rohman, A. 2012. *Analisis Obat Secara Spektrofotometri dan Kromatografi*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar
- Gandjar, I.G., dan Rohman, A. 2014. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar.
- Koch, W.A.K., and Widelski, J. 2017. *Alkaloids*. Lublin, Poland: Medical University of Lublin. Doi: 10.1016/B978-0-12-802104-0.00009-3.
- Kumalasari, M.L.F., dan Andiarna, F. 2020. Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kemangi. *Indonesian Journal For Health Science*. 4 (1), 39-44.
- Luo, M., dan Peng, H. 2012. Study in Determination of Contents of the Main Components of Tea Polyphenols. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*. 6 (2), 433-437.
- Mutmainnah, N. 2017. Penentuan Suhu dan Waktu Penyeduhan Batang Teh Hijau Terhadap Kandungan Antioksidan Kafein, Tanin dan Katekin. *Skripsi*. UIN Alauddin Makassar.
- Sherstha, S., Rijal, S.K., Pokhrel, P., & Rai, K.P. 2016. A Simple HPLC Method for Determination of Caffeine Content in Tea and Coffee. *Journal Food and Science Technology*. 9, 74-78.
- Suprianto. 2018. *Konsep Praktis High Performance Liquid Chromatography*. Medan: Institut Kesehatan Helvetia. Doi: 10.13140/RG.2.2.18909.10729.
- Towaha, J. 2013. Kandungan Senyawa Kimia pada Daun Teh (*Camellia sinensis*). *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*. 3 (19), 12-16.
- Theppakorn, T., Luthfivyyah, A., and Ploysri, K. 2014. Simultaneous Determination of Caffeine and 8 Catechins in Oolong Teas Produced in Thailand. *International Food Research Journal*. 5 (21), 2055-2061.
- Wilantari, P. D., Putri, N. R. A., Putra, D. G. P., Nugraha, I. G. A. A. K., Syawalistianah, Prawitasari, D. N. D., dan Samirana, P. O. 2018. Isolasi Kafein Dengan Metode Sublimasi dari Fraksi Etil Asetat Serbuk Daun Teh Hitam (*Camellia sinensis*). *Jurnal Farmasi Udayana*. 2 (7), 53-62.
- Yafi, A.E., Kh and Zein, H.E. 2015. Technical Crystallization For Application in Pharmaceutical Material Engineering. *International Journal of Pharmaceutical and Science*. 30 (2), 17-24.