

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Stroberi (*Fragaria sp*)

Stroberi merupakan tanaman buah berupa herba yang ditemukan pertama kali di Chili, Amerika. Salah satu spesies tanaman stroberi yaitu *Fragaria choiloensis* L. yang menyebar ke berbagai Negara Amerika, Eropa dan Asia. Selanjutnya spesies lain, yaitu *Fragaria vesca* L. lebih menyebar luas dibandingkan spesies lainnya. Jenis stroberi ini pula yang pertama kali masuk ke Indonesia.

Stroberi yang kita temukan di pasar swalayan adalah hibrida yang dihasilkan dari persilangan *Fragaria virgiana* L. var *Duchesne* asal Amerika Utara dengan *Fragaria Chiloensis* L. var *Duchesne* asal Chili. Persilangan itu menghasilkan hybrid yang merupakan stroberi modern (komersil) *Fragaria x annanassa* var *Duchesne*.

Stroberi memerlukan temperatur rendah untuk tumbuh dengan baik sangat cocok dengan daerah Rancabali, Bandung. Stroberi yang banyak ditanam penduduk adalah *Fragaria Nilgerrensis* yang oleh warga setempat lebih dikenal dengan Stroberi Nyodo. Selain di daerah Jawa Barat. Stroberi juga mulai dibudidayakan di daerah Tawangmangu Kabupaten Karang Anyar, Sukabumi, Cipanas, Lembang, Batu dan Bedugul.

Buah stroberi berwarna merah menandakan bahwa buah ini kaya akan pigmen warna antosianin dan mengandung antioksidan yang tinggi. Karena kandungan antioksidannya yang tinggi itulah stroberi mempunyai khasiat yang sangat banyak. Selain itu stroberi ternyata kaya Vitamin C, serat, rendah kalori,

folat, potassium, serta asam ellagic. Dengan mengkonsumsi delapan buah stroberi setiap hari, maka kebutuhan Vitamin C dan serat orang dewasa sudah tercukupi. Stroberi memiliki kandungan Vitamin C sebanyak 56,7 mg per 100 gram. Dengan kandungan vitamin C-nya tersebut diyakini stroberi mampu mengurangi resiko terserang penyakit kanker hingga 37% seperti yang dirilis *The Iowa Women's Health Study*. Selain itu stroberi juga diyakini mampu mencegah kanker payudara dan leher rahim.

Warna buah yang sangat mencolok dengan bentuk mungil serta rasa yang manis segar telah menempatkan Buah Stroberi sebagai tanaman buah yang mempunyai nilai ekonomi tinggi. Warna dan rasanya yang khas menyebabkan buah Buah Stroberi sangat digemari oleh seluruh lapisan masyarakat, dari anak-anak hingga usia lanjut.

Menurut *American Cancer Society*, vitamin C didalam stroberi dapat menurunkan resiko kanker saluran pencernaan. Beberapa senyawa fitokimia yang terdapat pada buah stroberi diantaranya adalah antosianin, asam ellagik, katekin, kuaerferin dan kaemferol. Antosianin tergolong dalam komponen flavonoid yang merupakan pigmen pemberi warna merah pada stroberi. Antosianin memiliki efek dalam menurunkan tekanan darah serta melindungi terhadap masalah-masalah yang disebabkan oleh diabetes. Selain zat gizi, stroberi juga mengandung senyawa fitokimia yang disebut *ellagic acid*, yaitu suatu persenyawaan fenol yang berpotensi sebagai anti karsinogen dan anti mutagen. Senyawa karsinogen yang memicu timbulnya kanker tersebar luas di lingkungan kita. Senyawa fitokimia ini juga mampu meningkatkan daya tahan tubuh dan berguna sebagai anti virus.



Gambar 1. Buah Stroberi

Menurut Gembong (1985) tanaman stroberi dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kerajaan	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Subdivisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledonae</i>
Ordo	: <i>Rosales</i>
Famili	: <i>Rosaideae</i>
Subfamili	: <i>Rosaceae</i>
Genus	: <i>Fragaria</i>
Spesies	: <i>Fragaria sp</i>

Kandungan gizi buah stroberi dapat dilihat dari Tabel 1 berikut ini :

Tabel 1. Kandungan gizi buah stroberi per 100 gram bahan

Informasi Gizi	Jumlah
Air	92 g
Energi	30 kkal
Lemak jenuh	0,02 g
Lipid (total)	0,4 g
Protein	0,6 g
Karbohidrat	7 g
Serat	0,5 g
Abu	0,4 g
Kalsium	14 mg
Besi	0,4 mg
Magnesium	10 mg
Fosfor	19 mg
Kalium	166 mg
Natrium	1 mg

<b>Zn, Cu, Mn</b>	< 0,5 mg
<b>Vitamin C</b>	56,7 mg
<b>Lemak tak jenuh ganda</b>	0,05 g

(Litbang Pertanian, 2015)

## 2.2 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 senyawa antioksidan yang sudah ada dari satu atau dua komponen makanan, senyawa antioksidan yang terbentuk dari reaksi-reaksi selama proses pengolahan, 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.

Mekanisme kerja antioksidan memiliki dua fungsi. Fungsi pertama merupakan fungsi utama dari antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Antioksidan (AH) yang mempunyai fungsi utama tersebut sering disebut sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida ( $R^*$ ,  $ROO^*$ ) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal lipida.

Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme diluar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan perubahan radikal lipida ke bentuk lebih stabil (Gordon,1990).

Penambahan antioksidan (AH) primer dengan konsentrasi rendah pada lipida dapat menghambat atau mencegah reaksi autooksidasi lemak dan minyak. Penambahan tersebut dapat menghalangi reaksi oksidasi pada tahap inisiasi maupun propagasi (Gambar 1). Radikal-radikal antioksidan ( $A^*$ ) yang terbentuk

pada reaksi tersebut relatif stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain membentuk radikal lipida baru (Gordon, 1990).

Proses penuaan dan penyakit degeneratif seperti kanker kardiovaskuler, penyumbatan pembuluh darah yang meliputi hiperlipidemik, aterosklerosis, stroke, dan tekanan darah tinggi serta terganggunya sistem imun tubuh dapat disebabkan oleh stress oksidatif. Stress oksidatif adalah keadaan tidak seimbangnya jumlah oksidan dan prooksidan dalam tubuh. Pada kondisi ini, aktivitas molekul radikal bebas atau reactive oxygen species (ROS) dapat menimbulkan kerusakan seluler dan genetika. Kekurangan zat gizi dan adanya senyawa xenobiotik dari makanan atau lingkungan yang terpolusi akan memperparah keadaan tersebut.

Bila umumnya masyarakat Jepang atau beberapa masyarakat Asia jarang mempunyai masalah dengan berbagai penyakit degeneratif, hal ini disebabkan oleh menu sehat tradisionalnya yang kaya zat gizi dan komponen bioaktif. Zat-zat ini mempunyai kemampuan sebagai antioksidan, yang berperan penting dalam menghambat reaksi kimia oksidasi, yang dapat merusak makromolekul dan dapat menimbulkan berbagai masalah kesehatan.

### **2.3 Antosianin**

Antosianin (bahasa Inggris: *anthocyanin*, dari gabungan kata Yunani : *anthos* = "bunga", dan *cyanos* = "biru") adalah pigmen larut air yang secara alami terdapat pada berbagai jenis tumbuhan. Sesuai namanya, pigmen ini memberikan warna pada bunga, buah, dan daun tumbuhan hijau, dan telah banyak digunakan sebagai pewarna alami pada berbagai produk pangan dan berbagai aplikasi lainnya. Warna diberikan oleh antosianin berkat susunan ikatan rangkap terkonjugasinya yang panjang, sehingga mampu menyerap cahaya pada rentang

cahaya tampak. Sistem ikatan rangkap terkonjugasi ini juga yang mampu menjadikan Antosianin sebagai antioksidan dengan mekanisme penangkapan radikal.

Antosianin merupakan sub-tipe senyawa organik dari keluarga flavonoid, dan merupakan anggota kelompok senyawa yang lebih besar yaitu polifenol. Beberapa senyawa antosianin yang paling banyak ditemukan adalah pelargonidin, peonidin, sianidin, malvidin, petunidin, dan delphinidin. Antosianin merupakan 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.

Salah satu fungsi antosianin adalah sebagai antioksidan di dalam tubuh sehingga dapat mencegah terjadinya aterosklerosis, penyakit penyumbatan pembuluh darah. Antosianin bekerja menghambat proses atherogenesis dengan mengoksidasi lemak jahat dalam tubuh, yaitu lipoprotein densitas rendah. Kemudian antosianin juga melindungi integritas sel endotel yang melapisi dinding pembuluh darah sehingga tidak terjadi kerusakan. Kerusakan sel endotel merupakan awal mula pembentukan aterosklerosis sehingga harus dihindari. Selain itu, antosianin juga merelaksasi pembuluh darah untuk mencegah aterosklerosis dan penyakit kardiovaskuler lainnya. Berbagai manfaat positif dari antosianin untuk kesehatan manusia adalah untuk melindungi lambung dari kerusakan, menghambat sel tumor, meningkatkan kemampuan penglihatan mata, serta berfungsi sebagai senyawa anti-inflamasi yang melindungi otak dari kerusakan. Selain itu, beberapa studi juga menyebutkan bahwa senyawa tersebut

mampu mencegah obesitas dan diabetes, meningkatkan kemampuan memori otak dan mencegah penyakit neurologis, serta menangkal radikal bebas dalam tubuh. (Siti Kumala Sari, 2012)

Pigmen antosianin yang merupakan flavonoid merupakan pigmen yang paling luas dan penting karena banyak tersebar pada berbagai organ tanaman, terutama pada bunga (ditentukan hampir 30% terkandung dalam berat keringnya). Pelarut yang sering digunakan untuk mengekstrak antosianin adalah alkohol, etanol dan metanol, isopropanol, aseton atau dengan air (aquadest) yang dikombinasikan dengan asam, seperti asam klorida (HCL), asam asetat, asam format, atau asam askorbat.

Isolasi pigmen antosianin dalam paprika dapat dilakukan dengan cara mengekstraksi bahan dengan menggunakan pelarut yang sesuai kepolarannya dengan zat yang akan diekstraksi. Ekstraksi senyawa golongan flavonoid dianjurkan dilakukan pada suasana asam karena asam berfungsi mendenaturasi membran sel tanaman, kemudian melarutkan pigmen antosianin sehingga dapat keluar dari sel, serta mencegah oksidasi flavonoid. Senyawa golongan flavonoid termasuk senyawa polar dan dapat diekstraksi dengan pelarut yang bersifat polar pula. Beberapa pelarut yang bersifat polar diantaranya etanol, air, dan etil asetat. Sedangkan asam yang digunakan adalah asam tartarat karena mampu menghasilkan total antosianin tertinggi pada buah arbei. (Lisa Anwar Farnanda, 2012)

Salah satu fungsi antosianin adalah sebagai antioksidan di dalam tubuh sehingga dapat mencegah terjadinya aterosklerosis, penyakit penyumbatan pembuluh darah. Antosianin bekerja menghambat proses aterogenesis dengan mengoksidasi lemak jahat dalam tubuh, yaitu lipoprotein densitas rendah.

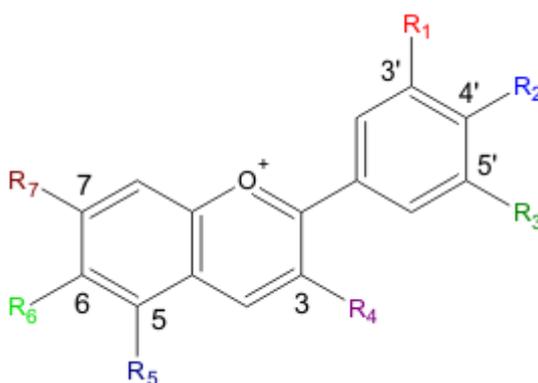
Kemudian antosinin juga melindungi integritas sel endotel yang melapisi dinding pembuluh darah sehingga tidak terjadi kerusakan. Kerusakan sel endotel merupakan awal mula pembentukan aterosklerosis sehingga harus dihindari. Antosianin juga merelaksasi pembuluh darah untuk mencegah aterosklerosis dan penyakit kardiovaskuler lainnya. Berbagai manfaat positif dari antosianin untuk kesehatan manusia adalah untuk melindungi lambung dari kerusakan, menghambat sel tumor, meningkatkan kemampuan penglihatan mata, serta berfungsi sebagai senyawa anti-inflamasi yang melindungi otak dari kerusakan. Selain itu, beberapa studi juga menyebutkan bahwa senyawa tersebut mampu mencegah obesitas dan diabetes, meningkatkan kemampuan memori otak dan mencegah penyakit neurologis, serta menangkal radikal bebas dalam tubuh.

Berbagai macam pigmen antosianin yang diekstrak dari buah-buahan tertentu telah banyak dimanfaatkan sebagai pewarna pada produk minuman ringan, susu, bubuk minuman, minuman beralkohol, produk beku, dll. Penggunaan pewarna alami seperti antosianin semakin diminati karena dapat mengurangi penggunaan pewarna sintetik yang bersifat toksik dan tidak ramah lingkungan. Antosianin juga dimanfaatkan dalam pembuatan suplemen nutrisi karena memiliki banyak dampak positif bagi kesehatan manusia. Selain itu, antosianin juga dimanfaatkan dalam proses penyimpanan serta pengawetan buah, serta pembuatan selai buah. Di Jepang, antosianin tidak hanya digunakan sebagai pewarna makanan, tetapi juga digunakan sebagai pewarna kertas (kertas Awobana). ([id.wikipedia.org/wiki/Antosianin](https://id.wikipedia.org/wiki/Antosianin))

Identifikasian antosianin atau flavonoid yang kepolarannya rendah, daun segar atau daun bunga jangan dikeringkan tetapi harus digerus dengan metanol. Ekstraksi hampir segera terjadi seperti terbukti dari warna larutan. Flavonoid yang

kepolarannya rendah dan yang kadang-kadang terdapat pada bagian luar tumbuhan, paling baik diisolasi hanya dengan merendam bahan tumbuhan segar dalam heksana atau eter selama beberapa menit.

Antosianin merupakan antioksidan alami yang dapat mencegah penyakit kanker, jantung, tekanan darah tinggi, katarak, dan bahkan dapat menghaluskan kulit. Namun demikian, janganlah berlebihan dalam mengonsumsi antosianin ini karena dapat menyebabkan keracunan. Berdasarkan ADI (*Acceptable Daily Intake*), konsumsi maksimum antosianin yang diperbolehkan per hari sebesar 0,25 mg/kg berat badan kita. (Dewi Indah Manalu, 2011)



Gambar 2. Struktur kimia antosianin  
(<http://id.wikipedia.org/wiki/Antosianin>)

## 2.4 Spektrofotometri

Spektrofotometri merupakan suatu metode analisis yang didasarkan pada pengukuran serapan sinar makromatis oleh suatu lajur larutan berwarna pada panjang gelombang spesifik dengan menggunakan monokromator prisma atau kisi difraksi dengan fototube atau tabung foton hampa. Alat yang digunakan adalah spektrofotometer, yaitu suatu alat yang di gunakan untuk menentukan suatu senyawa baik secara kuantitatif maupun kualitatif dengan mengukur transmittan atau absorbansi dari suatu cuplikan sebagai fungsi dari konsentrasi. Pada titrasi

spektrofotometri, sinar yang digunakan merupakan satu berkas yang panjangnya tidak berbeda banyak antara satu dengan yang lainnya, sedangkan dalam kalorimetri perbedaan panjang gelombang dapat lebih besar. Dalam hubungan ini dapat disebut juga spektrofotometri adsorpsi atomik (Hardjadi, 1990).

Spektrofotometer menghasilkan sinar dan spectrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau diabsorpsi. Kebetulan spektrofotometer dibandingkan dengan fotometer adalah panjang gelombang dari sinar putih dapat lebih terseleksi dan ini diperoleh dengan alat pengurai seperti prisma, grating, atau celah optis. Pada fotometer filter dari berbagai warna yang mempunyai spesifikasi melewatkan trayek panjang gelombang tertentu. Pada fotometer filter tidak mungkin diperoleh panjang gelombang 30-40 nm. Sedangkan pada spektrofotometer, panjang gelombang yang benar-benar terseleksi dapat diperoleh dengan bantuan alat pengurai cahaya seperti prisma. Suatu spektrofotometer tersusun dari sumber spektrum tampak yang kontinyu, monokromator, sel pengabsorpsi untuk larutan sampel blanko dan suatu alat untuk mengukur perbedaan absorpsi antara sampel dan blanko ataupun pembanding (Khopkar, 2002).

Sinar yang melewati suatu larutan akan terserap oleh senyawa-senyawa dalam larutan tersebut. Intensitas sinar yang diserap tergantung pada jenis senyawa yang ada, konsentrasi dan tebal atau panjang larutan tersebut. Makin tinggi konsentrasi suatu senyawa dalam larutan, makin banyak sinar yang diserap. 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. (Ita Tri Wahyuni, 2012)

#### 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 :

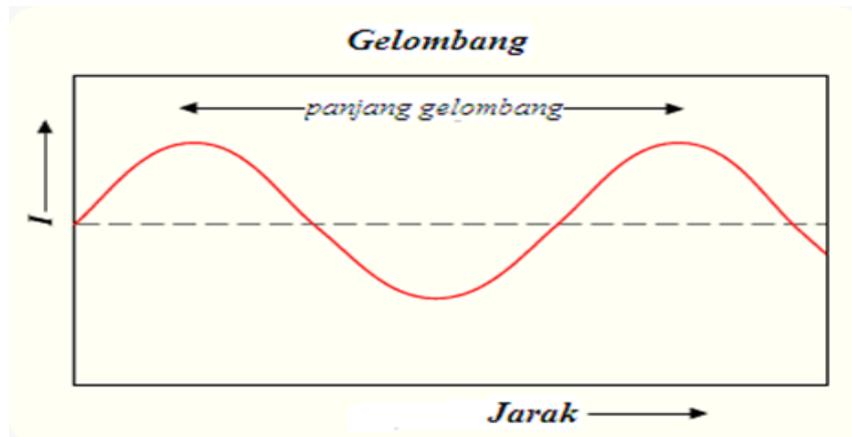
$$C = V \cdot \lambda$$

Dimana :

C = Kecepatan cahaya

V = Frekuensi dalam gelombang per detik (Hertz)

$\lambda$  = Panjang gelombang dalam meter



Gambar 3. 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).

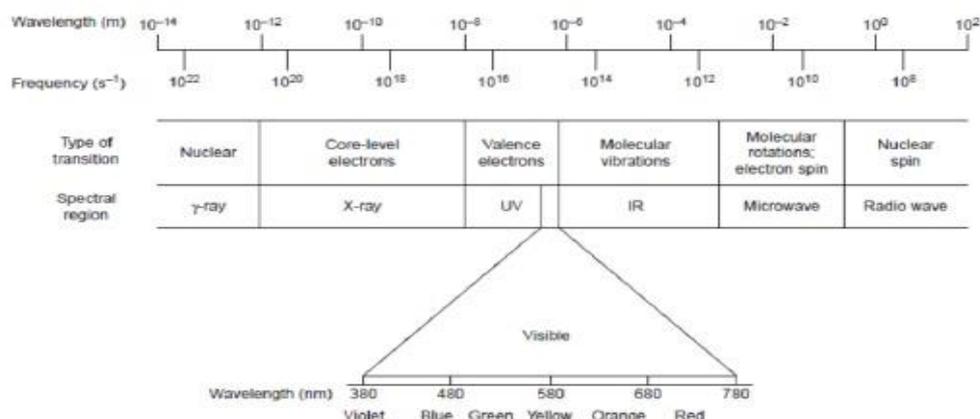
Cahaya /sinar tampak terdiri dari suatu bagian sempit kisaran panjang gelombang dari radiasi elektromagnetik dimana mata manusia sensitive. Radiasi dari panjang gelombang yang berbeda ini dirasakan oleh mata kita sebagai warna berbeda ,sedangkan campuran dari semua panjang gelombang tampak seperti sinar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

Tabel 2. 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 4. 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  $\nu$ , dan *quantized*, terjadi hanya pada tingkatan tertentu :

$$E = h \cdot \nu$$

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

Tabel 3. 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 : [www.suharyo07.student.ipb.ac.id](http://www.suharyo07.student.ipb.ac.id))

#### 2.4.2 Spektrofotometri UV (Ultraviolet)

Berbeda dengan spektrofotometri visible, pada spektrofotometri UV berdasarkan interaksi sampel dengan sinar UV. Sinar UV memiliki panjang gelombang 190-380 nm. Sebagai sumber sinar dapat digunakan lampu deuterium. Deuterium disebut juga heavy hidrogen. Dia merupakan isotop hidrogen yang stabil yang terdapat berlimpah dilaut dan daratan. Inti atom deuterium mempunyai satu proton dan satu neutron, sementara hidrogen hanya memiliki satu proton dan tidak memiliki neutron. Nama deuterium diambil dari bahasa Yunani, deuteran yang berarti dua, mengacu pada intinya yang memiliki 2 partikel. Karena sinar UV tidak dapat dideteksi dengan mata kita maka senyawa yang dapat menyerap sinar ini terkadang merupakan senyawa yang tidak memiliki warna, bening dan transparan. Oleh karena itu, sampel tidak berwarna tidak perlu dibuat berwarna dengan penambahan reagen tertentu. Bahkan sampel dapat langsung dianalisa

meskipun tanpa preparasi. Namun perlu diingat, sampel keruh tetap harus dibuat jernih dengan filtrasi atau sentifungi. Prinsip dasar pada spektrofotometri adalah sampel harus jernih dan larut sempurna. Tidak ada partikel koloid/ suspensi.

#### **2.4.3 Spektrofotometer UV Vis**

Merupakan alat dengan teknik spektrofotometer pada daerah ultra-violet dan sinar tampak. Alat ini digunakan mengukur serapan sinar ultra violet atau sinar tampak oleh suatu materi dalam bentuk larutan. Konsentrasi larutan yang dianalisis sebanding dengan jumlah sinar yang diserap oleh zat yang terdapat dalam larutan tersebut.

#### **2.4.4 Spektrofotometer Infra Merah**

Dari namanya sudah bisa dimengerti bahwa spektrofotometri ini berdasar pada penyerapan panjang gelombang inframerah. Cahaya inframerah terbagi menjadi inframerah dekat, inframerah pertengahan dan jauh. Inframerah pada spektrofotometri adalah inframerah jauh dan pertengahan yang mempunyai panjang gelombang 25-1000  $\mu\text{m}$ . Pada spektro IR meskipun bisa digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi pada suatu senyawa, terutama senyawa organik. Setiap serapan pada panjang gelombang tertentu menggambarkan adanya suatu gugus fungsi spesifik.

Hasil analisa biasanya berupa signal kromatogram hubungan intensif IR, terhadap panjang gelombang. Untuk identifikasi, signal sampel akan dibandingkan dengan signal standar. Perlu juga diketahui bahwa sampel untuk metode ini harus dalam bentuk murni. Karena bila tidak, gangguan dari gugus fungsi kontaminan akan mengganggu signal kurva yang diperoleh (Day dan

Underwood, 1986). Terdapat juga satu jenis spektrofotometri IR lainnya yang berdasar pada penyerapan sinar IR pendek. Spektrofotometri disebut Near Infrared Spectroscopy (NIR). Aplikasi NIR banyak digunakan pada industri pakan dan pangan guna menganalisa BB yang rutin dan cepat. (Ita Tri Wahyuni, 2012)

#### **2.4.5 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.

##### **2.4.5.1 Proses Absorpsi Cahaya pada Spektrofotometri**

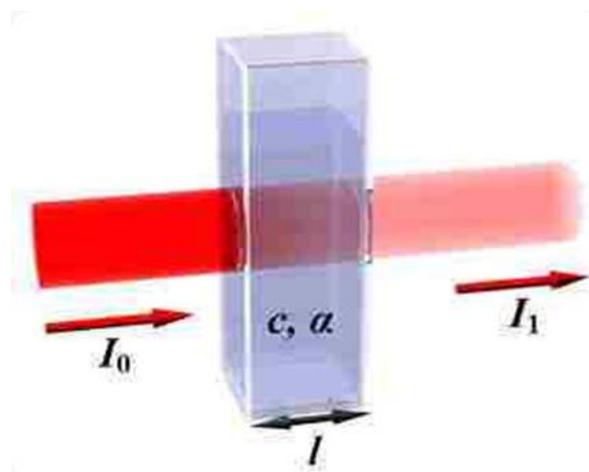
Ketika cahaya dengan panjang berbagai panjang gelombang (cahaya polikromatis) mengenai suatu zat, maka cahaya dengan panjang gelombang tertentu saja yang akan diserap. Di dalam suatu molekul yang memegang peranan penting adalah elektron valensi dari setiap atom yang ada hingga terbentuk suatu materi. 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 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  $I_t/I_0$  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 5. 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 sampelCahaya 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:

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

Dimana:

A = Absorbansi

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

c = Konsentrasi larutan yang diukur

$\epsilon$  = 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 l 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.

(<https://wanibesak.wordpress.com/2011/07/04/pengertian-dasarspektrofotometer-vis-uv-uv-vis/>)

## Fungsi Masing-masing Alat

### 1. Sumber sinar polikromatis

berfungsi sebagai sumber sinar polikromatis dengan berbagai macam rentang panjang gelombang. Untuk spektrofotometer:

- a. UV menggunakan lampu deuterium atau disebut juga heavy hydrogen
- b. VIS menggunakan lampu tungsten yang sering disebut lampu wolfram
- c. UV-VIS menggunakan photodiode yang telah dilengkapi monokromator
- d. Infra merah, lampu pada panjang gelombang IR.

### 2. Monokromator

berfungsi sebagai penyeleksi panjang gelombang yaitu mengubah cahaya yang berasal dari sumber sinar polikromatis menjadi cahaya monokromatis. Jenis monokromator yang saat ini banyak digunakan adalah grating atau lensa prisma dan filter optik. Jika digunakan grating maka cahaya akan dirubah menjadi spektrum cahaya. Sedangkan filter optik berupa lensa berwarna sehingga cahaya yang diteruskan sesuai dengan warna lensa yang dikenai cahaya. Ada banyak lensa warna dalam satu alat yang digunakan sesuai dengan jenis pemeriksaan.

### 3. Sel sampel

berfungsi sebagai tempat meletakkan sampel.

- a. UV, VIS dan UV-VIS menggunakan kuvet sebagai tempat sampel. Kuvet biasanya terbuat dari kuarsa atau gelas, namun kuvet dari kuarsa yang terbuat dari silika memiliki kualitas yang lebih baik. Hal ini disebabkan yang terbuat dari kaca dan plastik dapat menyerap UV sehingga penggunaannya hanya pada spektrofotometer sinar tampak (VIS). Cuvet biasanya berbentuk persegi panjang dengan lebar 1 cm.

- b. IR, untuk sampel cair dan padat (dalam bentuk pasta) biasanya dioleskan pada dua lempeng natrium klorida. Untuk sampel dalam bentuk larutan dimasukkan ke dalam sel natrium klorida. Sel ini akan dipecahkan untuk mengambil kembali larutan yang dianalisis, jika sampel yang dimiliki sangat sedikit dan harganya mahal.

#### 4. Detektor

Berfungsi menangkap cahaya yang diteruskan dari sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik. Syarat-syarat sebuah detektor :

- a. Kepekaan yang tinggi
- b. Perbandingan isyarat atau signal dengan bising tinggi
- c. Respon konstan pada berbagai panjang gelombang
- d. Waktu respon cepat dan signal minimum tanpa radiasi
- e. Signal listrik yang dihasilkan harus sebanding dengan tenaga radiasi

Macam-macam detektor:

- a. Detektor foto (Photo detector)
- b. Photocell, misalnya CdS
- c. Phototube
- d. Hantaran foto
- e. Dioda foto
- f. Detektor panas

#### 5. Read out

Merupakan suatu sistem baca yang menangkap besarnya isyarat listrik yang berasal dari detektor.