

PEMBUATAN KAFEIN SALISILAT SECARA SEMISINTETIS DARI BUBUK KOPI OLAHAN TRADISIONAL KERINCI

Sestry Misfadhila²⁾, Zulharmita¹⁾, Deni Hardian Siska²⁾

¹⁾Fakultas Farmasi Universitas Andalas Padang

²⁾Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM) Padang

ABSTRACT

The caffeine contained in coffee powder processed traditionally taken in Kerinci can be isolated, crystallized and made into a caffeine salicylate. Isolation of caffeine conducted through the coffee powder with water extraction, fractionation with methylene chloride, and crystallized using acetone and petroleum ether. The crystallization process is obtained of caffeine powder which is then reacted with salicylic acid, caffeine salicylate formed by using the solvent toluene and petroleum ether. Identification of caffeine powder and caffeine salicylate include: organoleptic, melting range, color reaction, the ultraviolet spectrum, infrared spectrum and thin layer chromatography. The identification caffeine results meet the requirements listed in the Indonesian Pharmacopoeia V edition of 2014. The results of determining the wavelength of maximum absorption of caffeine powder isolation results was 276 nm, caffeine salicylate 243 & 307 nm. Rf values obtained from thin layer chromatography test for caffeine is 0.30 and caffeine salicylate 0.36.

Keywords : Isolation, Crystallized, Caffeine, Caffeine Salicylate

ABSTRAK

Kafein yang terkandung dalam bubuk kopi olahan tradisional yang diambil di Kerinci dapat diisolasi, dikristalisasi dan dibuat menjadi kafein salisilat. Isolasi kafein dilakukan melalui proses ekstraksi bubuk kopi dengan air, fraksinasi dengan metilenklorida, dan dikristalisasi menggunakan aseton dan petroleum eter. Dari proses kristalisasi diperoleh serbuk kafein, yang selanjutnya direaksikan dengan asam salisilat membentuk kafein salisilat dengan menggunakan pelarut toluen dan petroleum eter. Identifikasi serbuk kafein dan kafein salisilat meliputi: organoleptik, jarak lebur, reaksi warna, spektrum ultraviolet, spektrum inframerah dan kromatografi lapis tipis. Hasil identifikasi kafein memenuhi persyaratan yang tertera dalam Farmakope Indonesia edisi V tahun 2014. Hasil penentuan panjang gelombang serapan maksimum serbuk kafein hasil isolasi adalah 276 nm, kafein salisilat 243 & 307 nm. Nilai Rf yang didapat dari pengujian kromatografi lapis tipis untuk kafein adalah 0,30 dan kafein salisilat 0,36.

Kata Kunci : Isolasi, Kristalisasi, Kafein, Kafein Salisilat

PENDAHULUAN

Kopi merupakan biji-bijian dari pohon jenis *coffea* dengan kandungan alamiah berupa kafein, sitosterin, kolin, terpenoid (Najiyati & Danarti, 2004). Kopi bubuk merupakan minuman berwarna hitam pekat yang mampu memberikan cita rasa khas bagi yang meminumnya. Minuman tersebut diperoleh dari seduhan kopi dalam bentuk bubuk. Kopi bubuk adalah biji kopi yang telah disangrai, digiling hingga menjadi serbuk halus (Arpah, 1993).

Pada tanaman kopi, bagian yang banyak menghasilkan kafein adalah bijinya. Biji kopi yang disangrai mengandung kafein sebesar 0,7-1,7 %. Kadar kafein tidak akan sama pada tanaman dan daerah yang berbeda (Nawrot

et al., 2003). Kafein merupakan alkaloid turunan xantin, yaitu 1,3,7-trimetilxantin bersifat basa lemah dan garamnya mudah terurai dalam air. Isolasi kafein dalam kopi dapat dilakukan dengan cara kristalisasi (Pavia *et al.*, 1988).

Kafein hasil isolasi dapat dibuat menjadi kafein salisilat. Kafein salisilat diperoleh dengan mereaksikan hasil isolasi kafein dengan asam salisilat, sehingga didapat derivat dalam bentuk kafein salisilat (Pavia *et al.*, 1988). Kafein salisilat berkontribusi terhadap tambahan aktivitas ringan anti inflamasi dan analgesik (Gawade, 2014).

Kristalisasi adalah suatu teknik pemurnian, dimana terjadi perubahan produk yang berupa kristal yang diperoleh

dari suatu larutan multi komponen membentuk fase tunggal yang homogen. Syarat suatu larutan agar dapat mengkristalisasi adalah larutan telah mencapai lewat jenuh. Cara yang dapat dilakukan untuk mencapai kondisi lewat jenuh tersebut diantaranya dengan perubahan temperatur dan penguapan pelarut (Myerson, 2002).

Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan penelitian tentang isolasi kafein dengan cara sublimasi dari daun teh (Pavia *et al.*, 1988), serta isolasi dan kristalisasi kafein dari bubuk kopi olahan tradisional dan penetapan kadar secara Spektrofotometri UV-Vis (Yunison, 2014). Dari kedua penelitian tersebut telah berhasil memperoleh kafein hasil isolasi. Berdasarkan penelitian tersebut, maka dilakukan penelitian tentang pembuatan kafein salisilat secara semisintetis dari bubuk kopi olahan tradisional Kerinci yang bertujuan untuk mensintesis kafein salisilat yang dibuat secara semisintetis.

Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengisolasi dan kristalisasi kafein dalam kopi bubuk yang diolah secara tradisional

METODE PENELITIAN

a. Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Spektrofotometer FT-IR (PerkinElmer), Spektrofotometer UV-Visibel (*Shimadzu UV doublebeam*), timbangan analitik (*Precisa XB 220A*), kertas saring, *melting point apparatus* (Stuart), *rotary evaporator* dan alat-alat gelas yang menunjang penelitian seperti: Erlenmeyer (Iwaki), batang pengaduk, pipet tetes, corong (Iwaki), gelas ukur (Iwaki), corong pisah (Iwaki), labu ukur (Iwaki), gelas piala (Iwaki), pipet ukur (Iwaki), pipet gondok (Iwaki), plat KLT (silika gel 60 F₂₅₄), lampu UV

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel bubuk kopi olahan tradisional kerinci, aquades

(Brataco), kalsium karbonat (CaCO_3) (Merck), metilen klorida (CH_2Cl_2) (Merck), magnesium sulfat anhidrat (MgSO_4) (Merck), petroleum eter (Brataco), aseton ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$) (Merck), asam salisilat ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$) (Merck), feri klorida (FeCl_3) (Merck), ammonium hidroksida (NH_4OH) (Merck), natrium hidroksida (NaOH) (Merck), kalium klorat (KClO_3) (Merck), toluen (C_7H_8) (Merck), kloroform (CHCl_3) (Merck), etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) (Merck).

B. Prosedur Penelitian (Pavia *et al.*, 1988)

-Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan adalah kopi bubuk olahan tradisional Kecamatan Kayu Aro Kerinci.

-Prosedur Penelitian

a. Persiapan Sampel

Timbang bubuk kopi sebanyak 35 gram, dimasukkan ke dalam gelas piala, ditambahkan aquades 150 mL. CaCO_3 10 gram dan dipanaskan hingga mendidih. Setelah mendidih dilanjutkan pemanasan selama lebih kurang 20 menit sambil diaduk, kemudian disaring selagi panas, filtrat didinginkan (Pavia *et al.*, 1988).

b. Isolasi Kafein

Filtrat dimasukan ke dalam corong pisah seterusnya diekstrak dengan 50 mL CH_2Cl_2 . Kocok perlahan, selanjutnya diamkan sampai memisah menjadi dua lapisan, lapisan bawah masukan dalam erlenmeyer, sisa yang masih tinggal di dalam corong pisah dibilas dengan 50 mL CH_2Cl_2 , kocok lebih kurang selama 5 menit kemudian didiamkan, ambil kembali lapisan bawahnya, gabungkan dengan masa pertama pada erlenmeyer (Pavia *et al.*, 1988).

Tambahkan larutan dengan 10 gram MgSO_4 anhidrat kocok perlahan kemudian didiamkan, pisahkan dengan hati-hati, masukkan dalam erlenmeyer. Ulang kembali dengan penambahan MgSO_4 sisa yang tinggal tadi kemudian saring

gabungkan dengan massa pertama selanjutnya, di *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak berwarna coklat (Pavia *et al.*, 1988).

c. Kristalisasi Kafein

Ekstrak yang terbentuk ditambahkan 10 mL CH_2Cl_2 (hasil destilasi), sisa ekstrak yang tertinggal di dalam labu destilasi ditambah dengan 5 mL CH_2Cl_2 campurkan dan panaskan dengan uap sampai kering sehingga didapat ekstrak kering. Tambahkan 5 ml acetone, panaskan sampai larut (Pavia *et al.*, 1988).

Selanjutnya pada larutan acetone ditambah petroleum eter tetes demi tetes sampai larutan menjadi keruh. Dinginkan dan saring hingga didapat kristal. Kristal yang didapat kemudian ditimbang (Pavia *et al.*, 1988).

d. Uji Identifikasi Kafein

Uji identifikasi kafein (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995).

Uji organoleptik

Meliputi: Bentuk, warna, rasa, dan bau

Pemeriksaan jarak lebur

Ambil sedikit serbuk kafein hasil kristalisasi ditotolkan kedalam pipa kapiler tempatkan pada alat *melting point apparatus* lalu amati suhu leleh serbuk dengan menggunakan termometer.

Reaksi kimia

Dengan pereaksi mureksid, larutkan kurang lebih 5 mg kafein hasil kristalisasi dengan 1 ml HCl pekat dalam cawan porselen, tambahkan 50 mg KClO_3 , uapkan di atas penangas air hingga kering. Balikkan cawan di atas bejana berisi beberapa tetes NH_4OH 6 N hingga berwarna merah violet yang hilang dengan penambahan larutan alkali kuat (NaOH).

Pemeriksaan Spektrum dengan Spektrofotometer Inframerah

Ambil sedikit serbuk kafein hasil kristalisasi tambahkan dengan KBr dalam lumpang, gerus sampai homogen, kemudian buat pelet yang tipis dengan bantuan alat penekan. Kemudian amati spektrumnya

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kafein dengan Spektrofotometer UV

1. Pembuatan Larutan Induk Kafein

Ditimbang sebanyak 50 mg kafein, dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL. Kemudian cukupkan dengan kloroform hingga tanda batas dan dihomogenkan, didapat konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$. Buat larutan kafein dengan konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$. Pipet larutan induk kafein konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$ sebanyak 2,5 mL, dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dan kemudian cukupkan dengan kloroform hingga tanda batas.

2. Penentuan panjang gelombang maksimum

Buat larutan kafein dengan konsentrasi 6 $\mu\text{g/mL}$. Pipet larutan kafein 100 $\mu\text{g/mL}$ sebanyak 0,6 mL, masukkan kedalam labu ukur 10 mL dan cukupkan dengan kloroform sampai tanda batas lalu dihomogenkan. Ukur panjang gelombang maksimum kafein, dengan spektrofotometer UV pada rentang panjang gelombang 200-400 nm.

- Pembuatan Kafein Salisilat Semi Sintetis

Timbang 50 mg kafein, 37 mg asam salisilat, di tambah 4 mL toluen masukkan ke dalam cawan penguap. Panaskan di atas *water bath* pada suhu (60 – 90 °C) sambil diaduk-aduk lalu tambahkan petroleum eter kemudian dinginkan hingga terbentuk kristal. Untuk mempercepat proses kristalisasi dilakukan dengan cara mendinginkannya di dalam air. Setelah didapat kristal tadi maka

dilakukan pemisahan dengan filtrasi vacuum. Hasil yang didapat masukkan ke dalam vial (Pavia *et al.*, 1988).

-Uji Identifikasi Kafein Salisilat

Uji organoleptik

Meliputi: Bentuk, warna, rasa, dan bau

Pemeriksaan jarak lebur

Ambil sedikit serbuk kafein hasil kristalisasi ditotolkan kedalam pipa kapiler tempatkan pada alat *melting point apparatus* lalu amati suhu leleh serbuk dengan menggunakan termometer.

Reaksi kimia

Masukkan asam salisilat ke dalam tabung reaksi kemudian tambahkan dengan FeCl_3 akan membentuk warna ungu.

Pemeriksaan spektrum dengan spektrofotometer inframerah

Ambil sedikit serbuk kafein hasil kristalisasi tambahkan dengan kalium bromida (KBr) dalam lumpang, gerus sampai homogen, kemudian buat pelet yang tipis dengan bantuan alat penekan. Kemudian amati spektrumnya.

Penentuan panjang gelombang maksimum kafein salisilat dengan Spektrofotometer UV

1. Pembuatan larutan induk kafein salisilat

Ditimbang sebanyak 10 mg kafein salisilat, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Kemudian cukupkan dengan kloroform hingga tanda batas dan dihomogenkan, didapat konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$. Buat larutan kafein salisilat dengan konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$. Pipet larutan induk kafein salisilat konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$ sebanyak 2,5 mL, dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dan kemudian cukupkan dengan kloroform hingga tanda batas.

2. Penentuan panjang gelombang maksimum

Buat larutan kafein salisilat dengan konsentrasi 6 $\mu\text{g/mL}$. Pipet larutan kafein salisilat 100 $\mu\text{g/mL}$ sebanyak 0,6 mL, masukkan kedalam labu ukur 10 mL, dan cukupkan dengan kloroform sampai tanda batas lalu dihomogenkan. Ukur panjang gelombang maksimum kafein salisilat dengan spektrofotometer UV pada rentang panjang gelombang 200-400 nm.

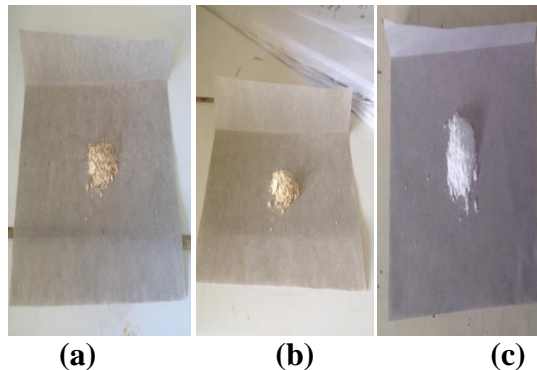
-Uji Identifikasi Kafein dan Kafein Salisilat dengan KLT

Pemeriksaan kemurnian dengan plat KLT silika gel 60 F₂₅₄

Siapkan larutan kafein pembanding 1000 $\mu\text{g/mL}$ dan kedua sampel diambil hasil ekstrak kafein yang telah diencerkan dalam 25 mL. Kemudian siapkan plat KLT 10 x 4 cm, buat masing-masing garis penotolan 1 cm dari tepi atas dan 1 cm dari tepi bawah. Larutan kafein pembanding 1000 $\mu\text{g/mL}$ dan larutan sampel diambil dari ekstrak kafein yang diencerkan dalam 25 mL yang telah disiapkan, ditotolkan sebanyak 2 μL pada plat KLT, lalu dimasukkan ke dalam chamber yang telah dijenuhkan dengan fase gerak kloroform : etanol (99:1). Tutup chamber dan biarkan sampai fase gerak mencapai garis atas pada plat. Chamber dibuka, plat KLT diambil dan dikering anginkan. Kemudian diamati di bawah lampu UV 254 nm. Tentukan nilai R_f.

HASIL DAN PEMBAHASAN

- Data Pemeriksaan Kafein Secara Organoleptis.



Gambar 1. Kafein hasil rekristalisasi, kafein salisilat dan kafein murni.

Gambar 1 menunjukkan perbedaan kafein hasil kristalisasi, kafein salisilat, dan kafein murni

Tabel 1. Data pemeriksaan kafein hasil rekristalisasi dan kafein murni secara organoleptik.

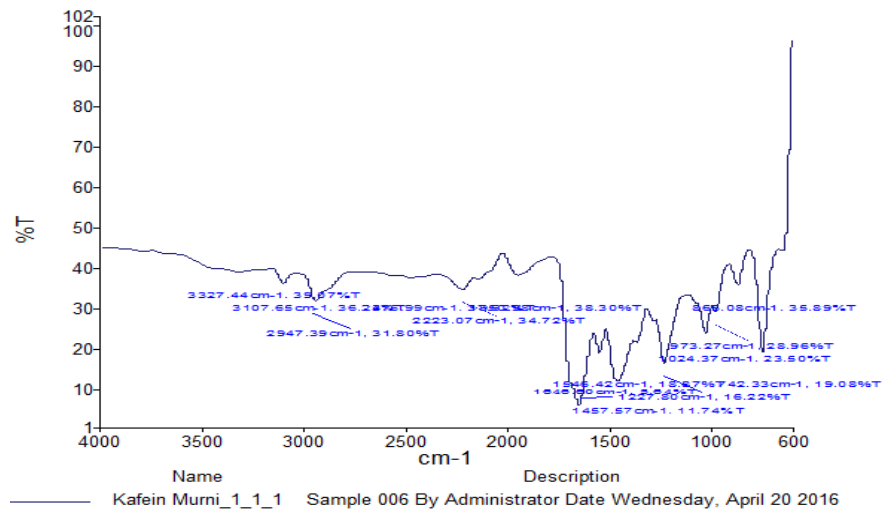
Pemeriksaan	Kafein hasil rekristalisasi	Kafein murni	Persyaratan (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2014)
Warna	Putih krim	Putih	Putih, Putih mengkilat
Rasa	Pahit	Pahit	Pahit
Bau	Tidak berbau	Tidak berbau	Tidak berbau
Bentuk	Serbuk halus	Serbuk halus	Serbuk/bentuk jarum
Jarak lebur	230 °C-235 °C	234 °C -236 °C	235 °C-237,5 °C
Identifikasi : Test Mureksid	Sisa berwarna lembayung yang hilang dengan penambahan larutan alkali kuat.	Sisa berwarna lembayung yang hilang dengan penambahan larutan alkali kuat.	Sisa berwarna lembayung yang hilang dengan penambahan larutan alkali kuat.

Data pemeriksaan kafein hasil rekristalisasi dan kafein murni secara organoleptik dapat dilihat pada tabel 1, warna putih krim, rasa pahit, tidak berbau, bentuk serbuk halus, jarak lebur 233 °C-235 °C dan identifikasi dengan reaksi mureksid warna lembayung yang hilang dengan penambahan alkali kuat.

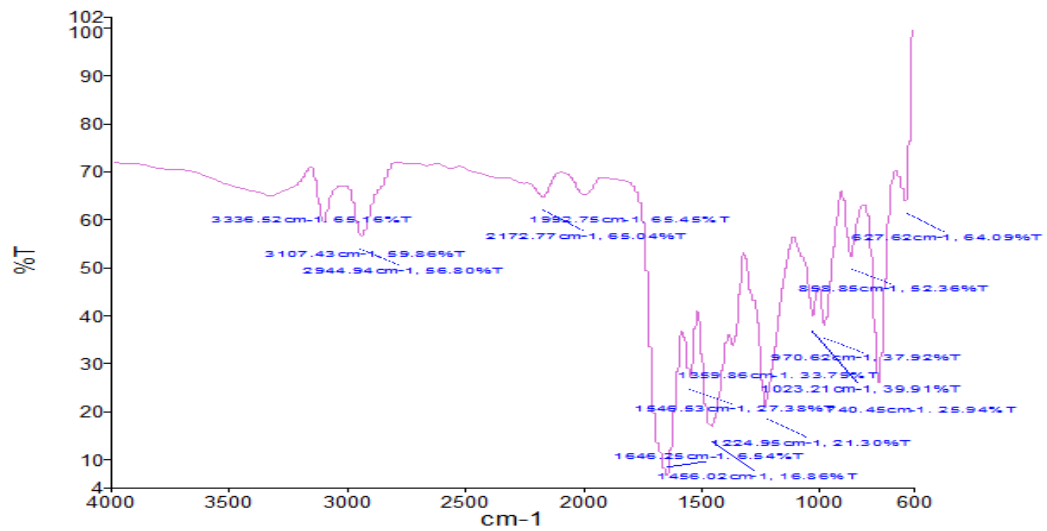
Kafein hasil rekristalisasi yang diperoleh berwarna putih krem hasil ini

agak sedikit berbeda seperti yang disyaratkan di Farmakope Indonesia edisi V bahwa kafein berwarna putih. Adanya perbedaan warna kafein yang didapatkan disebabkan karena kafein yang diperoleh merupakan kafein hasil kristalisasi dari bubuk kopi secara sederhana. Jarak lebur dari kafein hasil kristalisasi memenuhi persyaratan yang disyaratkan dalam Farmakope Indonesia edisi V.

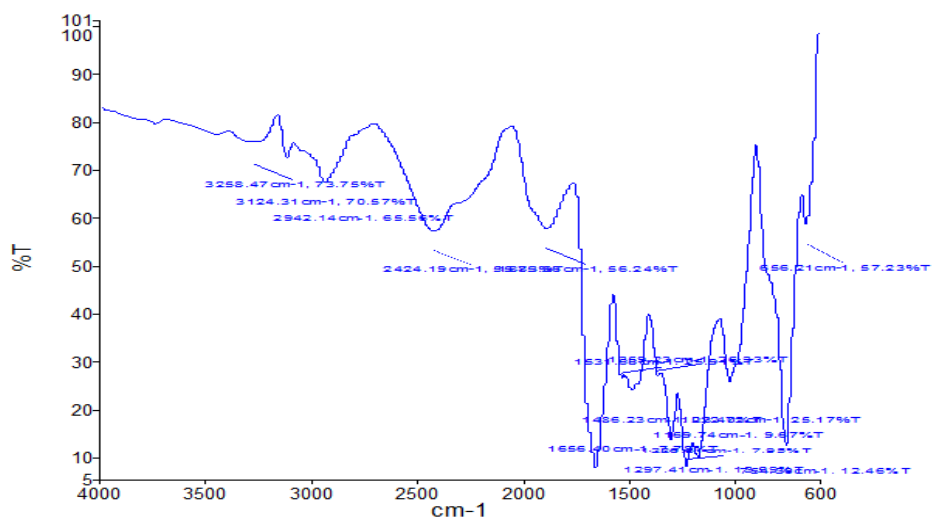
- Hasil Pemeriksaan Spektrofotometri Infra Merah.



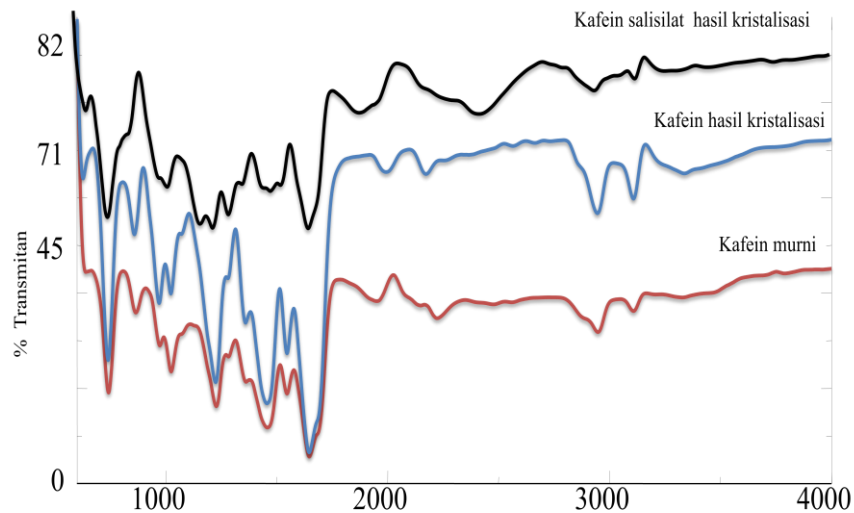
(a)



(b)



(c)

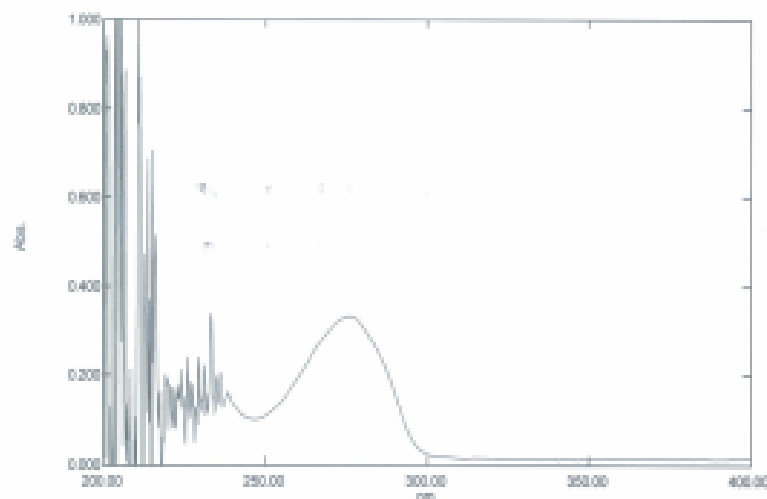


(d)

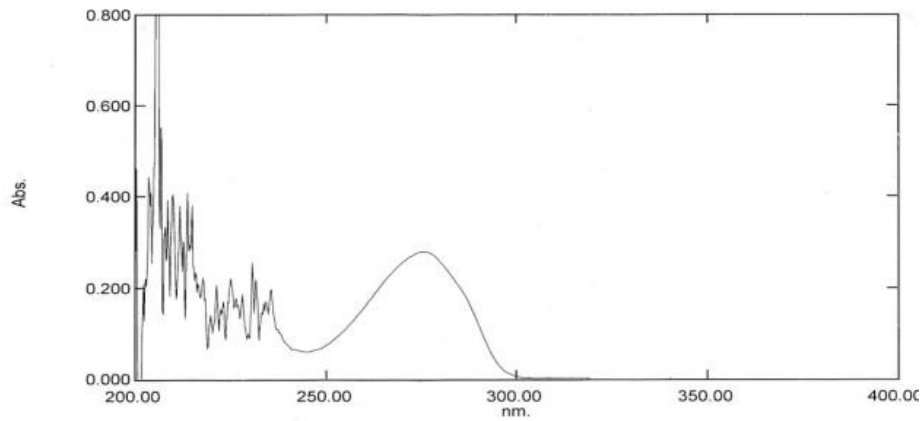
Gambar 2. (a).Spektrum FT-IR Kafein Murni
 (b).Spektrum FT-IR Kafein Hasil Kristalisasi.
 (c).Spektrum FT-IR kafein salisilat
 (d).Spektrum FT-IR gabungan antara kafein, kafein hasil kristalisasi dan kafein salisilat

Gambar 2. Menunjukkan hasil pemeriksaan spektrofotometri inframerah kafein hasil kristalisasi dan kafein murni menunjukkan bilangan gelombang yang ada pada kafein murni sama dengan kafein hasil kristalisasi.

- Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Kafein Dalam Kolroform.

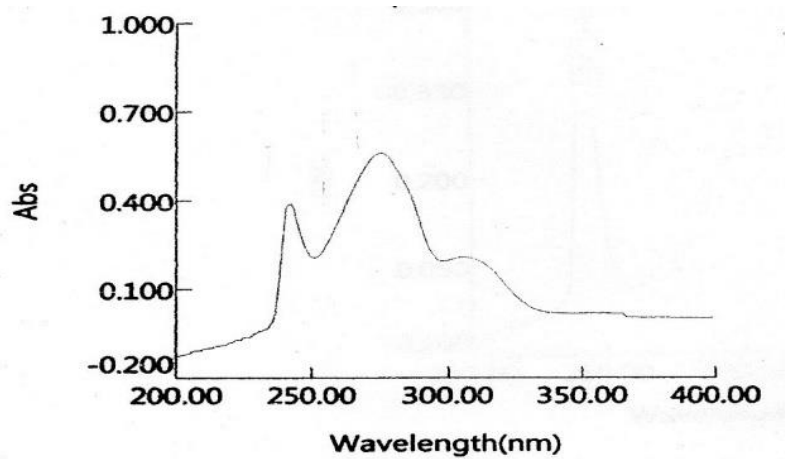


(a)



No.	Wavelength	Absorbance	Description
1	275.40	0.278	
2			

(b)



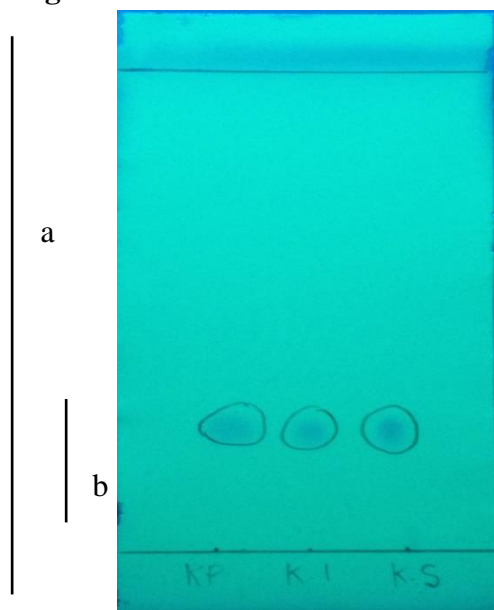
(c)

Gambar 3. (a) Panjang Gelombang Kafein hasil isolasi

(b) Panjang gelombang kafein murni

(c) Serapan gelombang kafein salisilat

Gambar 3. menunjukkan hasil penentuan panjang gelombang serapan maksimum larutan kafein standar dalam pelarut kloroform memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 276 nm. Kafein salisilat memberikan serapan gelombang 307, 276, 243.

Data hasil penelitian dengan KLT**Gambar 4.** Identifikasi dengan KLT ukuran 10x4 cm

Keterangan :

P (Kf) : Pembanding

S : (KI) Kafein hasil kristalisasi (KS) kafein salisilat

a : Jarak yang ditempuh noda zat

b : Jarak yang ditempuh fase gerak

Fase diam : Silika gel 60 F₂₅₄

Fase gerak : Kloroform - etanol (99:1)

Deteksi noda : Lampu UV (λ 254 nm)**PEMBAHASAN****Isolasi kafein**

Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah sediaan bubuk kopi yang diolah secara tradisional yang diambil dari daerah Kerinci. Pengambilan sampel bertujuan untuk mengidentifikasi dan mengetahui kafein yang terkandung dalam bubuk kopi yang diolah secara tradisional. Selanjutnya disintesis dalam bentuk kafein salisilat.

Analisa kafein secara kualitatif dilakukan dengan reaksi mureksid. Reaksi ini spesifik untuk alkaloid turunan *xantin* yang berwarna merah violet bila diberi uap amonia dengan penambahan alkali kuat. Timbulnya warna merah violet karena adanya pemecahan oksidatif struktur purin. Pada penelitian ini kafein di peroleh dengan menyaring larutan kopi

menggunakan kertas saring. Kemudian di pisahkan dengan corong pisah dengan penambahan CaCO₃ dan diklorometan. CaCO₃ berfungsi untuk memutuskan ikatan kafein dengan senyawa lain, sehingga kafein akan ada pada basa bebas. Kafein dalam basa bebas tadi akan diikat oleh diklorometan, karena diklorometan merupakan pelarut pengekstraksi yang tidak bercampur dengan pelarut semula. Kemudian dilakukan pengocokan sehingga terjadi kesetimbangan konsentrasi zat yang diekstraksi pada dua lapisan yang terbentuk. Lapisan bawahnya diambil (fase diklorometan), kemudian ditambahkan dengan MgSO₄ anhidrat yang berfungsi untuk mengikat air yang mungkin masih dibawa dalam ekstrak.

Hasil ekstraksi selanjutnya diuapkan dengan *rotary evaporator*, sehingga

diklormetan akan menguap, dan diperoleh ekstrak kafein yang murni. Kemudian tambahkan 10 mL diklormetan (hasil *rotary evaporator*) dan masukkan ke dalam cawan penguap, panaskan di atas penangas air sampai kering sehingga diperoleh serbuk. Kemudian tambahkan 5 mL aseton ke dalam serbuk sampai larut, lalu panaskan. Sambil ditambahkan petroleum eter tetes demi tetes sampai larutan menjadi keruh, dinginkan dan saring, kafein hasil rekristalisasi akan berada dalam kertas saring. Kemudian kafein yang didapat ditimbang, sehingga didapat hasil rekristalisasi sebanyak 128 mg.

Setelah dilakukan isolasi terhadap sampel kopi selanjutnya kafein hasil kristalisasi dikarakterisasi dengan uji organoleptis serta identifikasi dengan menggunakan alat spektrofotometri ultraviolet, spektrofotometer inframerah.

-Uji Identifikasi Kafein

1. Uji organoleptis

Pada tahap pengujian organoleptis terdapat beberapa hasil yang sedikit berbeda. Perbedaan yang pertama adalah perbedaan warna. Identifikasi kafein hasil kristalisasi didapatkan warna putih kecoklatan sedangkan hasil identifikasi warna untuk kafein murni didapatkan hasil dengan warna putih. Persyaratan yang ditetapkan oleh (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995) adalah warna putih atau putih mengkilat. Perbedaan ini mungkin disebabkan karena kafein hasil kristalisasi melalui tahapan sintesis, sehingga pada hasil isolasi kafein pada bubuk kopi olahan tradisional masih terdapat pengotor yang membuat warna kafein hasil rekristalisasi sedikit berbeda dari kafein murni.

Perbedaan yang kedua terdapat pada hasil pemeriksaan jarak lebur. Jarak lebur untuk kafein hasil rekristalisasi adalah 230-235 °C sedangkan hasil pemeriksaan kafein murni didapatkan hasil 234-235 °C. Persyaratan yang ditetapkan menurut

(Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995) untuk jarak lebur kafein adalah 235-237,5 °C. Walaupun hasil pemeriksaan jarak lebur kafein hasil kristalisasi sedikit berbeda, tetapi hasil yang didapat sudah memenuhi persyaratan yang ditetapkan oleh (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995). Untuk identifikasi rasa, bau, bentuk serta identifikasi dengan uji mureksid memberikan hasil yang sama, untuk keterangan lebih lanjut dapat dilihat pada (Tabel I). Dengan demikian dapat diasumsikan bahwa hasil yang didapatkan adalah kafein. Untuk membuktikan bahwa hasil yang didapat benar-benar kafein maka selanjutnya akan dilakukan analisis menggunakan spektrofotometer UV dan spektrofotometer-IR.

2. Identifikasi dengan Spektrofotometri Ultraviolet

Pengukuran serapan sampel dilakukan dengan spektrofotometer Ultraviolet pada panjang gelombang 200-400 nm. Pengukuran panjang gelombang dari kafein hasil kristalisasi dalam pelarut kloroform dengan menggunakan alat spektrofotometer Ultraviolet memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 276 nm, kafein hasil kristalisasi 275 nm dan hasil pengukuran menurut (Atomssa & Gholap, 2011) pada panjang gelombang 276 nm.

Dari hasil yang telah diperoleh terdapat sedikit perbedaan panjang gelombang serapan maksimum untuk kafein hasil kristalisasi dan kafein murni, perbedaan ini terjadi mungkin karena faktor suhu, pH, konsentrasi elektrolit, pelarut (Harmita, 2006) dan mungkin masih adanya zat pengotor yang terdapat pada kafein hasil kristalisasi, sehingga diperoleh hasil yang tidak jauh berbeda. Sedangkan kafein hasil kristalisasi dalam larutan kloroform diperoleh pada panjang gelombang 276 nm yang artinya hasil yang didapatkan sama dengan penelitian yang dilakukan oleh (Atomssa & Gholap, 2011). Dengan demikian maka kuat

dugaan bahwa hasil yang didapatkan adalah benar kafein. Selanjutnya data akan lebih diperkuat dengan identifikasi spektrofotometer IR.

3. Identifikasi dengan Spektrofotometer IR

Kemurnian kafein hasil isolasi dapat dikarakterisasi dengan spektrofotometer IR dan gugus fungsi akan memberikan hasil pengukuran angka gelombang yang spesifik. Pengukuran dilakukan pada daerah $600\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ karena pada daerah ini digunakan terutama dalam karakterisasi senyawa organik. Daerah dengan frekuensi lebih rendah 600 cm^{-1} disebut dengan inframerah jauh dan frekuensi yang lebih tinggi dari 4000 cm^{-1} disebut inframerah dekat (Watson, 2009). Pada karakterisasi tidak digunakan inframerah jauh karena mengandung sedikit serapan yang bermanfaat.

Dari spektrum FT-IR dapat dilihat bahwa terdapat kesamaan karakteristik puncak antara spektrum kafein murni dan kafein hasil kristalisasi. Namun terdapat perbedaan pada % transmittansi. Transmittansi untuk kafein murni yaitu 45 % sedangkan kafein hasil kristalisasi % transmittansi yang didapat 71 %. Semakin besar % transmittansi yang didapat semakin banyak frekuensi yang diteruskan dan sebaliknya semakin kecil % transmittansi yang didapat maka semakin banyak frekuensi yang diserap dan semakin sedikit frekuensi yang diteruskan (Dachriyanus, 2004).

Dari hasil yang didapatkan % transmittansi untuk kafein hasil kristalisasi lebih besar dari pada kafein murni, artinya lebih banyak frekuensi yang diteruskan dari pada yang diserap oleh kafein hasil kristalisasi. Hal ini terjadi mungkin dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti faktor kemurnian zat, dan mungkin kafein hasil isolasi masih mengandung pengotor (Watson, 2009). Setelah dilakukan identifikasi untuk kafein. Selanjutnya dilakukan rekristalisasi kafein salisilat.

-Rekristalisasi Kafein Salisilat

Kafein salisilat dapat disintesis dari prekursor kafein dan asam salisilat. Penggunaan 2 sampel bertujuan untuk mensintesis kafein salisilat dan mengetahui kafein salisilat yang dibuat secara sintetis adalah benar kafein salisilat.

Analisa kafein salisilat secara kualitatif dilakukan dengan penambahan FeCl_3 . Reaksi ini spesifik untuk asam salisilat yang akan membentuk warna ungu karena asam salisilat mempunyai gugus fenol. Pada penelitian ini kafein salisilat disintesis dengan menggunakan pelarut toluen, yang berfungsi untuk memutuskan ikatan. Kemudian masukkan ke dalam cawan penguap dan panaskan di atas penangas air sampai kering, sehingga diperoleh serbuk kafein salisilat. Kemudian ditambahkan petroleum eter setetes demi setetes sampai larutan menjadi keruh, selanjutnya dinginkan dengan cara meletakkan batu es di sekeliling cawan penguap untuk mempercepat proses kristalisasi kemudian disaring dengan menggunakan filtrasi vakum. Kafein salisilat hasil rekristalisasi akan berada dalam kertas saring. Kafein yang didapat selanjutnya ditimbang, sehingga didapat hasil rekristalisasi sebanyak 55 mg.

Serbuk kafein salisilat hasil rekristalisasi selanjutnya dikarakterisasi dengan uji organoleptis dan untuk melihat kemurniannya identifikasi dengan menggunakan alat spektrofotometer ultraviolet, spektrofotometer inframerah dan KLT.

-Uji identifikasi kafein salisilat

1. Uji organoleptis

Pada pemeriksaan organoleptis terdapat beberapa perbedaan hasil seperti perbedaan jarak lebur. Jarak lebur untuk kafein salisilat lebih rendah dibandingkan dengan jarak lebur untuk kafein, hal ini diasumsikan terjadi karena dipengaruhi oleh sifat fisika suatu zat yang berbeda dan tingkat kemurniannya, dimana semakin rendah titik leleh suatu zat maka semakin

kecil tingkat kemurniannya. Bila dibandingkan dengan penelitian (Abdullah *et al.*, 2013) maka jarak lebur kafein salisilat yang didapat adalah sama. Dimana hasil pemeriksaan jarak lebur dari kafein salisilat hasil kristalisasi didapatkan hasil 135-160 °C dan hasil pemeriksaan jarak lebur menurut (Abdullah *et al.*, 2013) 135 °C. Untuk membuktikan bahwa hasil yang didapat adalah benar kafein salisilat maka selanjutnya akan dilakukan analisa menggunakan alat spektrofotometer UV dan spektrofotometer-IR.

2. Identifikasi dengan Alat Spektrofotometer Ultraviolet

Pengukuran serapan sampel dilakukan dengan spektrofotometer ultraviolet pada panjang gelombang 200-400 nm, dimana hasil pengukuran panjang gelombang serapan maksimum larutan kafein hasil isolasi dalam pelarut kloroform memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 276 nm, asam salisilat 307 nm, dan kafein salisilat 276 nm, 307 nm dan 243 nm.

Hasil pengukuran panjang gelombang serapan maksimum untuk kafein dalam larutan kloroform adalah 276 nm, menunjukkan hasil yang sama seperti yang dilakukan oleh (Atomssa & Gholap, 2011). Sedangkan pengukuran panjang gelombang serapan maksimum untuk asam salisilat dalam larutan kloroform didapat 307 nm dan 243 nm yang berbeda dengan literatur, dimana menurut literatur panjang gelombang asam salisilat dalam larutan NaOH adalah 327 nm dan 240 nm (Armin *et al.*, 2012). Hal ini diasumsikan disebabkan karena perbedaan alat, dan kondisi pengukuran yang berbeda, perbedaan pelarut dan kemurnian zat. Untuk penentuan panjang gelombang serapan maksimum kafein salisilat dalam kloroform didapatkan pada panjang gelombang yaitu 307 nm, 276 nm, 243 nm. Puncak-puncak ini identik dengan serapan kafein dan asam salisilat sehingga dapat diasumsikan sintesis kafein salisilat berhasil dilakukan. Seterusnya data akan

lebih diperkuat dengan identifikasi menggunakan alat spektrofotometer- IR.

3. Identifikasi Dengan Alat Spektrofotometer IR

Gugus fungsi yang terhadap pada sampel hasil kristalisasi dapat ditentukan dengan menggunakan alat spektrofotometer. Hasil pemeriksaan spektrofotometer IR menunjukkan bahwa bilangan gelombang yang diperoleh pada kafein murni sama dengan kafein hasil kristalisasi, sedangkan untuk kafein salisilat bilangan gelombang yang diperoleh berbeda dengan kafein.

Untuk serapan kafein salisilat muncul serapan pada bilangan gelombang 2424,19 cm^{-1} yang berarti terdapat gugus asam, sedangkan pada kafein tidak terdapat bilangan gelombang tersebut. Hal ini terjadi karena campuran dari dua zat yaitu kafein dan asam salisilat, sehingga diasumsikan bilangan gelombang tersebut merupakan gugus asam dari asam salisilat.

Selain itu terdapat perbedaan persen transmittan untuk kafein murni, kafein hasil isolasi dan kafein salisilat. Dari hasil pengukuran didapatkan transmittan untuk kafein murni 45 %, kafein hasil kristalisasi 71 %, dan kafein salisilat 82 %. Dimana persen transmittan untuk kafein salisilat hasil kristalisasi lebih besar dibandingkan dengan persen transmittan kafein murni dan kafein hasil kristalisasi. Semakin tinggi persen transmittan yang didapat akan semakin sedikit frekuensi yang diteruskan dan sebaliknya semakin kecil persen transmittan yang didapat semakin banyak frekuensi yang diserap (Dachriyanus, 2004). Artinya lebih banyak frekuensi yang diteruskan dari pada yang diserap oleh kafein salisilat hasil kristalisasi. Hal ini terjadi mungkin dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti faktor penyimpanan, dan mungkin kafein hasil isolasi masih mengandung pengotor. Selanjutnya dilakukan identifikasi kafein dan kafein salisilat dengan KLT

-Uji Identifikasi Kafein dan Kafein Salisilat dengan KLT

Pada kromatografi lapis tipis komponen yang dipisahkan antara dua fase yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam akan menahan komponen campuran sedangkan fase gerak akan melarutkan zat komponen campuran. Komponen yang memiliki interaksi yang kuat dengan fase diam akan tertinggal, sedangkan komponen yang mudah larut dalam fase gerak akan bergerak lebih cepat.

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan salah satu metode analisis kualitatif dengan cara memisahkan komponen-komponen sampel berdasarkan perbedaan kepolaran. Pada pelat KLT, pelat tipis berfungsi sebagai fase gerak. Pada percobaan ini digunakan pelat silika gel 60 F₂₅₄ yang bersifat polar, karena silika gel dapat digunakan untuk memisahkan zat yang mengandung senyawa alkaloid. Fase gerak akan bergerak melalui fase diam dan membawa komponen-komponen dengan kecepatan yang berbeda untuk komponen yang berbeda. eluen yang digunakan yaitu kloroform dan etanol dengan perbandingan 99:1. Kemudian dilakukan penotolan sampel pada plat KLT dan dimasukkan di dalam chamber yang berisi fase gerak (kloroform dan etanol).

Sebelum dilakukan pemisahan, plat KLT diberi tanda terlebih dahulu, yaitu tanda batas bawah dan batas atas dengan pensil bukan menggunakan tinta karena pewarna dari tinta akan bergerak atau ikut terelusi. Di dalam *chamber* yang berisi campuran antara kloroform dan etanol terlebih dahulu dijenuhkan dengan menutup rapat chamber dengan tujuan agar eluen dalam *chamber* jenuh dengan uap pelarut, penjenuhan udara dalam *chamber* dengan uap dapat mencegah penguapan pelarut. Setelah *chamber* jenuh, maka plat KLT yang sudah ditotolkan dengan sampel dimasukkan ke dalam *chamber*. Ketika pelarut mulai membasahi plat, pelarut akan melarutkan senyawa-senyawa dalam sampel. Senyawa akan bergerak pada plat

seperti bergerakinya pelarut, setelah itu terbentuk beberapa spot noda karena sampel akan ikut berinteraksi dengan silika yang ada pada lempengan. Selanjutnya noda dideteksi di bawah sinar UV pada pada gelombang 254 nm, dan diperoleh nilai R_f untuk kafein standar 0,30, kafein hasil isolasi 0,30 dan kafein salisilat yaitu sebesar 0,36. Dari nilai R_f yang diperoleh dan dari semua uji identifikasi, karakterisasi yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa pada penelitian ini telah berhasil mengisolasi kafein dari kopi olahan tradisional.

KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan :

- 1 Hasil isolasi dan kristalisasi kafein dalam kopi bubuk olahan tradisional Kerinci diperoleh serbuk kafein sebanyak 128 mg.
- 2 Hasil sintesis kafein dari bubuk kopi olahan tradisional Kerinci dan asam salisilat diperoleh kafein salisilat sebanyak 55 mg.
- 3 Dari uji kualitatif yang telah dilakukan yakni uji spektrofotometri UV dan spektrofotometri IR menunjukkan adanya kafein dalam kopi bubuk olahan tradisional Kerinci dan telah berhasil disintesis menjadi kafein salisilat dan uji kualitatif dengan KLT didapatkan nilai R_f pembanding 0,30, kafein 0,30 dan kafein salisilat 0,36.
- 4 Pada penelitian ini peneliti telah berhasil mensintesis kafein salisilat dengan mengisolasi kafein dari bubuk kopi olahan tradisional Kerinci.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, Z. S., & Mehdi H. (2013). Study The Biological Activity of Caffeine Salicylate With Theoretical Investigations, *Journal of Babylon University /Pure and Applied Sciences*, 5, (21), 1669.
- Anggara, A. & Marini, S. (2011). *Kopi si hitam menguntungkan, budidaya dan pemasaran*. Yogyakarta: Cahaya Atma Pustaka.
- Armin, F., Rusdi., & Dantes, E. V. (2012). Penggunaan metode rasio absorban dalam penetapan kadar parasetamol dan salisilamida berbentuk sediaan campuran. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 17, (2), 172-184.
- Atomssa, A., & Gholap, A. V. (2011). Characterization of caffeine and determination of caffeine in tea leaves using uv-visible spectrometer. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, 5, (1), 1-8
- Arpah, M. (1993). *Pengawasan mutu pangan*. Bandung : Penerbit Tarsito.
- Dachriyanus. (2004). *Analisa struktur senyawa organik secara spektroskopi*. Padang: Andalas University Press.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Farmakope Indonesia*. (Edisi IV). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Gawade, S. P., (2014) Enhancement in cortical arousal by caffeine salicylate in experimental animal models. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research* 48, (3), 102-103.
- Harmita. (2006). *Analisis kuantitatif bahan baku dan sediaan farmasi*. Jakarta: Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia.
- Kementerian Kesehatan RI. (2014). *Farmakope Indonesia*. (Edisi V). Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Myerson, S. (2002). *Handbook of industry all crystallization*. Chicago: Department of Chemical Engineering Illionis Institute of technology
- Najiyati, S., & Danarti. (2004). *Budidaya kopi dan penanganan lepas panen*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Nawrot, P. S., Jordan, J., Easwood, J., Rotstein, A., & Hugenboltz, M. (2003). Effects of Caffeine on Human Health. *Journal Food Additives and Contaminants*, 20, (1), 1-30.
- Pavia, L., Lampman, G. M., & Kriz, E. (1988). *Introduction to organic laboratory techniques a contemporary approach*, (Third edition). Saunders : Collage Publish.
- Watson, D. G. (2009). *Analisis farmasi* (Edisi 2). Penerjemah: Winny R. Syarief. Jakarta: Buku Kedokteran.
- Yunison, I. (2014). *Isolasi dan kristalisasi kafein dari Bubuk kopi olahan tradisional Serta penetapan kadar secara spektrofotometri UV-VIS*. (Skripsi). Padang: Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi.