


Isolasi dan Identifikasi Asam Klorogenat dari Ampas Kopi Menggunakan Ekstraksi Cair–Cair dan Kromatografi Kolom dengan Analisis HPLC

Samsul Bahri ^{a,1,*}, Muhammad Najib ^{b,2}, Aryanu Fahmi ^{b,3}

^a Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana, Indonesia

¹ Email : samsul_bahrry@gmail.com

* Corresponding author

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p>Article history</p> <p>..... Received October 22, 2025 Revised November 29, 2025 Accepted December 15, 2025 Published December 28, 2025</p> <p>Keywords</p> <p>Chlorogenic acid Spent coffee grounds Liquid–liquid extraction Column chromatography HPLC analysis</p> <p> License by CC-BY-SA Copyright © 2025, The Author(s).</p>	<p>Spent coffee grounds represent an abundant agro-industrial waste that still contain valuable phenolic compounds, particularly chlorogenic acid (CGA), yet remain largely underutilized. This study aimed to isolate and tentatively identify CGA from Arabica spent coffee grounds using a stepwise separation approach. Dried coffee grounds were extracted by maceration with 70% ethanol. The resulting crude extract was subsequently fractionated by liquid–liquid extraction using an ethyl acetate–water solvent system to separate components based on polarity. The polar fraction was further purified by silica gel column chromatography employing a gradient elution system. Selected fractions were monitored by thin-layer chromatography (TLC) and analyzed by high-performance liquid chromatography (HPLC) using a C18 column with UV detection at 325 nm. HPLC analysis revealed a dominant peak with a retention time consistent with that of a chlorogenic acid standard analyzed under identical chromatographic conditions, accompanied by a relatively symmetrical peak profile. Based on this chromatographic behavior, the isolated compound was tentatively identified as chlorogenic acid. Quantitative determination using an external standard calibration curve indicated that the CGA content in the selected fraction ranged from 18 to 20 mg per gram of dry extract. Overall, the combination of ethanol extraction, liquid–liquid fractionation, column chromatography, and HPLC analysis provides an effective and reproducible approach for obtaining CGA-enriched fractions from spent coffee grounds and supports the valorization of coffee waste as a sustainable source of bioactive phenolic compounds.</p>

How to cite: Bahri, S., Najib, M., & Fahmi, A. (2025). Isolasi dan Identifikasi Asam Klorogenat dari Ampas Kopi Menggunakan Ekstraksi Cair–Cair dan Kromatografi Kolom dengan Analisis HPLC. *Pure Chemistry Research*, 1(2), 45-50. doi: <https://doi.org/10.70716/purechem.v1i2.361>

PENDAHULUAN

Kopi merupakan salah satu komoditas perkebunan strategis di Indonesia yang memiliki nilai ekonomi tinggi serta peran penting dalam sektor industri pangan dan minuman. Selain biji kopi sebagai produk utama, proses pengolahan kopi juga menghasilkan limbah dalam jumlah besar, terutama ampas kopi yang dihasilkan dari proses penyeduhan. Ampas kopi selama ini umumnya dibuang atau dimanfaatkan secara terbatas sebagai kompos, pakan ternak, atau bahan bakar padat, padahal secara kimia limbah ini masih mengandung berbagai senyawa bioaktif yang bernilai tinggi. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ampas kopi masih menyimpan fraksi senyawa fenolik yang signifikan, termasuk asam klorogenat dan turunannya, sehingga berpotensi dimanfaatkan kembali melalui pendekatan kimia bahan alam (Sukrisno & Apriyantono, 2009; Mulyani & Susanto, 2014).

Senyawa fenolik merupakan kelompok metabolit sekunder yang memiliki peran penting dalam aktivitas biologis tanaman, khususnya sebagai antioksidan alami. Dalam kopi, senyawa fenolik berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan, stabilitas produk, serta potensi fungsionalnya bagi kesehatan. Andayani et al. (2008) melaporkan bahwa senyawa fenolik dan flavonoid dalam bahan berbasis kopi menunjukkan aktivitas antioksidan yang cukup tinggi, yang ditandai dengan kemampuan menangkap radikal bebas. Aktivitas ini tidak hanya ditemukan pada biji kopi, tetapi juga masih terdeteksi pada bagian limbah seperti kulit dan ampas kopi. Hal ini mengindikasikan bahwa limbah kopi bukanlah material inert, melainkan biomassa yang masih memiliki potensi kimia dan biologis yang dapat dieksplorasi lebih lanjut.

Salah satu senyawa fenolik utama dalam kopi adalah asam klorogenat (chlorogenic acid, CGA), yang merupakan ester antara asam kafeat dan asam kuinat. Senyawa ini dikenal luas sebagai kontributor utama aktivitas antioksidan pada kopi dan produk turunannya. Rahmawati dan Noor (2015) menjelaskan bahwa CGA memiliki kemampuan tinggi dalam menangkap radikal bebas, menghambat oksidasi lipid, serta memberikan efek protektif terhadap berbagai biomolekul. Keberadaan CGA dalam kopi dipengaruhi oleh berbagai faktor, antara lain varietas kopi, kondisi agroklimat, dan proses pengolahan. Selama proses pemanggangan dan penyeduhan, sebagian CGA dapat terdegradasi atau larut ke dalam seduhan, namun tidak seluruhnya hilang dari matriks padat kopi.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ampas kopi masih mengandung CGA dalam jumlah yang cukup signifikan meskipun telah melalui proses penyeduhan. Ismail et al. (2013) melaporkan bahwa ampas kopi masih memiliki kandungan asam klorogenat yang dapat diisolasi dan menunjukkan aktivitas antioksidan yang terukur. Hal ini diperkuat oleh Fathurrahman et al. (2020) yang menemukan bahwa ampas kopi hasil industri rumah tangga masih memiliki kapasitas antioksidan yang cukup tinggi, bergantung pada jenis kopi dan metode penyeduhan. Dengan demikian, ampas kopi dapat dipandang sebagai sumber alternatif senyawa bioaktif yang berpotensi dikembangkan lebih lanjut.

Dari perspektif lingkungan, pemanfaatan ampas kopi memiliki urgensi yang tinggi. Industri kopi, baik skala besar maupun UMKM, menghasilkan limbah padat dalam jumlah besar setiap harinya. Tanpa pengelolaan yang tepat, limbah ini dapat menimbulkan permasalahan lingkungan akibat tingginya beban organik. Hermiati et al. (2012) menegaskan bahwa pemanfaatan limbah kopi menjadi produk bernilai tambah merupakan strategi penting dalam mendukung pengelolaan limbah berkelanjutan. Pendekatan ini sejalan dengan konsep ekonomi sirkular, di mana limbah tidak lagi dipandang sebagai residu akhir, melainkan sebagai sumber daya yang dapat dimanfaatkan kembali.

Secara kimia, asam klorogenat bersifat polar karena memiliki beberapa gugus hidroksil fenolik dan gugus ester. Sifat ini menentukan pemilihan metode dan pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi dan pemurnian. Nafi'ah dan Rahmawati (2020) melaporkan bahwa campuran pelarut etanol-air menunjukkan efisiensi yang lebih tinggi dalam mengekstraksi senyawa fenolik dibandingkan pelarut tunggal, karena mampu menyesuaikan polaritas dengan sifat senyawa target. Etanol 70% sering digunakan dalam ekstraksi CGA karena memberikan keseimbangan antara kemampuan melarutkan senyawa polar dan penetrasi ke dalam matriks padat bahan.

Namun demikian, ekstrak etanol kasar umumnya masih mengandung berbagai senyawa lain seperti lipid, pigmen, dan senyawa non-fenolik yang dapat mengganggu proses pemurnian lanjutan. Oleh karena itu, diperlukan tahap fraksinasi awal untuk memisahkan komponen berdasarkan perbedaan polaritas. Ekstraksi cair-cair (liquid-liquid extraction, LLE) merupakan salah satu metode fraksinasi yang efektif dan sederhana untuk tujuan tersebut. Harahap (2010) menjelaskan bahwa LLE memungkinkan pemisahan senyawa bioaktif secara selektif dengan memanfaatkan perbedaan kelarutan senyawa dalam dua fase pelarut yang tidak saling bercampur.

Setelah fraksinasi, tahap pemurnian menjadi langkah krusial untuk memperoleh senyawa target dengan tingkat kemurnian yang tinggi. Kromatografi kolom merupakan teknik pemisahan yang paling banyak digunakan dalam kimia bahan alam untuk memurnikan metabolit sekunder. Menurut Iswahyudi dan Kartinasari (2011), kromatografi kolom berbasis silika gel efektif memisahkan senyawa fenolik karena adanya interaksi adsorpsi antara gugus hidroksil senyawa dengan fase diam. Fiantis dan Agustina (2015) juga menegaskan bahwa kromatografi kolom masih sangat relevan digunakan dalam pemurnian senyawa fenolik dari matriks bahan alam yang kompleks.

Pemilihan sistem eluen dalam kromatografi kolom sangat menentukan keberhasilan pemisahan. Senyawa dengan polaritas rendah akan terelusi lebih awal, sedangkan senyawa polar seperti asam klorogenat akan terelusi pada fase eluen dengan polaritas lebih tinggi. Riani et al. (2016) melaporkan bahwa penggunaan eluen gradien memungkinkan pemisahan senyawa secara lebih efektif dibandingkan eluen tunggal, terutama untuk campuran metabolit dengan rentang polaritas yang luas. Oleh karena itu, penerapan kromatografi kolom dengan eluen gradien menjadi pendekatan yang rasional dalam pemurnian CGA dari ampas kopi.

Tahap akhir dalam isolasi dan identifikasi senyawa adalah analisis menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC). HPLC merupakan metode analisis yang sangat andal untuk identifikasi dan penentuan kemurnian senyawa fenolik, termasuk asam klorogenat. Rohman dan Riyanto (2006) menyatakan bahwa HPLC mampu memberikan resolusi puncak yang tinggi, sensitivitas yang baik, serta reproduktibilitas yang

tinggi dalam analisis senyawa fenolik. Nasution dan Sitorus (2019) juga melaporkan bahwa analisis CGA menggunakan kolom C18 memberikan waktu retensi yang stabil dan dapat digunakan sebagai dasar identifikasi senyawa secara kualitatif maupun kuantitatif.

Beberapa penelitian sebelumnya telah melaporkan keberadaan dan aktivitas antioksidan CGA pada ampas kopi (Ismail et al., 2013; Hidayati & Wulandari, 2021). Namun, kajian yang mengintegrasikan tahapan ekstraksi, fraksinasi cair-cair, pemurnian kromatografi kolom, dan validasi HPLC secara sistematis masih relatif terbatas. Sebagian penelitian hanya berfokus pada analisis kandungan fenolik total atau aktivitas antioksidan tanpa pemurnian senyawa target secara spesifik. Oleh karena itu, diperlukan penelitian yang menitikberatkan pada isolasi dan identifikasi CGA secara lebih mendalam untuk memperoleh isolat dengan kemurnian yang terkonfirmasi secara instrumental.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini difokuskan pada isolasi dan identifikasi asam klorogenat dari ampas kopi menggunakan pendekatan ekstraksi cair-cair dan kromatografi kolom, dengan analisis akhir menggunakan HPLC. Pendekatan bertingkat ini diharapkan mampu menghasilkan isolat CGA dengan kemurnian tinggi serta memberikan kontribusi ilmiah dalam pengembangan pemanfaatan limbah kopi sebagai sumber senyawa bioaktif bernilai tambah. Selain itu, hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar pengembangan lebih lanjut dalam bidang pangan fungsional, kosmetik, dan bahan baku farmasi berbasis senyawa fenolik alami.

Meskipun keberadaan asam klorogenat (chlorogenic acid, CGA) pada ampas kopi telah dilaporkan dalam berbagai penelitian sebelumnya, sebagian besar kajian tersebut masih berfokus pada analisis fenolat total atau aktivitas antioksidan tanpa melakukan isolasi senyawa target hingga tingkat kemurnian tertentu. Penelitian ini menawarkan pendekatan isolasi bertahap yang sistematis melalui kombinasi ekstraksi etanol, fraksinasi ekstraksi cair-cair, pemurnian kromatografi kolom silika gel, serta verifikasi menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC). Pendekatan ini menekankan aspek selektivitas pemisahan dan keterulangan metode, sehingga memberikan kerangka kerja yang aplikatif untuk menjembatani analisis instrumental dan pemurnian preparatif asam klorogenat dari limbah ampas kopi Arabika. Dengan demikian, penelitian ini berkontribusi pada pengembangan pemanfaatan limbah kopi sebagai sumber senyawa fenolik bernilai tambah.

METODE PENELITIAN

Ampas kopi Arabika diperoleh dari proses penyeduhan kopi komersial segar, kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50–55 °C hingga mencapai berat konstan. Sampel kering digiling dan diayak menggunakan ayakan berukuran 60 mesh untuk memperoleh ukuran partikel yang homogen, dengan kadar air residu berada pada kisaran 7–8%. Sampel selanjutnya disimpan dalam wadah tertutup dan terlindung dari cahaya hingga digunakan dalam proses ekstraksi.

Sebanyak 200 g serbuk ampas kopi diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 70% dengan perbandingan bahan terhadap pelarut sebesar 1:10 (b/v). Proses maserasi dilakukan selama 24 jam pada suhu kamar menggunakan shaker orbital. Setelah proses ekstraksi selesai, filtrat dipisahkan melalui penyaringan vakum, sedangkan residu diekstraksi ulang menggunakan pelarut segar dengan kondisi yang sama untuk meningkatkan efisiensi perolehan senyawa target. Seluruh filtrat digabungkan dan diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40 °C hingga diperoleh ekstrak kental.

Ekstrak kental yang diperoleh kemudian dilarutkan kembali dalam 500 mL air suling dan difraksinasi menggunakan metode ekstraksi cair-cair dengan pelarut etil asetat dalam perbandingan volume 1:1 (v/v). Proses fraksinasi dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan menggunakan corong pisah. Fase air dan fase etil asetat dipisahkan, dan fase air yang diperkirakan mengandung senyawa fenolik polar diuapkan untuk menghilangkan sisa pelarut. Fraksi air selanjutnya disaring menggunakan membran berpori 0,45 µm dan disimpan pada suhu 4 °C dalam kondisi gelap hingga tahap pemurnian.

Pemurnian fraksi terpilih dilakukan menggunakan kromatografi kolom dengan fase diam silika gel 60 (70–230 mesh). Kolom kaca berdiameter 3 cm dan panjang 60 cm diisi dengan 250 g silika gel, kemudian dielusi menggunakan sistem gradien metanol-air dengan peningkatan polaritas bertahap dari 10:90 (v/v) hingga 70:30 (v/v). Fraksi hasil elusi dikumpulkan setiap 20 mL dan dimonitor menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan eluen metanol-air (6:4, v/v). Fraksi-fraksi yang menunjukkan pola bercak dan nilai R_f yang serupa digabungkan dan diuapkan hingga diperoleh fraksi terpurifikasi.

Identifikasi kualitatif dan analisis kuantitatif asam klorogenat dilakukan menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (High Performance Liquid Chromatography, HPLC). Analisis dilakukan dengan kolom C18 (250 mm × 4,6 mm; 5 µm) menggunakan fase gerak berupa campuran asam fosfat 0,1% dan metanol dengan sistem gradien pada laju alir 1,0 mL/menit. Deteksi dilakukan pada panjang gelombang 325 nm dengan volume injeksi 20 µL. Larutan standar asam klorogenat dianalisis pada kondisi yang sama sebagai pembanding waktu retensi. Penentuan kadar CGA dilakukan menggunakan metode kurva kalibrasi standar eksternal, dan setiap sampel dianalisis sebanyak tiga kali ulangan untuk memastikan ketelitian dan keterulangan hasil.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ampas kopi yang digunakan dalam penelitian ini memiliki kadar air residual sekitar 7–8%, yang menunjukkan bahwa bahan berada dalam kondisi relatif stabil sebelum proses ekstraksi. Kadar air yang rendah penting untuk meminimalkan degradasi senyawa fenolik akibat aktivitas mikrobiologis maupun reaksi hidrolitik selama penyimpanan. Kondisi ini sejalan dengan laporan sebelumnya yang menyatakan bahwa limbah kopi kering masih mempertahankan stabilitas senyawa fenoliknya, termasuk asam klorogenat (CGA), selama tidak terpapar kelembapan berlebih (Sukrisno & Apriyantono, 2009; Fathurrahman et al., 2020). Stabilitas awal bahan ini menjadi faktor pendukung keberhasilan proses isolasi CGA pada tahap selanjutnya.

Ekstraksi menggunakan etanol 70% menghasilkan ekstrak kental berwarna cokelat gelap, yang mengindikasikan tingginya kandungan senyawa polar yang terekstraksi. Sistem pelarut etanol–air telah banyak dilaporkan efektif untuk mengekstraksi senyawa fenolik dari matriks kopi karena mampu melarutkan senyawa hidrofilik sekaligus memutus interaksi antara fenolik dan matriks lignoselulosa (Nafi'ah & Rahmawati, 2020). Asam klorogenat, sebagai ester fenolik yang sangat polar, memiliki kelarutan tinggi dalam sistem pelarut ini, sehingga pemilihan etanol 70% sesuai dengan karakter kimia senyawa target (Ismail et al., 2013).

Tahap fraksinasi melalui ekstraksi cair–cair menggunakan sistem air–etil asetat menghasilkan pemisahan yang jelas antara fraksi polar dan nonpolar. Fraksi etil asetat terutama membawa komponen semi-polar hingga nonpolar seperti lipid dan pigmen, sedangkan fraksi air mempertahankan senyawa fenolik polar, termasuk CGA. Mekanisme pemisahan ini konsisten dengan prinsip dasar ekstraksi cair–cair, di mana distribusi senyawa ditentukan oleh kesesuaian polaritas antara senyawa dan pelarut (Harahap, 2010). Pendekatan serupa juga dilaporkan efektif dalam pemisahan senyawa fenolik dari bahan alam kompleks, termasuk limbah kopi (Sukrisno & Apriyantono, 2009; Hidayati & Wulandari, 2021).

Pemurnian lanjutan menggunakan kromatografi kolom silika gel menghasilkan beberapa fraksi dengan karakteristik visual yang berbeda. Fraksi awal umumnya berwarna lebih gelap, yang mengindikasikan keberadaan komponen non-fenolik atau senyawa dengan afinitas rendah terhadap fase diam. Sebaliknya, fraksi pertengahan hingga akhir menunjukkan warna lebih pucat dan homogen, yang menandakan dominasi senyawa polar. Pola elusi ini sesuai dengan mekanisme kromatografi berbasis polaritas, di mana senyawa fenolik dengan banyak gugus hidroksil berinteraksi kuat dengan fase diam silika gel dan terelusi pada tahap eluen yang lebih polar (Fiantis & Agustina, 2015; Iswahyudi & Kartinasari, 2011). Hasil ini menunjukkan bahwa sistem elusi yang digunakan cukup selektif untuk pemurnian CGA.

Identifikasi awal fraksi terpilih dilakukan berdasarkan respons serapan UV yang menunjukkan maksimum serapan pada rentang panjang gelombang khas senyawa fenolik kopi. Selanjutnya, analisis HPLC terhadap fraksi hasil pemurnian memperlihatkan adanya puncak dominan dengan waktu retensi sekitar 8–9 menit. Nilai ini berada dalam rentang waktu retensi asam klorogenat yang telah dilaporkan pada analisis HPLC menggunakan kolom C18 dan fase gerak polar (Rohman & Riyanto, 2006; Nasution & Sitorus, 2019). Kemunculan puncak tunggal dengan bentuk relatif simetris mengindikasikan bahwa fraksi tersebut memiliki tingkat kemurnian yang memadai dan memungkinkan identifikasi senyawa secara tentatif berdasarkan perilaku kromatografiknya.

Kuantifikasi asam klorogenat selanjutnya dilakukan menggunakan metode HPLC dengan pendekatan kurva kalibrasi standar eksternal. Hasil analisis menunjukkan bahwa kandungan CGA pada fraksi terpilih berada pada kisaran 18–20 mg/g ekstrak kering. Nilai ini sejalan dengan laporan sebelumnya yang menyatakan bahwa ampas kopi masih mengandung CGA dan senyawa fenolik lain dalam jumlah signifikan meskipun telah melalui proses penyeduhan (Ismail et al., 2013; Hidayati & Wulandari, 2021). Temuan ini menegaskan bahwa ampas kopi tidak dapat dipandang sebagai limbah inert, melainkan sebagai sumber potensial senyawa bioaktif bernilai ekonomi.

Dari perspektif pemisahan kimia, keberhasilan isolasi CGA pada penelitian ini sangat dipengaruhi oleh kesesuaian antara sifat polar senyawa target dengan sistem ekstraksi dan pemurnian yang digunakan. Kombinasi ekstraksi etanol–air, fraksinasi cair–cair, dan kromatografi kolom silika gel merupakan pendekatan yang logis dan efisien untuk senyawa fenolik seperti CGA. Strategi bertahap ini juga telah direkomendasikan dalam berbagai studi pemurnian metabolit sekunder dari bahan alam (Riani et al., 2016; Fiantis & Agustina, 2015).

Selain aspek teknis, hasil penelitian ini memiliki implikasi penting dalam konteks pemanfaatan limbah. Ampas kopi merupakan limbah agroindustri yang jumlahnya terus meningkat, dan pemanfaatannya sebagai sumber senyawa bioaktif dapat memberikan nilai tambah sekaligus mengurangi beban lingkungan. Temuan ini mendukung pandangan bahwa limbah kopi memiliki potensi untuk dikembangkan lebih lanjut dalam industri pangan fungsional, kimia, maupun farmasi berbasis bahan alam (Hermiati et al., 2012; Andayani et al., 2008).

Secara keseluruhan, kesesuaian antara data kromatografik, karakteristik spektral, dan literatur pendukung menunjukkan bahwa metode yang digunakan dalam penelitian ini dapat diandalkan untuk isolasi dan kuantifikasi CGA dari ampas kopi. Pendekatan ini relatif sederhana, ekonomis, dan kompatibel dengan karakteristik kimia CGA, sehingga berpotensi untuk dikembangkan pada skala yang lebih besar dengan optimasi lebih lanjut.

KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa ampas kopi masih mengandung asam klorogenat (CGA) dalam jumlah yang signifikan dan berpotensi dimanfaatkan sebagai sumber senyawa fenolik alami. Ekstraksi awal menggunakan etanol 70% terbukti efektif dalam melarutkan komponen fenolik dari matriks ampas kopi, sementara tahap ekstraksi cair–cair menggunakan sistem air–etil asetat mampu memisahkan fraksi polar yang kaya CGA dari komponen non-polar secara selektif.

Pemurnian lanjutan melalui kromatografi kolom silika gel menghasilkan fraksi terpilih dengan tingkat kemurnian yang memadai, yang dikonfirmasi melalui analisis KLT dan HPLC. Profil kromatografi menunjukkan kesesuaian waktu retensi fraksi hasil isolasi dengan standar asam klorogenat, menegaskan keberhasilan proses pemisahan dan identifikasi senyawa target.

Secara keseluruhan, kombinasi metode ekstraksi bertingkat, fraksinasi cair–cair, dan kromatografi kolom yang diikuti analisis HPLC merupakan pendekatan yang efektif dan dapat direplikasi untuk isolasi CGA dari ampas kopi. Hasil penelitian ini memberikan dasar ilmiah bagi pemanfaatan limbah kopi sebagai sumber senyawa bioaktif, serta membuka peluang penelitian lanjutan terkait pengujian bioaktivitas, stabilitas, dan pengembangan aplikatif CGA pada skala yang lebih luas.

DAFTAR PUSTAKA

- Andayani, R., Raka, I. M., & Amila, N. (2008). Penentuan aktivitas antioksidan, fenolat total, dan flavonoid total ekstrak kulit buah kopi. *Jurnal Kimia Valensi*, 1(2), 85–91. <https://doi.org/10.15408/jkv.v1i2.214>
- Fathurrahman, I., Sari, R., & Nopitasari, D. (2020). Analisis kandungan antioksidan pada ampas kopi hasil industri rumah tangga. *Jurnal Teknologi Pangan*, 11(1), 21–29.
- Fiantis, D., & Agustina, L. (2015). Pemisahan senyawa fenolik menggunakan kromatografi kolom: Studi pada bahan alam. *Indonesian Journal of Chemistry and Environment*, 8(1), 35–42.
- Harahap, U. P. (2010). Ekstraksi cair–cair dalam pemisahan senyawa bioaktif. *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*, 20(3), 145–152.
- Hermiati, E., Rizal, Y., Yuliansyah, A., & Sudiyani, Y. (2012). Pemanfaatan limbah kopi untuk produksi bioetanol dan bahan bernilai tambah. *Jurnal Riset Industri*, 6(1), 33–42.
- Hidayati, N., & Wulandari, A. (2021). Kajian fenolik dan aktivitas antioksidan pada limbah kopi robusta. *Agrointek*, 15(2), 127–136. <https://doi.org/10.21107/agrointek.v15i2.102471>
- smail, F., Anshori, R., & Yuniarti, T. (2013). Kandungan asam klorogenat pada ampas kopi dan potensinya sebagai antioksidan. *Jurnal Kimia Indonesia*, 8(1), 12–19.
- swahyudi, T., & Kartinasari, D. (2011). Pemisahan komponen fenolik menggunakan kromatografi kolom. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 16(1), 45–51.

- Mulyani, S., & Susanto, A. (2014). Aktivitas antioksidan pada ampas kopi hasil seduhan. *Jurnal Industri Hasil Perkebunan*, 9(2), 95–102. <https://doi.org/10.22302/iicb.jur.jp.v9i2.131>
- Nafi'ah, Z., & Rahmawati, Y. (2020). Pengaruh komposisi etanol–air terhadap ekstraksi senyawa fenolik dari kopi. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 21(1), 55–62.
- Nasution, H., & Sitorus, M. (2019). Analisis asam klorogenat dengan HPLC pada kopi robusta. *Jurnal Kimia Riset*, 4(2), 91–98. <https://doi.org/10.25077/jkr.4.2.91-98.2019>
- Rahmawati, D., & Noor, A. (2015). Kajian asam klorogenat dalam kopi: Tinjauan aktivitas biologis. *Indonesian Journal of Applied Chemistry*, 3(1), 20–26.
- Riani, M., Setyowati, D., & Lestari, S. (2016). Pemurnian metabolit sekunder menggunakan teknik kromatografi kolom. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 9(2), 88–96.
- Rohman, A., & Riyanto, S. (2006). Kromatografi cair kinerja tinggi untuk analisis senyawa fenolik. *Majalah Farmasi Indonesia*, 17(4), 163–170. <https://doi.org/10.22146/mfi.222>
- Sukrisno, E., & Apriyantono, A. (2009). Kandungan fenolik pada ampas kopi dan potensinya. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 20(2), 146–152.