

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Semangka (*Citrullus lanatus tunb*)

Buah semangka banyak mengandung air. Kandungan lainnya adalah protein, karbohidrat, lemak, serat, abu dan vitamin (A,B dan C) juga mengandung asam amino, sirulin, asam aminoasetat, asam malat, asam fosfat, arginine, betain, likopen, karoten, bromine, natrium, kalium, silvit, lisin, fruktosa, dekstrosa dan sukrosa. Warna merah pada semangka menandakan tingginya kadar likopen, salah satu komponen karotenoid seperti halnya betakaroten (Anonim, 2012).

Likopen termasuk salah satu kelompok senyawa karotenoid. Oleh karena itu karotenoid termasuk terpenoid, maka likopen juga termasuk terpenoid. Likopen ditemukan pada buah-buahan, yakni pemberi warna merah pada buah. Buah semangka termasuk buah yang mengandung likopen cukup tinggi. Buah lain yang juga mengandung likopen adalah buah tomat, papaya dan jambu biji (Mappiratu, 2013).

Likopen atau yang sering disebut sebagai α -karoten adalah suatu karotenoid pigmen merah terang. Likopen merupakan karotenoid yang sangat dibutuhkan oleh tubuh yang merupakan salah satu antioksidan yang sangat kuat (wikipedia, 2013). Kemampuannya mengendalikan radikal bebas 100 kali lebih efisien dari pada vitamin E atau 12500 kali dari pada glutathion. Selain sebagai anti skin aging, likopen juga memiliki manfaat untuk mencegah penyakit cardiovascular, kencing manis, *osteoporosis*, *infertility*, dan kanker terutama kanker prostat (Maulida, 2010). Likopen mencegah Kanker. Warna merah pada semangka menandakan tingginya kadar likopen. Karena itu, makan semangka

merah lebih disarankan daripada semangka kuning. Dibandingkan dengan senyawa antioksidan lainnya (khususnya vitamin C dan E), kekuatan likopen semangka dalam memerangi radikal bebas, jauh lebih ampuh. Kekuatannya sebagai antioksidan dua kali lipat dari betakaroten (provitamin A) dan sepuluh kali lipat dibandingkan vitamin E. Jadi reaksi likopen sebagai antioksidan di dalam tubuh, jauh di atas vitamin A, C, E, maupun mineral lainnya.

Sebuah penelitian yang dilakukan di Universitas Yale, AS, pada 473 pria, menemukan fakta bahwa pria yang bebas kanker prostat memiliki lebih banyak likopen dalam darahnya dibanding mereka yang sakit. Penelitian yang sama juga pernah dilakukan oleh Universitas Harvard pada tahun 2002 yang membuktikan bahwa laki-laki yang mengonsumsi likopen dalam jumlah banyak, memiliki risiko penyakit kanker lebih rendah, khususnya kanker prostat.

Dalam sistematika (taksonomi) tanaman semangka diklasifikasikan sebagai berikut :

- a. Kingdom : Plantae (tumbuh- tumbuhan)
- b. Divisio : Magnoliophyta (tumbuhan berbiji)
- c. Kelas : Magnoliopsida (biji berkeping dua)
- d. Sub Kelas : Dilleniidae
- e. Ordo : Violales
- f. Famili : Cucurbitaceae
- g. Genus : Citrullus
- h. Species : Citrullus lanatus (Tunb)

(http://www.petanihebat.com/2013/05/klasifikasi-dan-morfologitanaman_28.html)

Adapun kandungan gizi buah semangka dapat dilihat dari Tabel 1 berikut

ini :

Tabel 1. Kandungan gizi buah semangka per 100 gram bahan

Informasi Gizi	Jumlah
Energi	30 kkal
Lemak	0,15 gr
Lemak jenuh	0,016 gr
Lemak tak jenuh tunggal	0,037 gr
Kolesterol	0 mg
Protein	0,61 g
Karbohidrat	7,55 g
Serat	0,4 g
Gula	6,2 g
Sodium	1 mg
Kalium	112 mg
Lemak tak jenuh ganda	0,05 g

(Sumber Informasi Gizi : <http://www.fatsecret.co.id/kalori-gizi/umum/semangka.2015>)

Tabel 2. Kandungan Likopen Buah Segar (mcg/gr berat kering)

Buah	Jumlah
Tomat mentah	8,8-42
Semangka	23-72
Jeruk besar merah muda	3,6-34
Pepaya	20-53
Jambu biji merah	7,8

(Sumber : Wordpress.com,2013)

2.2 Antioksidan

2.2.1 Pengertian Antioksidan

Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang dapat menunda, memperlambat, dan mencegah proses oksidasi lipid. Dalam arti khusus, antioksidan adalah zat yang dapat menunda atau mencegah terjadinya reaksi antioksidasi radikal bebas dalam oksidasi lipid (Kochhar dan Rossell, 1990). Sumber-sumber antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok, yaitu antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami). Beberapa

contoh antioksidan sintetik yang diijinkan penggunaannya untuk makanan dan penggunaannya telah sering digunakan, yaitu butil hidroksi anisol (BHA), butil hidroksi toluen (BHT), propil galat, tert-butil hidroksi quinon (TBHQ) dan tokoferol. Antioksidan-antioksidan tersebut merupakan antioksidan alami yang telah diproduksi secara sintesis untuk tujuan komersial. Antioksidan alami di dalam makanan dapat berasal dari (a) senyawa antioksidan yang sudah ada dari satu atau dua komponen makanan, (b) senyawa antioksidan yang terbentuk dari reaksi-reaksi selama proses pengolahan, (c) senyawa antioksidan yang diisolasi dari sumber alami dan ditambahkan ke makanan sebagai bahan tambahan pangan (Pratt, 1992).

Senyawa antioksidan yang diisolasi dari sumber alami adalah yang berasal dari tumbuhan. Kingdom tumbuhan, *Angiosperm* memiliki kira-kira 250.000 sampai 300.000 spesies dan dari jumlah ini kurang lebih 400 spesies yang telah dikenal dapat menjadi bahan pangan manusia. Isolasi antioksidan alami telah dilakukan dari tumbuhan yang dapat dimakan, tetapi tidak selalu dari bagian yang dapat dimakan. Antioksidan alami tersebar di beberapa bagian tanaman, seperti pada kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, bunga, biji dan serbuk sari (Pratt, 1992).

Senyawa antioksidan alami tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol dan asam-asam organik polifungsional. Golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon, kateksin, flavonol dan kalkon. Sementara turunan asam sinamat meliputi asam kafeat, asam ferulat, asam klorogenat, dan lain-lain.

Persyaratan (sesuai peraturan/undang – undang) : Antioksidan sebagai bahan tambahan pangan batas maksimum penggunaannya telah diatur oleh peraturan oleh Peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor : 772/Menkes/Per/IX/88 tertulis dalam lampiran I, antioksidan yang diizinkan penggunaannya antara lain asam askorbat, asam eritrobat, askorbil palmitat, askorbil stearat, butyl hidroksilanol (BHA), butyl hidrokinin tersier, butyl hidroksitoluen, dilauril tiiodipropionat, propel gallat, timah (II) klorida, alpha tokoferol, tokoferol, campuran pekat. (Wisnu Cahyadi,2008).

Likopen adalah antioksidan yang poten. Senyawa ini mempunyai kemampuan untuk mengeliminasi radikal bebas. Radikal bebas dapat berikatan terhadap DNA, protein dan lemak dan akan merusak fungsi fisiologisnya, yang pada gilirannya dapat menyebabkan berkembangnya penyakit kronis, seperti kanker, penyakit jantung dan penyakit yang berhubungan dengan ketuaan.¹⁰ Dr.Giovanucci menegaskan bahwa likopen merupakan eliminator radikal bebas yang sangat efektif di antara karotenoid yang umum.

Mekanisme kerja likopen untuk mengurangi resiko kanker seperti kanker prostat belum diketahui secara jelas hingga saat ini. Kemungkinannya adalah kemampuan proteksi likopen terhadap proses penuaan sel-sel epitel prostat yang disebabkan oleh spesies oksigen reaktif.⁸ Hal lain adalah kemampuan likopen untuk menghambat proliferasi sel melalui proses fosforilasi tirosin reseptor IGF, seperti pada sel-sel kanker payudara (Karas, et all 2000).Ada dua mekanisme kerja likopen yang utama dalam mencegah penyakit kronis termasuk kanker dan degeneratif, yaitu:

- 1) Melalui kerja oksidatif yakni sebagai antioksidan yang akan meredam spesies oksigen reaktif dan meningkatkan potensi antioksidan sehingga

mengurangi kerusakan oksidatif pada lipid (termasuk lipid membran dan lipoprotein), protein dan DNA.

- 2) Mekanisme non-oksidatif melalui pengaturan fungsi gen, memperbaiki *gap-junction communication*, *modulasi hormone* dan respon imun dan pengaturan metabolisme yang semuanya kan menyebabkan penurunan resiko penyakit kronik

(sumber : <http://sucicahyati.blogspot.com/2010/11/likopen-senyawa-anti-oksidan.html>)

2.2.2 Fungsi zat antioksidan

Terdapat beberapa fungsi zat antioksidan yang sangat penting bagi tubuh manusia. Berkaitan dengan fungsinya, senyawa antioksidan di klasifikasikan dalam lima tipe antioksidan, yaitu sebagai berikut:

1. *Primary antioxidants*

Primary antioxidants, yaitu senyawa-senyawa fenol yang mampu memutus rantai reaksi pembentukan radikal bebas asam lemak. Dalam hal ini memberikan atom hidrogen yang berasal dari gugus hidroksi senyawa fenol sehingga terbentuk senyawa yang stabil. Senyawa antioksidan yang termasuk kelompok ini, misalnya BHA, BHT, PG, TBHQ, dan tokoferol.

2. *Oxygen scavengers*

Oxygen scavengers, yaitu senyawa-senyawa yang berperan sebagai pengikat oksigen sehingga tidak mendukung reaksi oksidasi. Dalam hal ini, senyawa tersebut akan mengadakan reaksi dengan oksigen yang berada dalam sistem sehingga jumlah oksigen akan berkurang.

Contoh dari senyawa-senyawa kelompok ini adalah vitamin C (asam askorbat), askorбилpalminat, asam eritorbat, dan sulfat.

3. *Secondary antioxidants*

Secondary antioxidants, yaitu senyawa-senyawa yang mempunyai kemampuan untuk berdekomposisi hidroperoksida menjadi produk akhir yang stabil. Tipe antioksidan ini pada umumnya digunakan untuk menstabilkan poliolefin resin. Contohnya, asam tiodipropionat dan dilauriltiopropionat.

4. *Antioxidative Enzimel*

Antioxidative Enzimel, yaitu enzim yang berperan mencegah terbentuknya radikal bebas. Contohnya glukose oksidase, superoksidase dismutase(SOD), glutathion peroksidase, dan katalase.

5. *Chelators sequestrants*

Chelators sequestrants, yaitu senyawa-senyawa yang mampu mengikat logam seperti besidam tembaga yang mampu mengkatalis reaksi oksidasi lemak. Senyawa yang termasuk didalamnya adalah asam sitrat, asam amino, ethylenediaminetetra acetid acid (EDTA), dan fosfolipid.

(Sumber : Physycologimania,2013)

2.3 Likopen

Likopen merupakan salah satu senyawa fitokimia (*phytochemical*) atau fitonutrien yang bermanfaat bagi kesehatan, seperti senyawa karotenoid lainnya misalnya xantin, lutein, dan lain-lain. Senyawa ini berbeda dari vitamin dan mineral yang tidak membahayakan nyawa bila terjadi defisiensi, tetapi mempunyai fungsi yang penting bagi kesehatan manusia. Senyawa ini larut

dalam air sehingga tidak sulit untuk mendapatkannya. Likopen merupakan pigmen yang disintesis oleh tanaman dan mikroorganisme, yang memberikan warna merah kekuningan pada buah dan sayuran, dan termasuk dalam kelompok karotenoid. (sumber :<http://sucicahyati.blogspot.com/2010/11/likopen-senyawa-anti-oksidan.html>)

Likopen mempunyai aktivitas penekanan proliferasi/multiplikasi sel. Karena fungsi inilah likopen banyak disebut-sebut sebagai antikanker. Saat ini telah banyak dibuktikan secara klinis peran likopen sebagai salah satu senyawa yang berperan pada pencegahan kanker sel epitel terutama kanker prostat, paru dan saluran cerna. Karena mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi, likopen mampu memperlambat atau bahkan mencegah proses oksidasi dari molekul lain dan mengeliminasi radikal bebas dalam tubuh yang dapat menyebabkan kerusakan sel. Sebenarnya radikal bebas, termasuk ROS (*reactive oxygen species*), penting artinya bagi kesehatan dan fungsi tubuh yang normal dalam memerangi peradangan, membunuh bakteri, dan mengendalikan tonus otot polos pembuluh darah dan organ-organ dalam tubuh kita. Namun bila dihasilkan melebihi batas kemampuan proteksi antioksidan seluler, maka dia akan menyerang sel itu sendiri. Struktur sel yang berubah turut merubah fungsinya, yang akan mengarah pada proses munculnya penyakit. Radikal bebas yang merupakan bentuk dari hasil pembakaran seperti asap kendaraan, asap rokok yang kita hirup dan paparan sinar UV matahari yang terus menerus, harus dikurangi dengan banyak mengkonsumsi makanan yang mengandung antioksidan tinggi diantaranya adalah buah-buahan seperti semangka dan tomat. Radikal bebas bersifat reaktif karena mempunyai satu electron bebas yang tidak berpasangan dan cenderung memutuskan electron bebas dari lipid, protein dan

DNA dalam tubuh agar dapat mencapai keadaan stabil, karna inilah jaringan sel cepat rusak sehingga dapat menyebabkan (salah satunya) penuaan dini. Likopen disini mampu mengeliminasi intermediet radikal dan mencegah reaksi oksidasi berantai yang lain dengan menjadi senyawa yang dioksidasi serta berpasangan dengan radikal bebas yang mempunyai satu electron tak stabil sehingga membentuk senyawa yang lebih stabil. (sumber: <http://sucicahyati.blogspot.com/2010/11/likopen-senyawa-anti-oksidan.html>)

2.4 Spektrofotometri

Spektrofotometri merupakan salah satu metode analisis instrumental yang menggunakan dasar interaksi energy dan materi. Spektrofotometri dapat dipakai untuk menentukan konsentrasi suatu larutan melalui intensitas serapan pada panjang gelombang tertentu. Panjang gelombang yang dipakai adalah panjang gelombang maksimum yang memberikan absorbansi maksimum. Salah satu prinsip kerja spektrofotometri didasarkan pada fenomena penyerapan sinar oleh spesi kimia tertentu didaerah ultra violet dan sinar tampak (*visible*). (Sumber: <https://wanibesak.wordpress.com/2011/07/04/pengertian-dasar-spektrofotometer-vis-uv-uv-vis>)

Pada spektrofotometer, yang penting untuk diperhatikan ialah perbedaan antara spektrofotometer sinar tunggal dan spektrofotometer sinar ganda. Spektrofotometer sinar tunggal biasanya dipakai untuk kawasan spectrum ultraungu dan cahaya yang terlihat. Spektrofotometer sinar ganda dapat dipergunakan baik dalam kawasan ultraungu dan cahaya yang terlihat maupun dalam kawasan inframerah. (Sumber : O.G.Brink, 1985)

2.4.1 Spektrofotometri Sinar Tampak (*visible*)

Spektrofotometri visible disebut juga spektrofotometri sinar tampak. Yang dimaksud sinar tampak adalah sinar yang dapat dilihat oleh mata manusia. Cahaya yang dapat dilihat oleh mata manusia adalah cahaya dengan panjang gelombang 400-800 nm dan memiliki energi sebesar 299–149 kJ/mol. Elektron pada keadaan normal atau berada pada kulit atom dengan energi terendah disebut keadaan dasar (*ground-state*). Energi yang dimiliki sinar tampak mampu membuat elektron tereksitasi dari keadaan dasar menuju kulit atom yang memiliki energi lebih tinggi atau menuju keadaan tereksitasi.

Cahaya atau sinar tampak adalah radiasi elektromagnetik yang terdiri dari gelombang. Seperti semua gelombang, kecepatan cahaya, panjang gelombang dan frekuensi dapat didefinisikan sebagai :

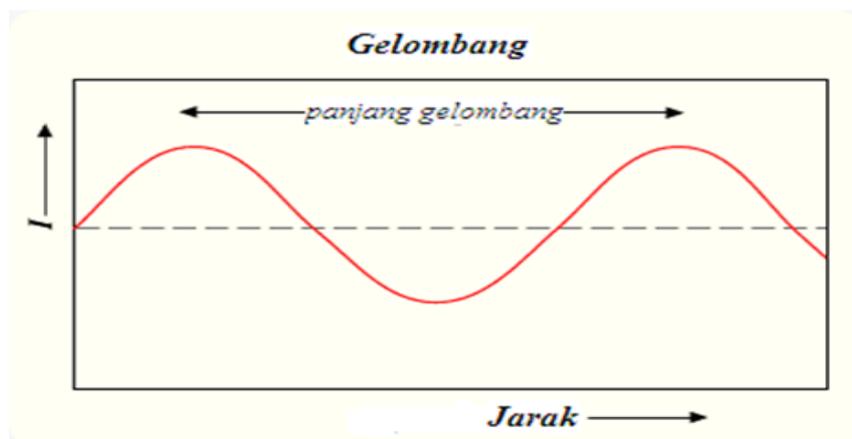
$$C = V \cdot \lambda$$

Dimana :

C = Kecepatan cahaya

V = Frekuensi dalam gelombang per detik (Hertz)

λ = Panjang gelombang dalam meter



Gambar 2. Radiasi Elektromagnetik dengan panjang gelombang λ

Benda bercahaya seperti matahari atau bohlam listrik memancarkan spectrum lebar yang tersusun dari panjang gelombang. Panjang gelombang yang dikaitkan dengan cahaya tampak itu mampu mempengaruhi selaput pelangi manusia yang mampu menimbulkan kesan subyektif akan ketampakan (*visible*). (A.L.Underwood dan R.A.Day Jr,1986).

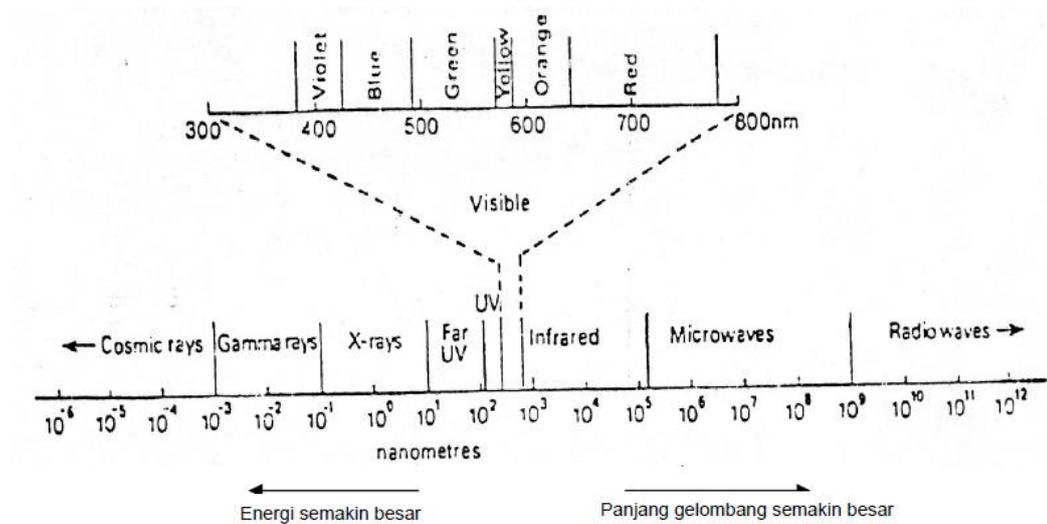
Cahaya /sinar tampak terdiri dari suatu bagian sempit kisaran panjang gelombang dari radiasi elektromagnetik dimana mata manusia sensitive. Radiasi dari panjang gelombang yang berbeda ini dirasakan oleh mata kita sebagai warna berbeda ,sedangkan campuran dari semua panjang gelombang tampak seperti sinar putih. Sinar putih memiliki panjang gelombang mencakup 400-700 nm. Panjang gelombang dari berbagai warna adalah sebagai berikut :

Tabel 3. Panjang gelombang untuk setiap jenis warna

Jenis Sinar	Panjang Gelombang (nm)
Ultraviolet	< 400
Violet	400-450
Biru	450-500
Hijau	500-570
Kuning	570-590
Oranye	590-620
Merah	620-760
Infra merah	>760

(Sumber : Analisa Kimia Kuantitatif,1986)

Spektrometri molekular (baik kualitatif dan kuantitatif) bisa dilaksanakan di daerah sinar tampak, sama halnya seperti di daerah yang sinar ultraviolet dan daerah sinar inframerah.



Gambar 3. Spektrum gelombang elektromagnetik lengkap

(Sumber : Harvey,2000)

Persepsi visual tentang warna dibangkitkan dari penyerapan selektif panjang gelombang tertentu pada peristiwa penyinaran obyek berwarna. Sisa panjang gelombang dapat diteruskan (oleh obyek transparan) atau dipantulkan (oleh obyek yang buram) dan dilihat oleh mata sebagai warna dari pancaran atau pantulan cahaya. Oleh karena itu obyek biru tampak berwarna biru sebab telah menyerap sebagian dari panjang gelombang dari cahaya dari daerah oranye-merah. Sedangkan obyek yang merah tampak merah sebab telah menyerap sebagian dari panjang gelombang dari daerah ultraviolet-biru.

Bagaimanapun, di dalam spektrometri molekul tidak berkaitan dengan warna dari suatu senyawa, yaitu warna yang dipancarkan atau pantulkan, namun berkaitan dengan warna yang telah dipindahkan dari spektrum, seperti panjang gelombang yang telah diserap oleh suatu unsur di dalam suatu larutan. Energi gelombang seperti bunyi dan air ditentukan oleh amplitudo dari getaran (misal tinggi gelombang air) tetapi dalam radiasi elektromagnetik energi ditentukan oleh frekuensi ν , dan *quantized*, terjadi hanya pada tingkatan tertentu :

$$E = h \cdot \nu$$

dimana : h = konstanta Planck, $6,63 \times 10^{-34}$ J.s

Tabel 4. Panjang gelombang berbagai warna cahaya

λ (nm)	Warna yang teradsorpsi	Warna tertransmisi (komplemen)
400-435	Violet	Hijau-Kuning
435-480	Biru	Kuning
480-490	Biru-Hijau	Oranye
490-500	Hijau-Biru	Merah
500-560	Hijau	Ungu
560-580	Hijau-Kuning	Violet
580-595	Kuning	Biru
595-650	Oranye	Biru-Hijau
650-760	Merah	Hijau-Biru

(Sumber : www.suharyo07.student.ipb.ac.id)

2.4.2 Hukum Lambert Beer

Metode analisa kuantitatif didasarkan pada absorpsi radiasi oleh suatu unsure yang mengabsorpsi dan melibatkan pengukuran intensitas cahaya atau kekuatan radiasi. Kita sekarang mempertimbangkan faktor yang mempengaruhi kekuatan radiasi dari cahaya yang dipancarkan melalui media absorpsi. Anggap ketebalan sel absorpsi b dan konsentrasi c . Suatu berkas cahaya dari radiasi monokromatik (yaitu panjang gelombang yang tunggal) dari kekuatan radiant I_0 dalam larutan, dan suatu berkas cahaya yang muncul dari kekuatan radiasi I dipancarkan oleh larutan.

2.4.2.1 Proses Absorpsi Cahaya pada Spektrofotometri

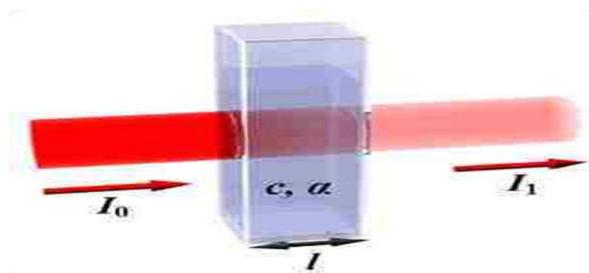
Ketika cahaya dengan panjang berbagai panjang gelombang (cahaya polikromatis) mengenai suatu zat, maka cahaya dengan panjang gelombang tertentu saja yang akan diserap. Di dalam suatu molekul yang memegang peranan penting adalah elektron valensi dari setiap atom yang ada hingga terbentuk suatu materi. Elektron-elektron yang dimiliki oleh suatu molekul dapat

berpindah (eksitasi), berputar (rotasi) dan bergetar (vibrasi) jika dikenai suatu energi.

Jika zat menyerap cahaya tampak dan ultraviolet maka akan terjadi perpindahan elektron dari keadaan dasar menuju ke keadaan tereksitasi. Perpindahan elektron ini disebut transisielektronik. Apabila cahaya yang diserap adalah cahaya inframerah maka elektron yang ada dalam atom atau elektron ikatan pada suatu molekul dapat hanya akan bergetar (vibrasi). Sedangkan gerakan berputar elektron terjadi pada energi yang lebih rendah lagi misalnya pada gelombang radio.

Atas dasar inilah spektrofotometri dirancang untuk mengukur konsentrasi yang ada dalam suatu sampel. Dimana zat yang ada dalam sel sampel disinari dengan cahaya yang memiliki panjang gelombang tertentu. Ketika cahaya mengenai sampel sebagian akan diserap, sebagian akan dihamburkan dan sebagian lagi akan diteruskan.

Pada spektrofotometri, cahaya datang atau cahaya masuk atau cahaya yang mengenai permukaan zat dan cahaya setelah melewati zat tidak dapat diukur, yang dapat diukur adalah I_t/I_0 atau I_0/I_t (perbandingan cahaya datang dengan cahaya setelah melewati materi (sampel)). Proses penyerapan cahaya oleh suatu zat dapat digambarkan sebagai berikut:



Gambar 4. Proses penyerapan cahaya oleh zat dalam sel sampel.

Dari gambar terlihat bahwa zat sebelum melewati sel sampel lebih terang atau lebih banyak di banding cahaya setelah melewati sel sampel. Cahaya yang diserap diukur sebagai absorbansi (A) sedangkan cahaya yang hamburkan diukur sebagai transmitansi (T), dinyatakan dengan hukum Lambert-Beer atau Hukum Beer, berbunyi: "jumlah radiasi cahaya tampak (ultraviolet, inframerah dan sebagainya) yang diserap atau ditransmisikan oleh suatu larutan merupakan suatu fungsi eksponen dari konsentrasi zat dan tebal larutan".

Berdasarkan hukum Lambert-Beer, rumus yang digunakan untuk menghitung banyaknya cahaya yang dihamburkan:

$$T = \frac{I_t}{I_0} \text{ atau } \% T = \frac{I_t}{I_0} \times 100 \%$$

Dan absorbansi dinyatakan dengan rumus:

$$A = -\log T = -\log \frac{I_t}{I_0}$$

Dimana I_0 merupakan intensitas cahaya datang dan I_t atau I_1 adalah intensitas cahaya setelah melewati sampel.

Rumus yang diturunkan dari Hukum Beer dapat ditulis sebagai:

$$A = a \cdot b \cdot c \text{ atau } A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

Dimana:

A = Absorbansi

a = Tetapan absorbtivitas (jika konsentrasi larutan yang diukur dalam ppm)

c = Konsentrasi larutan yang diukur

ϵ = Tetapan absorbtivitas molar (jika konsentrasi larutan yang diukur dalam ppm)

b atau terkadang digunakan l = Tebal larutan (tebal kuvet diperhitungkan juga umumnya 1cm).

Spektrofotometer modern dikalibrasi secara langsung dalam satuan absorbansi. (Dalam beberapa buku lama $\log I_0/I$ disebut densitas optik dan I digunakan sebagai ganti simbol P). Perbandingan I/I_0 disebut transmitans (T), dan beberapa instrumen disajikan dalam % transmitans, $(I/I_0) \times 100$. Sehingga hubungan absorbansi dan transmitans dapat ditulis sebagai :

$$A = -\log T$$

Dengan menggunakan beberapa instrumen, hasil pengukuran tercatat sebagai 56 transmitansi dan absorbansi dihitung dengan menggunakan rumus tersebut. Dari pembahasan di atas dapat dikatakan bahwa konsentrasi dari suatu unsur berwarna harus sebanding dengan intensitas warna larutan. Ini adalah dasar pengukuran yang menggunakan pembandingan visual di mana intensitas warna dari suatu larutan dari suatu unsur yang konsentrasinya tidak diketahui dibandingkan dengan intensitas warna dari sejumlah larutan yang diketahui konsentrasinya.

Secara eksperimen hukum Lambert-beer akan terpenuhi apabila peralatan yang digunakan memenuhi kriteria-kriteria berikut:

1. Sinar yang masuk atau sinar yang mengenai sel sampel berupa sinar dengan dengan panjang gelombang tunggal (monokromatis).
2. Penyerapan sinar oleh suatu molekul yang ada di dalam larutan tidak dipengaruhi oleh molekul yang lain yang ada bersama dalam satu larutan.
3. Penyerapan terjadi di dalam volume larutan yang luas penampang (tebal kuvet) yang sama.
4. Penyerapan tidak menghasilkan pemancaran sinar pendafluor. Artinya larutan yang diukur harus benar-benar jernih agar tidak terjadi hamburan

cahaya oleh partikel-partikel koloid atau suspensi yang ada di dalam larutan.

5. Konsentrasi analit rendah. Karena apabila konsentrasi tinggi akan mengganggu kelinearan grafik absorbansi versus konsentrasi.

(Sumber: <https://wanibesak.wordpress.com/tag/hukum-lambert-beer>. diakses 6 mei 2015)

Digunakan untuk memperoleh sumber sinar yang monokromatis. Alatnya berupa prisma ataupun grating. Untuk mengarahkan sinar monokromatis yang diinginkan dari hasil penguraian dapat digunakan celah

- Sumber radiasi

Sumber yang biasa digunakan lampu hidrogen atau deuterium untuk pengukuran UV dan lampu tungsten untuk pengukuran cahaya tampak.

- Sel / Kuvet

Pada pengukuran di daerah sinar tampak kuvet kaca dapat digunakan, tetapi untuk pengukuran pada daerah UV kita harus menggunakan sel kuarsa karena gelas tidak tembus cahaya pada daerah ini. Umumnya tebal kuvetnya adalah 1 cm, tetapi yang lebih kecil ataupun yang lebih besar dapat digunakan.

- Monokromator

Digunakan untuk memperoleh sumber sinar yang monokromatis. Alatnya berupa prisma ataupun grating. Untuk mengarahkan sinar monokromatis yang diinginkan dari hasil penguraian dapat digunakan celah.

- Detektor

Peranan detektor adalah memberikan respon terhadap cahaya pada berbagai panjang gelombang.

(Sumber : blogspot.com/2012-04-01archive.html)