

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Penelitian Terdahulu**

Telah dilakukan penelitian sebelumnya tentang analisis secara kualitatif dan kuantitatif kadar kafein dalam kopi bubuk yang beredar di kota Palembang menggunakan spektrofotometer UV-Vis, dari sepuluh sampel kopi lokal yang diteliti sembilan diantaranya memenuhi syarat SNI (Fatoni, 2015). Pembuatan spektrum IR dari sampel p-dimetilaminobenzaldehida dan penentuan kadar kafein dalam teh menggunakan spektrofotometri FTIR, menyatakan bahwa penentuan kadar kafein dalam teh dapat dilakukan dengan metode FTIR (Azizah *et al*, 2014).

Perbedaan penelitian ini dengan penelitian sebelumnya adalah sampel yang digunakan ada dua varietas yaitu kopi bubuk Andungsari dan kopi bubuk Canephora yang berasal dari daerah Lampung Barat, dengan menggunakan metode FTIR. Penelitian kopi Lampung Barat secara FTIR, sejauh peneliti ketahui hingga saat ini belum ada penelitian sebelumnya.

#### **B. Landasan Teori**

##### **1. Kopi**

Tanaman kopi (*Coffea sp*) adalah spesies tanaman berbentuk pohon yang termasuk dalam family rubiaceae dan genus coffea. Ada sekian banyak jenis kopi yang dijual di pasaran, secara umum ada dua jenis yang dibudidayakan di Indonesia yaitu kopi Arabika dan kopi Robusta. Kopi Arabika tumbuh pada ketinggian 1.000 meter di atas permukaan air laut, sedangkan kopi Robusta tumbuh di bawah ketinggian 1.000 meter di atas permukaan laut (Rahardjo, 2012; Saputra, 2008). Klasifikasi tanaman kopi menurut United State Department of Agriculture (USDA) adalah sebagai berikut :

##### **a. Kopi Andungsari**

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobiota
Devisi	: Magnoliophyta
Sub Devisi	: Spermatophyte

Class : Magnoliopsida  
Sub Class : Asteridae  
Ordo : Rubiales  
Family : Rubiaceae  
Genus : Coffea L.  
Spesies : *Coffea arabica L*

b. Kopi Canephora

Kingdom : Plantae  
Subkingdom : Tracheobiota  
Devisi : Magnoliophyta  
Sub Devisi : Spermatophyte  
Class : Magnoliopsida  
Sub Class : Asteridae  
Ordo : Rubiales  
Family : Rubiaceae  
Genus : Coffea  
Spesies : *Coffea robusta L*

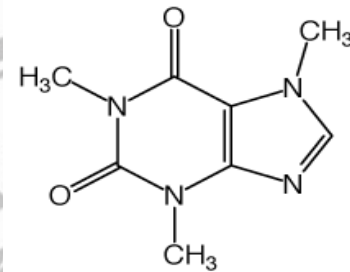
Kopi bubuk adalah biji kopi yang disangrai (*roasted*) kemudian digiling, dengan atau tanpa penambahan bahan lain dalam kadar tertentu tanpa mengurangi rasa dan aromanya serta tidak membahayakan kesehatan (SNI 01-3542-2004). Kopi mengandung kurang lebih 24 zat, yang terpenting adalah kafein, hidrat arang, tannin, zat zat asam, zat zat pahit, lemak dan minyak terbang (Tjay dan Rahardja, 2007).

Lampung merupakan salah satu penghasil kopi terbaik di Indonesia. Jenis kopi paling terkenal dan banyak dihasilkan di Lampung ialah kopi Robusta. Kopi Robusta merupakan jenis kopi yang memiliki variasi rasa yang kuat dan tajam, namun tak begitu asam, seperti halnya kopi Arabika. Kopi Robusta memiliki kandungan kafein yang lebih tinggi dari pada kopi Arabika, namun gula dan lipidnya lebih rendah dibandingkan Arabika (Ernawati Rr *et al*,2008)

## 2. Kafein

### a. Pengertian dan Struktur kimia

Kafein adalah senyawa alkaloid turunan *xantine* (basa purin) yang secara alami banyak terdapat pada biji kopi. Kafein mempunyai nama kimia 1,3,7-trimetilxantin atau 1,3,7-trimetil 2,6 dioksin purin. Rumus molekulnya  $C_8H_{10}N_4O_2$  dengan berat molekul 194,19 mempunyai struktur seperti gambar 2.1.



Gambar 2.1 Struktur Kimia Kafein (Depkes, 1995).

### b. Sifat fisika kimia kafein

Kafein pada suhu ruang berupa bubuk tidak berwarna, tidak berbau, dan memiliki rasa agak pahit. Kafein akan larut dalam 50 bagian air, 6 bagian air suhu 80°C; 1,5 bagian air mendidih; 75 bagian alkohol; 25 bagian alkohol suhu 60°C; 6 bagian kloroform dan 600 bagian eter. Kafein larut dalam air mendidih tetapi pada suhu ruang pelarut terbaik adalah kloroform (Depkes, 1995).

### c. Mekanisme Kerja

Kafein masuk dalam tubuh terbawa oleh aliran darah menuju otak. Pada sel saraf terdapat reseptor adenosin. Molekul kafein mirip dengan adenosin akan mengikat reseptor dan menghalangi sel otak untuk mengikat adenosin.. Kafein bekerja di tubuh dengan mengambil alih reseptor adenosin dalam sel saraf yang akan memacu produksi hormon adrenalin dan menyebabkan peningkatan tekanan darah, sekresi asam lambung, dan akitifitas otot, serta perangsangan hati untuk melepaskan senyawa gula pada aliran darah untuk menghasilkan energi ekstra (Arnaud & Advisor, 1987)

d. Farmakokinetik

Kafein diabsorpsi setelah pemberian oral, rektal atau parenteral. Sediaan bentuk cair atau tablet bersalut akan diabsorpsi secara cepat dan lengkap. Kafein didistribusikan keseluruh tubuh, melewati plasenta dan masuk ke air susu ibu. Volume distribusi kafein adalah antara 400 dan 600 mL/kg. Eliminasi kafein terutama melalui metabolisme dalam hati. Sebagian diekskresikan bersama urin dalam bentuk utuh. Kafein dalam plasma akan mencapai konsentrasi maksimum pada waktu 1 jam dan waktu paruh plasma kafein antara 3-7 jam, nilai ini akan menjadi 2 kali lipat pada wanita hamil tua dan wanita yang menggunakan pil kontrasepsi jangka panjang. Pada penderita sirosis hati (pembentukan jaringan ikat di jaringan hati) atau udem paru akut kecepatan eliminasi berlangsung lambat sekitar 60 jam, dan untuk bayi prematur waktu paruhnya 59 jam (Tan dan Kirana, 1984)

3. Spektrofotometri FTIR

Spektrofotometri Infra Merah merupakan suatu metode yang mengamati interaksi molekul dengan radiasi elektromagnetik yang berada pada daerah panjang gelombang 0,75-1000  $\mu\text{m}$  atau pada bilangan gelombang 13.000–10  $\text{cm}^{-1}$ . Terdapat dua jenis spektrofotometer IR, yaitu : (1) Spektrofotometer dispersif dan (2) spektrofotometer FTIR. Keduanya mampu memberikan spektra yang identik, akan tetapi spektrofotometer FTIR mampu menawarkan perolehan spektra IR secara lebih cepat dibandingkan dengan spektrofotometer dispersif (Rohman, 2014).

Spektrofotometer FTIR didasarkan pada ide adanya interaksi radiasi antara 2 berkas sinar untuk menghasilkan suatu interferogram. Interferogram merupakan sinyal yang dihasilkan sebagai fungsi perubahan *pathlength* antara 2 berkas sinar. Dua domain (jarak dan frekuensi) dapat ditukarbalikkan dengan matematik yang disebut dengan transformasi fourier (Rohman, 2014).

Radiasi IR yang dilewatkan melalui suatu cermin diteruskan mengenai senyawa analit organik, jika suatu senyawa menyerap radiasi IR maka molekul akan mengalami transisi vibrasional. Absorbansi radiasi IR merupakan suatu

proses kuantitasi. Artinya, hanya frekuensi tertentu yang dapat diserap oleh suatu molekul. Supaya molekul menyerap radiasi IR, maka molekul tersebut harus mempunyai momen dipol yang berubah selama vibrasi (Rohman, 2014).

#### 1. Bentuk-bentuk Vibrasi

Secara umum terdapat dua bentuk vibrasi :

##### a. *Stretching* (vibrasi regang/ ulur )

*Stretching* adalah vibrasi sepanjang ikatan sehingga terjadi perpanjangan atau pemendekan ikatan. Dalam *stretching* terdapat 2 macam

##### 1) Uluran simetris (*symmetrical stretching*)

Uluran simetris adalah unit struktur bergerak bersamaan dan searah dalam satu bidang datar.

##### 2) Uluran asimetris (*antisymmetrical stretching*)

Uluran asimetris adalah unit struktur bergerak bersamaan dan tidak searah tetapi masih dalam satu bidang datar.

##### b. Vibrasi Tekuk (*bending vibration*)

Vibrasi tekuk merupakan vibrasi yang disebabkan oleh sudut ikatan sehingga terjadi pembesaran atau pengecilan sudut ikatan. Vibrasi tekuk terbagi menjadi empat bagian.

##### 1) Vibrasi guntingan (*scissoring*)

Vibrasi guntingan adalah unit struktur bergerak mengayun simetris dan masih dalam bidang datar.

##### 2) Vibrasi goyangan (*rocking*)

Vibrasi goyangan adalah unit struktur bergerak mengayun asimetris tetapi masih dalam bidang datar.

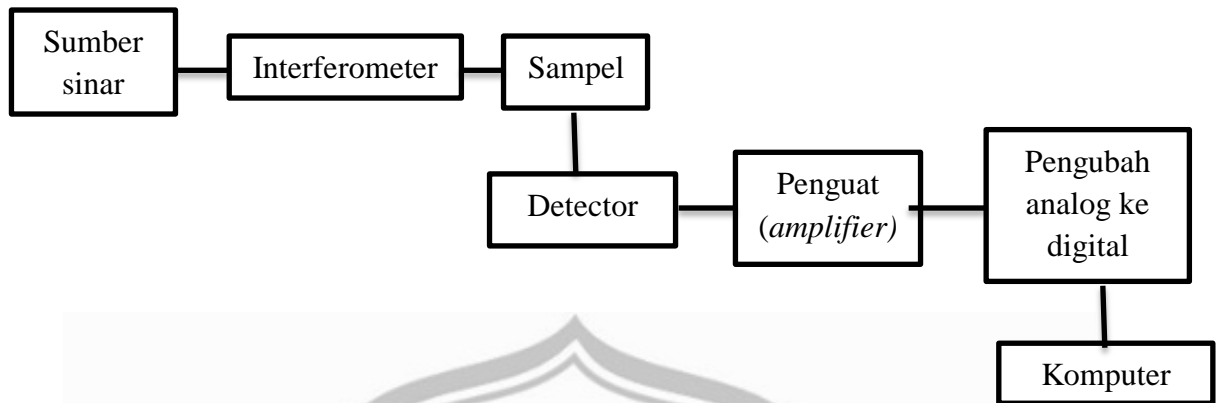
##### 3) Vibrasi kibasan (*wagging*)

Vibrasi kibasan adalah unit terstruktur bergerak menibas keluar dari bidang datar.

##### 4) Vibrasi pelintiran (*twisting*)

Vibrasi pelintiran adalah unit terstruktur berputar mengelilingi ikatan yang menghubungkan molekul induk dan berada di dalam bidang datar (Rohman, 2014).

## 2. Komponen Spektrofotometer FTIR



Gambar 2.2 Komponen utama dalam spektrofotometer FTIR (Rohman, 2014).

Radiasi yang berasal dari sumber sinar dilewatkan melalui interferometer ke sampel sebelum mencapai detektor. Selama penguatan (amplifikasi) sinyal, yang mana kontribusi-kontribusi frekuensi tinggi telah dihilangkan dengan filter, maka data diubah ke bentuk digital dengan suatu *analog-to-digital converter* dan dipindahkan ke komputer untuk menjalani transformasi fourier (Rohman, 2014).

### a. Sumber sinar

Spektrofotometer FTIR menggunakan sumber sinar global atau Nerst untuk daerah IR tengah. Jika spektra IR jauh juga akan dikur, maka lampu merkuri tekanan tinggi dapat digunakan. Untuk IR dekat, lampu-lampu tungsten-hidrogen dapat digunakan sebagai sumber sinar (Rohman, 2014).

### b. Interferometer

Tujuan interferometer adalah untuk membawa berkas sinar, lalu memecahkannya dalam dua berkas sinar, dan membuat salah satu berkas sianar berjalan dengan jarak yang berbeda dengan yang lain (Rohman, 2014).

### c. Detektor

Ada dua jenis detector yang umum digunakan pada spektrofotometer FTIR. Detector normal pada penggunaan rutin adalah alat piroelektrik yang didalamnya terdapat deuterium triglisin sulfat

(DTGS) pada jendela alkali halide yang tahan terhadap panas. Untuk pekerjaan yang memerlukan sensitifitas lebih, dapat digunakan detektor merkuri kadmium telurida (MRC), akan tetapi detector ini harus didinginkan pada suhu nitrogen cair. Untuk pengukuran spektra IR di daerah dekat (NIR) , detektor yang digunakan adalah fotokonduktor timbal sulfida (Rohman, 2014).

#### d. Komputer

Komputer akan membaca spektra dari instrument begitu instrument di-*scanning*. Computer juga dapat digunakan untuk manipulasi spectrum, misalkan untuk melakukan derivatisasi, pengurangan, dan penjumlahan spektra, serta untuk *overlay* antar spektra (Rohman, 2014).

### 3. Cara Pengolahan Sampel

Ada berbagai cara pengolahan sampel/cuplikan pada spektrofotometer IR. Cara yang digunakan tergantung pada jenis sampel apakah berbentuk gas, cairan, atau padatan.

#### a. Teknik transmisi

Mungkin cara yang paling populer untuk memperoleh spektra inframerah adalah dengan cara melewatkan berkas sinar inframerah melalui sampel teknik ini dikenal dengan teknik penanganan sampel secara transmisi.

##### a) Spektra transmisi sampel padat

Ada tiga cara umum untuk mengolah sampel yang berupa padatan, yaitu; (1) dengan lempeng kalium bromide, (2) “mul” , dan (3) lapisan tipis.

##### 1) Pelet KBr

Pelet KBr digunakan untuk memperoleh spektra IR sampel padat terutama sesuai untuk sampel-sampel serbuk. KBr merupakan bahan yang *inert* , transparan terhadap sinar IR dan dapat beraksi sebagai pendukung dan pengencer sampel.

## 2) Mull

Mull atau lumpuran dibuat dengan menggerus cuplikan sehingga halus, kemudian dicampur dengan satu dua tetes minyak hidrokarbon paraffin cair (nujol) sehingga merupakan lumpuran.

## 3) Lapisan tipis

Lapisan tipis padatan cuplikan pada lempeng natrium klorida dapat diperoleh dengan meneteskan larutan cuplikan pada permukaan lempeng natrium klorida. Karena pelarut yang digunakan mudah menguap, maka akan didapat lapisan tipis pada lempeng natrium klorida (Rohman, 2014).

### b) Spektra transmisi cairan

Sebelum memperoleh spectrum IR sampel dalam larutan, maka pelarut yang sesuai harus dipilih. Factor-faktor berikut harus diperhatikan ketika memilih pelarut, yakni : pelarut harus melarutkan sampel, pelarut yang digunakan sedapat mungkin non-polar untuk meminimalisirkan interaksi solute-pelarut, serta pelarut tersebut tidak menyerap spectrum IR secara kuat. Ada 2 teknik yang umum digunakan untuk memperoleh spektra emisi cairan, yakni (1) metode cairan tipis kapiler, dan (2) metode sel tertutup.

#### 1) Metode lapisan tipis kapiler

Untuk membuat lapisan tipis kapiler, satu tetes sampel diletakkan diantara jendela transparan inframerah.

#### 2) Metode sel cairan tertutup

Metode sel cairan tertutup mempunyai pengemas yang menutup cairan didalam sel, akibatnya akan mencegah penguapan. Teknik ini dapat digunakan untuk cairan yang volatil, berbau menyengat serta cairan toksik karena cairan-cairan ini tidak menguap dan tidak menyebabkan bahaya.

c) Spektra transmisi gas

Cuplikan gas dimasukkan kedalam sel gas. Jendela trnsaparan terhadap inframerah, biasanya NaCl, digunakan sehingga sel ini dapat diletakkan langsung dalam berkas cuplikan.

b. Metode-metode reflektans (pantulan)

Teknik-teknik reflektans (pantulan) dapat digunakan untuk sampel-sampel yang sudah dianalisis dengan teknik transmitans. Metode-metode pantulan dapat dibagi menjadi 2 kategori, yaitu:

a) *Attenuated total reflektans* (ATR)

Teknik ATR digunakan untuk memperoleh spektra zat padat, cair, semi-padat, dan lapisan tipis. ATR dilakukan dengan menggunakan aksesoris dalam kompartemen sampel spektrofotometer FTIR. Bagian inti aksesoris ATR adalah Kristal (berupa bahan transparan inframerah) dengan indeks bias yang tinggi.

b) Spektroskopi reflektan specular

Salah satu jenis reflektans eksternal. Dalam pantulan eksternal, radiasi yang mengenai difokuskan ke sampel, dan 2 bentuk pantulan dapat dibagi, yakni : (1) specular atau pemantulan yang terjadi pada antar muka yang mengkilap; dan (2) diffuse (menyebarkan) (Rohman, 2014).

4. Analisis Spektra Inframerah

a. Interpretasi spektrum inframerah

Spektrum daerah inframerah (IR) tengah dapat dibagi menjadi 4 bagian daerah, dan sifat frekuensi gugus secara umum dapat ditentukan dengan daerah-daerah serapan, yang mana gugus-gugus tersebut terdapat di dalamnya. Daerah-daerah tersebut adalah sebagai berikut: daerah ulur X-H ( $4000-2500\text{ cm}^{-1}$ ), yang mana X berupa O, N, dan C daerah rangkap tiga ( $2500-2000\text{ cm}^{-1}$ ), daerah ikatan rangkap dua ( $2000-1500\text{ cm}^{-1}$ ), dan daerah sidik jari ( $1500-600\text{ cm}^{-1}$ ) (Rohman, 2014).

Table 2.1 Korelasi antara jenis vibrasi gugus fungsional dan frekuensi vibrasinya (Rohman, 2014).

Gugus	Jenis vibrasi	Frekuensi (cm <sup>-1</sup> )
C-H	Alkana (ulur)	3000—2850
	CH <sub>3</sub> (tekuk)	1450 dan 1375
	CH <sub>2</sub> (tekuk)	1465
	Alkena (ulur)	3100-3000
	Alkena (tekuk, keluar bidang)	1000-650
	Aromatis (ulur)	3150-3050
	Aromatis (tekuk, keluar bidang)	900-690
	Alkana (ulur)	± 3300
	Aldehid	2900-2800 2800-2700
C-C	Alkana	1200
C=C	Alkena	1680-1600
	Aromatis	1600 dan 1475
C≡C	Alkana	2250-2100
C=O	Aldehid	1740-1720
	Keton	1725-1705
	Asam karboksilat	1725-1700
	Ester	1750-1730
	Amida	1680-1630
	Anhidrida	1810 dan 1760
	Asil klorida	1800
C-O	Alkohol, eter, ester, asam karboksilat, anhidrida	1300-1000
O-H	Fenol Bebas	3650-3600
	Terikat hydrogen	3400-3200
	Asam-asam karboksilat	3400-2400
N-H	Amin primer, amin sekunder, amida	
	Ulur	3500-3100
	Tekuk	1640-1550
C-N	Amina	1350-1000
C=N	imina dan oksim	1690-1640
C≡N	Nitril	2260-2240
N=O	Nitro (R-NO <sub>2</sub> )	1550 dan 11350
S-H	Merkaptan	2250
S=O	Sulfoksida	1050
	Sulfon, sulfonil klorida, sulfat, sulfonamid	1375-1300 dan 2350-1140
C-X	Flourida	1400-1000
	Klorida	785-540
	Bromide, iodide	<667

#### b. Hukum Lambert-Beer's

Hukum Lambert-Beer's merupakan dasar analisis kuantitatif dalam spektrofotometri yang menghubungkan antar konsentrasi dengan absorbansinya. Rumus hukum Beer's adalah sebagai berikut:

$$A = \epsilon bc$$

Yang mana A adalah absorbansi;  $\epsilon$  absorptivitas; b tebal tempat sampel; c konsentrasi. Untuk cairan, b dinyatakan dengan micron, sementara c dalam mol/Liter atau molar (M). meskipun demikian, diperbolehkan untuk menggunakan satuan yang lain sepanjang konsisten dalam penggunaannya.

Pada persamaan (1), nampak bahwa absorbansi berbanding lurus dengan konsentrasinya. Bentuk ini analog dengan persamaan regresi linear yaitu

$$y = bx + a$$

yang mana : y adalah nilai pada sumbu  $y$ ; b adalah kemiringan (slope) garis lurus; x merupakan nilai pada sumbu  $x$ ; dan a adalah intersep (potongan garis pada sumbu  $y$ ) (Rohman, 2014).

#### 4. Validasi Metode

Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya. Beberapa parameter analisis yang harus dipertimbangkan dalam validasi metode analisis diuraikan dan didefinisikan sebagaimana cara penentuannya.

##### 1. Kecermatan (*accuracy*)

Kecermatan adalah keakuratan prosedur analitik mengungkapkan kedekatan antara nilai yang diterima baik sebagai nilai sejati konvensional dan nilai yang diperoleh. Ini kadang-kadang disebut *trueness*. Kecermatan dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan. Kecermatan ditentukan dengan dua cara yaitu metode simulasi (*spiked-placebo recovery*) atau metode penambahan baku (*standard addition method*) (Harmita, 2004; ICH, 1994).

2. Keseksamaan (*precision*)

kedekatan hasil (derajat) antara serangkaian pengukuran yang diperoleh dari beberapa sampling dari sampel homogen yang sama dalam kondisi yang ditentukan. Presisi mungkin dianggap pada tiga tingkat: pengulangan, presisi antara dan reproduktifitas (Harmita, 2004; ICH,1994).

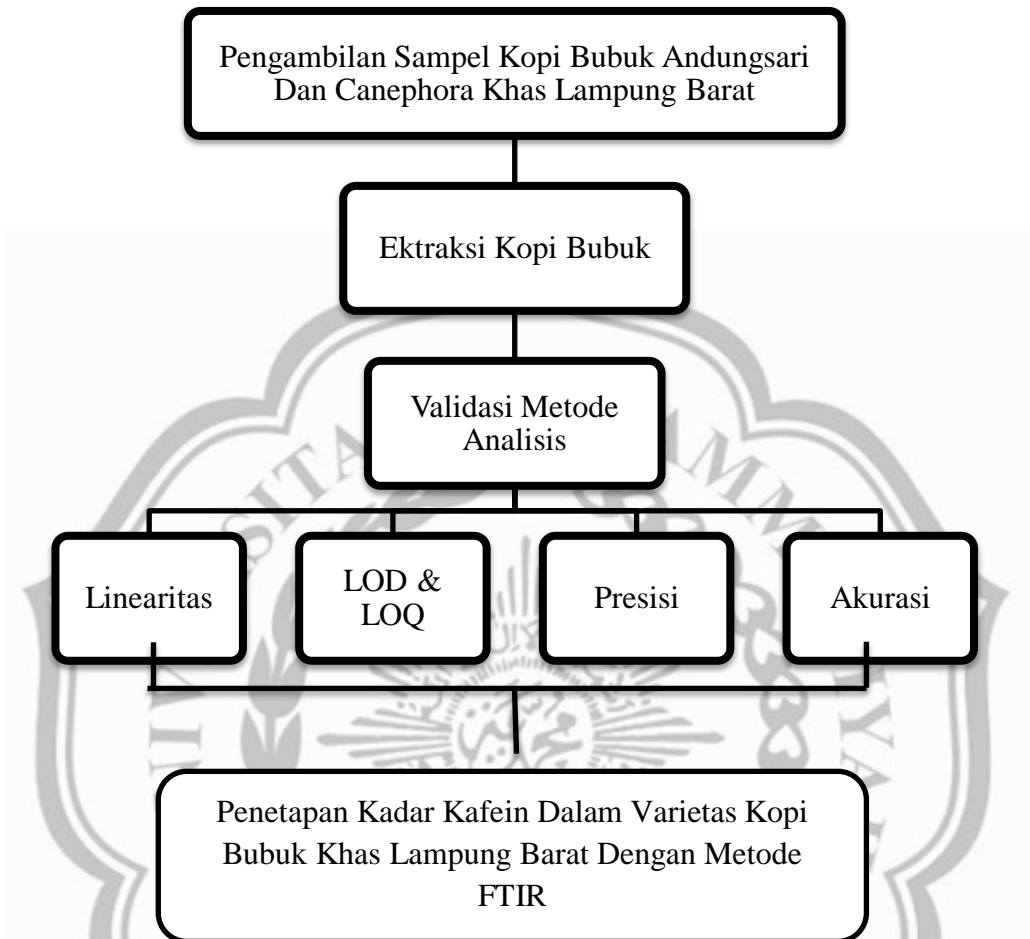
3. Linearitas

Linearitas dari suatu prosedur analitis adalah kemampuannya (dalam rentang tertentu) untuk diperoleh hasil tes yang berbanding lurus dengan konsentrasi (jumlah) analit dalam sampel (ICH,1994).

4. Batas Deteksi atau *limit of detection* (LOD) dan Batas Kuantitasi atau *limit of Quantitation* (LOQ)

Batas deteksi adalah jumlah terendah analit dalam sampel yang dapat dideteksi tetapi belum tentu kuantitatif sebagai suatu yang tepat. Batas deteksi merupakan jumlah terendah analit dalam sampel yang dapat ditentukan secara kuantitatif dengan presisi yang sesuai (ICH,1994).

### C. Kerangka konsep



Gambar 2.3 Kerangka konsep

### D. HIPOTESIS

1. Diduga Metode Spektrofotometri Inframerah Transformasi Fourier (FTIR) dapat digunakan untuk penetapan kadar kafein dalam kopi bubuk khas Lampung Barat.
2. Diduga kadar kafein dalam kopi bubuk telah memenuhi persyaratan kadar menurut SNI 01-3542-2004.