

**OPTIMASI WAKTU DAN KONSENTRASI ETANOL PADA EKSTRAKSI BERBANTU ULTRASONIK SERTA PENETAPAN KADAR KAFEIN DAUN KOPI ARABIKA (*Coffea arabica* L.,)**

**OPTIMIZATION OF TIME AND ETHANOL CONCENTRATION IN ULTRASONIC ASSISTED EXTRACTIONS AND CAFFEINE ASSAY OF ARABICA COFFEE LEAF (*Coffea arabica* L.,) LEAF**

**Sofia Fatmawati<sup>1\*</sup>, Fitria Nugraheni<sup>1</sup>, Tahyatul Bariroh<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Muhammadiyah Prof Dr Hamka

[\\*fatmawatisofia@gmail.com](mailto:*fatmawatisofia@gmail.com), nomor HP : 085727941306

Berikan alamat lengkap dari penulis korespondensi, meliputi alamat email dan No HP (No HP ini tdk akan nampak di Jurnal yg terpublish)

**ABSTRACT**

*Ultrasonic is an effective and efficient non-thermal extraction method. The mechanical effect of the ultrasonic waves increase penetration of the liquid into the cell membrane wall, supporting the release of cell components and increasing mass transfer. Factors affecting ultrasonic extraction include time and solvent concentration. This study aims to determine the ethanol solvent concentration and the maximum time for ultrasonic extraction of arabica coffee leaves. Determination of caffeine levels was also carried out for the effectiveness of ultrasonic extraction. Ethanol concentration and extraction time which give high yield and caffeine content are 70% ethanol and 30 minutes.*

**Keywords :** Caffeine, Coffee, Extraction, Leaves, Ultrasonic

**ABSTRAK**

Ultrasonik merupakan metode ekstraksi non termal yang efektif dan efisien. Efek mekanik dari gelombang ultrasonik yang ditimbulkan akan meningkatkan penetrasi dari cairan menuju dinding membran sel, mendukung pelepasan komponen sel dan meningkatkan transfer massa. Faktor yang mempengaruhi ekstraksi menggunakan ultrasonik antara lain waktu dan konsentrasi pelarut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi pelarut etanol dan waktu yang maksimal untuk ekstraksi ultrasonik daun kopi arabika. Penetapan kadar kafein juga dilakukan untuk mengetahui efektivitas ekstraksi ultrasonik. Konsentrasi etanol dan waktu ekstraksi yang memberikan rendemen dan kadar kafein tinggi adalah etanol 70% dan waktu 30 menit.

**Kata kunci :** Daun, Ekstraksi, Kopi, Kafein, Ultrasonik.

**PENDAHULUAN**

Proses ekstraksi secara umum dapat dilakukan dengan cara maserasi, perkolasi, refluks, ekstraksi dengan alat soxhlet, digesti, dan infusa. Ekstraksi konvensional memiliki kelemahan yaitu membutuhkan waktu yang lama dan suhu ekstraksi yang tinggi dengan hasil ekstrak rendah namun konsumsi energi tinggi (Hemwimol *et al*, 2006) sehingga diperlukan metode alternatif. Salah satu metode ekstraksi yang dapat digunakan adalah metode gelombang ultrasonik. Ultrasonik merupakan metode ekstraksi non termal yang efektif dan efisien. Efek mekanik dari gelombang ultrasonik yang ditimbulkan akan meningkatkan penetrasi dari cairan menuju dinding membran sel, mendukung pelepasan komponen sel dan meningkatkan transfer massa (Keil, 2007).

Penggunaan ultrasonik dapat menimbulkan efek kavitasi yang dapat memecah dinding sel bahan sehingga komponen bioaktif keluar dengan mudah dan didapatkan hasil ekstrak yang maksimal dengan proses ekstraksi yang jauh lebih singkat (Kuldikole, 2002). Metode konvensional seperti maserasi, sokletasi, perkolasi, dan refluks memiliki kekurangan karena membutuhkan waktu ekstraksi yang lama, membutuhkan banyak pelarut serta hasil ekstrak yang didapatkan kurang maksimal. Optimasi ekstraksi

daun kopi arabika dapat dilakukan dengan metode ekstraksi ultrasonik. Ultrasonik dapat menurunkan suhu operasi pada ekstrak yang tidak tahan panas, sehingga cocok untuk diterapkan pada ekstraksi senyawa bioaktif tidak tahan panas (Zou *et al*, 2014).

Penelitian mengenai efektifitas penggunaan ultrasonik bath dalam ekstraksi sudah banyak dilakukan seperti penelitian Ramos (2017) dengan tanaman simaba (*Simaba cedro*) dan Zhanga (2005) pada ekstraksi buah *Macleaya cordata*. Faktor yang mempengaruhi ekstraksi menggunakan ultrasonik yaitu ukuran partikel, jenis pelarut, rasio pelarut dengan bahan, suhu, lama waktu ekstraksi, intensitas akustik, ketinggian sampel (dalam bentuk cair), dan siklus dari paparan gelombang ultrasonik (Wijngaard *et al*, 2012). Keuntungan metode ultrasonik adalah dapat meningkatkan hasil ekstraksi, waktu ekstraksi yang singkat, menggunakan suhu rendah, dan volume pelarut yang sedikit (Dey dan Rathod, 2013). Kekurangan metode ultrasonik adalah membutuhkan energi dan biaya yang besar. Rendemen yang dihasilkan dengan menggunakan metode ini lebih tinggi dibandingkan dengan menggunakan metode konvensional (Rostagno dan Prado 2013).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh variasi waktu dan konsentrasi etanol pada proses ekstraksi daun kopi arabika dengan metode ultrasonik dalam menghasilkan ekstrak etanol daun kopi arabika dengan kadar kafein yang lebih tinggi.

## **METODE**

### **Alat dan Bahan**

Alat yang dibutuhkan adalah timbangan analitik, *ultrasonic bath*, *spektrofotometer uv-vis* (Shimadzu, Jepang), *vacum rotary evaporator*, *moisture analyzer*, ayakan mesh 40, alat-alat gelas. Bahan yang dibutuhkan adalah daun kopi arabika yang diperoleh dari Institut Pertanian Bogor (IPB), etanol 50%, etanol 70%, etanol 96%, baku kafein, HCl 2N, FeCl<sub>3</sub>, NaCl, Pereaksi Dragendroff, Pereaksi Bouchardat, serbuk Mg, aquades, kloroform, eter, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, asam asetat anhidrat, asam asetat 1%, NH<sub>4</sub>OH, mayer, gelatin, aqua pro analisis, Ammonium Hydroxide, CaCO<sub>3</sub>.

### **Pembuatan Serbuk Daun Kopi Arabika**

Daun kopi arabika segar disortasi basah dari bahan-bahan pengotor. Selanjutnya dilakukan pencucian dengan air mengalir hingga bersih setelah itu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan hingga kering dan dilakukan sortasi kering. Simplisia dihaluskan dengan menggunakan blender hingga menjadi serbuk, lalu diayak dengan ayakan mesh no. 40 ditimbang dan dicatat hasilnya.

### **Ekstraksi Daun Kopi Arabika Variasi Konsentrasi Etanol**

Serbuk daun kopi arabika ditimbang 50 gram sebanyak 5 kali, dilarutkan dalam etanol 50%, 70% dan 96% sebanyak 500 ml masing masing di dalam gelas kimia 500 ml kemudian ditempatkan dalam ultrasonik bath selama 30 menit pada suhu ruang. Selanjutnya disaring dengan kertas saring whatman no 1. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dalam rotari evaporator dan dikemas dalam botol gelap.

### **Ekstraksi Daun Kopi Arabika Variasi Waktu**

Serbuk daun kopi arabika ditimbang sebanyak 50 gram untuk setiap variasi waktu yang digunakan yaitu 10, 20, dan 30 menit, lalu dimasukkan ke dalam Beaker glass. Dilarutkan dengan pelarut etanol 70% sebanyak 500 ml, kemudian diekstraksi dengan suhu ruang menggunakan ultrasonik bath sampai pelarut menjadi jernih. Larutan disaring menggunakan kertas whatman no 1. Filtrat yang didapat dievaporasi menggunakan rotary vakum evaporator. Ekstrak yang didapat dikemas dengan botol gelap.

### **Evaluasi Mutu Ekstrak dan Skrining Fitokimia**

Ekstrak kental daun kopi arabika dihitung rendemen ekstrak yaitu perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal. Rendemen menggunakan satuan persen (%), semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menandakan nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak (Armando 2009). Pemeriksaan organoleptis meliputi pemeriksaan bentuk, warna, bau dan rasa dari ekstrak daun kopi arabika. Kadar abu dengan cara Timbang saksama 2 gram ekstrak etanol 50%, 70% dan 96% tunggal masukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijar dan ditara, pijarkan perlahan-lahan sampai arang habis, dinginkan dan timbang. Jika dengan cara ini arang tidak dapat dihilangkan, tambahkan air panas, aduk, saring melalui kertas saring bebas abu. Pijarkan kertas saring beserta sisa penyaringan dalam krus yang sama. Masukkan filtrat ke dalam krus, uapkan dan pijarkan hingga bobot tetap. Kadar abu total dihitung terhadap berat bahan uji, dinyatakan dalam % b/b (Depkes 2008). Susut pengeringan menggunakan *moisture balance* dengan cara hidupkan alat kemudian panaskan alat selama 10menit, lakukan setting alat

untuk susut pengeringan timbang ekstrak sebanyak 2g kemudian tutup alat, biarkan alat berjalan otomatis, tulis data yang didapatkan (lampu mati) biarkan suhu menurun, tekan off..

Ekstrak diidentifikasi kandungan alkaloid menggunakan pereaksi mayer dan bouchardat dengan hasil positif endapan putih serta dragendorff yang menghasilkan endapan coklat muda sampai kuning sedangkan untuk alkaloid spesifik kafein menggunakan reagen parry dan ammonia encer (Depkes 2000). Identifikasi senyawa fenolik menggunakan reagen FeCl<sub>3</sub> yang membentuk warna biru kehitaman sampai ungu. Tanin dapat terdeteksi menggunakan FeCl<sub>3</sub> serta reagen NaCl dan larutan gelatin. Flavonoid khas dianalisis menggunakan HCl dan serbuk Mg. Pereaksi Liebermann-Burchad dapat mendeteksi steroid. Kemudian untuk saponin sangat khas diuji pembentukan busa yang tidak hilang dengan penambahan HCl (Tukiran *et al*, 2014).

### Penetapan Kadar Kafein

Ekstrak sebanyak 1 gram dimasukkan ke dalam gelas ukur kemudian ditambahkan 150 ml aquades panas kedalamnya sambil diaduk. Larutan daun kopi arabika panas disaring melalui corong dengan kertas saring kedalam Erlenmeyer, kemudian 1,5 g kalsium karbonat (CaCO<sub>3</sub>) dan larutan daun kopi arabika tadi dimasukkan ke dalam corong pisah lalu diekstraksi sebanyak 4 kali, masing-masing dengan penambahan 25 ml kloroform. Lapisan bawahnya diambil, kemudian ekstrak (fase kloroform) ini diuapkan dengan rotary evaporator hingga kloroform menguap seluruhnya. Ekstrak kafein bebas pelarut dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, diencerkan dengan aquades hingga garis tanda dan dihomogenkan, kemudian dibuat pengenceran dari kafein ekstrak daun kopi arabika yang dibuat 100 ml dengan memipet 1ml/10ml lalu ditentukan kadarnya dengan spektrofotometri UV pada panjang gelombang 273,40 nm. Perlakuan yang sama dilakukan untuk tiap-tiap sampel daun kopi arabika dengan berat 1 gram (Fitri, 2008).

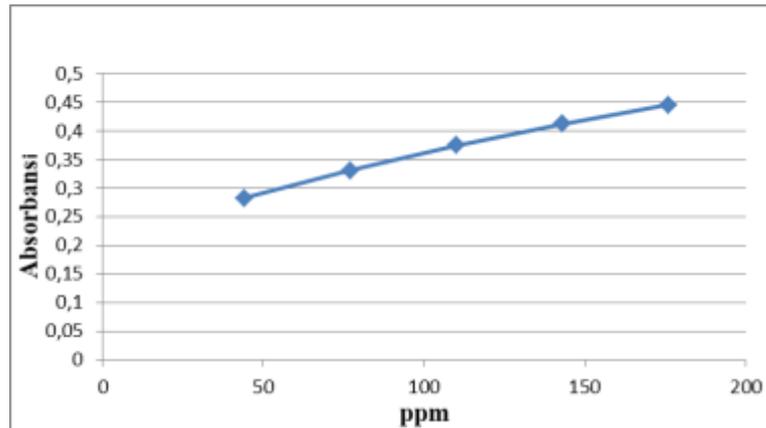
## HASIL

**Tabel 1. Hasil Evaluasi Mutu dan Kadar Kafein Ekstrak Etanol Daun Kopi Arabika**

Sampel	Rendemen	Kadar Abu total	Susut pengeringan	Kadar Kafein (mg/g ekstrak)
<b>Konsentrasi etanol</b>				
Ekstrak etanol 50%	50,06%	9,25%	5,17%	70,24
Ekstrak etanol 70%	47,47%	8,86%	2,43%	189,00
Ekstrak etanol 96%	38,26%	6,26%	0,80%	125,22
<b>Waktu</b>				
10 menit	13,12%	9,35%	4,26%	120,52
20 menit	13,18%	9,17%	1,26%	156,00
30 menit	14,66%	8,00%	5,81%	194,22

**Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kopi Arabika**

Senyawa terdeteksi	Hasil					
	Etanol 50%	Etanol 70%	Etanol 96%	10 menit	20 menit	30 menit
Alkaloid	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Flavonoid	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Fenol	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Tanin	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Saponin	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Terpenoid/Steroid	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Kafein	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)



**Gambar 1. Kurva Kalibrasi Baku Kafein**

## PEMBAHASAN

Daun kopi arabika segar dicuci bersih kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada udara terbuka tanpa kena sinar matahari langsung sesekali dibolak-balikan agar kering dengan merata. Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air dalam simplisia agar reaksi enzimatis dalam sel tidak lagi berlangsung sehingga kandungan senyawanya tidak rusak serta mencegah timbulnya bakteri dan jamur yang dapat menurunkan kualitas simplisia. Pengurangan berat simplisia daun kopi arabika terjadi pada proses pengeringan dan sortasi. Sortasi yaitu pemisahan simplisia dengan pengotor-pengotornya yang lain, sehingga diharapkan simplisia bersih dari pengotor yang dapat mempengaruhi proses ekstraksi. Daun kopi arabika kering selanjutnya diserbukan menggunakan blender dan diayak dengan ayakan no 40. Pembuatan serbuk simplisia dilakukan untuk memperkecil ukuran partikel simplisia. Ukuran partikel yang kecil akan memperbesar luas permukaan simplisia menyebabkan pelarut yang digunakan mudah menyerap ke dalam simplisia sehingga senyawa aktif yang tertarik lebih maksimal dan mempermudah proses ekstraksi.

Proses ekstraksi bertujuan untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam simplisia. Ekstraksi didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen set terlarut ke dalam pelarut yang sesuai berdasarkan sifat like dissolves like, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka (pelarut dan zat terlarut) kemudian zat terlarut tersebut berdifusi masuk ke dalam pelarut. Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode ultrasonik. Metode ultrasonik digunakan untuk konsumsi energi yang lebih kecil dan waktu operasi yang lebih singkat. Keuntungan metode yang digunakan adalah mempercepat proses ekstraksi, dibandingkan dengan ekstraksi termal atau ekstraksi konvensional, metode ultrasonik lebih aman, lebih singkat, dan meningkatkan jumlah rendemen kasar (Dey dan Rathod 2013). Pelarut etanol dipilih karena etanol merupakan pelarut yang sifatnya semi polar dalam penggunaannya, artinya pelarut bisa menyari atau mengekstrak senyawa-senyawa baik yang bersifat polar ataupun semipolar, tidak beracun, dapat bercampur dengan air, serta panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit (Gandjar dan Rohman, 2014). Etanol merupakan pelarut yang mampu mengekstrak senyawa flavonoid, saponin, tanin, antrakuinon, terpenoid, dan alkaloid (Harborne 1987).

Hasil yang didapatkan dari ultrasonik kemudian dilakukan pemekatan dengan menggunakan vacuum rotary evaporator pada suhu 40° sampai 55° C. Pemekatan bertujuan untuk menaikkan kandungan ekstrak daun kopi arabika dengan mengurangi kadar air dan mengurangi sisa pelarut pada saat proses ultrasonik. Ekstrak hasil evaporasi yang didapat selanjutnya dioven atau di waterbath hingga mendapatkan ekstrak dengan berat yang konstan. Rendemen tertinggi untuk variasi konsentrasi etanol ditunjukkan pada etanol 70% sedangkan untuk variasi waktu diunjukkan pada waktu 30 menit. Rendemen pada konsentrasi etanol menunjukkan angka yang tinggi karena simplisia diekstraksi berulang sampai didapatkan pelarut yang jernih, yang artinya hampir semua senyawa metabolit sekunder terekstraksi.

Karakteristik mutu ekstrak terbagi menjadi parameter spesifik dan non spesifik. Pemeriksaan organoleptik dan rendemen ekstrak termasuk dalam parameter spesifik, sedangkan susut pengeringan dan kadar abu termasuk kedalam parameter non spesifik (Depkes RI 2000). Penetapan kadar abu total dilakukan dengan tujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak kadar abu total berkaitan dengan mineral baik senyawa organik maupun anorganik yang diperoleh secara internal maupun eksternal (Depkes RI 2000). Hasil yang diperoleh dalam pengujian kadar abu pada semua variasi telah memenuhi persyaratan yaitu tidak lebih dari 18% (Depkes RI 2011). Nilai untuk susut pengeringan ekstrak daun kopi arabika

semuanya memenuhi syarat yaitu kurang dari 10% (Depkes RI 2011).

Skrining fitokimia dilakukan untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak. Skrining dilakukan terhadap semua hasil ekstrak kental setiap variasi waktu dan variasi konsentrasi etanol yang telah dilakukan. Hal ini dilakukan bertujuan untuk memastikan proses pada setiap ekstraksi dengan waktu Ultrasonik yang berbeda tidak merubah kandungan senyawa kimia di dalam ekstrak daun kopi arabika ini. Identifikasi alkaloid, fenolik, steroid dan saponin memberikan hasil yang positif. Pemeriksaan tanin dilakukan dengan 2 cara yaitu dengan penambahan gelatin 1% dan  $FeCl_3$ . Pada penambahan gelatin hasil positif yang didapatkan adalah endapan putih sedangkan pada penelitian ini tidak didapatkan. Pada penambahan  $FeCl_3$  menghasilkan warna hijau kehitaman karna tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan  $FeCl_3$ . Dapat disimpulkan tanin yang terdapat dalam daun kopi adalah tanin terkondensasi atau flavolan. Pemeriksaan flavonoid dilakukan dengan penambahan Mg dan dilanjutkan dengan penambahan HCl pekat. Penambahan HCl pekat dalam uji flavonoid digunakan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonya, yaitu dengan menghidrolisis O- glikosil. Glikosil akan tergantikan oleh  $H^+$  dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Reduksi dengan Mg dan HCl pekat ini menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah, kuning, sampai jingga. Dari hasil pengujian tersebut terjadi perubahan warna (Marliana, 2005). Pada pengujian flavonoid ekstrak etanol daun kopi arabika terbentuk reaksi positif dengan ditandai warna kuning. Kafein diidentifikasi dengan reagen parry yang menghasilkan warna hijau. Hal tersebut yang menunjukkan adanya kafein dalam sampel tersebut. Reagen parry dibuat dengan mereaksikan Cobalt Nitrat [ $Co(NO_3)_2$ ] dengan metanol ( $CH_3OH$ ). Ion kobalt (Co) dalam reagen tersebut akan membentuk kompleks yang berwarna hijau. Ion kobalt bermuatan dua positif sehingga memungkinkan untuk mengikat gugus nitrogen yang terdapat pada senyawa kafein (Maramis, 2013).

Pada penelitian ini untuk menentukan kadar kafein pada sampel digunakan kafein baku sebagai larutan standar dengan deret konsentrasi 44, 77, 110, 143, dan 176 ppm. Digunakan deret konsentrasi karena metode yang dipakai dalam menentukan kadar adalah metode yang menggunakan persamaan kurva baku, untuk membuat kurva baku terlebih dahulu dibuat beberapa deret konsentrasi untuk mendapatkan persamaan. Digunakan kafein baku sebagai larutan standar. Pengukuran standar baku kafein dilakukan dengan panjang gelombang 273,40 nm. Dari hasil pengukuran absorbansi larutan standar pada berbagai konsentrasi didapatkan data yang telah sesuai dengan hukum Lambert-Beer yaitu nilai absorbansi pada kisaran 0,2-0,8. Kurva larutan standar senyawa kafein diperoleh hubungan yang lurus antara absorbansi dengan konsentrasi dengan persamaan regresi linier  $y = 0,0012x + 0,2336$  dengan nilai koefisien relasi ( $r$ ) = 0,9972.

Pada pengukuran konsentrasi senyawa kafein pada ekstrak etanol daun kopi arabika, dilakukan preparasi sampel terlebih dahulu yaitu Sebanyak 1 gram ekstrak daun kopi arabika dari masing – masing variasi waktu (10, 20, dan 30 menit) dimasukkan ke dalam beaker glass kemudian ditambahkan 150 ml akuades. panas kedalamnya sambil diaduk. Larutan ekstrak daun kopi arabika panas disaring melalui corong dengan kertas saring ke dalam Erlenmeyer, kemudian 1,5 g kalsium karbonat ( $CaCO_3$ ). Kalsium karbonat berfungsi untuk memutuskan ikatan kafein dengan senyawa lain, sehingga kafein akan ada dalam basa bebas (Mahendradatta, 2007). Larutan ekstrak daun kopi arabika tadi dimasukkan ke dalam corong pisah lalu diekstraksi sebanyak 4 kali, masing-masing dengan penambahan 25 mL kloroform. Kafein dalam basa bebas tadi setelah penambahan kalsium karbonat ( $CaCO_3$ ) akan diikat oleh kloroform, karena kloroform merupakan pelarut pengestraksi yang tidak bercampur dengan pelarut semula (Suriani, 1997).

## **KESIMPULAN** (Huruf Times New Roman 10 point, Bold, spasi 1)

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa konsentrasi etanol yang paling baik adalah etanol 70% dan waktu paling maksimal adalah 30 menit. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa variasi waktu ekstraksi dan konsentrasi etanol dapat mempengaruhi rendemen dan perolehan kadar kafein daun kopi arabika yang diekstraksi dengan metode ultrasonik.

## **SARAN**

Penelitian lebih lanjut mengenai variasi jenis pelarut, kadar fenolik, flavonoid dan tanin dari beberapa variasi faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi ultrasonik.

## **UCAPAN TERIMA KASIH**

-

## DAFTAR PUSTAKA

- Dey, S., Rathod, V.K. 2013. Ultrasound assisted extraction of  $\beta$ -carotene from *Spirulina platensis*, dalam: *Ultrasonics Sonochemistry*, 20, 271 – 276.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI. 2011. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Jakarta.
- Fitri, N.S. 2008 *Pengaruh berat dan waktu Penyeduhan terhadap kadar kafein daun teh*. Fakultas matematika dan ilmu pengetahuan alam, Universitas Sumatra Utara : Medan.
- Gandjar IG, Rohman A. 2014. *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar. Yogyakarta. Hlm. 323-417.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, ITB, Bandung. Hlm : 6-9
- Hemwimol, S., P. Pavasant and A. Shotipruk. 2006. *Ultrasonic Sonochemistry*. 13, 543
- Keil, F. J. 2007. *Modeling of Process Intensification*, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
- Kuldiloke, J. 2002. Effect Of Ultrasound Temperature And Pressure Treatments On Enzyme Activity and Quality Of Fruit and Vegetable Juices. *Dissertationder Technischen Universitat Berlin*. Berlin.
- Maramis, Rialita., Gayatri Citraningtyas., Frenly Wehantouw. 2013. Analisis Kafein Dalam Kopi Bubuk Di Kota Manado Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. Dalam: *Jurnal Ilmiah Farmasi–UNSRAT* Vol.2No.04, 2302-2493.
- Marliana, SD., Suryanti, V., dan Suyono. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi* 3 (1): 26-31.
- Ramos , A., Jose, L. P., Jefferson, R, Danielle, O., Silvia, L. B., dan Ana, C. F. A. 2017. An Experimental Design Approach To Obtain Canthinone Alkaloid Enriched Extracts From *Simaba Aff Paraensis*. *Arabian Journal Of Chemistry*, 5 (2): 1- 6
- Rostagno, M. A., Prado, J. M. 2013. *Natural products extraction: Principles and applications*, RSC Publishing, Cambridge.
- Suriani. 1997. *Analisis Kandungan Kofeina Dalam Kopi Instan Berbagai Merek yang Beredar di Ujung Pandang*.Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Tukiran, Suyatno, Hidayati N. 2014. Skrining Fitokimia Psada Beberapa Ekstrak Dari Tumbuhan Bugenvil (*Bougainvillea glabra*), Bunga Sepatu (*Hibricus rosa-sinensis* L.), dan Ungu (*Graptophyllum pictum* Griff). *Phytochemistry*. Universitas Negeri Surabaya, Surabaya. Hlm 2595-2601
- Wijngaard, H., Hossain, M. B., Rai, D. K., Brunton, N. 2012. Techniques to extract bioactive compounds from food byproducts of plant origin, Dalam: *Food Research International*. 46, 505 – 513.
- Zhanga, f., Chena, B., Xiaoa, S., dan Yaoa, S. 2005. Optimization And Comparison Of Different Extraction Technique For Sanguinarine And Chelerythrine In Fruits Of *Macleaya Cordata*. *Separation And Purification Technology*, 42 (1): 283-290.
- Zou TB, En-Qin Xia, Tai-Ping He, Ming-Yuan Huang, Qing Jia, and Hua-Wen Li. 2014. Ultrasound-Assisted Extraction of Mangleferin from Mango Leaves Using Response Surface Methodology. *Molecules* 19, 1411-1421