

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Spektrofotometri**

##### **2.1.1 Pengertian 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*).

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.

##### **2.1.2 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:

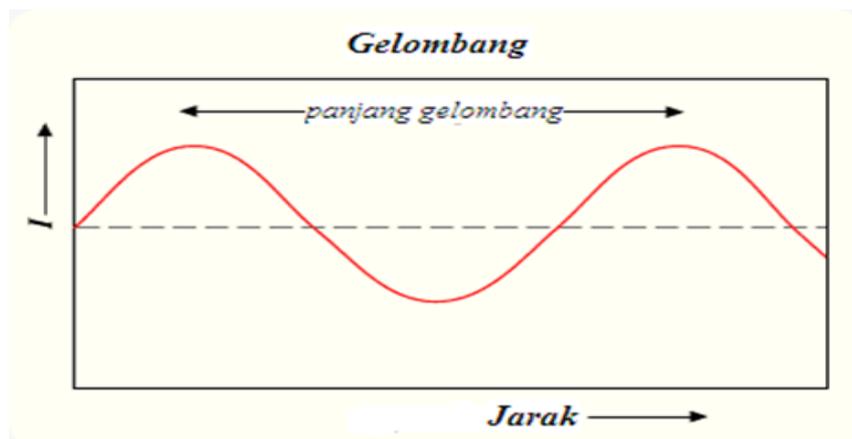
$$C = v \cdot \lambda$$

Dimana :

C = Kecepatan cahaya

v = Frekuensi dalam gelombang per detik (Hertz)

$\lambda$  = Panjang gelombang dalam meter



Gambar 1. Radiasi Elektromagnetik dengan panjang gelombang  $\lambda$

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

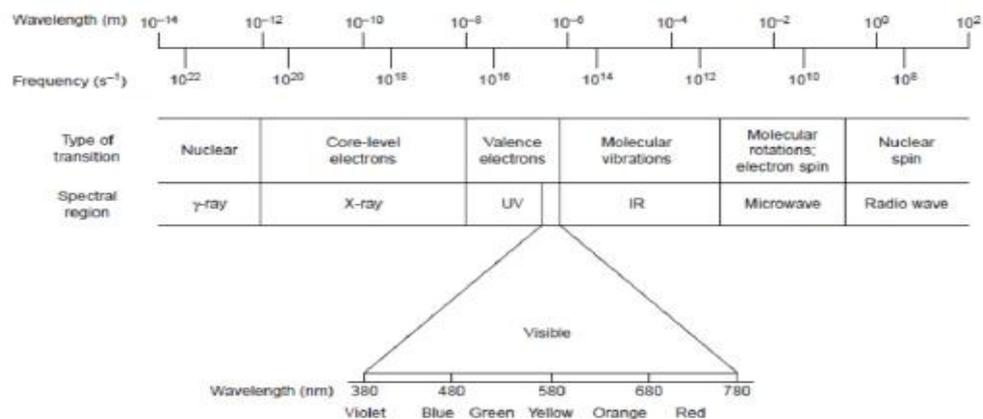
dari panjang gelombang yang berbeda ini dirasakan oleh mata kita sebagai warna berbeda, sedangkan campuran dari semua panjang gelombang tampak seperti sinar putih, memiliki panjang gelombang mencakup 400-700 nm. Panjang gelombang dari berbagai warna adalah sebagai berikut :

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

(Sumber : Underwood, 2002)

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

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  $\nu$ , dan *quantized*, terjadi hanya pada tingkatan tertentu :

$$E = h \cdot \nu$$

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

Tabel 2. Panjang gelombang berbagai warna cahaya

$\lambda$ (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 : Underwood, 2002)

### 2.1.3 Hukum Lambert Beer

Menurut Hukum Lambert, serapan berbanding lurus terhadap ketebalan sel ( $b$ ) yang disinari, dengan bertambahnya sel, maka serapan akan bertambah.

$$A = k \cdot b$$

Menurut Beer, yang berlaku untuk radiasi monokromatis dalam larutan yang sangat encer, serapan berbanding lurus dengan konsentrasi.

$$A = k \cdot c$$

Jika konsentrasi bertambah, jumlah molekul yang dilalui berkas sinar akan bertambah, sehingga serapan juga bertambah. Kedua persamaan ini digabungkan dalam Hukum Lambert-Beer, maka diperoleh bahwa serapan berbanding lurus dengan konsentrasi dan ketebalan sel yang dapat ditulis dengan persamaan :

$$A = k \cdot c \cdot b$$

Umumnya digunakan dua satuan c (konsentrasi zat yang menyerap) yang berlainan, yaitu gram per liter atau mol per liter. Nilai tetapan (k) dalam hukum Lambert-Beer tergantung pada sistem konsentrasi mana yang digunakan. Bila c dalam gram per liter, tetapan disebut dengan absorptivitas (a) dan bila dalam mol per liter, tetapan tersebut adalah absorptivitas molar ( $\epsilon$ ). Jadi dalam sistem dikombinasikan, hukum Lambert-Beer dapat dinyatakan dalam rumus berikut:

$$A = a \cdot b \cdot c \text{ (g/liter) atau } A = \epsilon \cdot b \cdot c \text{ (mol/liter)}$$

Dimana: A = serapan

a = absorptivitas

b = ketebalan sel

c = konsentrasi

$\epsilon$  = absorptivitas molar

Hukum Lambert-Beer menjadi dasar aspek kuantitatif spektrofotometri dimana konsentrasi dapat dihitung berdasarkan rumus di atas. Absorptivitas (a) merupakan konstanta yang tidak tergantung pada konsentrasi, tebal kuvet dan intensitas radiasi yang mengenai larutan sampel. Absorptivitas tergantung pada

suhu, pelarut, struktur molekul, dan panjang gelombang radiasi (Day and Underwood, 1999; Rohman, 2007). Menurut Roth dan Blaschke (1981), absorptivitas spesifik juga sering digunakan untuk menggantikan absorptivitas. Harga ini, memberikan serapan larutan 1 % (b/v) dengan ketebalan sel 1 cm, sehingga dapat diperoleh persamaan:

$$A = A_1^1 \cdot b \cdot c$$

Dimana:  $A_1^1$  = absorptivitas spesifik

b = ketebalan sel

c = konsentrasi senyawa terlarut (g/100ml larutan)

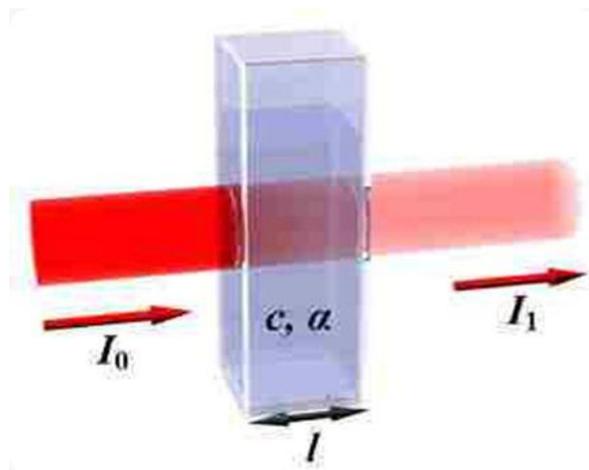
#### **2.1.4 Proses Absorpsi Cahaya pada Spektrofotometri**

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 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  $I_0/I_0$  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 3. Proses penyerapan cahaya oleh suatu zat

Gambar 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.

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 % 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. (Kusnanto Mukti, 2000)

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.

#### **2.1.5 Peralatan Untuk Spektrofotometri**

Dalam analisis spektrofotometri digunakan suatu sumber radiasi yang masuk ke dalam daerah spektrum ultraviolet itu. Dari spektrum ini, dipilih panjang-panjang gelombang tertentu dengan lebar pita kurang dari 1 nm. Proses ini menggunakan instrumen yang disebut spektrofotometer. Alat ini terdiri dari spektrometer yang menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer sebagai alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diabsorpsi (Bassett, 1994; Khopkar, 1990).

Unsur -unsur terpenting suatu spektrofotometer adalah sebagai berikut:

### 1. Sumber-sumber lampu

Lampu deuterium digunakan untuk daerah UV pada panjang gelombang dari 190-350 nm, sementara lampu halogen kuarsa atau lampu tungsten digunakan untuk daerah visibel pada panjang gelombang antara 350- 900 nm.

### 2. Monokromotor

Monokromator digunakan untuk memperoleh sumber sinar yang monokromatis. Alatnya dapat berupa prisma maupun grating. Untuk mengarahkan sinar monokromatis yang diinginkan dari hasil penguraian.

### 3. Kuvet (sel)

Kuvet digunakan sebagai wadah sampel untuk menaruh cairan ke dalam berkas cahaya spektrofotometer. Kuvet itu haruslah meneruskan energi radiasi dalam daerah spektrum yang diinginkan. Pada pengukuran di daerah tampak, kuvet kaca atau kuvet kaca corex dapat digunakan, tetapi untuk pengukuran pada daerah ultraviolet harus menggunakan sel kuarsa karena gelas tidak tembus cahaya pada daerah ini. Kuvet tampak dan ultraviolet yang khas mempunyai ketebalan 1 cm, namun tersedia kuvet dengan ketebalan yang sangat beraneka, mulai dari ketebalan kurang dari 1 mm sampai 10 cm bahkan lebih.

### 4. Detektor

Detektor berperan untuk memberikan respon terhadap cahaya pada berbagai panjang gelombang.

### 5. Suatu amplifier (penguat) dan rangkaian yang berkaitan yang membuat isyarat listrik itu dapat dibaca.

### 6. Sistem pembacaan yang memperlihatkan besarnya isyarat listrik

(Day and Underwood, 1981).

## 2.2 Jambu biji (*Psidium Guajava L*)

Tanaman jambu biji (*Psidium Guajava L*) bukan merupakan tanaman asli Indonesia. Dari berbagai sumber pustaka menyebutkan bahwa tanaman jambu biji diduga berasal dari Meksiko Selatan, Amerika Tengah, dan benua Amerika yang beriklim tropis. Tanaman ini dapat tumbuh subur di daerah dataran rendah sampai pada ketinggian 1200 meter di atas permukaan laut. Pada umur 2-3 tahun jambu biji sudah mulai berbuah. Bijinya banyak dan terdapat pada daging buahnya. Jambu biji memiliki kandungan karbohidrat yang cukup tinggi. Dari segi kandungan karbohidratnya, karbohidrat pada jambu biji putih sekitar 11-12,5gr, sedangkan pada jambu biji merah sekitar 10-12gr per 100gr jambu.

Buah jambu biji berbentuk bulat, bulat agak lonjong, lonjong, dan daging buah berwarna putih ada yang merah tergantung pada varietasnya. Buah memiliki kulit tipis dan permukaannya halus sampai kasar. Buah yang telah masak dagingnya lunak, sedangkan yang belum masak dagingnya agak keras dan renyah. Buah berasa manis, kurang manis, dan hambar, tergantung dari varietasnya. Buah jambu biji juga bermanfaat untuk pengobatan bermacam-macam penyakit, seperti memperlancar pencernaan, menurunkan kolesterol, antioksidan, menghilangkan rasa lelah dan lesu, demam berdarah, dan sariawan.

Jambu biji secara taksonomi tergolong ke dalam famili myrtaceae, genus *psidium*, spesies *guajava*. Karena itu, dalam bahasa latin disebut *psidium guajava*. Dalam bahasa Inggris jambu biji dikenal sebagai *guava*, sedangkan di Indonesia disebut juga jambu batu, jambu klutuk, atau jambu siki.

Klasifikasi ilmiah jambu biji (*Psidium Guajava L.*) adalah sebagai berikut :

Regnum : Plantae

Divisio : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida  
 Ordo : Myrtales  
 Familia : Myrtaceae  
 Genus : Psidium  
 Spesies : Psidium guajava  
 Nama binomial : Psidium guajava L.

Adapun kandungan gizi pada jambu biji merah dapat dilihat dalam tabel berikut:

Tabel 3. Kandungan nilai gizi pada buah jambu biji merah per 100 gram

Komponen gizi	Jumlah	Komponen gizi	Jumlah
Karbohidrat	11.88 g	Vitamin C	183,5 mg
Protein	0.82 g	Vitamin A	792 UI
Serat	5,4 g	Niacin	1,2 mg
Lemak total	0,6 g	Kalium	284 mg
Kalsium	20 mg	Riboflavin	0,05 mg
Besi	0,31 mg	Vitamin B6	0,143 mg
Magnesium	10 mg	Vitamin E	1,120 mg_ATE
Fosfor	25 mg	Asam pantotenat	0,150 mg
Natrium	3 mg	Vitamin B1	0,05 mg
Folat	14 mcg		

(Sumber : rujukan standar pada pusat gizi USDA)

### 2.3 Karbohidrat

Kata karbohidrat timbul karena rumus molekul senyawa ini dapat dinyatakan sebagai hidrat dari karbon. Contohnya, glukosa memiliki rumus molekul  $C_6H_{12}O_6$  yang dapat ditulis  $C_6(H_2O)_6$ . Karbohidrat ialah polihidroksialdehida, polihidroksi keton, atau zat yang memberikan senyawa seperti itu jika dihidrolisis. Kimiawi karbohidrat pada dasarnya merupakan kimia gabungan dari dua gugus fungsi, yaitu gugus hidroksil dan gugus karbonil.

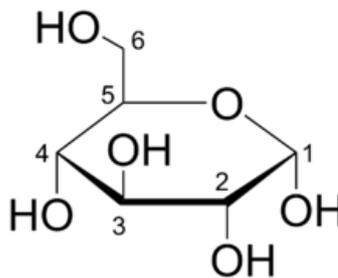
Karbohidrat sangat beraneka ragam sifatnya. Misalnya, sukrosa (gula pasir) dan kapas keduanya adalah karbohidrat. Salah satu perbedaan utama antara berbagai tipe karbohidrat ialah ukuran molekulnya. Monosakarida (sering disebut gula sederhana) adalah suatu kesatuan karbohidrat tersederhana. Maka tak dapat dihidrolisis menjadi molekul karbohidrat yang lebih kecil.

Monosakarida yang umum terdapat di alam ialah yang atom C-nya berkisar antara 3-7. Dengan jumlah atom C sebagai pokok maka monosakarida ini terbagi menjadi golongan aldosa dengan nama aldo-triosa, aldo-tetrosa, aldo-pentosa dan seterusnya, bilamana jumlah atom C dalam senyawa itu berturut-turut adalah sebanyak tiga, empat, lima, dan seterusnya. Golongan monosakarida yang kedua adalah ketosa dengan nama-nama berawalan keto.

(Sumber: Fessenden dan Fessenden, 1999).

## **2.4 Glukosa**

Glukosa adalah monosakarida yang mengandung enam atom karbon. Glukosa merupakan aldehida (mengandung gugus -CHO). Lima karbon dan satu oksigennya membentuk cincin yang disebut "cincin piranosa", bentuk paling stabil untuk aldosa berkarbon enam. Dalam cincin ini, tiap karbon terikat pada gugus samping hidroksil dan hidrogen kecuali atom kelimanya, yang terikat pada atom karbon keenam di luar cincin, membentuk suatu gugus  $\text{HC}_2\text{OH}$ . Struktur cincin ini berada dalam kesetimbangan dengan bentuk yang lebih reaktif, yang proporsinya 0.0026% pada pH 7.



Gambar 4. Rumus bangun glukosa

Glukosa merupakan sumber tenaga yang terdapat di mana-mana dalam biologi. Kita dapat menduga alasan mengapa glukosa, dan bukan monosakarida lain seperti fruktosa, begitu banyak digunakan. Glukosa dapat dibentuk dari formaldehida pada keadaan abiotik, sehingga akan mudah tersedia bagi sistem biokimia primitif. Hal yang lebih penting bagi organisme tingkat atas adalah kecenderungan glukosa, dibandingkan dengan gula heksosa lainnya, yang tidak mudah bereaksi secara nonspesifik dengan gugus amino suatu protein. Reaksi ini (glikosilasi) mereduksi atau bahkan merusak fungsi berbagai enzim. Rendahnya laju glikosilasi ini dikarenakan glukosa yang kebanyakan berada dalam isomer siklik yang kurang reaktif. Meski begitu, komplikasi akut seperti diabetes, kebutaan, gagal ginjal, dan kerusakan saraf perifer (‘‘peripheral neuropathy’’), kemungkinan disebabkan oleh glikosilasi protein.

Glukosa merupakan monosakarida yang paling umum dan mungkin merupakan senyawa organik yang paling banyak terdapat di alam. Senyawa ini terdapat terdapat bebas dalam darah dan berbagai cairan tubuh lainnya dan dalam cairan tanaman, serta merupakan komponen monosakarida utama dari banyak oligosakarida dan polisakarida. Glukosa langsung digunakan oleh tubuh. Glukosa didapat secara niaga dengan cara hidrolisis pati diikuti dengan kristalisasi dari larutan dalam air. Filtrat yang tinggal yang dikenal sebagai tetes, terdiri dari kira-kira 65 % glukosa dan 35% disakarida dan oligosakarida lainnya.

Isomer monosakarida fruktosa biasanya di dapat bersama-sama glukosa dan sukrosa. Suatu campuran fruktosa dan glukosa dikenal sebagai gula inversi. fruktosa mudah diubah menjadi glukosa dalam tubuh.

Adapun sifat fisika dan kimia dari glukosa adalah sebagai berikut:

- Titik Lebur : 0° C
- Titik Didih : 100° C
- Kelarutan dalam air : Larut
- Bentuk : Serbuk
- Bau : Tidak berbau
- Specific Gravity : 1
- Tidak mudah terbakar

(Sumber: MSDS)