

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Spektrofotometri

Spektrofotometri merupakan salah satu metode analisis instrumental yang menggunakan dasar interaksi energi 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 spektrofotometer didasarkan pada fenomena penyerapan sinar oleh spesi kimia tertentu di daerah ultra violet dan sinar tampak (visible).

2.1.1. Spektrofotometri Sinar Tampak (visible)

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

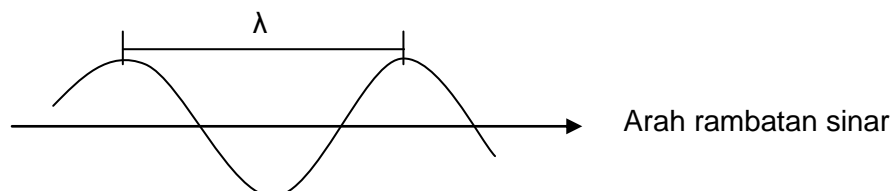
$$C = V \cdot \lambda$$

Dimana :

C = kecepatan cahaya (3×10^8 m/s)

V = frekuensi dalam gelombang per detik (Hertz)

λ = panjang gelombang dalam meter

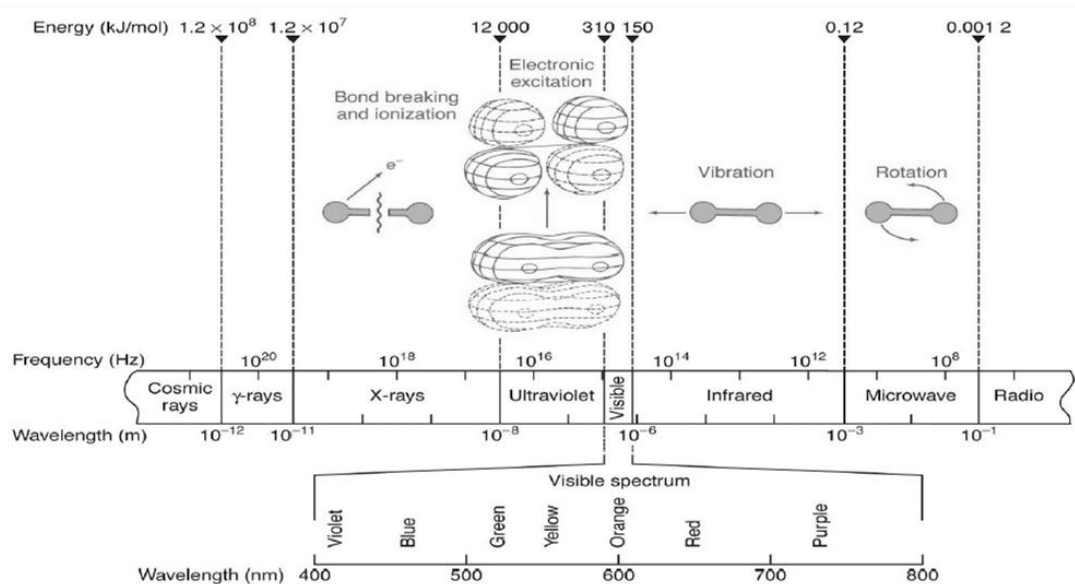


Gambar 1. Radiasi Elektromagnetik dengan Panjang Gelombang λ

Cahaya/ sinar tampak terdiri dari suatu bagian sempit kisaran panjang gelombang dari radiasi elektromagnetik dimana mata manusia sensitif. Radiasi dari

panjang gelombang yang berbeda ini dirasakan oleh mata kita sebagai warna yang berbeda, sedangkan campuran dari semua panjang gelombang tampak seperti sinar putih. Sinar putih memiliki panjang gelombang mencakup 400-760 nm (nm).

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 ν , dan quantized, terjadi hanya pada tingkatan tertentu :

$$E = h \cdot \nu$$

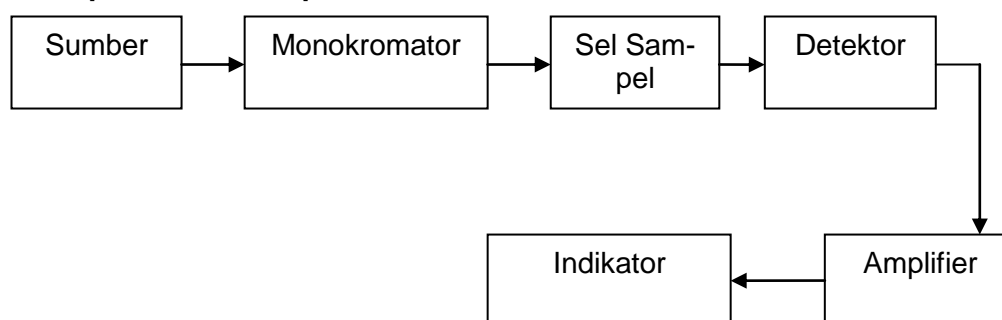
dimana : h = konstanta Planck, $6,63 \times 10^{-34}$ J.s

Tabel 1. Panjang gelombang berbagai warna cahaya

λ (nm)	Warna yang terserap	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

*) Warna Larutan

2.1.2 Komponen Utama Spektrofotometer



Gambar 3. Blok Diagram Prinsip Kerja Spektrofotometer

1. Sumber Sinar

Sumber sinar yang biasa digunakan pada spektroskopi absorpsi adalah lampu wolfram, deuterium lampu hidrogen. Lampu wolfram digunakan untuk daerah visibel (tampak) sedangkan untuk lampu hidrogen atau deuterium digunakan untuk sumber daerah UV.

2. Monokromator

Monokromator merupakan serangkaian alat optik yang menguraiakan radiasi polikromatik dan berfungsi untuk memunculkan garis resonansi dari semua garis yang tidak diserap yang dipancarkan oleh sumber radiasi. Alatnya dapat berupa prisma atau grating.

Macam - macam monokromator :

- Prisma
- Kuarsa untuk daerah UV
- Kisi difraksi
- Kaca untuk daerah sinar tampak
- Rock salt (kristal garam) untuk daerah IR

Keuntungan menggunakan kisi :

- Dispersi sinar merata
- Dispersi lebih baik dengan ukuran pendispersi yang sama
- Dapat digunakan dalam seluruh jangkauan spectrum

3. Sel Sampel

Berfungsi untuk sebagai tempat untuk meletakkan sampel.

- UV, Vis dan UV-Vis menggunakan kuvet sebagai tempat untuk memasukkan sampel. Kuvet biasanya terbuat dari kuarsa atau gelas, namun kuvet dari kuarsa memiliki kualitas yang lebih baik.

- 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

Peranan detektor penerima adalah memberikan respon terhadap cahaya pada berbagai panjang gelombang. Detektor yang digunakan dalam UV – VIS disebut “*detektor fotolistrik*”

Persyaratan-persyaratan penting untuk detektor meliputi :

1. Sensivitas tinggi hingga dapat mendeteksi tenaga cahaya yang mempunyai tingkatan rendah sekalipun
2. Waktu respon yang pendek.
3. Stabilitas yang panjang
4. Sinar elektronik yang mudah diperjelas dan sistem pembacaan.

Macam - macam detektor :

- | | |
|-----------------|------------------|
| - Detektor foto | - Hantaran foto |
| - Photocell | - Dioda foto |
| - Phototube | - Detektor panas |

5. Penguat (amplifier)

Berfungsi untuk memperbesar arus yang dihasilkan oleh detektor agar dapat dibaca oleh indikator.

6. Indikator

Dapat berupa :

Recorder dan komputer.

2.2 Hukum Kuantitatif

2.2.1 Hukum *Bouguer (Lambert)*

Hubungan antara absorpsi radiasi dan panjang jalan medium penyerap pertama kali dirumuskan oleh Bouguer (1729) meskipun kadang-kadang dianggap berasal dari Lambert (Underwood;1998). Bila sebuah medium penyerap yang homogen seperti larutan kimia dibagi menjadi lapisan-lapisan maya masing-masing dengan ketebalan sama, maka tiap-tiap lapisan akan menyerap bagian yang sama dari suatu sinar radiasi monokromatik yang diarahkan melewati medium tersebut atau tiap lapisan mengurangi tenaga radiasi sinar dengan bagian yang sama.

Penemuan Bouguer dapat dirumuskan secara matematik sebagai berikut:

$$k_1 p$$

Bila persamaan tersebut diintegrasikan antara batas-batas p_0 dan p dan 0 dan b akan menghasilkan persamaan :

$$\ln k_1 b$$

2.2.2 Hukum *Beer*

Hubungan antara konsentrasi macam-macam zat penyerap dan besarnya absorpsi dirumuskan oleh Beer pada tahun 1859. Hukum Beer analog dengan Hukum Bouguer dalam menguraikan pengurangan eksponensial dalam tenaga transmisi dengan suatu peningkatan aritmatik dalam konsentrasi.

$$\log k_4 c$$

2.2.3 Hukum Gabungan *Bouguer – Beer*

Hukum-hukum Bouguer dan Beer bila digabung akan menghasilkan suatu persamaan :

$$\log \frac{p_0}{p}$$

Istilah $\log (p_0/p)$ dinamakan absorbansi dan diberi tanda A. Sedangkan b, c dan k berturut-turut merupakan panjang jalan lewat medium penyerap. Konsentrasi zat penyerap dan tetapan. Bila konsentrasi (c) dalam satuan gram per liter maka tetapan tersebut disebut absorptivitas dengan tanda a. Apabila c dengan satuan mol per liter, tetapan disebut absorptivitas molar dengan tanda ϵ . Maka sistem disarankan, hukum Bouguer – Beer dapat berupa dua bentuk :

$$A = a b c$$

atau

$$A = \epsilon b c$$

Dimana :

A = absorbansi

c = konsentrasi

a = absorpsivitas

ϵ = tetapan / absorpsivitas molar

b = panjang jalan sinar

Karena a dan b tetap maka terdapat hubungan yang linear antara A (absorbans) versus c (konsentrasi).

2.3 Kesalahan Dalam Spektrofotometer

Kesalahan-kesalahan dalam penggunaan alat spektrofotometer adalah:

1. Kesalahan dalam hal penggunaan alat atau pengoperasian instrumen dari alat spektrofotometer tersebut, seperti pada cara memegang sel kuvet harus sesuai dengan petunjuk) karena sidik jari dapat menyerap pengukuran daerah ultra ungu.
2. Gelombang gas tidak ada dalam lintasan optik.
3. Penyerapan panjang gelombang dari alat harus diteliti dan ketidakstabilan dalam sirkuit harus diperbaiki.
4. Ketidak tetapan contoh dalam konsentrasi zat.

2.4 Labu Kuning

2.4.1 Pengertian Labu Kuning

Buah labu kuning atau yang sering disebut dengan *waluh* (Jawa Tengah) atau *pumpkin* (Inggris), merupakan salah satu sayuran yang memiliki bentuk bulat sampai lonjong dan berwarna kuning kemerahan. Tanaman labu kuning mempunyai daun lebar, kasar dan berbulu. Ukuran labu kuning dibedakan atas tiga kelompok yaitu labu kecil (kurang dari 2,5 kg) labu besar (2,5 Kg hingga 10 Kg) dan labu sangat besar (> 10 Kg). Bentuk labu kuning bermacam-macam ada yang berbentuk bulat, bulat gepeng, lonjong, oval atau seperti botol. Buah labu kuning terdiri atas bagian-bagian kulit 12,5 %, daging buah 81,2%, jaring-jaring biji dan biji 4,8%.



Gambar 4. Tanaman labu kuning yang menjalar (kiri) dan buah labu kuning(kanan)

Kulit labu kuning yang masih muda berwarna hijau segar, setelah membesar dan tua warnanya berubah hijau kekuning-kuningan hingga berubah menjadi kuning jika sudah kering. Daging buah yang sudah tua berwarna kuning hingga orange menunjukkan kadar beta karoten yang tinggi serta merupakan sumber kalori.

2.4.2 Taksonomi Labu Kuning

Menurut Riyanto (2012) klasifikasi labu kuning sebagai berikut :

Divisi : *Spermatophyta*

Sub divisi : *Angiospermae*

Kelas : *Dicotyledonae*

Ordo : *Cucurbitales*

Familia : *Cucurbitaceae*

Genus : *Cucurbita*

Spesies : *Cucurbita moschata*

2.4.3 Kegunaan Labu Kuning

Manfaat labu kuning untuk kehidupan sehari-hari banyak sekali, diantaranya adalah sebagai sumber beta karoten atau karotenoid. Labu kuning mempunyai warna kuning atau jingga akibat kandungan karotenoidnya yang sangat tinggi, di samping kaya akan karoten (salah satu jenis karotenoid). Karoten (betakaroten) merupakan sumber vitamin A. Beta Karoten di dalam tubuh akan diubah menjadi vitamin A yang bermanfaat bagi kesehatan, yaitu untuk pertumbuhan, pemeliharaan, jaringan tubuh seperti penglihatan, reproduksi, perkembangan janin serta untuk mengurangi resiko timbulnya penyakit hati dan kanker. Vitamin A sebagai salah satu mikronutrien juga berperan penting dalam mempertahankan sistem kekebalan tubuh. Labu kuning yang kaya betakaroten dapat menjadi bahan biofortifikasi pada produk pangan olahan.

Labu kuning memiliki daya awet tinggi dengan aroma dan cita rasa yang khas. Selain menjadi sumber vitamin A labu kuning juga memiliki banyak komponen nutrisi seperti karbohidrat, protein, lemak, serat dan mineral.

2.4.4 Komposisi Labu Kuning

Labu kuning merupakan salah satu jenis tanaman pangan yang mempunyai kandungan gizi yang cukup tinggi dan lengkap. Secara lengkap labu kuning mempunyai kandungan gizi seperti yang disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi Zat Gizi Labu Kuning per 100g Bahan

No	Kandungan Gizi	Kadar / Satuan
1	Kalori	29.00 kal
2	Protein	1.10 g
3	Lemak	0.30 g
4	Hidrat arang	6.60 g
5	Kalsium	45.00 mg
6	Fosfor	64.00 m
7	Zat Besi	1.40 mg
8	Vitamin A	180.00 SI
9	Vitamin B1	0.08 mg
10	Vitamin C	52.00 g
11	Beta karoten	2,25 g/ 100g
12	Air	91.20 g

(Sumber : Sinaga, 2011)

2.5 β -Karoten

2.5.1 Pengertian β -Karoten

Beta-karoten adalah zat kimia alami yang dimiliki oleh keluarga karotenoid. Hal ini hadir dalam banyak tanaman dan sayuran dan memberikan pigmen atau warna oranye kepada mereka. misalnya warna oranye Wortel dan labu berasal dari beta-karoten. Selain berkontribusi pigmen untuk berbagai buah-buahan dan sayuran, beta-karoten juga bertindak sebagai bahan kimia pendukung dalam proses produksi pangan pada tanaman yang disebut fotosintesis. Beta-karoten tidak hanya penting untuk tanaman, tetapi juga penting bagi kesehatan manusia.

Bila dikonsumsi melalui asupan buah-buahan dan sayuran, beta-karoten akan diubah menjadi vitamin A yang merupakan anti-oksidan yang kuat.

2.5.2 Sifat Kimia dan Fisika β -Karoten

Berikut adalah beberapa sifat kimia dan fisika β -Karoten

1. Larut dalam lemak
2. Larut dalam pelarut non polar
3. Sukar larut dalam alkohol
4. Sensitif terhadap oksidasi
5. Auto Oksidasi
6. Memiliki spektrum serapan yang spesifik

Karotenoid dapat dikelompokkan menjadi 4 golongan, yaitu :

1. Karoten merupakan karotenoid hidrokarbon $C_{40}H_{56}$, yaitu alfa, beta dan gamma karoten
2. Xantofil dan derivat karoten yang mengandung oksigen dan hidroksil.

Contohnya : kriptosantin dan lutein

3. Ester xantofil yaitu ester asam lemak. Contohnya Zeaxantin
4. Asam karotenoid, yaitu derivat karoten yang mengandung gugus

Karboksil

Sedangkan Bielsen (2010) hanya menggolongkan pigmen karotenoid ini menjadi 2 kelompok besar saja yaitu hydrocarbon carotenes dan oxygenated xanthophylls. Dari suatu survey dasar diketahui bahwa vitamin A hanya ditemukan di makanan hewani berupa daging, hati, hinggatelur. Vitamin A tidak ditemukan di makanan nabati, namun demikian tumbuhan mampu membentuk atau mensintesa senyawa karotenoid, yang merupakan prekursor vitamin A. Prekursor vitamin A ini merupakan pigmen warna kuning hingga merah yang

dapat ditemukan pada daun atau buah dan sayuran. Karotenoid tersebut biasanya berupa beta karoten, alpha karoten, cryptoxanthin, lutein, zeaxanthin, dan likopen.

2.5.3 Kandungan β -karoten dan manfaat β -karoten

Karotenoid dapat diperoleh dari sayuran berdaun hijau yang mengandung banyak klorofil dan makanan yang memiliki warna alami merah, kuning dan oranye. Contohnya adalah wortel yang merupakan sumber beta-karoten dan tomat yang merupakan sumber lycopene.

Tabel. 3 Kandungan β -karoten dalam makanan

Karotenoid	Sumber Makanan
Lycopnene	Tomat
Beta-kriptosantin	Buah-buahan sitrus: jeruk, lemon
Beta-karoten	Wortel, mangga, bayam, brokoli, selada air, labu kuning
Lutein	Sayuran berdaun hijau
Zeasantin	Sayuran berdaun hijau, jagung, cabe oranye
Alfa-karoten	Cabe, wortel
Echinenone	Organisme laut
Capsantin	Cabe merah
Astasantin	Salmon, lobster
Cantasantin	Jamur

Sumber (Anonim, 2013)

Manfaat utama karotenoid adalah fungsi provitamin A. beta-karoten berkontribusi sekitar 1/12 jumlah retinol, sedangkan alpha-karoten dan beta-kriptosantin 1/24 jumlah retinol. Vitamin A sangat penting bagi pertumbuhan dan perkembangan yang normal, sistem kekebalan tubuh dan pengelihan.

Pada tumbuhan, karotenoid memiliki fungsi antioksidan penting menonaktifkan oksigen singlet yaitu oksidator yang terbentuk selama fotosintesis. Penelitian menunjukkan bahwa karotenoid juga dapat menghambat oksidasi lemak (misalnya, peroksidasi lipid) dalam kondisi tertentu, namun fungsi mereka pada manusia tampaknya lebih kompleks.