#### BAB II

## **TINJAUAN PUSTAKA**

# 2.1 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 spese kimia tertentu didaerah ultra violet dan sinar tampak (visible).

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. (O.G.Brink,1985).

## 2.1.1 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 matamanusia 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 memiliki sinar tampak mampu membuat elektrontereksitasi dari keadaan dasar menuju kulit atom yang memiliki energy lebih tinggi atau menujukeadaan tereksitasi. Cahaya atau sianar tampak adalah radiasi elektromagnetik yang terdiri dari gelombang. Seperti semua gelombang,kecepatan cahaya ,panjang gelombang dan frekuensi dapat didefinisikan sebagai :

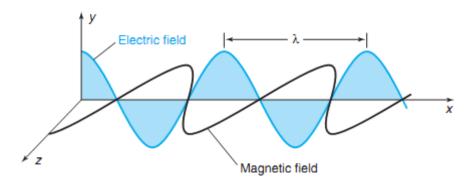
 $C = v.\lambda$ 

Dimana:

C = Kecepatan cahaya

v = Frekuensi dalam gelombang per detik (Hertz)

 $\lambda$  = Panjang gelombang dalam meter



Gambar 1. Radiasi Elektromagnetik dengan panjang gelombang λ (Harris, 2010)

Benda bercahaya seperti matahari atau bohlam listrik memancarkan spectrum lebar yang tersususn dari panajang 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

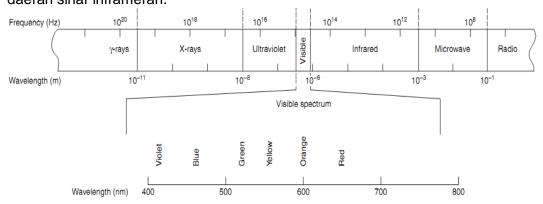
dari panjang gelombang yang berbeda ini dirasakan oleh mata kita sebagai warna berbeda ,sedangakan campuran dari semua panajang gelombang tampak seperti sinar putih. Sinar putih memiliki panjang gelombang antara 400-700 nm. Panjang gelombang dari berbagai warna adalah sebagai berikut :

Tabel 1. 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

(Harris, 2010)

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 2. Spektrum gelombang elektromagnetik lengkap (Sumber : Harris, 2010)

Persepsi visual tentang warna dibangkitkan dari penyerapan selektip 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 oranyemerah.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 v, dan *quantized*, terjadi hanya pada tingkatan tertentu:

$$E = h \cdot v$$

dimana: h = konstanta Planck, 6,63 x 10<sup>-34</sup> J.s

Tabel 2. Panjang gelombang berbagai warna cahaya

	<u> </u>	
λ (nm)	Warna yang	Warna tertransmisi
	teradsorbsi	(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

(Suharyo, 2007)

### 2.1.2 Hukum Lambert Beer

Metode analisa kuantitatif didasarkan pada absorpsi radiasi oleh suatu unsur yang mengabsorpsi dan melibatkan pengukuran intensitas cahaya atau kekuatan radiasi. Kita sekarang mempertimbangkan faktor yang mempengaruhi kekuatan radiasi dari cahaya yang dipancarkan melalui media absorsi. Anggap

ketebalan sel absorpsi b dan konsentrasi c. Suatu berkas cahaya dari radiasi monokromatik (yaitu panjang gelombang yang tunggal) dari kekuatan radiant I<sub>0</sub> dalam larutan, dan suatu berkas cahaya yang muncul dari kekuatan radiasi I dipancarkan oleh larutan.

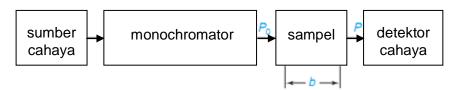
### 2.1.3 Proses Absorbsi Cahaya pada Spektrofotometri

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 transisi elektronik. 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<sub>t</sub>/I<sub>0</sub> atau I<sub>0</sub>/I<sub>t</sub> (perbandingan cahaya datang dengan cahaya setelah melewati materi (sampel)). Proses penyerapan cahaya oleh suatu zat dapat digambarkan sebagai berikut:



Gambar 3. Skema diagram dari percobaan spektrofotometri single-beam.

Keterangan :  $P_0$  = radiasi dari balok memasuki sampel;

P = radiasi dari sinar yang muncul dari sampel;

b = panjang jalan melalui sampel.

Ketika cahaya diserap oleh sampel, radiasi dari sinar cahaya, P adalah energi per detik per satuan luas sinar. Sebuah percobaan lainnya yang belum sempurna yaitu percobaan trophotometric diilustrasikan pada Gambar 5. Cahaya melewati sebuah monochromator (prisma, kisi-kisi, atau bahkan filter) untuk memilih salah satu panjang gelombang. Cahaya dengan rentang yang sangat sempit panjang gelombang dikatakan monokromatik ("satu warna.") cahaya monokromatik, dengan radiasi  $P_0$ , berdasarkan panjang media yang dilalui b. Radiasi dari balok muncul dari sisi lain dari sampel adalah P. Beberapa cahaya dapat diserap oleh sampel, sehingga  $P \le P_0$ .

Transmitansi, T yang didefinisikan sebagai fraksi cahaya asli yang melewati sampel.

Transmitasi: 
$$T = \frac{It}{I0}$$
 atau %  $T = \frac{It}{I0}$  x 100 %

$$T = \frac{P}{P_0}$$

Oleh karena itu, T memiliki rentang 0 sampai 1. persen transmitansi hanya 100T dan rentang antara 0 dan 100%.

Absorbansi:

$$A = \log\left(\frac{P_0}{P}\right) = -\log T$$

Tabel 3. Hubungan antara Tansmitasi dan Absorbansi

P/Po	%T	Α
1	100	0
0,1	10	1
0,01	1	2

Ketika ada cahaya yang diserap,  $P = P_0$  dan A = 0. Jika 90% dari cahaya yang diserap, 10% adalah transmitted dan  $P = P_0/10$ . Rasio ini memberikan A = 1. Jika hanya 1% dari cahaya yang ditransmisikan, A = 2. Absorbansi kadang-kadang disebut densitas optik. Absorbansi sangat penting karena berbanding lurus dengan konsentrasi, c, dari jenis penyerapan cahaya dalam sampel.

Hukum Beer:

$$A = \varepsilon bc$$

Dimana

A = Absorbansi

c = Konsentrasi larutan yang diukur (mol per liter)

b = Tebal larutan (cm).

 $\varepsilon$  = Tetapan absorbtivitas molar (jika konsentrasi larutan yang diukur dalam ppm)

Persamaan Lambert Beer yang merupakan jantung dari spektrofotometri sebagaimana diterapkan pada kimia analitik (Harris, 2010). Secara eksperimen hukum Lambert-beer akan terpenuhi apabila peralatan yang digunakan memenuhi kriteria-kriteria berikut:

 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.
- Penyerapan terjadi di dalam volume larutan yang luas penampang (tebal kuvet) yang sama.
- 4. Konsentrasi analit rendah. Karena apabila konsentrasi tinggi akan menggangu kelinearan grafik absorbansi versus konsentrasi.

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 (Khopkar, 1990 dalam Rohman, 2007).

### 2.2 Tanaman Rosella Merah (Hibiscus sabdariffa L.)

Tanaman rosella (Hibiscus sabdariffa L), sejak abad ke-19 mulai dikembangkan di Indonesia. Di pulau jawa, tanaman rosella banyak dibudidayakan di daerah yang rutin dilanda banjir (bondorowo). Adapun lahan alternative pengembangan tanaman rosella di luar Pulau Jawa antara lain adalah di lahan-lahan Podsolik Merah Kuning (PMK) misalnya Kalimantan Selatan, Rawa Lebak di Rawa Sragi Lampung, serta lahan Gambut di Kalimantan Barat dan Bengkulu. Di Sulawesi Selatan sementara dalam pengembangan oleh petani khususnya di Kabupaten Pinrang.

Rosella memiliki lebih dari 300 spesies yang tersebar pada daerah tropis dan non tropis. Kebanyakan tanaman rosella dipergunakan sebagai tanaman hias dan beberapa diantaranya dipercaya memiliki kasiat medis, salah satu diantaranya adalah rosela merah atau roselle (Hibiscus sabdariffa L). Bunga rosella memiliki putik sekaligus serbuk sari sehingga tidak memerlukan bunga lain untuk bereproduksi. Rosella (Hibiscus sabdariffa L) dapat hidup di daerah yang memiliki iklim lembab dan hangat pada daerah tropis dan sub tropis. Rosella memiliki kelebihan dibandingkan dengan tanaman tropis dan subtropis lainnya yaitu dapat bertahan dalam cuaca yang sangat dingin serta dapat hidup dalam ruangan yang memiliki sedikit pencahayaan akan tetapi pertumbuhan terbaik diperoleh pada ruang terbuka dengan cahaya matahari (Fitofarmaka, 2008)

Tanaman rosella berupa semak yang berdiri tegak dengan tinggi 3-5 m. Ketika masih muda, batang dan daunnya berwarna hijau. Ketika beranjak dewasa dan masih berbunga, batangnya berwarna cokelat kemerahan. Batang berbentuk silindris dan berkayu, serta memiliki banyak percabangan. Pada batang melekat daun-daun yang tersusun berseling, berwarna hijau, berbentuk bulat telur dengan pertulangan menjari dan tepi meringgit. Ujung daun ada yang runcing atau bercangap. Tulang daunnya berwarna merah. Panjang daun dapat mencapai 6-15 cm dan lebar 5-8 cm. Akar yang menopang batangnya berupa akar tunggang (Widyanto dan Nelistya, 2008).

Ukuran rosella agak berbeda untuk setiap daerah. Sebagai contoh rosella dari Cirebon atau Surabaya umumnya berukuran agak lebih kecil dibandingkan rosella dari Bogor, Sukabumi, atau Cipanas yang umumnya berukuran besar. Dalam hal warna pun demikian. Ada yang merah muda, merah tua, merah kecoklatan, dan merah kehitaman. Bahkan, di Surabaya (Jawa Timur) ada rosella yang kelopaknya berwarna kuning dan berukuran kecil (Widyanto dan Nelistya, 2008).

Berbagai kandungan yang terdapat dalam tanaman rosella membuatnya populer sebagai tanaman obat tradisional. Kandungan vitamin dalam bunga rosella cukup lengkap, yaitu vitamin A,C,D,B1, dan B2. bahkan, kandungan vitamin C-nya (asam askorbat) diketahui 3 kali lebih banyak dari anggur hitam, 9 kali dari jeruk sitrus, 10 kali dari buah belimbing, dan 2,5 kali dari jambu biji. Vitamin C merupakan salah satu antioksidan penting. Hasil penelitian mengungkapkan bahwa kandungan antioksidan pada teh rosella sebanyak 1,7 mmol/prolox. Jumlah tersebut lebih tinggi daripada jumlah pada kumis kucing (Widyanto dan Nelistya, 2008).



Gambar 4. Bunga Rosella (Wee Peng Ho, 2009)

Klasifikasi Ilmiah Rosella Merah adalah sebagai berikut :

Divisi : Magnoliophyta

Kelas: Magnoliopsida

Subkelas: Dilleniidae

Bangsa : Malvales

Suku : Malvaceae

Genus : Hibiscus

Species: Hibiscuc sabdariffa Linn (BPOM RI,2010)

## 2.2.1 Kandungan Bunga Rosella

Ahli gizi menemukan kelopak segar rosella yang dijual di pasar Amerika tengah tinggi kalsium, riboflavin, niasin, dan zat besi. Kandungan vitamin C yang terdapat dalam bunga rosella lebih banyak dibandingkan dengan buah-buahan lainnya. Sebagai contoh, setiap 100 gr kelopak bunga rosella mengandung 244,4 mg vitamin C, dengan berat yang sama, jeruk hanya mengandung 48 mg, belimbing hanya 25,8 mg sedangkan papaya mengandung 71 mg. Selain kandungan vitamin C yang sangat tinggi, rosella juga kaya akan mineral seperti

kalsium, phosphor, potassium dan zat besi yang sangat penting untuk tubuh. (Agrina,2010). Secara umum, kandungan nutrisi dari kelopak bunga rosella dapat dilihat pada Tabel 1 berikut.

Tabel 4. Kandungan Nutrisi pada Kelopak Bunga Rosella per 100 gram

Komponen	Kadar	
Air	86,2 gr	
Protein	1,6 gr	
Lemak	0,1 gr	
Karbohidrat	11,1 gr	
Serat	2,5 gr	
Abu	1,0 gr	
Kalsium	160 mg	
Fosfor	60 mg	
Besi	3,8 mg	
Betakaroten	285 mg	
Vitamin C	214,68 mg	
Thiamin	0,04 mg	
Reboflavin	0,6 mg	
Antosianin	200 mg	

Sumber: Maryani dan Kristiana (2005)

Mardiah, dkk., (2009)

#### 2.3 Antosianin

Antosianin berasal dari bahasa Yunani, anthos yang berarti bunga dan kyanos yang berarti biru gelap. Antosianin merupakan pigmen larut air, tersebar luas dalam bunga dan daun, dan menghasilkan warna dari merah sampai biru. Zat pewarna alami antosianin tergolong ke dalam turunan benzopiran. Struktur utama turunan benzopiran ditandai dengan adanya dua cincin aromatik benzena  $(C_6H_6)$  yang dihubungkan dengan tiga atom karbon yang membentuk cincin (Zain, 2013).

Antosianin terbagi atas tiga kelompok yaitu antosianidin, aglikon dan glukosida. Antosianidin yang merupakan inti aglikon dari antosianin

menyebabkan terbentuknya warna merah, biru dan kuning pada sayuran dan buah-buahan. Kestabilan antosianin di dalam makanan tergantung pada banyak faktor. Proses pemanasan merupakan faktor terbesar yang menyebabkan kerusakan antosianin. Proses pemanasan terbaik untuk mencegah kerusakan antosianin adalah dengan suhu tinggi tetapi dalam jangka waktu yang pendek (Astawan dan Kasih, 2008).

Antosianin merupakan molekul yang tidak stabil. Warna ungu, merah atau biru yang terdapat pada antosianin dapat berubah karena beberapa faktor antara lain yaitu faktor suhu, pH, oksigen, penambahan gula, asam dan adanya ion logam (Tensiska *et* al, 2007). Menurut Muchtadi dan Sugiyono (1992) bahwa pengaruh pH pada antosianin sangat besar terutama pasa penentuan warnanya. Pada pH rendah (asam), antosianin memiliki warna merah. pH netral memiliki warna biru dan pH tinggi (basa) memiliki warna putih.

Antosianin adalah salah satu bagian penting dalam kelompok pigmen setelah klorofil. Antosianin larut dalam air, menghasilkan warna dari merah sampai biru dan tersebar luas dalam buah, bunga, dan daun. Antosianin umumnya ditemukan pada buah-buahan, sayuran, dan bunga, contohnya pada kol merah, anggur, strawberry, cherry, dan sebagainya (Hernani, 2007).

Zat warna ini terdapat pada air sel vakuola. Biasanya larut di dalamnya. Antosianin tersebut merupakan suatu glikosida. Jika kehilangan gulanya, yang tersisa tinggal antosianidin. Zat ini berwarna merah di lingkungan asam, berwarna biru di lingkungan basa dan berwarna ungu di lingkungan netral. Pembentukan antosianin memerlukan gula seperti halnya pada pembentukan klorofil (Hernani, 2007).

Gambar 5. Struktur kimia antosianin (Zain, 2013)

#### 2.4 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan salah satu cara pemisahan satu atau lebih komponen dari suatu bahan yang merupakan sumber komponen tersebut. Sebagai contoh adalah ekstraksi minyak dari kopra atau biji, ekstraksi nira dari batang tebu, ekstraksi karoten dari buah-buahan, ekstraksi cairan buah dari buah-buahan dan sebagainya. Komponen yang dipisahkan dengan ekstraksi dapat berupa padatan dari suatu sistem campuran padat-cair, berupa cairan dari suatu sistem campuran cair-cair (Suyitno, et al. 1989).

Pemisahan atau pengambilan komponen dari bahan sumbernya pada dasarnya dapat dilakukan dengan penekanan atau pengempaan, pemanasan dan menggunakan pelarut. Ekstraksi dengan pengempaan atau pemanasan dikenal dengan cara mekanis. Ekstraksi cara mekanis hanya dapat dilakukan untuk pemisahan komponen dalam sistem campuran padat-cair. Sebagai contoh adalah ekstraksi minyak dari biji-bijian. Dalam hal ini minyak adalah cair dan ampasnya sebagai padatan (Suyitno, et al. 1989).

Ekstraksi dengan pengempaan, tekanan yang diberikan selama pengempaan akan mendorong cairan terpisah dan keluar dari sistem campuran padat-cair. Tekanan yang diberikan terhadap campuran padat-cair akan menimbulkan beda tekanan antara cairan dalam bahan dan campuran dalam

sutau wadah dengan tekanan diluar campuran atau diluar wadah. Beda tekanan akan mengakibatkan cairan terekstrak. Jumlah ekstrak yang dihasilkan dengan ekstraksi menggunkan penekanan atau pengempaan, dipengaruhi beberapa faktor antara lain besar kecilnya hancuran bahan, waktu yang disediakan pada saat tekanan maksimum, besarnya tekanan yang diberikan, kekentalan yang diekstrak, cara pengempaan yang dilakukan (Suyitno, et al. 1989).

Ekstraksi menggunakan pelarut berdasarkan sifat kelarutan dari komponen di dalam pelarut yang digunakan. Komponen yang larut dapat berbentuk padat maupun cair, dipisahkan dari benda padat atau cair. Ekstraksi padat cair, komponen yang dipisahkan berasal dari benda padat. komponen yang diekstraksi dapat berupa protein, vitamin, minyak atsiri, zat warna, dan sebagainya yang berasal dari bahan.

Ekstraksi bertujuan untk mengambil komponen yang larut dalam pelarut, maka perlu dilakukan pemilihan pelarut yang selektif, yaitu pelarut yang dapat melarutkan komponen yang akan diambil atau dipisahkan. (Suyitno, et al. 1989). Ekstraksi menggunakan pelarut air komponen lain yang ikut terekstrak tidak dapat dihindarkan, akibatnya komponen yang terekstrak bukan merupakan komponen yang murni. Pelarut yang dipilih harus memiliki viskositas yang cukup rendah sehingga mudah disirkulasikan.

Semakin lama proses ekstraksi berlangsung konsentrasi komponen yang terlarut dalam pelarut makin besar, akibatnya kecepatan ekstraksi makin menurun. Kecepatan ekstraksi menunjukkan kecepatan perpindahan solut dari satu fase kefase yang lain. Ekstraksi tergantung dari beberapa faktor antara lain yaitu ukuran partikel, jenis zat pelarut, suhu dan pengadukan (Suyitno, et al. 1989).