

## Bab II

### Tinjauan Pustaka

#### 2.1 Daun Ubi Jalar

Ubi Jalar atau ketela rambat (*Ipomoea batatas*) adalah tanaman dikotil yang masuk dalam kelompok keluarga Convol-vulaceae. Ubi jalar merupakan tumbuhan semak bercabang yang memiliki daun berbentuk segitiga yang berlekuk-lekuk dengan bunga berbentuk payung ini, memiliki bentuk umbi yang besar, rasanya manis, dan berakar bongol. Terdapat sekitar 50 genus dan lebih dari 1.000 spesies dari keluarga Convol-vulaceae ini, di mana ketela rambat dengan nama latin *Ipomoea Batatas* ini merupakan tanaman yang banyak dimanfaatkan oleh manusia, meskipun masih banyak jenis *Ipomoea Batatas* yang sebenarnya beracun (Winarsih, 2011).

Penggunaan di masyarakat, daun ubi jalar digunakan sebagai obat bisul, penurun panas, dan luka bakar (Litbang, 2008). Hasil pengujian fitokimia pada ekstrak daun ubi jalar menunjukkan bahwa daun ubi jalar mengandung flavonoid dan tannin (Sulastri et al, 2013). Hasil penelitian Fitri dkk (2014) menyatakan besarnya aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun ubi jalar (*Ipomoea batatas* Lam) yang diukur dengan metode DPPH memiliki IC50 sebesar 93,945 ppm dan termasuk dalam kategori antioksidan kuat dengan kadar fenolik total 30,22 mg/g GAE. Menurut Dipahayu et al. (2017), ekstrak etanol daun ubi jalar ungu dapat meredam radikal bebas sebesar 80,43% dan juga dapat menurunkan kadar glukosa darah setelah perlakuan selama 14 hari.

Berdasarkan penelitian Anisa (2019) dilaporkan daun ubi jalar memiliki aktivitas antioksidan sebesar 50,56 mg AAE/g ekstrak. Penelitian Sumardika, dkk (2012) melaporkan daun ubi jalar ungu mengandung komponen bioaktif seperti flavonoid dan antosianin yang bekerja sebagai antioksidan, sementara pada penelitian Islam (2014) daun ubi jalar kuning diketahui mengandung 3,5 mg betakaroten dan vitamin C 7,2 mg, vitamin E 1,6mg, dan vitamin K 0,56mg/100g

daun segar. Daun ubi jalar mengandung komponen metabolit sekunder golongan flavonoid dan tannin serta memiliki efektivitas antioksidan yang relatif lebih tinggi berbanding dengan alfa tokoferol yang merupakan senyawa populer antioksidan, daun ubi jalar juga memiliki kandungan senyawa bioaktif seperti flavonoid, dan polifenol yang berperan sebagai antioksidan (Sun, et, al. 2014).

Dalam sistematika (taksonomi) tumbuhan, tanaman ubi jalar diklasifikasikan sebagai berikut (Rukmana, 1997)

**Tabel 2. 1** Taksonomi Tumbuhan Ubi Jalar (*Ipomoea batatas* )

Kingdom	Plantae
Divisio	Spermatophyta
Subdivisio	Angiospermae
Kelas	Dicotyledonae
Ordo	Convolvulus
Familia	Convolvulacea
Genus	Ipomoea
Species	Ipomoea batatas L.

Daun ubi jalar (*Ipomoea batatas* ) merupakan tanaman berbentuk hati yang biasanya tumbuh di iklim tropis. Daun ubi jalar mempunyai ukuran panjang 4-15 sentimeter dengan lebar 3-11 sentimeter. Daun ubi jalar memiliki warna hijau zaitun dengan bagian tepi daunnya yang halus serta tangkainya yang panjang. . Morfologi tanaman temurui ditunjukkan pada Gambar 1 berikut:



**Gambar 2. 1** Daun Ubi Jalar

## 2.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Berdasarkan wujudnya ekstrak dibagi menjadi ekstrak cair, ekstrak kental, ekstrak encer dan ekstrak kering (Depkes RI, 2000).

Menurut (Depkes RI, 2000) terdapat dua jenis ekstraksi cara dingin yaitu:

- a. Maserasi: Adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik dilakukan pengadukan yang kontinu (terus-menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya.
- b. Perkolasi: Adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (exhaustive extraction) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

### 2.3 Pengaruh Suhu Pengeringan

Pada pengolahan simplisia, proses pengeringan merupakan salah satu kegiatan yang paling penting karena dapat mempengaruhi kualitas produk yang dihasilkan. Tujuan utama pengeringan yaitu untuk mengurangi kadar air bahan sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroba yang tidak diinginkan (Yamin, Ayu, dan Hamzah, 2017). Pengeringan bertujuan untuk mendapatkan bahan yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Metode dalam pengeringan ada beberapa yaitu pengeringan dengan sinar matahari langsung, pengeringan dengan oven, dan kering angin (Pramono, 2006). Menurut (Muller et al., 2006) Pengeringan dengan oven dianggap lebih menguntungkan karena akan terjadi pengurangan kadar air dalam jumlah besar dalam waktu yang singkat akan tetapi proses pengeringan dengan oven dapat dipengaruhi oleh suhu. Penggunaan suhu yang terlalu tinggi dapat mengakibatkan terjadinya perubahan komponen bioaktif sehingga dapat mengurangi kualitas simplisia (Pramono, 2006).

pemanasan yang cukup lama dan menggunakan temperatur yang tinggi dapat menurunkan aktivitas antioksidan. Pengeringan pada suhu yang rendah akan mengakibatkan lamanya waktu pengeringan, mengalami pembusukan, dan aktivitas antioksidan yang dihasilkan rendah akibat belum inaktifnya enzim polifenol oksidase (Andarwulan et al., 1996).

Beberapa penelitian mengenai pengaruh suhu pengeringan dalam pengolahan bubuk terhadap kandungan bioaktifnya telah dilakukan seperti pada penelitian Sidoretno (2018) melaporkan aktivitas antioksidan daun mataoa (*Pometia pinnata*) dengan variasi suhu pengeringan 30°C, 60°C, dan 90°C. Suhu 60°C merupakan perlakuan terbaik yang menghasilkan IC50 terendah atau kemampuan aktivitas antioksidan kuat pada daun mataoa. Hihat et al., (2017) melaporkan pengeringan daun kerumbar dengan variasi suhu pengeringan 40°C - 120°C, total fenolik tertinggi diperoleh pada suhu 60°C dengan waktu 160 menit. Lemus et al., (2016) melaporkan efek suhu pereringan terhadap kandungan bioaktif dan aktifitas antioksidan daun stevia yang menggunakan variasi suhu pengeringan 30°C - 80°C, dengan aktivitas antioksidan tertinggi pada suhu 40°C.

Gálvez et al., (2009) melaporkan efek suhu pengeringan oven terhadap aktifitas antioksidan dan total fenolik cabai merah (*Capsicum annum L*) yang menggunakan variasi suhu 40°C -90°C, dengan aktivitas antioksidan dan total fenolik tertinggi terdapat pada suhu 60°C.

Pengeringan dengan suhu tinggi dan waktu yang cukup lama dapat menurunkan aktivitas antioksidan pada bahan yang dikeringkan. Hasil penelitian Adri dan Hersoelistyorini (2013), menunjukkan bahwa pengeringan daun sirsak pada suhu 50°C dengan lama pengeringan 150 menit menghasilkan teh daun sirsak terbaik dengan aktivitas antioksidan tertinggi yaitu 76,06% dan nilai IC50 terendah yaitu 82,16µg/ml. Hasil penelitian Sari (2015), menunjukkan bahwa pengeringan daun alpukat pada suhu 50°C dengan lama pengeringan 120 menit menghasilkan teh daun alpukat terbaik dengan aktivitas antioksidan sebesar 85,11%.

## **2.4 Antioksidan**

Senyawa antioksidan menurut pengertian kimiawi adalah senyawa donor elektron. Namun dalam arti biologis, pengertian antioksidan lebih luas yaitu senyawa yang dapat meredam dampak negatif oksidan, termasuk enzim-enzim dan protein-protein pengikat logam. Antioksidan bekerja dengan mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa oksidan sehingga ada aktivitas penghambatan oksidan tersebut (Winarti, 2010).

(Tristantini et al., 2016) menjelaskan bawasannya antioksidan adalah inhibitor yang bekerja menghambat terjadinya oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas yang tidak reaktif, yang relatif stabil sehingga dapat melindungi sel tubuh dari bahaya radikal bebas.

Antioksidan adalah zat yang dapat melawan pengaruh bahaya dari radikal bebas yang terbentuk sebagai hasil metabolisme oksidatif, yaitu hasil dari reaksi kimia dan proses metabolik yang terjadi di dalam tubuh. Berbagai bukti ilmiah menunjukkan bahwa senyawa antioksidan mengurangi risiko terhadap penyakit kronis, seperti kanker dan penyakit jantung koroner (Amrun et al. 2007).

Antioksidan adalah senyawa yang memiliki peran penting dalam menjaga kesehatan karena kemampuannya menangkap molekul radikal bebas. Kemampuan untuk menghambat reaksi oksidatif dalam tubuh yang merupakan penyebab berbagai penyakit (Ardawiah, et.al., 2015).

Tubuh memerlukan antioksidan untuk melindungi dari serangan radikal bebas. Antioksidan adalah suatu senyawa pada konsentrasi rendah secara signifikan dapat menghambat atau mencegah oksidasi substrat dalam reaksi rantai (Halliwell dan Whitemann, 2004; Leong dan Shui, 2002). Antioksidan dapat melindungi sel-sel dari kerusakan karena molekul tidak stabil atau radikal bebas. Antioksidan dapat mendonorkan elektronnya kepada molekul radikal bebas, sehingga dapat menstabilkan radikal bebas dan menghentikan reaksi berantai (Sies, 1997).

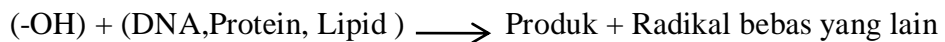
Antioksidan diperlukan untuk mencegah stres oksidatif. Stres oksidatif adalah kondisi ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas yang ada dengan jumlah antioksidan di dalam tubuh. Radikal bebas merupakan senyawa yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan dalam orbitalnya, sehingga bersifat sangat reaktif dan mampu mengoksidasi molekul di sekitarnya (lipid, protein, DNA, dan karbohidrat). Antioksidan bersifat sangat mudah dioksidasi, sehingga radikal bebas akan mengoksidasi antioksidan dan melindungi molekul lain dalam sel dari kerusakan akibat oksidasi oleh radikal bebas atau oksigen reaktif (Ahmad et al., 2020).

Dalam peranannya sebagai inhibitor radikal bebas, antioksidan memiliki cara kerja yaitu, jika disuatu tempat terjadi reaksi oksidasi dimana reaksi tersebut menghasilkan hasil samping berupa radikal bebas (-OH) maka tanpa adanya antioksidan, radikal bebas yang terbentuk dari produk sisa ini akan menyerang molekul-molekul lain yang berada disekitarnya. Kemudian hasil dari reaksi ini akan menghasilkan radikal bebas yang baru, dan siap untuk menyerang molekul yang lainnya lagi. Dan akhirnya akan terbentuk reaksi berantai yang sangat membahayakan (Mandey, 2015).

Tetapi berbeda halnya apabila terdapat antioksidan didalam tubuh. Karena radikal bebas akan segera bereaksi dengan antioksidan membentuk molekul stabil yang tidak berbahaya, dan reaksi pun akan berhenti sampai disini.

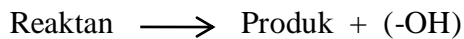
### Reaksi yang terbentuk :

- Reaksi tanpa adanya antioksidan didalam tubuh (Adrianta, 2020)

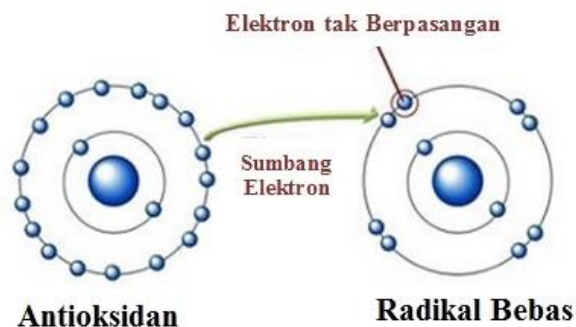


Radikal bebas yang lain akan memulai reaksi yang sama dengan molekul yang berada disekitarnya.

- Reaksi dengan adanya antioksidan (Adrianta, 2020)



Antioksidan akan cenderung bereaksi dengan radikal bebas terlebih dahulu dibandingkan dengan molekul lainnya karena antioksidan memiliki sifat yang mudah teroksidasi atau bisa dikatakan bersifat reduktor yang kuat dibandingkan molekul lainnya. Jadi keefektifan antioksidan bergantung pada seberapa kuat daya oksidasi dibandingkan molekul yang lainnya, dalam artian lain semakin mudah teroksidasi maka semakin efektif antioksidan tersebut (Sastrawan et al., 2013).



**Gambar 2. 2** Antioksidan Menstabilkan Radikal Bebas

Senyawa antioksidan banyak ditemukan pada tumbuhan, baik pada bunga, daun maupun buah. Tumbuhan yang mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, dan terpenoid merupakan bahan baku yang potensial yang dapat digunakan sebagai antioksidan alami. ubi jalar adalah salah satu jenis tumbuhan yang cukup berpotensi mengandung senyawa antioksidan (Sastrawan et al., 2013).

Antioksidan alami dapat diisolasi dari bahan alam. Antioksidan ini memiliki bobot molekul sekitar 200–400. Semua antioksidan alami mudah diserap oleh usus dan didistribusikan ke seluruh tubuh (Niwa, 1997). Fungsi dari antioksidan alami antara lain adalah sebagai reduktor, peredam pembentukan oksigen singlet, penangkap radikal bebas dan pengkhelat logam (Sidik, 1997).

## **2.5 Radikal Bebas**

Radikal bebas adalah atom atau molekul dengan atom yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan, sifatnya sangat reaktif dan oleh karena itu cenderung mengambil elektron dari molekul lain agar stabil. Akibatnya terjadi reaksi berantai yang dapat merusak jaringan lainnya (Septiningsih et al., 2017).

Radikal bebas dapat didefinisikan sebagai molekul atau senyawa dengan satu atau lebih elektron bebas yang tidak berpasangan pada orbit terluarnya, molekul yang kehilangan pasangan akan menjadi tidak stabil dan radikal, Kehadiran elektron tidak berpasangan membuat radikal bebas sangat reaktif. Radikal bebas dapat bermuatan positif (kation), negatif (anion), atau tidak bermuatan (netral). karena agar tetap stabil molekul ini selalu berusaha untuk mencari pasangan elektron dengan cara merebut elektron dari molekul lainnya secara membabi buta (Jami'ah et al., 2018).

Radikal bebas sangat reaktif. dan memiliki sifat menarik atau menyerang elektron di sekitarnya. Selain itu senyawa radikal bebas juga dapat mengubah molekul menjadi radikal. Reaktivitas tinggi dari senyawa radikal bebas mendorong pembentukan radikal bebas baru, Ketika senyawa radikal baru bertemu dengan molekul lain, sebuah molekul baru terbentuk kembali (Da'i, 2015).



Pada tingkat tertentu, radikal bebas dibutuhkan oleh tubuh untuk memelihara kesehatan yang baik, akan tetapi radikal bebas bersifat merusak dan sangat berbahaya. Radikal bebas bekerja di dalam tubuh untuk, melawan peradangan, membunuh bakteri, dan mengatur tonus otot polos pada organ dan pembuluh darah (Da'i, 2015). Jika reaksi ini berlanjut dan tidak berhenti pada tubuh manusia, maka akan menyebabkan penyakit seperti kanker, penyakit jantung, penuaan dini, dan melemahnya sistem kekebalan tubuh (Jami'ah et al., 2018), bahkan senyawa radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan DNA di samping disebabkan oleh virus, bila kerusakan yang ditimbulkan tidak terlalu parah masih dapat diperbaiki oleh sistem perbaikan DNA. Namun biasanya kerusakan DNA yang disebabkan oleh radikal bebas ini, menyebabkan rantai DNA terputus diberbagai tempat dan kerusakan ini tidak dapat diperbaiki lagi sehingga pembelahan sel yang dilakukan oleh tubuh terganggu (Karinda & Citraningtyas, 2013).

Menurut (Karinda & Citraningtyas, 2013) radikal bebas juga menjadi pemicu dari kerusakan saraf dan otak selain itu radikal bebas juga berdampak mengakibatkan peradangan, pengapuran tulang, gangguan pencernaan, gangguan fungsi hati, meningkatkan kadar low density lipoprotein (LDL) yang dapat menyebabkan terjadinya penimbunan kolesterol pada dinding pembuluh darah, sehingga dapat menyebabkan penyakit jantung koroner.

Senyawa radikal bebas ini terbentuk di dalam tubuh oleh berbagai faktor. Radikal bebas dapat terjadi, misalnya ketika bahan makanan diubah menjadi bentuk energi melalui proses metabolisme. Hilangnya elektron sering terjadi selama proses metabolisme. Dalam kondisi ini, radikal bebas seperti anion superoksida dan hidroksil mudah terbentuk. Radikal bebas sebenarnya juga dapat terbentuk dari senyawa bukan radikal bebas, tetapi juga terbentuk dari senyawa lain yang mudah diubah menjadi radikal bebas. Misalnya, hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), ozon, dll. Dua kelompok senyawa tersebut sering disebut sebagai Reactive Oxygen Species (SOR) atau Reactive Oxygen Species (ROS). Selain itu radikal bebas juga dapat disebabkan oleh asap rokok, polusi lingkungan, radiasi, obat-obatan, pestisida, serta sinar ultraviolet (Septiningsih et al., 2017).

Radikal bebas selalu terbentuk setelah metabolisme aerobik, yang merupakan proses penting bagi kehidupan suatu organisme. Radikal bebas terbentuk selama sintesis energi melalui proses detoksifikasi yang melibatkan enzim mitokondria atau sitokrom P450 hati. Telah diketahui bahwa proses metabolisme disebabkan oleh oksidasi nutrisi yang diubah menjadi senyawa pengikat energi (adenosin trifosfat) dengan bantuan oksigen. Radikal bebas (ROS) juga terbentuk selama proses oksidasi. Yaitu, anion superoksida dan radikal hidroksil (Septiningsih et al., 2017).

Untuk mencegah terjadinya akumulasi radikal bebas yang dapat menyebabkan berbagai macam penyakit, diperlukan senyawa antioksidan yang dapat menetralkan, menurunkan dan menghambat pembentukan radikal bebas baru di dalam tubuh dengan menjadi pendonor elektron untuk radikal bebas sehingga menjadi elektron bebas dalam radikal bebas menjadi berpasangan dan menghentikan kerusakan dalam tubuh. Antioksidan dapat diproduksi secara endogen atau eksogen untuk membantu menetralkan radikal bebas yang terdapat dalam tubuh. Antioksidan endogen yang diproduksi oleh tubuh di antaranya glutathion, ubiquinon, dan asam urat. Sementara antioksidan eksogen yang bersifat lebih ringan di antaranya vitamin C, E, dan beta karoten (Rao & Moller, 2011).

## **2.6 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil)**

DPPH merupakan radikal nitrogen organik yang stabil berwarna ungu tua dan bersifat stabil di suhu ruangan. Metode ini pertama kali diperkenalkan oleh Brand-williams (Prior et al., 2005). DPPH menerima elektron atau hidrogen sehingga membentuk molekul stabil. Adanya serapan warna violet pada panjang gelombang 516 nm ditimbulkan oleh delokalisasi elektron (Winarsi, 2011). Metode ini menggunakan radikal bebas DPPH untuk menguji suatu senyawa antioksidan didalam meredam radikal bebas, ditunjukkan perubahan warna yang terjadi dari warna ungu akan berubah menjadi kuning ketika terdapat senyawa antioksidan yang meredam radikal bebas DPPH (Dehpour, Ebrahimzadeh, Fazel, dan Mohammad, 2009).

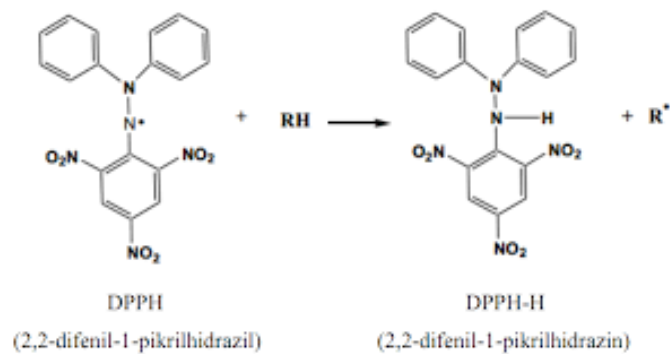
DPPH sering digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan beberapa ekstrak atau bahan alam sehingga dapat untuk mengevaluasi potensi antioksidan dalam meredam radikal bebas. Metode pengujian ini merupakan metode yang konvensional dan telah lama digunakan untuk penetapan aktivitas senyawa antioksidan. Menurut metode DPPH mudah digunakan, cepat, cukup teliti dan baik digunakan dalam pelarut organik. (Widyastuti, 2010).

Metode peredaman radikal bebas DPPH didasarkan pada reduksi dari larutan methanol radikal bebas DPPH yang berwarna oleh penghambatan radikal bebas. Ketika larutan DPPH yang berwarna ungu bertemu dengan bahan pendonor elektron maka DPPH akan tereduksi, menyebabkan warna ungu akan memudar dan digantikan warna kuning yang berasal dari gugus pikril. (Prayoga, 2013). Perubahan warna tersebut dapat diukur dengan spektrofotometer dan diplotkan terhadap konsentrasi (Reynertson, 2007).

Penurunan intensitas warna yang terjadi disebabkan oleh berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DDPH. Hal ini dapat terjadi apabila adanya penangkapan satu elektron oleh zat antioksidan, menyebabkan tidak adanya kesempatan elektron tersebut untuk beresonansi (Pratimasari, 2009). Keberadaan sebuah antioksidan yang mana dapat menyumbangkan elektron kepada DPPH, menghasilkan warna kuning yang merupakan ciri spesifik dari reaksi radikal DPPH (Vaya dan Aviram, 2001). Penangkap radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil (Sunarni, 2005).

Metode DPPH adalah suatu metode kolorimetri yang efektif dan cepat untuk memperkirakan aktivitas antiradikal/antioksidan. Uji kimia ini secara luas digunakan dalam penelitian produk alami untuk isolasi antioksidan fitokimia dan untuk menguji seberapa besar kapasitas ekstrak dan senyawa murni dalam menyerap radikal bebas. Metode DPPH berfungsi untuk mengukur elektron tunggal seperti aktivitas transfer hidrogen sekaligus untuk mengukur aktivitas penghambatan radikal bebas. (Pratimasari, 2009).

Metode DPPH menggunakan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil sebagai sumber radikal bebas. Prinsipnya adalah reaksi penangkapan hidrogen oleh DPPH dari zat antioksidan dengan reaksi sebagai berikut:



**Gambar 2. 3** Reaksi Radikal Dpph Dengan Antioksidan

Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH, akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH dan membentuk DPPH tereduksi. Jika semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan, maka warna larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning terang dan absorbansi pada panjang gelombang 517 nm akan hilang (Rohman et al., 2010).

## 2.7 Spektrofotometri Uv-Vis

Spektrofotometri Sinar Tampak (UV-Vis) adalah pengukuran energy cahaya oleh suatu system kimia pada panjang gelombang tertentu (Day, 2002). Sinar ultraviolet (UV) mempunyai panjang gelombang antara 200-400 nm, dan sinar tampak (visible) mempunyai panjang gelombang 400-750 nm. Pengukuran spektrofotometri menggunakan alat spektrofotometer yang melibatkan energy elektronik yang cukup besar pada molekul yang akan dianalisis, sehingga spektrofotometer UV-Vis lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif

dibandingkan kualitatif. Spektrum UV-Vis sangat berguna untuk pengukuran secara kuantitatif. Konsentrasi dari analit di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorban pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer (Rohman, 2007).

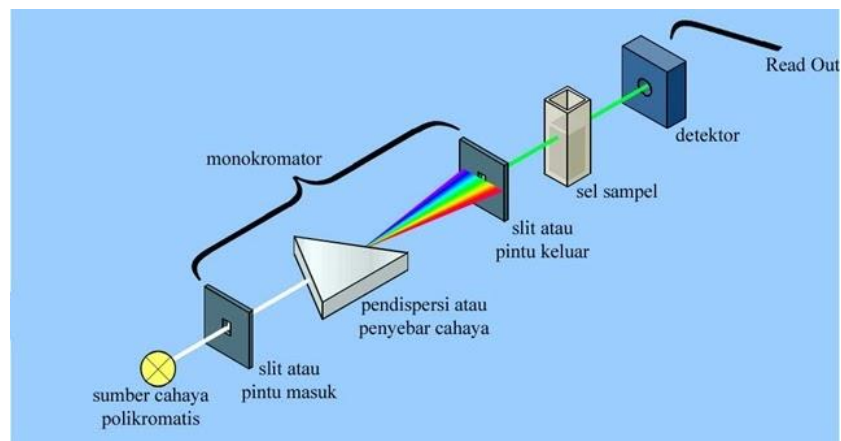
Hukum Lambert-Beer (Beer's law) adalah hubungan linearitas antara absorban dengan konsentrasi larutan sampel. Konsentrasi dari sampel di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorban pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer. Cahaya yang diserap diukur sebagai absorbansi (A) sedangkan cahaya yang dihamburkan diukur sebagai transmitansi (T), dinyatakan dengan hukum Lambert-Beer (Rohman, 2007).

Spektrofotometer Uv-Vis adalah alat yang digunakan untuk mengukur transmitansi, reflektansi dan absorpsi dari cuplikan sebagai fungsi dari panjang gelombang. Spektrofotometer sesuai dengan namanya merupakan alat yang terdiri dari spektrometer dan fotometer. Spektrometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diabsorpsi. Jadi spektrofotometer digunakan untuk mengukur energi cahaya secara relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang. Suatu spektrofotometer tersusun dari sumber spektrum sinar tampak yang sinambung dan monokromatis. Sel pengabsorpsi untuk mengukur perbedaan absorpsi antara cuplikan dengan blanko ataupun pembanding (Kenta & Tandi, 2018)

Prinsip dari spektrofotometer UV-Vis adalah penyerapan sinar tampak untuk ultra violet dengan suatu molekul dapat menyebabkan terjadinya eksitasi molekul dari tingkat energi dasar (ground state) ke tingkat energi yang paling tinggi (excited stated). Pengabsorbsian sinar ultra violet atau sinar tampak oleh suatu molekul umumnya menghasilkan eksitasi elektron bonding, akibatnya panjang absorpsi maksimum dapat dikolerasikan dengan jenis ikatan yang ada didalam molekul. (Sumar hendayana. 1994 : 155)

Secara sederhana instrument spektrofotometer terdiri dari:

Sumber cahaya – monokromatis – sel sampel – detector- read out



**Gambar 2. 4** Prinsip Spektrofotometri UV-Vis

Ada beberapa yang harus diperhatikan dalam analisis spektrofotometri UV-VIS terutama untuk senyawa yang semula tidak berwarna yang akan dianalisis dengan senyawa spektrofotometri visibel karena senyawa tersebut harus diubah menjadi senyawa yang berwarna agar pembentukan molekul yang dianalisis tidak menyerap pada daerah tersebut (Ibnu Ghalib, 2012: 252).

Berikut adalah tahapan-tahapan yang harus diperhatikan:

**a. Pembentukan molekul yang dapat menyerap sinar UV-Vis**

Hal ini perlu dilakukan jika senyawa yang dianalisis tidak menyerap pada daerah tersebut. Cara yang digunakan adalah dengan merubah menjadi senyawa lain atau direaksikan dengan pereaksi tertentu.

**b. Waktu operasional (operating time)**

Cara ini biasa digunakan untuk pengukuran hasil reaksi atau pembentukan warna. Tujuannya adalah untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil.

### **c. 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.

### **d. Pembuatan kurva baku**

Dibuat seri larutan baku dari zat yang akan dianalisis dengan berbagai konsentrasi. Masing-masing absorbansi larutan dengan berbagai konsentrasi diukur, kemudian dibuat kurva yang merupakan hubungan antara absorbansi ( $y$ ) dengan konsentrasi ( $X$ ).

### **e. Pembacaan absorbansi sampel atau cuplikan**

Absorban yang terbaca pada spektrofotometer hendaknya antara 0,2 sampai 0,8 atau 15% sampai 70% jika dibaca sebagai transmitans. Anjuran ini berdasarkan anggapan bahwa kesalahan dalam pembacaan  $T$  adalah 0,005 atau 0,5% (kesalahan fotometrik).

(Gandjar & Rohman, 2007).