

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bahan Tambahan Pangan (BTP)

Bahan tambahan pangan (BTP) adalah bahan yang biasanya tidak digunakan sebagai makanan dan biasanya bukan merupakan komponen khas makanan, mempunyai atau tidak mempunyai nilai gizi, yang dengan sengaja ditambahkan kedalam makanan untuk teknologi pada pembuatan, pengolahan, perlakuan, pengepakan, pengemasan dan penyimpanan (Cahyadi, 2006). Contohnya: mengawetkan pangan, memberikan warna, mencegah ketengikan, dan meningkatkan cita rasa. Dengan kata lain, BTP digunakan untuk mempengaruhi kualitas pangan. Peraturan Pemerintah Nomor 28 Tahun 2004 tentang keamanan, Mutu, dan Gizi Pangan pada Bab 1 pasal 1 menyebutkan, yang dimaksud dengan bahan tambahan pangan adalah bahan yang ditambahkan kedalam makanan untuk mempengaruhi sifat atau bentuk pangan atau produk pangan.

Penggunaan BTP yang tepat sesuai takaran batas aman akan memberikan manfaat teknologi terhadap mutu pangan. Namun, penggunaan BTP yang tidak tepat atau melebihi takaran yang aman dapat membahayakan kesehatan. Pada umumnya bahan tambahan pangan dapat dibagi menjadi dua golongan besar, yaitu bahan tambahan pangan yang ditambahkan dengan sengaja kedalam makanan, dengan mengetahui komposisi bahan tersebut dan maksud penambahan itu dapat menambahkan kesegaran, cita rasa dan membantu pengolahan, sebagai contoh pengawet, pewarna dan pengeras. Bahan tambahan pangan yang tidak sengaja ditambahkan, yaitu bahan yang tidak mempunyai fungsi dalam makanan tersebut, terdapat secara tidak sengaja, baik dalam jumlah sedikit atau cukup banyak akibat perlakuan selama proses produksi, pengolahan, hingga pengemasan.

Berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 235/Menkes/Per/VI/1979 untuk dapat memiligi Bahan Tambahan Makanan yang digunakan sebaiknya masyarakat dapat mengenal beberapa bahan tambahan makanan yang aman digunakan, yakni yang telah diizinkan oleh Badan POM di antaranya: (1) Pengawet; asam benzoate, asam propinat, asam sorbet, natrium benzoate dan nisin. (2) Pewarna; Tartazina, (3) Pemanis; aspartan, sakarin dan siklamat, (4) Penyedap rasa dan aroma; monosodium glutamate, (5) Antikempal;

aluminium silikat, magnesium karbonat, trikalsium fosfat, (6) Antioksidan; asam askorbat dan alpa tekoferol, (7) Pengemulsi, pemantap dan pengental; sodium laktat dan potassium laktat (Yuliarti, 2007).

2.2 Pewarna Makanan

Pewarna banyak dijumpai dan digunakan untuk berbagai jenis makanan, terutama berbagai produk jajan pasar dan berbagai makanan olahan yang dibuat oleh industri kecil, industri rumah tangga dan industri besar (Yuliarti, 2007). Pewarna merupakan zat warna atau bahan lain yang dibuat dengan cara sintesis atau cara kimiawi lain, atau bahan alami dari tanaman, hewan, mineral atau sumber lainnya yang diekstrak, diisolasi atau terbuat dari ekstrak atau isolat dengan atau tanpa perubahan identitas yang bila ditambahkan atau digunakan ke bahan makanan, obat, kosmetik, atau ke bagian tubuh (bisa sendiri atau karena reaksi dengan bahan lain) menjadi bagian dari warna dari bahan tersebut (Tranggono, 1990). Zat pewarna terbagi menjadi dua yaitu pewarna alami dan pewarna buatan.

Banyak warna cemerlang yang bersumber dari tanaman dan hewan yang di gunakan sebagai pewarna untuk makanan. Pewarna alami memiliki kelebihan dan kekurangan masing-masing. Kelebihan pewarna alami adalah aman dikonsumsi, warna lebih menarik, mengandung zat gizi, dan mudah didapat dari alam. Banyak juga pewarna sintesis yang digunakan dalam makanan sehingga sering juga disalahgunakan.

Pewarna sintesis merupakan zat warna yang dibuat melalui perlakuan pemberian asam sulfat atau asam nitrat yang sering terkontaminasi oleh arsen atau logam berat lain yang bersifat racun. Sebelum mencapai produk akhir, pembuatan zat pewarna organik harus melalui senyawa antara yang cukup berbahaya dan senyawa tersebut sering tertinggal dalam produk akhir atau terbentuk senyawa-senyawa baru yang berbahaya (Cahyadi, 2009). Menurut Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 772/Menkes/PER/X/1999 secara umum. Pewarna Sintesis (Synthetic Colour) adalah Pewarna yang diperoleh secara sintesis kimiawi. Penyalahgunaan zat pewarna dikarenakan ketidaktahuan masyarakat mengenai zat pewarna untuk pangan dan harga zat pewarna untuk industri jauh lebih murah dibandingkan dengan zat pewarna untuk pangan

2.3 Pewarna yang Dilarang dalam Makanan

Pewarna buatan atau pewarna sintetis merupakan bahan kimia yang dengan sengaja ditambahkan pada makanan untuk memberikan tambahan warna yang diinginkan karena warna semula hilang selama proses pengolahan atau karena seseorang menginginkan adanya warna tertentu. Warna dari suatu produk makanan maupun minuman merupakan salah satu ciri yang penting. Warna juga turut mempengaruhi persepsi rasa. Oleh sebab itu, warna menimbulkan banyak pengaruh terhadap konsumen dalam memilih suatu produk makanan dan minuman (Susanti, 2016).

Pengelompokan pewarna sintetis yang dilarang diatur dalam Permenkes RI No. 239/Men.Kes/Per/85 tentang zat warna tertentu yang dinyatakan sebagai bahan berbahaya dan pewarna sintetis yang diizinkan diatur dalam Permenkes RI No. 033 Tahun 2012 tentang bahan tambahan pangan. Pewarna tersebut disajikan dalam tabel berikut ini:

Tabel 2. 1 Daftar pewarna sintesis yang dilarang di Indonesia

No.	Bahan Pewarna
1.	Auramine (C.I Basic Yellow 2)
2.	Alkanet
3.	Butter Yellow (C.I Solvent Yellow 2)
4.	Black 7984 (Food Brown 7)
5.	Burn Unber 9Pigmen Brown 7)
6.	Chrysoidine (C.I Basic Orange 2)
7.	Chrysoine S (C.I Food Yellow 8)
8.	Citrus Red No.2
9.	Chocolate Brown FB (Food Brown 2)
10.	Fast Red E (C.I Food Red 4)
11.	Fast Yellow AB (C.I Food Yellow 2)
12.	Guinea Green B (C.I Acid Green No.3)
13.	Indanthrene Blue RS (C.I Food Blue)
14.	Magenta (C.I Basic Violet 14)
15.	Methanol Yellow (Ext. D&C Yellow No.1)
16.	Oil Orange SS (C.I Solvent Orange 2)
17.	Oil Orange XO (C.I Solvent Orange 7)
18.	Oil Orange AB (C.I Solvent Orange 5)
19.	Oil Orange OB (C.I Solvent Orange 6)
20.	Orange G (C.I Food Orange 4)
21.	Orange CGN (C.I Food Orange 2)
22.	Orange RN (Food Orange 1)
23.	Orchid and Orchein
24.	Ponceau 3R (Acid Red 6)

-
25. Ponceau SX (C.I Food Red 1)
 26. Ponceau 6R (C.I Food Red 8)
 27. Rhodamin B (C.I Food Red 15)
 28. Sudan I (C.I Solvent Yellow 14)
 29. Scarlet GN (Food Red 2)
 30. Violet 6B
-

(Sumber: Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 239/Men.Kes/Per/85)

2.3.1 Fungsi Pewarna

Fungsi pewarna yaitu untuk mempertajam atau meyeragamkan warna bahan makanan yang mengalami perubahan pada saat proses pengolahan. Pada buah, pemberian pewarna memiliki tujuan untuk menyeragamkan penampilan (Saparinto, 2006). Syah dalam Batama (2015) menambahkan bahwa beberapa tujuan utama penambahan zat pewarna dalam makanan yaitu:

1. Menutupi perubahan warna akibat paparan cahaya, udara dan temperatur yang ekstrim akibat pengolahan dan penyimpanan;
2. Memperbaiki variasi alami warna;
3. Membuat identitas produk pangan;
4. Menarik minat konsumen dengan pilihan warna yang menarik;
5. Untuk menjaga rasa dan vitamin produk simpan yang mungkin akan terpengaruh sinar matahari.

Pewarna makanan adalah zat aditif atau zat tambahan yang berfungsi untuk memberikan pewarnaan pada makanan dan minuman. Diharapkan, bahan pewarna ini dapat memberikan daya tarik bagi konsumen. Tanpa zat pewarna, makanan dan minuman menjadi kurang menarik. Bagi anak-anak, hal tersebut dapat mengurangi minat mereka terhadap suatu makanan. Karena itulah zat pewarna dibutuhkan agar makanan dan minuman memiliki warna yang mengundang selera. Namun, sebaiknya berhati-hati dalam penggunaan bahan pewarna yang tidak alami.

Menurut WHO, rhodamin B berbahaya bagi kesehatan manusia karena sifat kimia dan kandungan logam beratnya. Rhodamin B termasuk bahan karsinogen (penyebab kanker) yang kuat. Mengonsumsi rhodamin B dalam jangka panjang dapat terakumulasi di dalam tubuh dan dapat menyebabkan gejala pembesaran hati dan ginjal, gangguan fungsi hati, kerusakan hati, gangguan fisiologis tubuh, atau bahkan bisa menyebabkan timbulnya kanker hati. Rhodamin B juga dapat

menyebabkan efek akut jika tertelan sebanyak 500 mg/kg BB, yang merupakan dosis toksiknya dan efek toksik bahaya rhodamin B terhadap kesehatan manusia antara lain iritasi pernafasan, kulit, mata dan saluran pencernaan yang berefek racun jika tertelan (BPOM, 2008). Di dalam Rhodamin B terdapat ikatan dengan klorin (Cl), dimana senyawa klorin ini merupakan senyawa anorganik yang reaktif dan juga berbahaya. Reaksi yang mengikat ini merupakan senyawa anorganik yang reaktif dan juga berbahaya.

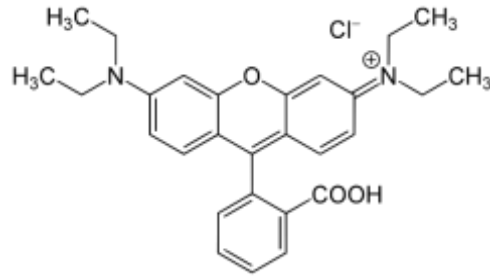
2.4 Rhodamin B

Rhodamin B merupakan zat warna golongan Xhantenes dyes. Rhodamin B adalah bahan kimia yang digunakan untuk pewarna merah pada tekstil dan kertas. Rhodamin B merupakan zat pewarna sintetis dengan bentuk Kristal berwarna ungu kemerahan, tidak berbau dan dalam larutan berwarna merah terang berfluoresens. Rhodamin B dapat menghasilkan warna yang menarik dengan hasil warna yang dalam dan sangat berpendar jika dilarutkan dalam air dan etanol (Leksono, 2012).

Ciri-ciri pangan yang mengandung Rhodamin B meliputi warna terlihat cerah (kemerahan atau merah terang) sehingga tampak menarik, dalam bentuk larutan atau minuman warna merah berpendar atau banyak memberikan titik-titik warna karena tidak rata (seperti pada kerupuk dan es putar), terdapat sedikit rasa pahit, muncul rasa gatal di tenggorokan setelah mengonsumsinya, dan aroma tidak alami sesuai pangan, serta saat diolah, tahan terhadap pemanasan (direbus atau dikukus warna tidak pudar) (Cahyani, 2015).

2.4.1 Definisi Rhodamin B

Rumus molekul dari Rhodamin B adalah $C_{28}H_{31}N_2O_3Cl$ dengan berat molekul sebesar 479.000. Sangat larut dalam air yang menghasilkan warna merah kebiru-biruan dan berfluoresensi kuat. Rhodamin B juga merupakan zat yang larut dalam alkohol, HCl, dan NaOH selain dalam air. Di dalam laboratorium, zat tersebut digunakan sebagai pereaksi untuk identifikasi Pb, Bi, Co, Au, Mg dan Th dan titik leburnya pada suhu 165°C.



Gambar 2 1 Struktur kimia Rhodamin-B

Sumber: (Hadriyati dan Lestari 2021)

Keterangan gambar:

- Nama Kimia : N-[9-(carboxyphenil)-6-(diethylamino)-3H-xanten3-ylidene]-N-ethyleyhanaminium klorida
- Nama Lazim : Tetraethylrhodamine; D&C Red No.19; Rhodamin B klorida; C.I.Basic Violet 10; C.I. 45170
- Rumus Kimia : $C_{28}H_{31}N_2O_3Cl$ (nama IUPAC Rhodamin B yaitu [9-(2-carboxyphenyl)-6-diethylamino-3-xanthenylidene]-diethylammonium chloride)
- BM : 479
- Suhu Leleh : 210-211°C, yang akan menyebabkan decomposisasi dan berujung ke rusaknya materi Rhodamin B tersebut
- Pemerian : Hablur hijau atau serbuk ungu kemerahan
- Kelarutan : Sangat mudah larut di air menghasilkan larutan merah kebiruan dan berfluoresensi kuat jika diencerkan. Sangat mudah larut dalam alkohol sukar larut dalam asam encer dan dalam larutan alkali. Rhodamin B larut dalam air dengan solubilitas 50 g/L, dan dalam larutan asam asetat (30 vol %) solubilitasnya 400 g/L. larutan dalam asam kuat membentuk senyawa dengan kompleks antimony berwarna merah muda yang larut dalam isopropyl eter (Agristika, 2015)

2.4.2 Ciri-ciri Makanan Mengandung Rhodamin-B

Rhodamin B sering disalahgunakan pada pembuatan makanan ringan, terasi, cabe merah giling, agar agar, aromanis/kembang gula, manisan, sosis, sirup, minuman, dan lain lain. Ciri-ciri pangan yang mengandung rhodamin B antara lain

warnanya cerah mengkilap dan lebih mencolok, terkadang warna terlihat tidak homogen (rata), ada gumpalan warna pada produk dan bila dikonsumsi rasanya sedikit lebih pahit. Biasanya Produk pangan yang mengandung Rhodamin B tidak mencantumkan kode, label, merek, atau identitas lengkap lainnya (BPOM, 2014).

Menurut Dinas Ketahanan Pangan (2018) ciri-ciri makanan mengandung Rhodamin B yaitu warna kelihatan cerah (berwarna-warni), sehingga tampak menarik; ada sedikit rasa pahit (terutama pada sirop atau limun); muncul rasa gatal di tenggorokan setelah mengonsumsinya; baunya tidak alami sesuai makanannya. Contoh bahan yang biasa diberi Rhodamin B diantaranya sambal botol, cabe merah giling, kerupuk, manisan, sosis, agar-agar, kembang gula atau arum manis, sirup, terasi dan lain-lain.

2.5 Makanan Ringan

Makanan adalah kebutuhan pokok manusia yang menurut Maslow menduduki peringkat pertama dari sederet kebutuhan lain. Setiap individu membutuhkan sejumlah makanan untuk menjaga kelangsungan hidupnya. Oleh ekonom, makanan dijadikan tingkat kesejahteraan masyarakat. Makanan merupakan bagian budaya yang sangat penting (Khomsan, 2003).

Makanan ringan atau dikenal dengan sebutan snack food adalah makanan yang dikonsumsi selain atau antara waktu makan utama dalam sehari. Oleh karena itu, makanan ini biasa disebut snack yang berarti sesuatu yang dapat mengobati rasa lapar dan memberikan suplai yang cukup untuk tubuh. Makanan ringan yang dimaksudkan adalah untuk menghilangkan rasa lapar seseorang sementara waktu dan dapat memberi sedikit suplai ke tubuh atau merupakan sesuatu yang dimakan untuk dinikmati rasanya. Produk yang termasuk dalam kategori makanan ringan menurut Surat Keputusan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia No. HK.00.05.52.4040 Tanggal 9 Oktober 2006 tentang kategori pangan adalah semua makanan ringan yang berbahan dasar kentang, umbi, sereal, tepung atau pati (dari umbi dan kacang) dalam bentuk keripik, kerupuk, jipang. Selain itu pangan olahan yang berbasis ikan (dalam bentuk kerupuk atau keripik) juga masuk kedalam kategori makanan ringan (Putri, 2011).

Dewasa ini makanan ringan sudah menjadi bagian yang tidak dapat ditinggalkan dalam kehidupan sehari-hari. Terutama kalangan anak-anak dan

remaja. Muchtadi (1998) menyatakan bahwa snack merupakan makanan ringan yang dikonsumsi dalam waktu antara ketiga makanan utama dalam sehari. Jenis makanan ringan sangat beragam dilihat dari segi bentuk maupun bagaimana Cara pengolahan dan penyajiannya, seperti keripik singkong, keripik kentang. Selain itu makanan ringan juga bisa dibedakan menjadi dua macam berdasarkan bahan Baku yang digunakan. Kelompok pertama yaitu kelompok makanan ringan yang menggunakan satu bahan pecita rasa seperti garam, gula, dan bumbu lainnya. Kelompok kedua yaitu kelompok makanan ringan yang menggunakan bahan Baku dan bahan tambahan lain yang dicampur untuk memperoleh produk yang mempunyai nilai gizi yang baik, daya cerna dan mutu fisik atau yang lebih tinggi. Campuran dari beberapa sumber pati seperti gandum, jagung dan beras, bahkan dicampur pula dengan kacang-kacangan seperti kedelai dan lainnya.

2.6 Spektrofotometri UV Visible

2.6.1 Pengertian Spektrofotometer

Spektrofotometer sesuai dengan namanya adalah alat yang terdiri dari spectrometer dan fotometer. Spektrofotometer menghasilkan sinar dari spectrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau diabsorpsi. Jadi spektrofotometer digunakan untuk mengukur energy elektromagnetik jika energy tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi panjang gelombang. Kelebihan spektrofotometer dengan fotometer adalah panjang gelombang dari sinar putih dapat lebih di deteksi dan caraini diperoleh dengan alat pengurai seperti prisma, grating atau celah optis. Pada fotometer filter dari berbagai warna yang mempunyai spesifikasi melewatkan trayek pada panjang gelombang tertentu (Gandjar, 2007).

Biasanya, cahaya yang diserap oleh materi akan diukur. Sebutannya ialah transmitans atau juga absorbans. Dari namanya sudah terlihat bahwa itulah cahaya yang diserap oleh materi. Namun didalam analisis berdasarkan spektrofotometer, ada tiga daerah dari panjang gelombang elektromagnetik yang digunakan. Dimulai dari daerah UV (200-380 nm), daerah Visible (380-700 nm) dan daerah inframerah (700-3000 nm).

2.6.2 Prinsip Kerja Spektrofotometer UV Visible

Spektrum elektromagnetik dibagi dalam beberapa daerah cahaya. Yang Akan diabsorpsi oleh atom atau molekul dan panjang gelombang cahaya yang diabsorpsi dapat menunjukkan struktur senyawa yang diteliti. Spektrum elektromagnetik meliputi suatu daerah panjang gelombang yang luas dari sinar gamma gelombang pendek berenergi tinggi sampai pada panjang gelombang mikro (Marzuki Asnah 2012).

Spektrum absorbansi dalam daerah-daerah ultra ungu dan sinar tampak umumnya terdiri dari satu atau beberapa pita absorpsi yang lebar, semua molekul dapat menyerap radiasi dalam daerah UV-tampak. Oleh karena itu mereka mengandung electron, baik yang dipakai bersama atau tidak, yang dapat dieksitasi ke tingkat yang lebih tinggi. Panjang gelombang pada waktu absorpsi terjadi tergantung pada bagaimana erat elektron terikat di dalam molekul. Elektron dalam satu ikatan kovalen tunggal erat ikatannya dan radiasi dengan energy tinggi, atau panjang gelombang pendek, diperlukan eksitasinya (Wunas, 2011).

Keuntungan utama metode spektrofotometri adalah bahwa metode ini memberikan Cara sederhana untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil. Selain itu, hasil yang diperoleh cukup akurat, dimana angka yang terbaca langsung dicatat oleh detector dan tercetak dalam bentuk angka digital ataupun grafik yang sudah diregresikan (Yahya S, 2013).

2.6.3 Spektrofotometri Ultraviolet-Visibel (UV-Vis)

Spektrofotometri UV-Vis merupakan salah satu teknik analisis spektroskopi yang memakai sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dekat (190-380) dan sinar tampak (380-780) dengan memakai instrument spektrofotometer (Mulja dan Suharman, 1995). Spektrofotometri UV-Vis melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga spektrofotometri UV-Vis lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif ketimbang kualitatif (Mulja dan Suharman, 1995).

Spektrofotometer terdiri atas spektrometer dan fotometer. Spektrofotometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditranmisikan atau yang diabsorpsi. Spektrofotometer tersusun atas sumber spektrum yang kontinyu,

monokromator, sel pengabsorpsi untuk larutan sampel atau blangko dan suatu alat untuk mengukur perbedaan absorpsi antara sampel dan blangko ataupun pembandingan (Khopkar, 1990).

Spektrofotometri UV-Vis dapat melakukan penentuan terhadap sampel yang berupa larutan, gas, atau uap. Untuk sampel yang berupa larutan perlu diperhatikan pelarut yang dipakai antara lain:

1. Pelarut yang dipakai tidak mengandung sistem ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur molekulnya dan tidak berwarna.
2. Tidak terjadi interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis.
3. Kemurniannya harus tinggi atau derajat untuk analisis (Mulja dan Suharman, 1995).

Komponen-komponen pokok dari spektrofotometer meliputi:

1. Sumber tenaga radiasi yang stabil, sumber yang biasa digunakan adalah lampu wolfram.
2. Monokromator untuk memperoleh sumber sinar yang monokromatis.
3. Sel absorpsi, pada pengukuran di daerah visible menggunakan kuvet kaca atau kuvet kaca corex, tetapi untuk pengukuran pada UV menggunakan sel kuarsa karena gelas tidak tembus cahaya pada daerah ini.
4. Detektor radiasi yang dihubungkan dengan sistem meter atau pencatat. Peranan detektor penerima adalah memberikan respon terhadap cahaya pada berbagai panjang gelombang (Khopkar, 1990).

Serapan cahaya oleh molekul dalam daerah spektrum ultraviolet dan visible tergantung pada struktur elektronik dari molekul. Serapan ultraviolet dan visible dari senyawa-senyawa organik berkaitan erat transisi-transisi diantara tingkatan-tingkatan tenaga elektronik. Disebabkan karena hal ini, maka serapan radiasi ultraviolet atau terlihat sering dikenal sebagai spektroskopi elektronik. Transisi-transisi tersebut biasanya antara orbital ikatan antara orbital ikatan atau orbital pasangan bebas dan orbital non ikatan tak jenuh atau orbital anti ikatan. Panjang gelombang serapan merupakan ukuran dari pemisahan tingkatan-tingkatan tenaga dari orbital yang bersangkutan. Spektrum ultraviolet adalah gambar antara panjang gelombang atau frekuensi serapan lawan intensitas serapan (transmitasi atau

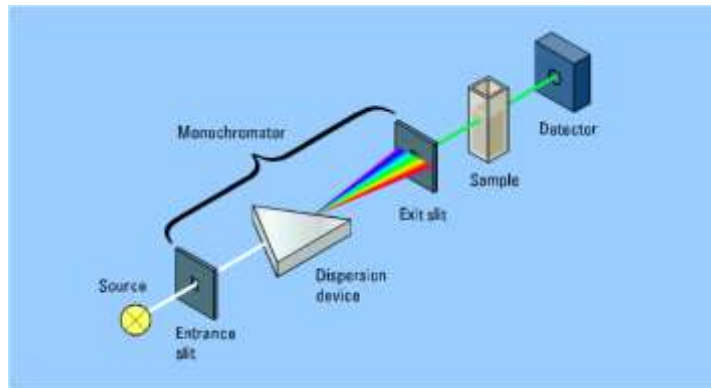
absorbansi). Sering juga data ditunjukkan sebagai gambar grafik atau tabel yang menyatakan panjang gelombang lawan serapan molar atau log dari serapan molar, Emax atau log Emax (Sastrohamidjojo, 2001).

Sumber tenaga radiasi terdiri dari benda yang tereksitasi menuju ke tingkat yang lebih tinggi oleh sumber listrik bertegangan tinggi atau oleh pemanasan listrik. Monokromator adalah suatu piranti optis untuk memencilkan radiasi dari sumber berkesinambungan. Digunakan untuk memperoleh sumber sinar monokromatis. Alat dapat berupa prisma atau grating (Khopkar, 1990).

Pengukuran pada daerah UV harus menggunakan sel kuarsa karena gelas tidak tembus cahaya pada daerah ini. Sel yang biasa digunakan berbentuk persegi maupun berbentuk silinder dengan ketebalan 10 mm. Sel tersebut adalah sel pengabsorpsi, merupakan sel untuk meletakkan cairan ke dalam berkas cahaya spektrofotometer. Sel haruslah meneruskan energi cahaya dalam daerah spektral yang diminati. Sebelum sel dipakai dibersihkan dengan air atau dapat dicuci dengan larutan detergen atau asam nitrat panas apabila dikehendaki (Sastrohamidjojo, 2001).

2.6.4 Tipe-tipe Spektrofotometer UV-Visible

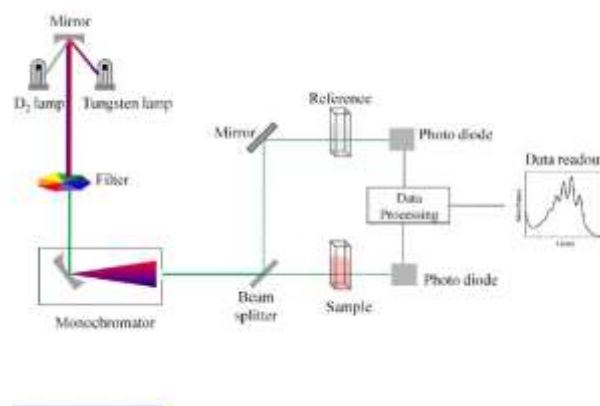
Pada umumnya terdapat dua tipe instrument spektrofotometer, yaitu *single-beam* dan *double-beam*. Single-beam instrument dapat digunakan untuk kuantitatif dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tunggal. *Single-beam instrument* mempunyai beberapa keuntungan yaitu, sederhana, harganya murah dan mengurangi biaya yang ada merupakan keuntungan yang nyata. Beberapa instrument menghasilkan *single-beam instrument* untuk pengukuran sinar ultraviolet dan sinar tampak. Panjang gelombang paling rendah adalah 190 sampai 210 nm dan paling tinggi adalah 800 sampai 1000 nm. *Double-beam* dibuat untuk digunakan pada panjang gelombang 190 sampai 750 nm (Suharti, 2013).



Gambar 2 2 Diagram alat spektrofotometer UV-Vis (single-beam)

Sumber: (Suhartati, 2017)

Double-beam instrument mempunyai dua sinar yang dibentuk oleh potongan cermin yang berbentuk V yang disebut pemecah sinar. Sinar pertama melewati larutan blanko dan sinar kedua secara serentak melewati sampel. Sumber sinar polikromatis, untuk sinar UV adalah lampu deuterium, sedangkan sinar Visible atau sinar tampak adalah lampu wolfram. Monokromator pada spektrometer UV-Vis digunakan lensa prisma dan filter optic. Sel sampel berupa kuvet yang terbuat dari kuarsa atau gelas dengan lebar yang bervariasi. Detector berupa detector foto atau detector panas atau detector diode foto, berfungsi menangkap cahaya yang diteruskan dari sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik (Suharti, 2013).



Gambar 2 3 Skema spektrofotometer UV-Vis (double-beam)

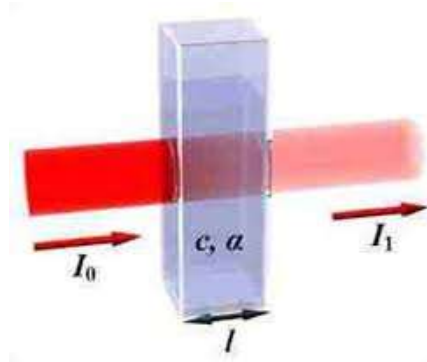
Sumber: (Trihartanti, 2017)

2.6.5 Hukum Lambert Beer

Hukum Lambert-Beer menyatakan bahwa hubungan linear antara absorbansi dengan konsentrasi larutan sampel. Konsentrasi dari sampel di dalam larutan bisa

ditentukan dengan mengukur absorban pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum lambert-beer. Berkenaan dengan hukum disebutkan, ada dua konsep implisit: transmitansi (T) dan absorbansi (A). Transmitansi (T) adalah sebagian kecil dari cahaya yang terkait dari ditentukan panjang gelombang melewati sampel. Cahaya yang diserap diukur sebagai absorbansi (A) sedangkan cahaya yang hamburkan diukur sebagai transmitansi (T), dinyatakan dengan hukum Lambert-beer atau hukum beer, berbunyi:

“ Jumlah radiasi cahaya tampak (ultraviolet, inframerah, dan sebagainya) yang diserap atau ditransmisikan oleh suatu larutan merupakan suatu fungsi eksponen dari konsentrasi zat dan tebal larutan”.



Gambar 2 4 Korespondensi transmisi dan absorpsi

Didasarkan pada hukum lambert-beer, apabila seberkas cahaya monokromatik dengan intensitas awal I_0 dijatuhkan pada kuvet (wadah sampel) berukuran dalam D , berisi larutan dengan konsentrasi C , maka setelah berkas tersebut menempuh jarak d , intensitas cahaya akan turun sampai I_t .

Hubungan I_0 dan I_t secara eksponensial menurut persamaan:

$$I_t = I_0 \times 10^{-kdC}$$

$$\text{Log}(I_t/I_0) = -kdC, \text{ dimana } k = \text{konstanta} \dots\dots\dots (1)$$

Cahaya yang di absorpsi (A) adalah kdC dan transmisi (T) tidak lain adalah perbandingan antara intensitas akhir dengan intensitas awal.

Jadi secara sistematis dituliskan sebagai berikut:

$$A = kdC \dots\dots\dots (2)$$

$$T = I_t / I_0 \dots\dots\dots (3)$$

Transmisi dipersentasikan menjadi:

$$T = \frac{I_t}{I_0}$$

$$\%T = \frac{T}{100}$$

$$\%T = \frac{\left(\frac{I_t}{I_0}\right)}{100}$$

$$\%T = \frac{I_t}{I_0} \times 100$$

$$I_t / I_0 = \frac{\%T}{100} \dots\dots\dots (4)$$

Logaritma transmisi dari persamaan (1) dan substitusi persamaan tersebut kedalam persamaan (2)

$$\text{Log } (I_t/I_0) = -kdC$$

$$A = kdC$$

$$A = -\log (I_t/I_0)$$

$$A = -\log (\%T/100)$$

$$A = -\log \%T + \log 100$$

$$A = \log 100 - \log \%T$$

$$\text{Absorbansi} = 2 - \log \%T \dots\dots\dots (5)$$

Keterangan:

I_t = intensitas radiasi yang di transmisikan

I_0 = intensitas radiasi insiden

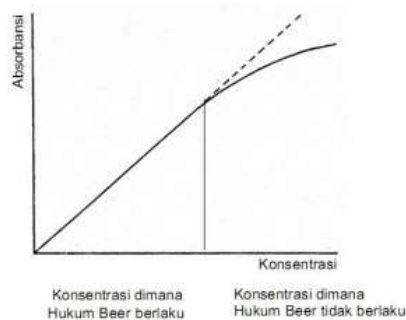
$\%T$ = konsentrasi molekul menyerap cahaya dalam sampel

A = absorbansi diukur

ϵ = molekul absorbansi koefisiensi (liter/ mol/ cm)

l/d = jarak dari lintasan yang dilalui (panjang jalan) oleh cahaya dalam sampel

C = konsentrasi contoh (mol/ liter) (Wahyuni, 2013)



Gambar 2 5 Grafik kurva Lambert-Beer

Hasil pengukuran absorbansi larutan standar dapat digunakan untuk menghitung kadar suatu zat dengan menggunakan hubungan antara A dan c yang

merupakan grafik kalibrasi absorbansi vs konsentrasi. Selanjutnya konsentrasi larutan yang belum diketahui dapat ditentukan dari grafik tersebut dengan menggunakan persamaan regresi linear yaitu

$$y = ax + b \dots \dots \dots (6)$$

Keterangan:

y = Absorbansi sampel

x = konsentrasi sampel

a = slope

b = intersep