

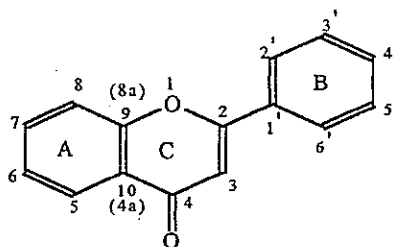
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Flavonoid

2.1.1 Keragaman Struktur Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang banyak terdapat pada tumbuh-tumbuhan tingkat tinggi dan biasanya terdapat dalam bentuk glikosida^[6]. Senyawa flavonoid mengandung 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi $C_6 - C_3 - C_6$, yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan menjadi satu oleh rantai linier yang terdiri dari tiga atom karbon. Rantai linier ini dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga^[6,7,8]. Cincin-cincin aromatik pada flavonoid biasanya ditandai dengan huruf A dan B; sedangkan cincin ketiga yang mungkin terbentuk diberi tanda C^[8]. Berdasarkan posisi cincin B pada rantai linier, terdapat tiga jenis flavonoid yaitu flavonoid (1,3 diarilpropana), isoflavonoid (1,2 diarilpropana), dan neoflavonoid (1,1 diarilpropana)^[7]. Kerangka dasar flavonoid ditampilkan pada Gambar 2.1^[8].



Gambar 2.1 Kerangka dasar flavonoid

Golongan utama flavonoid yang biasa dijumpai di alam adalah flavon, flavanon, flavanol, flavanonol, isoflavon, biflavonoid, dihidroflavonol, auron, antosianidin, kalkon, dihidrokalkon, dan katekin^[6,8].

Flavonoid merupakan pigmen yang memberi warna pada tumbuhan, misalnya antosianin yang disebut flavonoid kuning karena memberikan warna kuning pada bunga. Disamping flavonoid yang berwarna, terdapat juga flavonoid yang tidak berwarna seperti flavon, flavanol, dan isoflavon^[9].

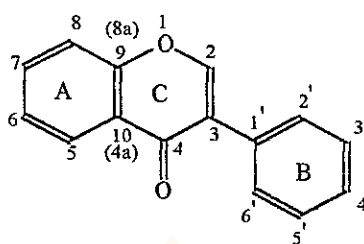
2.1.2 Sifat Kimia Flavonoid

Flavonoid adalah senyawa polifenol dan karena itu bersifat agak asam sehingga dapat bereaksi dengan basa^[10]. Karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil, atau suatu gula, flavonoid merupakan senyawa polar sehingga larut dalam pelarut-pelarut polar seperti etanol (EtOH), metanol (MeOH), butanol (BuOH), aseton, dimetilsulfoksida (DMSO), dimetil formamida (DMF), air, dan lain-lain. Adanya gula yang terikat pada flavonoid cenderung menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air. Sebaliknya, aglikon-aglikon yang kurang polar seperti isoflavon, flavanon, dan flavon serta flavonol yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform^[8].

2.1.3 Isoflavon

Senyawa isoflavon berbeda dengan flavonoid. Perbedaan ini terletak pada posisi cincin aromatik B pada rantai propana. Senyawa isoflavon tidak berwarna dan terdapat pada spesies-spesies dari familia leguminosae^[7] terutama tersebar pada daun, bunga, biji, dan akar^[9]. Dalam tumbuhan tersebut, isoflavon terdapat

dalam keadaan bebas atau sebagai glikosida. Glikosida yang umum adalah 7-glukosida dan 7-ramnoglukosida, sedangkan glikosida yang jarang adalah 4'-glukosida dan 4'-ramnoglukosida^[11]. Secara umum kerangka dasar isoflavon adalah seperti yang ditampilkan pada Gambar II.2^[8].



Gambar 2.2 Kerangka Dasar Isoflavon

Senyawa isoflavon yang biasa terdapat di alam adalah daidzein (7,4'-OH isoflavon), formononetin (4'-Me daidzein), genistein (5,7,4'-OH isoflavon), biokanin A (4'-Me genisitin), orobol (5,7,3',4'-OH isoflavon), tektorigenin (5,7,4'-OH 6-OMe isoflavon), dan baptigenin (5,7,3',4',5'-OH isoflavon)^[8].

2.2 Tempe

2.2.1 Kedelai dan Tempe Kedelai

Kedelai merupakan salah satu tanaman yang termasuk dalam golongan kacang-kacangan (leguminoceae). Tanaman kedelai termasuk tanaman tahunan dengan tinggi pohon antara 64 – 127 cm^[12]. Kedelai merupakan salah satu sumber protein terbesar. Protein-protein yang terdapat dalam kedelai adalah albumin

(10 %) dan globulin (90 %). Selain protein, kedelai juga mengandung karbohidrat, saponin, vitamin (terutama vitamin E, B₁, B₂, B₆, asam pantotenat, dan nikotinamida), dan mineral^[13].

Produk-produk makanan dari kedelai terutama adalah susu kedelai, minyak kedelai, dan tahu^[12]. Biji kedelai yang masih muda dimanfaatkan untuk pembuatan tempe^[14].

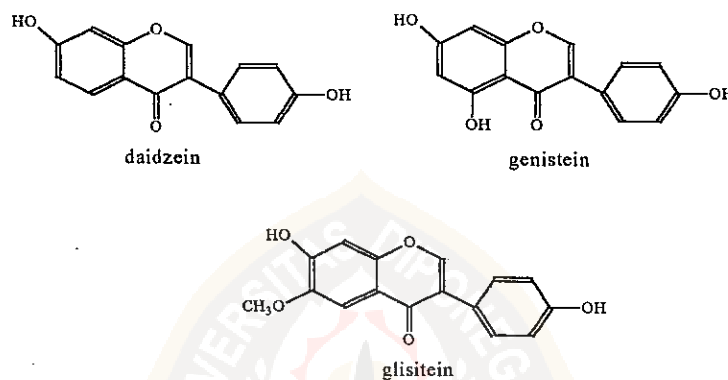
Tempe merupakan salah satu hasil olahan kedelai yang dibuat melalui fermentasi menggunakan kapang. Kapang yang berperan penting dalam proses fermentasi adalah *Rhizopus sp.* yang mengikat biji-biji kedelai menjadi satu masa yang kompak^[15].

Selama proses fermentasi kedelai, terjadi perubahan-perubahan biokimiawi akibat adanya degradasi beberapa polimer yang mengakibatkan naiknya kandungan bahan padat terlarut. Perubahan-perubahan yang terjadi diantaranya adalah naiknya kandungan beberapa asam amino, dan dibebaskannya asam-asam lemak terutama asam linoleat, asam palmitat, asam stearat dan asam oleat^[15].

2.2.2 Kandungan Senyawa dalam Kedelai dan Tempe Kedelai

Selain nutrisi, kedelai dan tempe kedelai juga mengandung senyawa-senyawa yang tergolong metabolit sekunder. Penelitian-penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa biji kedelai mengandung daidzein, daidzein 7-O-glukosida^[16], 6''-O-asetildaidzein^[17], genistein, genistein 7-O-glukosida^[16], 6''-O-asetilgenistein^[18], glisitein^[3], glisitein 7-O-glukosida^[16], koumestrol^[13].

Tempe yang merupakan hasil fermentasi kedelai, juga mengandung senyawa metabolit sekunder terutama isoflavon. Selama proses fermentasi, ikatan O-glikosidik pada isoflavon terhidrolisis oleh aktivitas jamur *Rhizopus sp.* sehingga menghasilkan aglikon isoflavon bebas. Aglikon isoflavon yang terdapat pada tempe adalah genistein, daidzein, dan glisitein^[19].



Gambar 2.3 Struktur Aglikon Isoflavon pada Tempe Kedelai

Aglikon-aglikon isoflavon pada tempe dapat mengalami transformasi lebih lanjut membentuk senyawa transforman baru. Salah satu senyawa hasil transformasi lanjut pada tempe adalah senyawa faktor 2 (6,7,4' trihidroksiisoflavon) yang terbentuk melalui reaksi demetilasi glisitein oleh bakteri *Brevibacterium epidermis* dan *Micrococcus luteus* atau melalui hidroksilasi daidzein oleh bakteri *Microbacterium arboreson*^[20,21].

Senyawa-senyawa isoflavon lain yang terdapat dalam tempe kedelai adalah 4'-hidroksi 6,7-dimetoksiisoflavon, 6-hidroksi-7,4'-dimetoksiisoflavon, dan 7-hidroksi-6,4'-dimetoksiisoflavon^[14].

Senyawa-senyawa isoflavon dalam tempe kedelai mengandung berbagai bioaktivitas seperti sebagai antibakteri^[16], antioksidan^[22], antihemolitik^[21], dan antikanker^[23]. Kedelai dan tempe kedelai juga mampu mencegah penyakit jantung^[24], dan osteoporosis pada wanita pasca menopause^[25,26].

Selain isoflavon, senyawa fenolik utama lainnya dalam tempe adalah tokoferol. Senyawa ini tidak mengalami perubahan selama proses fermentasi.^[5]

2.3 Tempe Gembus

Tempe gembus merupakan salah satu jenis makanan fermentasi dengan bahan dasar ampas tahu yang difermentasi dengan kapang *Rhizopus oligosporus* atau *Rhizopus oryzae* seperti tempe kedelai. Nama gembus tidak menggambarkan bahan dasar yang digunakan tetapi berdasarkan keadaan fisik/tekstur tempe yang liat seperti busa^[27].

Ampas tahu adalah limbah pembuatan tahu. Tahu dibuat dengan bahan dasar kedelai. Kedelai, pada proses pembuatan tahu, direndam dalam air, kemudian digiling dan dimasak. Dalam keadaan panas, rendaman tepung kedelai tersebut disaring. Filtrat hasil penyaringan diekstraksi lebih lanjut untuk menghasilkan tahu. Residu hasil penyaringan, yang disebut dengan ampas tahu dapat dimanfaatkan untuk pembuatan tempe gembus, kecap, dan taucu^[28,29]. Karena ampas tahu merupakan residu penyaringan kedelai, dapat diperkirakan nilai gizi ampas tahu lebih rendah dibanding dengan kedelai.

Perbandingan nilai gizi kedelai dan ampas tahu disajikan pada Tabel 2.1^[29].

Tabel 2.1 Perbandingan Kadar Gizi Kedelai dan Ampas Tahu

Bahan	Kandungan (% rata-rata)	
	Kedelai	Ampas tahu
Air	8,0	5,4
Protein	40,0	20,1
Karbohidrat	12,0	23,5
Serat	3,5	20,0
Lemak	16,0	7,5

Proses pembuatan tempe gembus dari ampas tahu meliputi proses pemerasan, pengukusan, pendinginan, penambahan inokulum tempe, pengemasan dengan kantung plastik yang berlubang, dan inkubasi^[30].

Proses pembuatan tempe gembus pada dasarnya sama dengan proses pembuatan tempe pada umumnya hanya saja sebelum diinokulasi, ampas tahu terlebih dahulu diperas untuk mengurangi kadar air, dikukus untuk membunuh bakteri-bakteri kontaminan, dan ditiris dan didinginkan untuk mengurangi kadar air dan menurunkan suhu bahan hingga sesuai dengan kondisi pertumbuhan jamur. Inokulasi dapat dilakukan menggunakan berbagai bentuk inokulan seperti usar yang dibuat dari daun waru (*Hibiscus triliaceus*) atau jati, ragi tempe yang dibuat dari tepung beras, atau spora *Rhizopus oligosporus*^[29].

Fermentasi tempe dilakukan selama 36-48 jam. Selama proses fermentasi terjadi perubahan-perubahan komponen dalam bahan. Persyaratan inkubasi untuk

tempe adalah kelembaban, kebutuhan oksigen, dan suhu yang sesuai dengan pertumbuhan jamur^[31].

Karena perubahan-perubahan kimia yang terjadi akibat proses fermentasi, kandungan gizi tempe gembus berbeda dengan ampas tahu. Kandungan gizi tempe gembus disajikan pada Tabel 2.2^[32].

Tabel 2.2 Kandungan Gizi Tempe Gembus

Bahan	Kandungan (% rata-rata)
Air	81
Protein	4,9
Karbohidrat	2,3
Lemak	11

Berdasarkan penelitian sebelumnya, diketahui tempe gembus mempunyai aktivitas antioksidasi yang semakin naik dengan naiknya waktu fermentasi. Aktivitas tertinggi ditunjukkan oleh tempe gembus dengan waktu fermentasi 48 jam^[4].

2.4 Isolasi dan Pemurnian

2.4.1 Ekstraksi

Prosedur untuk memperoleh kandungan senyawa organik dari jaringan tumbuhan kering adalah dengan melakukan ekstraksi. Ekstraksi dibedakan dalam dua cara yaitu ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang panas yaitu dengan

menggunakan alat sokhlet dan dengan menggunakan pelarut pada suhu kamar, yaitu menggunakan perkolator. Ekstraksi dengan menggunakan alat sokhlet pada umumnya dilakukan untuk bahan yang sedikit dan tidak membutuhkan pelarut organik yang banyak, karena pelarut yang telah pekat akan terkondensasi oleh kondensor dan akan mengalir kembali ketempat bahan yang diekstraksi, sehingga terjadi ekstraksi berkesinambungan. Sedang perkolasi dilakukan dalam wadah yang silindris atau kerucut yang memiliki jalan masuk dan keluar yang sesuai dengan bahan dan pelarut. Melalui pergantian pelarut secara terus-menerus, berlangsung suatu proses ekstraksi yang berulang-ulang^[33].

Salah satu metode ekstraksi untuk mengisolasi isoflavon adalah dengan menggunakan pelarut metanol 80 %. Sebelum diekstraksi, terlebih dahulu dilakukan pemisahan lemak dari sampel dengan alat soxhlet. Isolasi dilakukan dua kali, masing-masing menggunakan metanol 80 % dan metanol murni. Pada tiap tahap ekstraksi, campuran sampel dan pelarut disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 4 °C selama 12 jam^[34].

2.4.2 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis adalah metode kromatografi yang paling sering digunakan untuk menguji kemurnian senyawa organik^[35]. Kromatografi lapis tipis sangat penting untuk pemisahan dan analisis kualitatif senyawa dalam jumlah kecil. Aplikasi kromatografi lapis tipis antara lain untuk:

- memastikan kesamaan dua senyawa
- menentukan komponen dalam campuran

- menentukan pelarut yang cocok untuk pemisahan dengan kromatografi kolom
- mengetahui efektivitas pemisahan oleh kromatografi kolom
- mengamati jalannya reaksi^[36].

Pada kromatografi lapis tipis, larutan cuplikan dalam pelarut yang mudah menguap diletakkan diatas plat dengan menggunakan pipet atau alat penyuntik. Bila noda telah kering, plat diletakkan secara vertikal dalam bejana yang berisi eluen (fasa bergerak) yang sesuai, dengan tepi yang bawah dicelupkan dalam eluen. Pada akhir pengembangan, pelarut dibiarkan menguap dari plat dan noda-noda yang terpisah dilokalisasi dan diidentifikasi secara fisika dan kimia^[37].

Kromatografi lapis tipis merupakan metode kromatografi yang serbaguna karena terdapat sejumlah penyerap yang dapat disapukan pada plat kaca, lembaran aluminium, atau plastik. Penyerap yang paling sering digunakan adalah silika gel. Plat silika gel untuk kromatografi lapis tipis biasanya dicampur dengan indikator timah kadmium sulfida atau mangan silika aktif. Jenis ini dikenal dengan Silica Gel GF atau Silica Gel GF₂₅₄^[38].

Kromatografi lapis tipis dapat juga digunakan untuk pemisahan senyawa dalam skala kecil. Metodenya disebut kromatografi lapis tipis (KLT) preparatif. Keuntungan KLT preparatif dibandingkan dengan kromatografi kolom antara lain adalah:

1. Mampu menghasilkan pemisahan yang tajam dan dapat dibedakan
2. Kondisinya dapat disiapkan sebelumnya dengan analisis cepat KLT
3. Dapat dipisahkan dengan mudah dan dielus^[39].

Ukuran plat untuk KLT preparatif biasanya adalah 20 x 40 cm dengan ketebalan penyerap 0,5 – 2 mm^[40].

2.5 Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom adalah metode pemisahan campuran zat-zat organik yang dilakukan dengan mengadsorpsi zat pada kolom berisi adsorben dan mengelusi kolom dengan pelarut yang sesuai untuk menarik zat tersebut^[36].

Untuk memisahkan suatu campuran, campuran dimasukkan dalam kolom yang diisi dengan penyerap sebagai fasa tetap. Pelarut (fasa bergerak) dialirkan melalui kolom untuk mengangkut senyawa-senyawa yang merupakan komponen-komponen campuran. Kecepatan bergerak suatu komponen tergantung pada seberapa besar zat tersebut tertahan oleh penyerap dalam kolom. Senyawa yang non polar bergerak lebih cepat karena affinitasnya terhadap penyerap rendah^[37]. Keberhasilan kromatografi kolom dipengaruhi beberapa faktor, yaitu:

1. Pemilihan adsorben

Adsorben yang mengikat kuat senyawa polar maupun non polar akan menyulitkan pemisahan karena komponen sulit bergerak melalui kolom^[36]. Untuk memisahkan aglikon-aglikon flavonoid, terutama flavonoid-flavonoid yang kurang polar seperti isoflavon, flavanon, dan flavonol, penyerap yang sering digunakan adalah silika. Penyerap lain yang dapat digunakan adalah poliamida yang dapat memisahkan semua flavonoid dan selulosa yang digunakan untuk memisahkan glikosida^[8].

2. Pelarut^[36]

Pada umumnya, untuk memisahkan campuran flavonoid, kolom harus dielusi dengan pelarut atau campuran pelarut yang berurutan, dimulai dengan pelarut yang non polar dan sedikit demi sedikit meningkat sampai ke pelarut yang paling polar. Jika penyerap yang digunakan adalah silika gel, urutan kepolaran pelarut dari yang polar sampai ke yang non polar adalah:

Air > asam format > metanol > asam format > isopropil alkohol > aseton >

Butanol > etil asetat > eter > kloroform > benzena^[8]

2.5 Identifikasi Senyawa Flavonoid

2.5.1 Uji Warna

Kebanyakan senyawa flavonoid tidak terlihat pada plat KLT, kecuali antosianin, kalkon, auron, dan 6-hidroksi flavonol. Karena alasan tersebut, untuk mendeteksi noda dilakukan dengan sinar ultraviolet pada gelombang panjang (366 nm)^[8].

Untuk meningkatkan kepekaan deteksi, dapat juga dilakukan penambahan uap amonia pada noda. Flavonoid adalah senyawa fenolik sehingga bila direaksikan dengan basa atau amonia warnanya akan berubah. Setiap golongan flavonoid cenderung menghasilkan perubahan warna yang berlainan akibat terurainya gugus-gugus hidroksil. Karenanya, dapat dikatakan bahwa perubahan warna ada kaitannya dengan struktur senyawa yang bersangkutan, sehingga dapat digunakan untuk menentukan golongan flavonoidnya^[8]. Penafsiran warna noda

dari segi struktur flavonoid setelah penambahan uap amonia disarikan pada tabel 2.3.

Tabel 2.3 Uji Warna Senyawa Flavonoid dengan NH₃^[8]

UV		Senyawa flavonoid
Tanpa NH ₃	Dengan NH ₃	
Ungu tua	Kuning, kuning-hijau, atau coklat	a. Biasanya flavon dengan 5-OH dan 4-OH atau flavonol (3-OH) dengan 5-OH dan 4'-OH b. Flavon (5-OH) dan kalkon (4-OH) tanpa gugus hidroksi pada cincin B
	sedikit atau tidak ada perubahan warna	a. Flavon atau flavonol dengan 5-OH, tetapi tanpa atau dengan 4'-OH tersubstitusi b. Isoflavon, dihidroflavonol dan beberapa flavanon dengan 5-OH c. Kalkon dengan 2'- atau 6'-OH, tetapi tanpa 2- atau 4-OH bebas
	Biru terang	beberapa flavanon (5-OH)
	merah atau oranye	kalkon dengan 2-OH atau 4-OH bebas
biru fluoresensi	kuning-hijau atau biru-hijau fluoresensi	a. Flavon dan flavanon tanpa 5-OH bebas b. Flavonol tanpa 5-OH bebas tetapi dengan 3-OH tersubstitusi
	sedikit atau tanpa perubahan	isoflavon tanpa 5-OH bebas
	Biru fluoresensi	isoflavon tanpa 5-OH bebas
tanpa warna	biru fluoresensi (terang)	isoflavon tanpa 5-OH bebas
kuning/oranye	sedikit atau tanpa perubahan	a. flavanol dengan 3-OH bebas dan dengan atau tanpa 5-OH bebas b. Auron dengan 4'-OH bebas dan beberapa 2-OH atau 4-OH kalkon
kuning, kuning-hijau, biru-hijau	sedikit atau tanpa perubahan	a. Auron tanpa 4'-OH bebas dan flavanon tanpa 5-OH bebas b. Flavanol dengan 3-OH bebas dan dengan atau tanpa 5-OH bebas
kuning lemah	kuning-ungu terang	Dihidroflavanol tanpa 5-OH

Metode uji warna flavonoid lainnya adalah penyemprotan dengan AlCl_3 5%. Tiap-tiap golongan flavonoid mengalami perubahan warna yang spesifik setelah penambahan AlCl_3 5%^[41]. Tabel 2.4 menyajikan perubahan warna noda tiap golongan flavonoid setelah penambahan AlCl_3 5%.

Tabel 2.4 Uji Warna Senyawa Flavonoid dengan AlCl_3 ^[41]

Golongan	AlCl_3 (tampak)	AlCl_3 (UV)
Flavon	kuning pucat	hijau fluoresensi, kuning, coklat
Flavonol	Kuning	hijau atau kuning fluoresensi
Isoflavon	tanpa warna	kuning fluoresensi
katekin	tanpa warna	tanpa warna, biru pucat, kuning putih
flavanon	tanpa warna	hijau-kuning, biru-putih
auron	kuning pucat, oranye	hijau fluoresensi, kuning hijau, coklat pucat
kalkon	kuning, oranye, kuning-oranye	oranye fluoresensi, hijau kuning, coklat pucat

2.5.2 Spektroskopi Ultraviolet dan Tampak

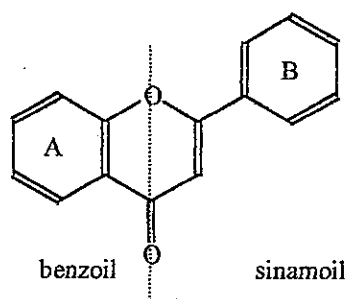
Spektroskopi ultraviolet dan tampak memberikan informasi mengenai transisi elektronik dalam suatu molekul. Daerah spektra elektromagnetik ultraviolet terletak pada kisaran 200-300 nm, sedangkan daerah tampak adalah 350-800 nm. Penyerapan energi oleh suatu molekul dalam daerah ultraviolet dan tampak menghasilkan eksitasi elektron dari orbital terisi (occupied orbital) dengan

tingkat energi rendah ke orbital tak terisi (unoccupied orbital) dengan tingkat energi tinggi^[42,43].

Spektra elektron suatu molekul adalah hasil transisi antara dua tingkat energi elektron pada molekul tersebut. Sistem atau gugus atom yang menyebabkan absorpsi cahaya disebut kromofor. Pada umumnya senyawa yang mempunyai transisi σ - σ^* mengabsorpsi cahaya pada panjang gelombang sekitar 150 nm, sedangkan senyawa yang mempunyai transisi n - σ^* dan π - π^* (disebabkan oleh kromofor tak terkonjugasi) mengabsorpsi cahaya pada panjang gelombang sekitar 200 nm. Senyawa yang mempunyai transisi n - π^* mengabsorpsi cahaya pada panjang gelombang 200-400 nm^[45].

Dengan spektroskopi ultraviolet dan tampak sampel dapat diukur dalam larutan yang sangat encer dan pelarut tidak harus menyerap pada panjang gelombang dimana dilakukan pengukuran^[10,43].

Spektra ultraviolet flavonoid terdiri dari dua puncak yang disebut dengan puncak I dan puncak II. Puncak I (sekitar 300 – 550 nm) merupakan serapan cincin B sistem sinamoil, sedangkan puncak II (sekitar 240 – 285) merupakan serapan cincin A sistem benzoil.



Pelarut yang biasa digunakan untuk pengukuran spektrum ultraviolet flavonoid adalah metanol. Untuk mengetahui posisi gugus hidroksil pada struktur flavonoid, digunakan pelarut-pelarut geser. Pereaksi geser yang sering digunakan adalah NaOMe, NaOAc, dan AlCl₃. Pergeseran pita sebagai hasil reaksi flavonoid dengan pereaksi geser dapat digunakan untuk menentukan posisi gugus-gugus OH pada struktur flavonoid^[44]. Pereaksi-pereaksi geser dapat ditambahkan pada sampel yang sudah dilarutkan dalam metanol. Untuk senyawa isoflavon, penafsiran spektra ultraviolet dengan penambahan pereaksi geser disajikan pada Tabel 2.5^[46].

Tabel 2.5. Spektra Ultraviolet dan Tampak Isoflavon Dengan Penambahan Pereaksi Geser

Isoflavon	Panjang gelombang maksimum (nm)			
	MeOH	NaOMe	AlCl ₃	NaOAc
Daidzein	328, 249, 259, 303	259, 289, 328	240, 249, 260, 300	253, 272, 310, 330
Daidzin	256, 313	256, 272, 320	258, 304	256, 322
Genistein	261, 328	276, 327	272, 307, 372	271, 325
Genistin	261, 330	271, 356	272, 308, 375	261, 331

2.5.3 Spektroskopi Infra Merah

Kedudukan atom-atom dalam molekul tidaklah tetap, tetapi selalu bergerak secara periodik. Atom-atom mengalami getaran (vibrasi) atau osilasi (osilation). Bila suatu molekul menyerap radiasi elektromagnetik pada daerah infra merah, energi yang diserap menyebabkan kenaikan amplitudo gerakan atom.

Tingkat energi vibrasi ikatan berada pada keadaan tetap (terkuantisasi). Panjang gelombang absorpsi suatu ikatan bergantung pada macam getaran ikatan tersebut. Oleh karena itu, tiap ikatan yang berlainan menyerap radiasi inframerah pada panjang gelombang yang berlainan. Sehingga, dua senyawa tidak mungkin menghasilkan spektra inframerah yang sama, kecuali enantiomer^[42,47,48].

Skala dasar spektra adalah bilangan gelombang, yang berkurang dari 4000 cm^{-1} ke sekitar 670 cm^{-1} atau lebih rendah. Daerah antara 1400-4000 cm^{-1} , bagian kiri spektra merupakan daerah yang khusus berguna untuk identifikasi gugus-gugus fungsional. Daerah ini menunjukkan absorpsi yang disebabkan oleh modus uluran. Daerah di kanan 1400 cm^{-1} seringkali rumit karena adanya absorpsi oleh modus uluran maupun tekukan. Dalam daerah ini biasanya korelasi antara suatu pita dan suatu gugus fungsional spesifik tidak dapat ditarik dengan cermat. Meskipun demikian, tiap senyawa organik mempunyai serapan yang unik di daerah ini. Oleh karena itu, bagian spektra ini disebut daerah sidik jari (fingerprint region)^[47].