

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

1. Tumbuhan Adam Hawa (*Rhoeo discolor*)

Daun Adam Hawa (*Rhoeo discolor* L. Her.) merupakan salah satu tumbuhan yang tergolong kedalam tanaman hias varigata. Tanaman varigata adalah segala tanaman yang menampilkan dua warna atau lebih pada daunnya, yang berbeda dengan induknya.¹ Pengertian varigata pada tanaman sangat variatif. Pada wikipedia, yang dinamakan varigata adalah daerah dalam daun atau batang yang memiliki warna yang berbeda dengan bagian lainnya. Umumnya, varigata merujuk ke kelainan warna krem, putih, atau kuning pada daun. Namun, seiring dengan banyaknya tanaman yang berdaun tidak hijau, istilah varigata juga bisa mencakup warna yang lain.

Adapun klasifikasi dari tanaman daun adam hawa (*Rhoeo discolor*) yaitu :

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisio	: Spermatophyta
Divisio	: Magnoliophyta
Class	: Liliopsida
Ordo	: Commelinales
Famili	: Commelinaceae
Genus	: Rhoeo
Spesies	: Rhoeo discolor

¹Abdul Kadir, *Tanaman Hias Bernuansa Varigata*, Lily Publisher, Yogyakarta, 2008, hal.

Beberapa istilah yang sering dipakai untuk menyatakan varigata:²

1. Marginata : menyatakan warna yang biasanya berupa putih atau kuning pada tepi daun.
2. Lineata : menyatakan garis yang biasanya berupa putih atau kuning di sepanjang daun.
3. Medio-picta : menyatakan warna pada bagian tengah daun.
4. Discolor : menyatakan kombinasi dua warna.
5. Tricolor : menyatakan kombinasi tiga warna.
6. Quadricolor : menyatakan kombinasi empat warna.



Gambar II. 1. Daun Adam Hawa (*Rhoe discolor*)

Tumbuhan adam hawa (*Rhoe discolor*) atau dikenal juga dengan sebutan sosongkokan merupakan tumbuhan suku gawar-gawaran yang sering digunakan oleh masyarakat sebagai tanaman hias. Tumbuhan ini berasal dari Meksiko dan Hindia Barat. Tinggi pohon 40 cm - 60 cm, memiliki batang kasar, pendek, lurus, tidak bercabang. Panjang daun lebih dari 30 cm, lebar 2,5 - 6 cm. Tumbuhan ini juga memiliki bunga yang

²*Ibid*, hal. 2

berwarna putih dan berbentuk bunga kerang.³ Sosongkokan tumbuh subur pada daerah tanah yang lembab. Kandungan senyawa kimia yang dimiliki tanaman ini berupa saponin dan tanin. Sedangkan warna ungu dari tumbuhan adam hawa ini diduga memiliki kandungan kimia yang berupa senyawa flavonoid yaitu antosianin.⁴

Penyebab varigata pada daun, khususnya yang berwarna krem, putih, atau kuning, disebabkan oleh kekurangan klorofil (zat hijau daun). Menurut Ombrello, warna putih terjadi akibat daun yang tidak mampu menghasilkan pigmen (zat warna) pada daerah tersebut. Warna orange, kuning, dan hijau muda diakibatkan pigmen hijau (chlorophyll) yang dihasilkan daun kurang, tercadar oleh pigmen orange (caretoined) dan pigmen kuning (xantophyll). Adapun serambut merah, merah muda, dan juga ungu, disebabkan oleh pigmen anthocyanin.⁵

1.1 Manfaat Daun Adam Hawa

Tumbuhan Adam Hawa memiliki banyak kegunaan bagi manusia. Selain dari digunakan sebagai tanaman hias karena keunikan fisiologisnya, ternyata daun adam hawa ini dapat dijadikan sebagai obat.

Sifat kimia dan efek farmakologis yang dimilikinya berupa rasa manis, sejuk dan dapat digunakan sebagai anti radang, memelihara paru, mencairkan dahak, anti batuk, anti diare, membersihkan darah.

³Takemura, *Daun Adam Hawa*, <http://id.shvoong.com/exact-sciences/biology/2073856-morfologi-rhoe-discolor/#ixzz1i0wIRg6N>, diakses pada 26 April 2013

⁴Risma Meidy Hardina Sitorus, *loc cit*

⁵Abdul Kadir, *op. cit*, hal. 4

Selain kegunaan diatas, daun adam hawa juga dapat dimanfaatkan sebagai obat mimisan, obat berak darah, terkilir atau memar, serta sebagai obat flu.⁶

2. Zat Warna

Penentuan mutu bahan makanan pada umumnya sangat bergantung pada beberapa faktor diantaranya, cita rasa, warna, tekstur, dan nilai gizinya. Ada lima sebab yang dapat menyebabkan suatu bahan makanan berwarna yaitu:⁷

- a. Pigmen yang secara alami terdapat pada tanaman dan hewan misalnya klorofil berwarna hijau, karoten berwarna jingga, dan mioglobin yang menyebabkan warna merah pada daging.
- b. Reaksi karamelisasi yang timbul bila gula dipanaskan membentuk warna coklat, misalnya warna coklat pada kembang gula karamel atau roti yang dibakar.
- c. Reaksi antara senyawa organik dengan udara akan menghasilkan warna hitam, atau coklat gelap, misalnya warna gelap pada kentang atau apel yang dipotong.
- d. Penambahan zat warna baik zat warna alami maupun zat warna sintetik, yang termasuk dalam bahan aditif makanan.
- e. Penambahan zat warna, baik bila zat warna alami maupun zat warna sintetik, yang termasuk dalam golongan bahan aditif makanan.

⁶Arif Nur M.A, *Sosongkokaan, Manfaat dan Struktur Daunnya*, <http://arif-nma.com/2012/11/11/sosongkokaan-manfaat-dan-struktur-daunnya/>, diakses pada 13 Mei 2013.

⁷Winarno, *Kimia Pangan dan Gizi*, PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta, hal. 172

2.1 Pembagian Zat Pewarna Makanan

Zat warna/pewarna makanan secara umum dapat dibagi menjadi tiga golongan, yaitu: zat warna alami, zat warna yang identik dengan zat warna alami, dan zat warna sintetis.

Zat warna alami adalah zat warna (pigmen) yang diperoleh dari tumbuhan, hewan, atau dari sumber-sumber mineral. Zat warna ini telah sejak dahulu digunakan untuk pewarna makanan dan sampai sekarang umumnya penggunaannya dianggap lebih aman daripada zat-zat warna sintetis. Bila dibandingkan dengan pewarna-pewarna sintetis penggunaan pewarna alami mempunyai keterbatasan-keterbatasan, antara lain:⁸

1. Seringkali memberikan rasa dan flavor yang tidak diinginkan.
2. Konsentrasi pigmen rendah.
3. Stabilitas pigmen rendah.
4. Keseragaman warna kurang baik.
5. Spektrum warna tidak seluas seperti pada pewarna sintetis.

Jenis zat warna alami yang sering digunakan untuk pewarna makanan antarlain ialah: klorofil, antosianin, karotenoid, antoxatin serta tanin.

Zat warna yang identik dengan zat warna alami ini masih satu golongan dengan kelompok zat warna alami, hanya zatwarna ini dihasilkan dengan cara sintesis kimia, bukan dengan cara ekstraksi

⁸Arif Adholi, *Zat Warna Makanan*, <http://ariffadholi.blogspot.com/2010/06/zat-warna-makanan.html>, diakses pada 13 Mei 2013.

atau isolasi. Jadi pewarna identik alami adalah pigmen-pigmen yang dibuat secara sintetis yang struktur kimianya identik dengan pewarna-pewarna alami.

Sedangkan zat warna sintetis dalam makanan menurut “Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives” (JECFA) dapat digolongkan dalam beberapa kelas, yaitu: azo, triarilmetana, quinolin, xanten dan indigoid. Kelas azo merupakan zat warna sintetis yang paling banyak jenisnya dan mencakup warna kuning, oranye, merah, ungu, dan coklat, setelah itu kelas triarilmetana yang mencakup warna biru dan hijau.

3. Antosianin

Antosianin adalah pigmen yang paling tersebar luas dalam tumbuhan. Pigmen berwarna kuat ini adalah penyebab hampir semua warna merah, ungu, dan biru dalam daun, bunga, buah, dan mungkin juga terdapat pada kulit buahnya saja, seperti pada terong, anggur, rambutan, apel. Antosianin ini merupakan termasuk golongan flavonoid utama dan banyak ditemukan di alam dalam bentuk 3- atau 3,5- glikosida.⁹

Metilasi biasanya terbatas pada gugus hidroksil 3' dan 5'. Glikosilasi pun pada antosianin lebih terbatas dibandingkan flavonoid lain. Beberapa kaidah umum mengenai ketergantungan warna pada metilasi dan glikosilasi dapat diberikan. Metilasi meningkatkan kemerahan, sedangkan peningkatan jumlah gugus hidroksil bebas atau penambahan gugus

⁹Sjamsul Arifin Ahmad, *Kimia Organik Bahan Alam*, 1986, hal. 23

glikosida-5 meningkatkan kebiruan (artinya terjadi geser batokrom pada maksimum serapan dan intensitas meningkat).¹⁰ Akan tetapi, ketergantungan warna pada pH dan keberadaan kopigmen dan kation logam menyebabkan kaidah ini tidak ada harganya kecuali jika kita menghadapi pigmen murni.

Sebagai glikosida, semua antosianin larut dalam air dan tidak larut dalam pelarut–pelarut organik. Akan tetapi, antosianin dapat diendapkan dari larutannya sebagai garam timbal yang bewarna biru, yang larut dalam asam asetat glasial menghasilkan warna merah tua. Selanjutnya, sebagai glikosida antosianin dapat diuraikan oleh asam atas komponen–komponennya, yakni gula dan antosianidin. Ada kalanya glikosida mengalami modifikasi lebih lanjut, yaitu asilasi.¹¹ Asilasi yaitu penambahan komponen ketiga pada molekulnya. Komponen ketiga ini terikat pada molekul gula dan dapat berupa p-kumarat, ferulat, kafeat atau asam asetat. Glikosida terasilasi mempunyai satu gugus hidraksil gula (atau lebih) yang berkaitan dengan asam seperti asam asetat atau asam ferulat. Sewaktu pemanasaan dalam asam mineral pekat, antosianin pecah menjadi antosianidin dan gula.¹²

Antosianidin ialah aglikon antosianin yang terbentuk bila antosianin dihidrolisis dengan asam.¹³ Terdapat tiga jenis antosianidin yang utama yakni pelargonidin, sianidin, dan delphinidin. Antosianidin yang

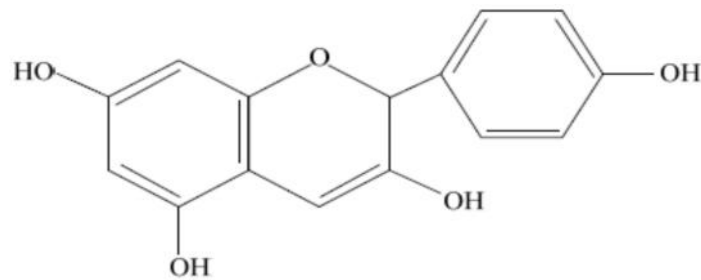
¹⁰Trevor Robinson, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, ITB, Bandung, 1991, hal. 201

¹¹Rusjdi Djamal, *Kimia Bahan Alam*, Universitas Baiturrahman, Padang, hal. 107

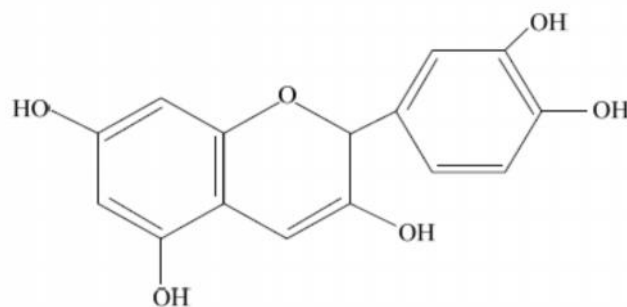
¹²Winarno, *op.cit*, hal. 180

¹³Rene Nursaerah Mulki Lazuardi, *op. cit*, hal. 12

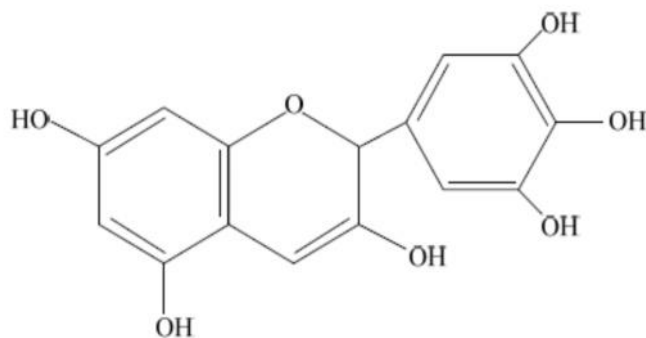
paling umum sampai saat ini ialah sianidin yang berwarna merah lembayung. Warna jingga disebabkan oleh pelargonidin yang gugus hidroksilnya kurang satu dibandingkan sianidin, sedangkan warna merah senduduk, lembayung dan biru umumnya disebabkan oleh delphinidin yang gugus hidroksilnya lebih satu dibandingkan sianidin.



Gambar II. 2. Struktur Antosianin Pelargonidin



Gambar II. 3. Struktur Antosianin Sianidin



Gambar II. 4. Struktur Antosianin Delfinidin

Antosianin tergolong pigmen yang disebut flavonoid. Flavonoid disebut juga sebagai vitamin P, adalah kelompok pigmen atau zat warna pada buah, bunga, dan daun, yang berfungsi sebagai antioksidan yang paling utama.¹⁴ Flavonoid mengandung dua cincin benzen yang dihubungkan oleh tiga atom karbon. Antosianin merupakan pigmen yang mudah larut dalam air dan merupakan antioksidan yang kuat dan stabil dalam kondisi asam. Sementara dalam kondisi netral, menjadi tidak stabil dan cepat terurai.¹⁵

3.1 Kestabilan Zat Warna Antosianin

Antosianin, seperti halnya pigmen alami lainnya, memiliki stabilitas yang rendah. Degradasi dapat terjadi selama ekstraksi, pemurnian, pengolahan, dan penyimpanan pigmen. Faktor-faktor yang mempengaruhi stabilitas antosianin antara lain struktur kimia pigmen, keasaman (pH), suhu, dan jenis pelarut. Salah satu karakteristik utama antosianin adalah perubahan warna yang merespon adanya perubahan pH lingkungan. Warna dan stabilitas antosianin pada larutan sangat tergantung pada pH. Stabilitas antosianin juga dipengaruhi oleh suhu lingkungan. Selain dari itu, proses pemanasan merupakan faktor yang dapat menyebabkan kerusakan antosianin. Paparan cahaya juga dapat memperbesar degradasi pada molekul antosianin, penyebab utama kehilangan pigmen warna berhubungan dengan hidrolisis antosianin.

¹⁴Tim Redaksi VitaHealth, *Seluk Beluk Food Supplement*, Gramedia Pustaka Utama, Jakarta, 2006, hal. 134

¹⁵Nazarina dan Asri Sulistijowati, *Menu Sehat Berdasarkan Warna Makanan*, Hikmah, Jakarta, 2009, hal. 11

Pada pH rendah, (asam) pigmen antosianin ini bewarna merah dan pada pH tinggi berubah menjadi violet dan kemudian menjadi biru.¹⁶Perubahan warna karena perubahan kondisi lingkungan ini tergantung dari gugus yang terikat pada struktur dasar dari posisi ikatannya.

Total antosianin yang terdapat pada buah-buahan sebagian besar tergantung pada beberapa faktor seperti spesies, varietas, kondisi tumbuh tanaman, sifat fisik tumbuhan dan buah, ukuran buah, letak buah pada tanaman, pemberian obat-obatan dan pupuk. Pada beberapa buah-buahan dan sayuran serta bunga memperlihatkan warna-warna yang menarik yang mereka miliki termasuk komponen warna yang bersifat larut dalam air dan terdapat dalam cairan sel tumbuhan.

3.2 Manfaat Antosianin

Manusia sejak lama telah mengkonsumsi antosianin bersamaan dengan buah dan sayuran. Selama ini tidak pernah terjadi suatu penyakit atau keracunan yang disebabkan oleh termakannya pigmen ini. Hal ini menyebabkan antosianin merupakan salah satu sumber pewarna untuk makanan yang dapat menggantikan bahan pewarna sintetis.

Antosianin memiliki efek terapeutik terhadap penyakit diabetes dan ulcer (radang lambung).¹⁷ Manfaat lainnya adalah:

¹⁶Winarno, *loc. cit*

¹⁷Nazarina dan Asri Sulistijowati, *loc cit*.

1. Menjaga kesehatan mata
2. Sebagai zat anti inflamasi
3. Menghambat pembentukan sel tumor
4. Mencegah penyakit jantung
5. Meningkatkan kekuatan dan permeabilitas pembuluh kapiler.

Kadar antosianin pada tumbuhan bervariasi. Semakin tinggi kandungan antosianin dalam tumbuhan, maka tumbuhan tersebut akan semakin berwarna keunguan yang sangat kuat, contohnya seperti pada buah blueberry yang memiliki kandungan antosianin 500mg/100g.

Penentuan kadar antosianin dapat dihitung menggunakan metode pH differensial. Metode ini merupakan metode kuantitatif total kandungan senyawa antosianin yang dilakukan dengan cara membuat suatu alikot senyawa antosianin pada pH 1,0 dan pH 4,5.¹⁸ Prinsip pengukuran dengan metode ini yaitu struktur antosianin berubah (*reversible*) dengan berubahnya pH. Kation flavillium dominan pada pH 1 dan semakin meningkatnya pH zat warna antosianin semakin tidak berwarna (kalkon).

4. Maserasi

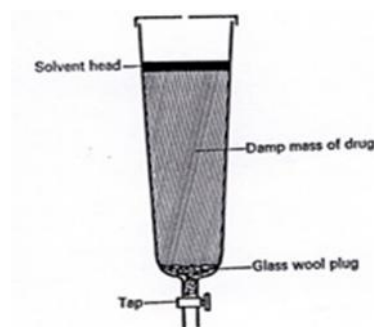
Maserasi adalah salah satu jenis [metoda ekstraksi](#) dengan sistem tanpa pemanasan atau dikenal dengan istilah ekstraksi dingin, jadi pada metoda ini pelarut dan sampel tidak mengalami pemanasan sama sekali. Sehingga maserasi merupakan teknik ekstraksi yang dapat digunakan

¹⁸ Meiny Suzery, Sri Lestari, dan Bambang Cahyono, *Penentuan Total Antosianin dari Kelopak Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa L) dengan Metode Maserasi dan Sokletasi*, "Jurnal Sains dan Matematika (JSM)", Universitas Diponegoro, Semarang, 2010

untuk senyawa yang tidak tahan panas ataupun tahan panas. Langkah kerjanya adalah merendam simplisia dalam suatu wadah menggunakan pelarut penyari tertentu selama beberapa hari sambil sesekali diaduk, lalu disaring dan diambil beningannya. Semakin besar perbandingan sampel terhadap cairan pengekstraksi, akan semakin banyak hasil yang diperoleh.

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan yang terpekat didesak ke luar.

Keuntungan dari metode ini adalah peralatannya sederhana. Sedang kerugiannya antara lain waktu yang diperlukan untuk mengekstraksi sampel cukup lama, cairan penyari yang digunakan lebih banyak, tidak dapat digunakan untuk bahan-bahan yang mempunyai tekstur keras seperti benzoin, tiraks dan lilin.



Gambar II. 5. Proses Maserasi

Gambar diatas menunjukkan proses maserasi, dimana sampel dimasukkan ke dalam bejana (maserator) kemudian direndam dengan pelarut sampai terendam sempurna dan tambahkan sekitar 1-2 cm pelarut

di atas permukaan sampel, kemudian tutup bagian atas untuk mencegah masuknya pengotor dan penguapan pelarut, namun berikan sedikit lobang untuk mencegah terjadinya letupan akibat penguapan pelarut.

Ekstraksi adalah pemisahan suatu zat dari campurannya dengan pembagian sebuah zat terlarut antara dua pelarut yang tidak dapat tercampur untuk mengambil zat terlarut tersebut dari satu pelarut ke pelarut yang lain.¹⁹

Ekstraksi pelarut menyangkut distribusi suatu zat terlarut (solut) diantara dua fasa cair yang tidak saling bercampur.²⁰ Syarat untuk proses ekstraksi ini adalah kedua pelarut ini tidak saling bercampur, seperti air dan minyak. Prinsip ekstraksi adalah melarutkansenyawa polar dalam pelarut polar dan senyawa non polar dalam senyawa non polar. Faktor-faktor yang mempengaruhi laju ekstraksi adalah:

1. Tipe persiapan sampel,
2. Waktu ekstraksi,
3. Kuantitas pelarut,
4. Suhu pelarut,
5. Tipe pelarut.

Suatu proses ekstraksi biasanya melibatkan tahap-tahap berikut :

1. Mencampur bahan ekstraksi dengan pelarut dan membiarkannya saling berkontak, dalam hal ini terjadi perpindahan massa dengan cara difusi

¹⁹Rene Nursaerah Mulki Lazuardi, *Mempelajari Ekstraksi Pigmen Antosianin dari Kulit Manggis (Garcinia mangostana. L) dengan Berbagai Jenis Pelarut*, "Skripsi", Universitas Pasundan Bandung, Bandung, 2010

²⁰Rasmiwetti,dkk, *Kimia Analitik II*, Pusat Pengembangan Pendidikan Universitas Riau, Pekanbaru, 2006, hal. 21

pada bidang antarmuka bahan ekstraksi dan pelarut. Dengan demikian terjadi ekstraksi yang sebenarnya, yaitu pelarutan ekstrak.

2. Memisahkan larutan ekstraksi dari rafinat, kebanyakan dengan cara penjernihan atau filtrasi.
3. Mengisolasi ekstrak dari larutan ekstrak dan mendapatkan kembali pelarut, umumnya dilakukan dengan menguapkan pelarut. Dalam hal-hal tertentu larutan ekstrak dapat langsung diolah lebih lanjut atau diolah setelah dipekatkan.

4.1. Pelarut

Pelarut yang biasa digunakan untuk mengekstrak antosianin adalah alkohol: etanol dan metanol, isopropanol, aseton, atau dengan air (aquades) yang dikombinasikan dengan asam, seperti asam klorida, asam asetat, asam format, atau asam askorbat.²¹

Ekstraksi pigmen antosianin dapat menggunakan pelarut air dengan dikombinasikan asam organik. Pada dasarnya, ekstraksi menggunakan pelarut aquades dan asam organik tidak berbeda secara nyata dengan yang menggunakan pelarut alkohol. Hanya berdampak pada proses evaporasi (penguapan) yang lebih lama karena titik didihnya lebih tinggi daripada alkohol, etanol maupun metanol.

a. Air

Air berfungsi sebagai bahan yang dapat mendispersikan berbagai senyawa yang ada dalam bahan makanan. Untuk beberapa bahan malah berfungsi sebagai pelarut. Air dapat melarutkan berbagai

²¹Nur Hidayat dan Elfi Anis Saati, *Membuat Pewarna Alami*, Malang, 2006, hal. 31

bahan seperti garam, vitamin yang larut dalam air, mineral dan senyawa-senyawa cita rasa seperti yang terkandung dalam teh dan kopi.²²

Sebuah molekul air terdiri dari sebuah atom oksigen yang berikatan kovalen dengan dua atom hidrogen. Air sering disebut sebagai pelarut universal karena air melarutkan banyak zat kimia. Air berada dalam kesetimbangan dinamis antara fase cair dan padat di bawah tekanan dan temperatur standar. Dalam bentuk ion, air dapat dideskripsikan sebagai sebuah ion hidrogen (H^+) yang berasosiasi (berikatan) dengan sebuah ion hidroksida (OH^-).

b. Etanol

Etanol (C_2H_5OH) merupakan larutan yang jernih, tidak berwarna, volatil dan dengan bau khas. Alkohol memiliki titik beku -112,3°C, titik didih 78,4°C, serta memiliki kekentalan pada suhu 20°C sebesar 0,0141. Alkohol juga dapat terbakar pada titik nyala 18,3°C. Dalam konsentrasi tinggi, akan menyebabkan rasa terbakar saat kontak dengan kulit. Etanol merupakan kelompok alkohol, dimana molekulnya mengandung gugus hidroksil ($-OH$) yang berikatan dengan atom karbon. Etanol dibuat sejak jaman dahulu dengan cara fermentasi gula. Proses ini banyak digunakan di industri dengan bahan mentah berupa gula. Etanol larut dalam air dan banyak pelarut organik. Seperti air, alkohol dan fenol dapat membentuk ikatan hidrogen, karena adanya ikatan hidrogen ini, maka alkohol dan fenol mempunyai titik didih yang lebih tinggi dari senyawa lain yang mempunyai berat formula yang sama.

²²Winarno, *op. cit*, hal. 8

5. Spektrofotometri UV – VIS

5.1 Prinsip Dasar Spektrofotometri UV – VIS

Spektrofotometri ultraviolet adalah pengukuran absorpsi radiasi elektromagnetik suatu senyawa di daerah ultraviolet (200-350 nm). Gugusan atom yang mengabsorpsi sinar ultraviolet adalah gugus kromofor yang mempunyai ikatan kovalen tak jenuh. Absorpsi radiasi dipengaruhi oleh gugus fungsi lain dalam molekul gugus tersebut adalah gugus auksokrom. Bila gugus auksokrom diikat oleh gugus kromofor maka intensitas absorpsi radiasi akan meningkat.

Jika suatu molekul sederhana dikenakan radiasi elektromagnetik maka molekul tersebut akan menyerap radiasi elektromagnetik yang energinya sesuai. Interaksi antara molekul dengan radiasi elektromagnetik ini akan meningkatkan energi potensial elektron pada tingkat keadaan tereksitasi. Sinar ultraviolet dan sinar tampak memberikan energi yang cukup untuk terjadinya transisi elektronik. Transisi-transisi elektronik ini akan meningkatkan energi molekuler dari keadaan dasar ke satu atau lebih tingkat energi tereksitasi.

Elektron-elektron yang bertanggung jawab pada pengabsorbsian cahaya oleh suatu molekul organik adalah: (1) elektron-elektron yang terlibat langsung di dalam pembentukan ikatan di antara atom-atom, (2) elektron-elektron bebas yang tidak berpasangan seperti pada atom-atom oksigen, halogen, belerang, dan nitrogen.²³

²³Sumar Hendayana, *Kimia Analitik Instrumen Edisi Kesatu*, IKIP SEMARANG PRESS, Semarang, 1994, hal. 156

Dasar dari metode pengukuran spektrofotometri UV-Vis ini yaitu jika suatu berkas radiasi dikenakan pada cuplikan (larutan sampel) dan intensitas sinar radiasi yang diteruskan diukur besarnya. Radiasi yang diserap oleh cuplikan ditentukan dengan membandingkan intensitas sinar yang diteruskan dengan intensitas sinar yang diserap jika tidak ada spesies penyerap lainnya.²⁴

Aspek kuantitatif dari metode spektrofotometri diterangkan oleh hukum Lambert-Beer, yaitu

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

Dimana :

A = Absorbansi

ϵ = Absorptivitas molar (mol/L)

a = Absorptivitas (gr/L)

b = Tebal kuvet (cm)

c = Konsentrasi (ppm)

Absorpsivitas molar (ϵ) dan absorpsivitas (a) adalah suatu konstanta dan nilainya spesifik untuk jenis zat dan panjang gelombang tertentu. Absorpsivitas molar (biasanya dilaporkan pada λ_{maks}) merupakan suatu nilai yang didapat dari pengulangan, yang dimasukkan dalam perhitungan konsentrasi dan panjang sel.²⁵ Sedangkan tebal media (sel) dalam prakteknya tetap. Dengan demikian absorbansi suatu spesies akan merupakan fungsi linier dari konsentrasi, sehingga dengan mengukur absorbansi suatu spesies

²⁴Ibnu Gholib Gandjar dan Abdul Rohman, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta, 2007, hal. 240

²⁵Ralp J. Fessenden, *Kimia Organik Edisi Ketiga*, Erlangga, Jakarta, 1986, hal. 439

konsentrasinya dapat ditentukan dengan membandingkannya dengan konsentrasi larutan standar.

5.2 Instrumentasi UV-Vis

Alat spektrofotometri ultraviolet terdiri atas sumber radiasi, monokromator, wadah sampel, detektor, amplifier, dan rekorder.



Gambar II.6. Instrumentasi UV-Vis

Keterangan :

S = Sumber sinar (uv-vis)

M = Monokromator

C = Kuvet/sel

D = Detektor

A = Amplifier/penguat

R = Potensiometrik recorder (pembacaan/pengamatan)

1. Sumber Sinar

Sumber sinar untuk UV digunakan lampu bermuatan hidrogen atau deuterium. Lampu ini terdiri dari sepasang elektroda yang dipatri di dalam tabung kaca tertutup yang salah satu bagian dindingnya terbuat dari bahan kuarsa dan diisi dengan gas hidrogen/deuterium pada tekanan rendah. Bila terhadap kedua elektroda dihubungkan dengan tegangan listrik stabil maka antara kedua elektroda terjadi muatan elektron (elektron discharge). Elektron tersebut akan bertumbukan dengan molekul gas H_2 atau

D₂ . Akibatnya elektron–elektron gas H₂/D₂ akan tereksitasi. Pada saat turun kembali ke keadaan dasar kemudian memancarkan sinar yang membentuk spektrum yang kontinue yang meliputi daerah panjang gelombang antara 180–350 nm sebagai sumber sinar tampak biasa digunakan lampu kawat wolfram.

2. Monokromator

Monokromator berfungsi menguraikan berkas radiasi dari sumber yang berupa sinar polikromatis menjadi sinar yang monokromatis (panjang gelombang tunggal). Unsur penting sebuah monokromator adalah sistem celah dan sistem dispersif. Radiasi dari sumber difokuskan ke celah masuk kemudian dikumpulkan oleh sebuah lensa sehingga sinar paralel jatuh pada unsur dispersi yang merupakan sebuah prisma atau sebuah kisi difraksi. Dengan pemutaran prisma, bermacam–macam bagian spektrum yang dihasilkan oleh unsur dispersi difokuskan ke celah keluar menuju ke sel cupikan atau blanko.

3. Kuvet atau Sel

Sel atau kuvet ialah wadah untuk menempatkan cuplikan maupun blanko. Tebal kuvet umumnya bernilai 1 cm. Analisis dengan sinar UV kuvet yang dipakai harus terbuat dari kuarsa. Sedangkan bila menggunakan sinar tampak, selain kuarsa bisa juga dipakai kuvet yang terbuat dari plastik atau gelas.

4. Detektor

Suatu detektor berfungsi menyerap sinar yang mengenainya dan mengubahnya menjadi suatu besaran yang dapat diukur. Detektor yang digunakan pada spektrofotometer uv-vis berupa alat foto-listrik. Yang mengubah energi sinar menjadi energi listrik atau isyarat listrik. Isyarat yang dihasilkan berbanding lurus dengan intensitas sinar yang mengenainya.

5. Amplifier (penguat)

Suatu amplifier berfungsi untuk menangkap isyarat masuk (input) dari rangkaian detektor dan melalui beberapa proses elektronik tertentu menghasilkan suatu isyarat keluar (output) yang beberapa kali lebih besar dari isyarat input.

6. Rekorder

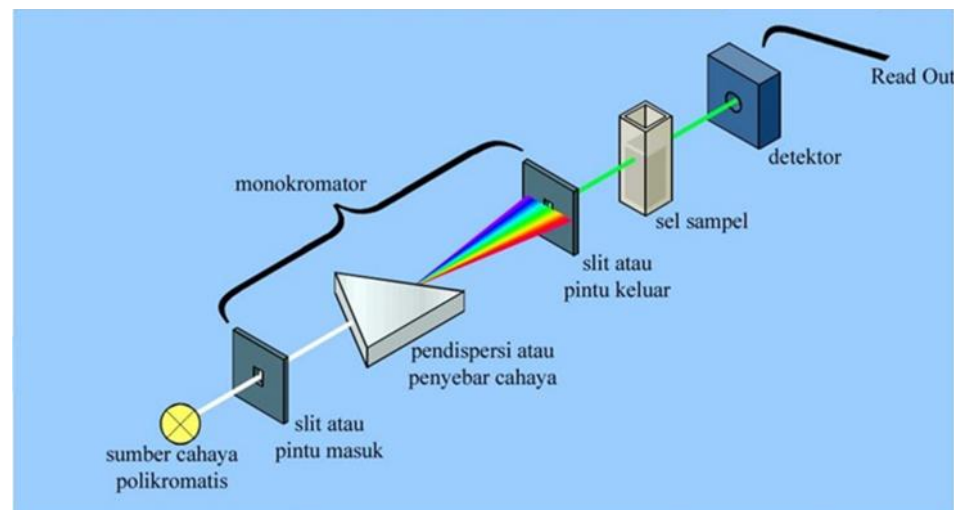
Berfungsi untuk membaca dan merekam isyarat elektronik yang telah diamplifikasi.



Gambar II. 7. Jenis Spektronic-20 Yang Bekerja Pada Rentang Panjang Gelombang Sinar Tampak

5.3 Prinsip Kerja Spektrofotometri UV-Vis

Prinsip kerja dari metode spektrofotometer UV-Vis ini yaitu: suatu berkas cahaya yang pancarkan dari sumber cahaya berupa cahaya polikromatis akan dipecah menjadi cahaya monokromatis oleh monokromator. Setelah itu, energi cahaya tadi akan diubah menjadi sinyallistrik yang kemudian akan dideteksi oleh detektor dan diteruskan menjadi energi visual sehingga dapat dilihat dari rekorder sebagai kromatogram.



Gambar II.7. Prinsip Kerja Spektrofotometri UV-Vis

Dalam aspek kuantitatif, suatu berkas radiasi dikenakan pada cuplikan (sampel) dan intensitas sinar radiasi yang diteruskan diukur besarnya. Radiasi yang diserap oleh cuplikan ditentukan dengan membandingkan intensitas sinar yang diteruskan dengan intensitas sinar yang diserap jika tidak ada spesies penyerap lainnya.

Ada beberapa hal yang harus diperhatikan dalam analisis dengan spektrofotometri UV – Vis yaitu :

1. Untuk senyawa yang semula tidak bewarna yang akan dianalisis dengan spektrofotometri visibel harus diubah terlebih dahulu menjadi senyawa yang bewarna.
2. Membuat waktu operasional dengan tujuan untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil. Hal ini ditentukan dengan mengukur hubungan antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan.
3. Pemilihan panjang gelombang. Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang yang mempunyai absorbansi maksimal. Untuk memilih panjang gelombang maksimal, dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari suatu larutan baku pada konsentrasi tertentu.

Ada beberapa alasan mengapa harus menggunakan panjang gelombang maksimal, yaitu: (1) panjang gelombang maksimal memiliki kepekaan yang maksimal karena pada panjang gelombang maksimal tersebut, perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar. (2) disekitar panjang gelombang maksimal, bentuk kurva absorbansi datar dan pada kondisi tersebut hukum Lambert-Beer akan terpenuhi. (3) jika dilakukan pengukuran ulang, maka kesalahan yang disebabkan oleh pemasangan ulang panjang gelombang akan kecil sekali, ketika digunakan panjang gelombang maksimal ini.

Kadang – kadang dijumpai keadaan yang mana pemakaian panjang gelombang maksimal kurang baik. Hal ini misalnya dikarenakan ada zat lain yang mempunyai absorbansi pada panjang gelombang tersebut selain dari zat yang akan dianalisis. Ada beberapa variabel yang dapat mempengaruhi absorbansi yaitu : jenis pelarut, pH larutan, suhu, konsentrasi tinggi, dan zat – zat penyangga.