

**PEMBUATAN SPEKTRUM INFRA MERAH (IR) TERHADAP
NISBAH SINYAL TERHADAP DERAU DAN JUMLAH PAYAR
SERTA PENENTUAN KADAR KAFEIN DALAM TEH
MENGUNAKAN SPEKTROFOTOMETER FTIR**

Yunita Sari (G4410070)^[1], Akhmad Aghzath Ananjaya^[2], Antonio
Kautsar^[3], Zulhan Arif S.Si., M.Si^[4]

¹Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Dramaga Bogor 16680, Indonesia

^{2,4}Divisi Kimia Analitik, Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan
Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Dramaga
Bogor 16680, Indonesia

³Pusat Studi Biofarmaka, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Taman
Kencana Bogor 16128, Indonesia

ABSTRAK

Spektrofotometri inframerah (IR) memanfaatkan interaksi antara radiasi sinar IR dengan materi. Fourier Transform Infra Red (FTIR) adalah metode analisis yang digunakan untuk memperoleh spektrum inframerah dari absorbans, emisi, fotokonduktivitas, dan penghamburan raman dari sampel padat, cair, dan gas. FTIR digunakan untuk mengamati interaksi molekul dengan menggunakan radiasi elektromagnetik yang berada pada panjang gelombang 0,75-1000 μm atau pada bilangan gelombang 13.000- cm^{-1} . Daerah inframerah yang digunakan pada percobaan ini adalah MIR (Middle Infrared) yang bilangan gelombangnya berkisar dari 4000-600 cm^{-1} . Penentuan kadar kafein dalam sampel teh menggunakan larutan standar kafein 200, 500, 800, 1000, dan 1500 ppm. Dihasilkan kurva standar yang didapatkan persamaan garis berupa hubungan antara absorbansi terhadap konsentrasi kafein yaitu garis $y = 1 \times 10^{-4} x - 0.0021$ dengan nilai koefisien korelasi (r^2) sebesar 0.9997. Bilangan gelombang khas pada analisis kafein adalah 1658,66 cm^{-1} dan kadar kafein dalam sampel teh didapat sebesar 2,956% (b/b).

Kata Kunci : Asam benzoat, FTIR, kafein, nisbah signal dan derau (S/N) dan spektrum IR.

PENDAHULUAN

Spektrofotometri IR adalah teknik yang mempelajari interaksi antara radiasi elektromagnetik sinar IR dengan materi. Penggunaan metode ini memudahkan dalam penentuan struktur dan identifikasi senyawa organik baik yang sederhana maupun yang kompleks dari suatu bahan yang dapat ditentukan secara cepat. Penggunaan spektrofotometri inframerah pada bidang kimia organik memiliki kekhasan masing-masing senyawa pada bilangan gelombang dari 650–4000 cm^{-1} atau pada panjang gelombang 2,5–15,4 mm yang sering disebut daerah finger print. Metode yang digunakan meliputi teknik serapan, teknik emisi, teknik fluoresensi. Untuk mendapatkan hasil yang lebih baik dari spektroskopi inframerah maka digunakan spektrofotometri inframerah transformasi fourier (fourier transform infrared - FTIR). Pada dasarnya spektroskopi FTIR penggunaannya sama dengan spektrofotometri inframerah, yang membedakan ialah pengembangan pada sistem optiknya. (Atomssa dan Gholap 2011). Prinsip spektrofotometer FTIR adalah interaksi sampel dengan sinar (radiasi elektromagnetik), ikatan kimia pada panjang gelombang tertentu akan menyerap sinar ini dan bervibrasi. Vibrasi ini dapat berupa vibrasi tekuk atau vibrasi ulur. Absorbans atau vibrasi ini dihubungkan dengan ikatan tunggal atau gugus fungsi dari molekul untuk identifikasi senyawa yang tidak diketahui. Komponen penting dari FTIR terdiri atas sumber sinar yang terbuat dari filamen Nerst atau global, beam splitter berupa material transparan dengan indeks relatif, interferometer yang berfungsi membentuk interferogram yang akan diteruskan menuju detektor, daerah cuplikan, dan detektor yang merupakan piranti untuk mengukur energi pancaran yang lewat akibat panas yang dihasilkan (Skoog *et al.* 2004).

Teh memiliki banyak khasiat bagi kesehatan karena mengandung senyawa polifenol, teofilin, flavonoid, tanin, katekin, dll. Teh juga mengandung kafein. Zat ini dapat menimbulkan reaksi yang tidak dikehendaki seperti insomnia, gelisah, pernapasan meningkat, dan diuresis (Misra, Mehta, Mehta, Soni, Jain 2008). Penentuan kadar kafein pada sampel teh dapat dilakukan dengan metode spektrofotometri FTIR. Percobaan ini bertujuan membentuk spektrum FTIR, menginvestigasi rasio signal terhadap noise pada sampel *p*-dimetilaminobenzaldehida dan menentukan kadar kafein dalam sampel teh.

METODE PERCOBAAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam percobaan adalah spektrofotometer FTIR, neraca analitik, seperangkat alat pembuat pelet, tabung reaksi, sudip, pipet volumetrik, dan vortex. Bahan yang digunakan adalah KBr, asam benzoat (*p*-dimetilaminobenzaldehida), aluminium foil, kafein, serbuk teh, NH_4OH 2 M dan kloroform.

Prosedur

Pembuatan Spektrum IR dan Investigasi Nisbah Sinyal Terhadap Derau Serta Waktu Payar Sebagai Fungsi Jumlah Payar Rerata dan Resolusi Instrumen Menggunakan Spektrofotometer FTIR

Pembuatan Pelet dan Pengukuran. Dimasukkan 200 mg KBr ke dalam mortar dan dimasukkan 1-2 mg asam *p*-dimetilaminobenzaldehida dan dicampurkan dengan baik hingga seragam dengan cepat karena KBr dapat menyerap air. Pelet dicetak dan divakum pada tekanan 80 kN. Pelet yang sudah terbentuk ditempatkan ke dalam wadah sampel dan dilakukan pembuatan spektrum FTIR dengan parameter resolusi-jumlah payar, 4-8; 4-16; 4-32; 8-32; 16-32. Selama proses pembuatan spektrum yang diperlukan tersebut janganlah membuka kompartemen sampel. Diatur payaran latar (*Background Scanning*) dengan nilai tetap. Setelah itu klik OK untuk mendapatkan spektrum inframerahnya. Kemudian ditentukan S/Nnya.

Penentuan Kadar Kafein dalam Teh

Ekstraksi kafein dilakukan dengan menimbang 0.250 g serbuk teh ditimbang secara akurat dalam tabung reaksi. Sebanyak 5 ml NH_4OH 2 M ditambahkan ke dalam wadah tersebut kemudian campuran tersebut dikocok selama 2 menit. Kemudian ditambahkan 5 ml kloroform ke dalam campuran tersebut lalu dikocok kembali selama 2 menit. Setelah itu campuran dipisahkan dengan cara divortex. Diambil fase kloroform dari campuran tersebut, kemudian dibuat spektrum IR diantara bilangan gelombang $4000\text{-}600\text{ cm}^{-1}$ Spektrum *background* diperoleh dari larutan blanko (tanpa sampel). Untuk penentuan nilai tinggi serapan kafein dilakukan koreksi garis dasar mulai bilangan gelombang 1800 cm^{-1} pada sampel yang kemudian diinterpolasi dengan kurva kalibrasi yang diperoleh dari standar kafein yang dilarutkan dalam kloroform yang diukur dengan kondisi yang sama seperti

sampel dengan koreksi *background* nya menggunakan kloroform. Setelah diperoleh persamaan kurva kalibrasi ditentukan konsentrasi kafein sampel dan ditentukan kadar nya dalam (b/b%).

PEMBAHASAN

Spektrofotometri inframerah (IR) berfungsi untuk menganalisa suatu senyawa kimia. Spektra inframerah suatu senyawa dapat memberikan gambaran dan struktur molekul senyawa tersebut. Spektra IR dapat dihasilkan dengan mengukur absorbansi radiasi, refleksi, atau emisi pada daerah IR (Soejoko 2002). Pembuatan spektrum serapan IR dan investigasi nisbah sinyal terhadap derau serta waktu payar sebagai fungsi jumlah payar rerata dan resolusi instrumen FTIR pada percobaan ini menggunakan alat spektrofotometer FTIR TENSOR 37 dengan menggunakan padatan pelet KBr dan sampel berupa asam benzoat (*p*-dimetilaminobenzaldehida). KBr digunakan sebagai bahan pengisi karena energi ikatannya tidak masuk dalam kisaran daerah inframerah, sehingga tidak akan muncul puncak pada spektrum yang dihasilkan. Pembuatan pelet tersebut harus dalam keadaan vakum dengan tekanan 80 kN dan cepat karena KBr bersifat higroskopis yaitu mampu menyerap air dari udara, sehingga pada spektrum bisa terdapat puncak gugus OH bila dalam pembuatan pelet tersebut tidak cepat dan keadaannya tidak vakum (Misra, Mehta, Mehta, Soni, Jain 2008). Pelet KBr yang telah dibuat segera *dirunning* pada alat dengan kondisi sumber cahaya yang digunakan adalah sumber cahaya MIR Interferometer, detektor DLATGS dan rekorder berupa *software* Opus.

Penentuan nisbah sinyal terhadap derau pada percobaan ini dilakukan dengan dua keadaan, yaitu nisbah sinyal terhadap derau pada keadaan jumlah payar konstan dan resolusi tetap. Penentuan nisbah sinyal terhadap derau dilakukan dengan resolusi dan jumlah payar yang berbeda, meliputi resolusi-jumlah payar berturut-turut yaitu 4-8; 4-16; 4-32; 8-32; 16-32. Kualitas dari sinyal dapat dinyatakan dalam nisbah sinyal terhadap derau (S/N) atau nisbah dari rata-rata terhadap standar deviasinya (Miller 2005). Semakin besar nilai S/N maka spektrum yang dihasilkan akan semakin bagus karena spektrum yang terbentuk semakin jelas (Pavia *et al.* 2009). Nilai S/N berdasarkan perhitungan komputasi dapat dilihat pada gambar 1 dan gambar 2. Spektrum IR dari sampel *p*-dimetilaminobenzaldehida dengan jumlah payar berbeda, tetapi dengan resolusi yang sama yaitu resolusi 4 dapat dilihat pada gambar 1 dengan nilai rasio S/N yang paling besar terdapat pada jumlah payar 8 dapat dilihat

pada tabel 1 yaitu sebesar 15.6 untuk S/N (RMS) dan 3.765 untuk S/N (PP). Spektrum IR dari sampel *p*-dimetilaminobenzaldehida dengan resolusi berbeda, tetapi dengan jumlah payar yang sama yaitu payar 32 dapat dilihat pada gambar 2. Resolusi adalah derajat keterpisahan sinyal suatu komponen. Berdasarkan spektrum IR sampel *p*-dimetilaminobenzaldehida pada berbagai parameter resolusi, dapat dilihat rasio signal terhadap noise (S/N). Nilai rasio S/N yang paling besar terdapat pada jumlah resolusi 16, yaitu sebesar 16.923 untuk S/N (RMS) dan 4.952 untuk S/N (PP). Berdasarkan hasil percobaan yang didapatkan, semakin besar derajat keterpisahan sinyal suatu komponen, maka rasio S/N yang dihasilkan semakin besar. Dapat dilihat pada gambar 3, spektrum yang dihasilkan pada resolusi 16 memiliki keterpisahan antar puncak yang baik dan mudah dibaca, sehingga dalam melakukan interpretasi struktur semakin mudah.

Kafein adalah alkaloid yang tergolong dalam keluarga methylxanthine yang berfungsi sebagai perangsang sistem saraf pusat. Pada dasarnya kafein berupa serbuk putih yang pahit dengan rumus kimianya $C_8H_{10}O_2$ yang memiliki nama IUPAC berupa 1,3,7-trimetilxantin. Saat preparasi sampel, sampel teh diberi reagen NH_4OH dengan tujuan untuk mengekstraksi kafein dan pengikatan fasa air yang terikut sertakan pada pemisahan fasa kloroform nanti dan fasa air dengan menggunakan tabung reaksi. Fasa air bisa ikut serta karena dua hal. Pertama adalah karena ketidaksengajaan memasukkan fasa air atau emulsi. Kedua, adalah karena air sedikit larut dalam pelarut senyawa organik seperti kloroform yang digunakan dalam praktikum ini (Gary 2004). Kemudian diberi reagen $CHCl_3$ (kloroform) dengan tujuan untuk mengekstrak kafein yang terdapat pada daun teh tersebut. Standar kafein yang digunakan yaitu pada rentang konsentrasasi kafein yang dimungkinkan, pada percobaan kali ini standar yang digunakan adalah kafein dengan konsentrasasi 200, 500, 800, 1000, dan 1500 ppm. Berdasarkan hasil percobaan diperoleh bilangan gelombang maksimum sebesar $1658,66\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan puncak serapan khas senyawa kafein. Setelah menginterpolasikan nilai absorbans yang didapat dari masing-masing larutan standar kafein, didapat persamaan garis $y = 1 \times 10^{-4} x - 0.0021$ dengan nilai koefisien korelasi (r^2) sebesar 0.9997. Dari persamaan tersebut, diperoleh kadar kafein sebesar 1478 ppm yang kemudian dikonversi menjadi bobot/bobot, sehingga didapat kadar kafein sebesar 2.956% (b/b). Menurut Rustanti (2009) kadar kafein dalam teh % b/b dalam bobot kering sebesar 4.0 %. Jika dibandingkan dengan hasil yang diperoleh dari percobaan menghasilkan kadar

kafein lebih kecil dari literatur. Hal ini disebabkan kemungkinan yang bisa terjadi salah satunya sampel teh yang digunakan berbeda dengan yang digunakan dalam percobaan ini.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil percobaan penentuan spektrum serapan FTIR dan investigasi nisbah sinyal terhadap derau serta waktu payar sebagai fungsi jumlah payar rerata dapat dilakukan dengan sampel pelet KBr dengan *p*-dimetilbenzaldehida spektrum dengan kualitas terbaik diperoleh saat pemayaran dengan parameter resolusi-jumlah payar 4-8 dan parameter jumlah resolusi-jumlah payar 16-32 berdasarkan nilai S/N (RMS) dan S/N (PP) terbesar dibandingkan parameter lainnya. Kadar kafein dalam sampel teh diperoleh sebesar 2,956 % (b/b).

Daftar Pustaka

- Atomssa T dan Gholap AV. 2011. Characterization of caffeine and determination of caffeine in tea leaves using UV-Visible spectrometer. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*. 3(1): 1-8.
- Gary D. 2004. *Analytical Chemistry*. New York (US): John Wiley and Sons.
- Miller JN. 2005. *Statistic and Chemometrics for Analytical Chemistry Fifth Edition*. England (EN): Ellis Horwood.
- Misra H, Mehta D, Mehta BK, Soni M, Jain DC. 2008. Study of extraction and HPTLC estimation of caffeine in marked tea (*Camellia sinensis*) granules. *International Journal of Green Pharmacy*. 2(3): 47-51.
- Pavia DL *et al.* 2009. *Introduction to Spectroscopy*. Belmont (US): Cole.
- Rustanti E. 2009. Uji efektivitas antibakteri dan identifikasi senyawa katekin hasil isolasi dari daun teh (*camellia sinensis* L. Var. *Assamica*.). [Skripsi]. Malang (ID) : UIN Malang.
- Skoog DA, Holler PJ, Nieman TA. 2004. *Principles of Instrumental Analysis 5th ed.* Philadelphia (US): Hartcaurt Brace.
- Soejoko DS. 2002. Spektroskopi inframerah senyawa kalsium fosfat hasil presipitasi. *Makara Sains*. 6(3): 117-120.