

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Indikator pH Alami

Secara umum indikator adalah asam atau basa lemah yang membentuk kesetimbangan dalam air. Indikator pH adalah zat yang memberikan warna berbeda apabila dalam suasana asam dan suasana basa. Dengan indikator, tingkat keasaman dan kebasaan suatu senyawa dapat diketahui (Larasati, 2011). Beberapa indikator pH yang telah banyak digunakan antara lain *phenolphthalein*, methyl orange, methyl blue, dan lain-lain. Selain indikator-indikator kimia tersebut, kini telah banyak dikembangkan indikator pH yang terbuat dari zat warna alami tanaman (Lestari, 2016). Sumber indikator alam biasanya berasal dari akar, daun, bunga, buah atau biji dari suatu tanaman dan dapat dibuat melalui ekstraksi dengan pelarut yang sesuai.

Indikator alami merupakan bahan alam yang dapat berubah warnanya dalam larutan yang sifatnya berbeda seperti dalam suasana asam, basa atau netral. Pada prinsipnya, indikator bahan alam dapat dibuat dengan cara mengambil zat warna yang terkandung dalam tumbuhan tersebut. Zat warna dalam tumbuhan dapat keluar jika dilakukan beberapa perlakuan seperti dilarutkan dengan air, direbus dengan air, dilarutkan dalam alkohol atau dilakukan ekstraksi yang sesuai. Dalam beberapa tahun terakhir, telah banyak dikembangkan indikator pH menggunakan bahan alam yang cocok dalam pengaplikasiannya di bidang pangan (Balbinot-Alfaro et al., 2019).

Indikator pH alami tersebut diperoleh dari bahan alam yang telah diekstrak. Indikator pH dari bahan alam tersebut dianggap tidak toksik dan lebih mudah untuk dibuat dibandingkan dengan indikator sintetik. Beberapa jenis senyawa yang dapat diaplikasikan sebagai indikator pH alami adalah betalanin, kurkumin, karotenoid, dan antosianin (Prietto et al., 2017). Senyawa-senyawa tersebut dapat diperoleh dari buah dan sayur seperti wortel, kubis ungu, buah naga, buah delima,

stroberi, bawang merah, ubi jalar, kunyit, dan lain-lain (Afandy et al., 2017; Pourjavaher et al., 2017; Virliantari et al., 2018).

## 2.2 Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizus*)

*Hylocereus polyrhizus* atau buah naga merah merupakan buah dengan kulit berwarna merah dan daging berwarna merah keunguan. Buah naga merah tergolong jenis tanaman yang cenderung berbunga sepanjang tahun, namun tingkat keberhasilan bunga menjadi buah sangat kecil. Produktivitasnya tergolong rendah, hanya mencapai 50%. Selain itu rata-rata buahnya hanya sekitar 400 gram (Kristanto, 2008). Klasifikasi tanaman buah naga merah dapat dilihat pada tabel 2.1.

**Tabel 2. 1 Klasifikasi Buah Naga Daging Merah**

Divisi :	<i>Spermatophyta</i> (tumbuhan berbiji)
Subdivisi :	<i>Angiospermae</i> (berbiji tertutup)
Kelas :	<i>Dicotyledonae</i> (Berkeping dua)
Ordo :	<i>Cactales</i>
Famili :	<i>Cactaceae</i>
Subfamili :	<i>Hylocereanea</i>
Genus :	<i>Hylocereus</i>
Spesies	<i>Hylocereus Polyrhizus</i> (daging merah)

Kulit buah naga merah memiliki berat 30-35% dari berat buahnya. Pada kulit buah naga merah mengandung beberapa senyawa seperti vitamin B1, vitamin B2, vitamin B3 dan vitamin C, protein, lemak, karbohidrat, serat kasar, tiamin, niasin, pyridoxine, kobalamin, glukosa, fenol, antosianin, polifenol, karoten, fosfor, besi dan flavonoid yang beberapa diantaranya merupakan senyawa antioksidan. Jenis antosianin dalam kulit buah naga adalah sianidin-3-glukosida, berdasarkan nilai Rf sebesar 0,36-0,38 dan absorbansi maksimal pada panjang gelombang dengan

panjang gelombang sebesar 536,4 nm (Anis, 2013). Kandungan metabolit sekunder pada kulit buah naga merah dapat dilihat pada Tabel 2.2 (Taiwan Food Industry Develop & Research Authorities, 2005).

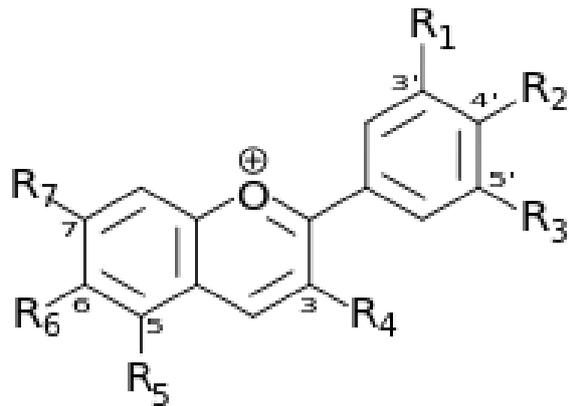
**Tabel 2. 2 Kandungan Metabolit Sekunder pada Kulit Buah Naga Merah**

Komponen	Kadar
- Fenol	1.049,18 mg/100 g
- Flavonoid	1.310,10 mg/100 g
- Antosianin	186,90 mg/100 g

Kandungan metabolit sekunder pada kulit buah naga merah dapat dilihat pada Tabel 2.2 (Taiwan Food Industry Develop & Research Authorities, 2005). Berdasarkan tabel tersebut kulit buah naga merah mengandung senyawa antosianin sebesar 186,90 mg/100 g. Dimana senyawa antosianin ini dapat digunakan sebagai pewarna alami maupun sebagai indikator pH alami.

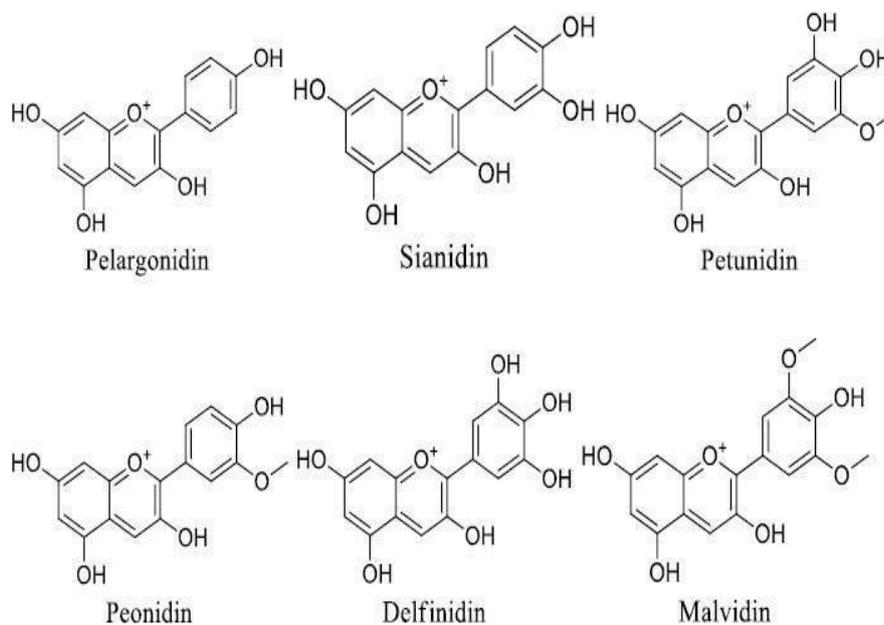
### 2.3 Antosianin

Antosianin berasal dari bahasa Yunani yaitu “*anthos*” yang berarti bunga dan “*kyanos*” yang berarti biru gelap dan termasuk senyawa flavonoid. Senyawa ini merupakan sekelompok zat warna berwarna kemerahan yang larut di dalam air dan tersebar sangat luas di dunia tumbuh-tumbuhan seperti pada bunga, daun, batang, buah, biji, dan jaringan akar tumbuhan (Kannan, 2011). Pigmen yang berwarna kuat dan larut dalam air adalah penyebab hampir semua warna merah, oranye, ungu, dan biru. Zat pewarna alami antosianin tergolong ke dalam turunan benzena yang ditandai dengan adanya dua cincin aromatik benzena ( $C_6H_6$ ) yang dihubungkan dengan tiga atom karbon yang membentuk cincin seperti yang terlihat pada gambar 2.1 (Dacosta, 2014).



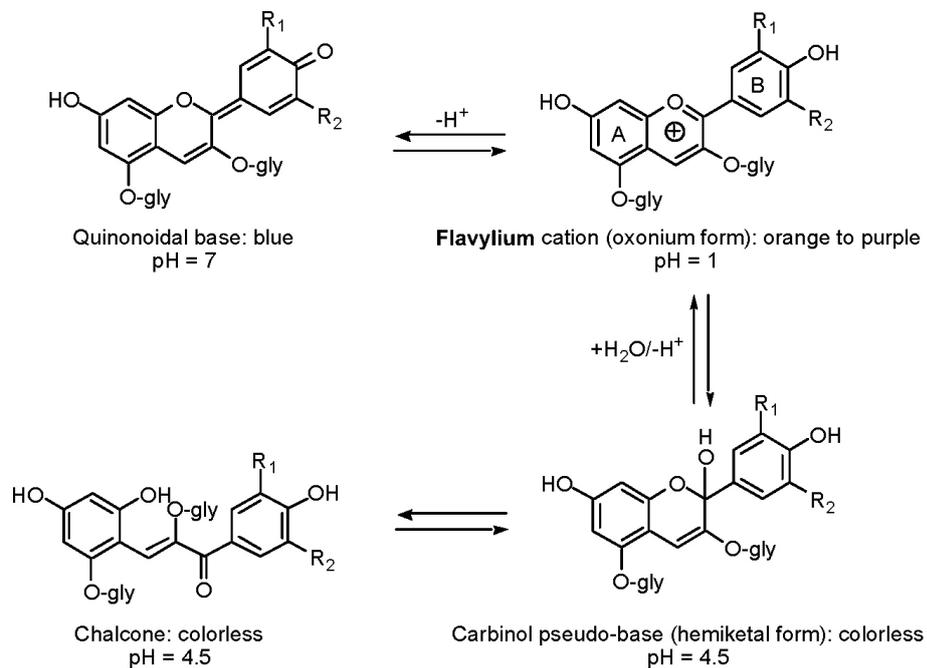
**Gambar 2. 1 Struktur Kimia Antosianin (Dacosta, 2014)**

Antosianin terdapat pada beberapa tumbuhan yang berwarna seperti ubi jalar, stroberi, anggur, buah delima, kubis merah, buah naga merah (Chandrasekhar dkk., 2012). Antosianin merupakan senyawa yang penggunaannya paling dominan digunakan untuk indikator titrasi asam basa karena paling banyak diperoleh dari tumbuhan berwarna (Marwati, 2012). Antosianin dapat membentuk senyawa-senyawa turunannya yaitu sianidin, pelargonidin, petunidin, malvidin, peonidin, dan delphinidin seperti yang tertera pada gambar 2.2.



**Gambar 2. 2 Struktur Umum Antosianin**

Antosianin memiliki sifat larut dalam air dan membentuk senyawa warna yaitu warna merah pada suasana asam dan warna biru pada suasana basa (Marwati, 2012). Antosianin memiliki kelarutan yang baik dalam pelarut polar seperti methanol, aseton atau kloroform. Antosianin juga larut dalam air yang telah diasamkan dengan asam klorida atau asam format (Socaciu, 2007). Antosianin lebih stabil pada pH rendah, namun ketika berada dalam larutan air antosianin hadir berdampingan sebagai empat bentuk ion, yaitu kation flavilium, basa kuinonoidal, karbinol atau pseudobase, dan kalkon. Pada pH 1 bentuk utama dari antosianin adalah kation flavilium yang berkontribusi pada warna ungu dan merah. Ketika nilai pH ditingkatkan menjadi 7, sebagian besar ion flavilium berubah menjadi bentuk ion kuinonoidal yang berwarna biru. Bentuk *pseudobase* dan kalkon banyak terjadi ketika nilai pH antara 4 dan 5, bentuk ini merupakan ion tidak berwarna, sedangkan pada nilai pH lebih tinggi dari 7 antosianin akan terdegradasi tergantung pada kelompok substituenya seperti yang terlihat pada gambar 2.3 (Dangles dkk., 1993).



**Gambar 2. 3 Reaksi Antosianin Dalam Berbagai pH**

Antosianin dapat menyerap dan memantulkan berbagai cahaya dengan panjang gelombang yang berbeda, sehingga menyebabkan penampakan warna yang berbeda-beda pula. Kulit buah naga merah (*Hylocereus Polyrhizus*) dapat

digunakan sebagai indikator pH karena didasarkan pada perubahan warna pada berbagai pH. Perubahan warna antosianin yang diekstraksi dari kulit buah naga merah dalam pelarut etanol cukup bervariasi dari merah muda pada pH rendah hingga kuning pada pH tinggi (Yulfriansyah & Novitriani, 2016). Sifat antosianin yang menguntungkan adalah kelarutannya yang baik, stabil terhadap fotodegradasi dan ketahanan warna yang sangat baik pada suhu tinggi (Devarayan dan Kim, 2015).

## **2.4 Ekstraksi**

Ekstraksi adalah suatu proses penarikan kandungan kimia dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Mukhriani, 2014). Pada proses ekstraksi komponen yang dipisahkan dengan ekstrak dapat berupa padatan dari suatu sistem campuran padat-cair dan berupa cairan dari suatu sistem campuran cair-cair. Ekstraksi didasarkan pada perpindahan massa komponen zat padat ke dalam cairan penyari, dimana perpindahan tersebut mulai terjadi pada lapisan antarmuka lalu berdifusi masuk ke dalam pelarut. Faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi antara lain yaitu ukuran bahan baku, pemilihan pelarut, waktu proses ekstraksi suhu ekstraksi. Ukuran bahan baku yang kecil akan menghasilkan hasil yang rendah. Pemilihan pelarut akan mempengaruhi suhu ekstraksi dan waktu proses ekstraksi. Jika suhu tinggi, maka akan menghasilkan sisa pelarut yang tinggi pula (Anam, 2010)

Secara umum teknik ekstraksi dibagi menjadi dua macam yaitu ekstraksi bertingkat dan ekstraksi tunggal. Ekstraksi bertingkat merupakan ekstraksi yang dilakukan dengan berbagai pelarut yang memiliki kepolaran berbeda dan bertingkat dari kurang polar ke yang lebih polar. Kelebihannya adalah rendemen yang dihasilkan akan lebih besar dengan senyawa yang berbeda tingkat kepolarannya. Sedangkan ekstraksi tunggal adalah pelarutan bahan yang akan diekstrak dengan satu jenis pelarut. Kelebihan dari ekstraksi tunggal yaitu lebih sederhana dan menghemat waktu, namun rendemen yang dihasilkan hanya sedikit (Taroreh, *et al.*, 2015).

Macam-macam metode ekstraksi yaitu maserasi, perkolasi, refluks, dan soxhlet. Maserasi merupakan proses pengekstrakan simplisia dengan

menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu ruangan. Sedangkan perkolasi merupakan ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (exhaustive extraction) yang umumnya dilakukan pada suhu ruangan (Depkes RI, 2000). Refluks merupakan ekstraksi dengan pelarut pada suhu titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin bali. Ekstraksi soxhlet merupakan ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus (soxhlet) sehingga terjadi ekstraksi yang kontinyu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Depkes RI, 2000).

## ***2.5 Nata De Coco***

Selulosa bakterial merupakan selulosa yang diperoleh dari fermentasi bakteri aerobik dari berbagai spesies *Acetobacter* (Erythrina, 2011). Selulosa bakterial dan selulosa tanaman memiliki struktur molekul sama tetapi sifat fisika-kimianya berbeda. Secara kimia selulosa bakterial memiliki kemurnian yang lebih tinggi akibat bebas dari pektin, lignin, dan hemiselulosa. Selain itu, selulosa bakterial memiliki kandungan selulosa yang cukup tinggi, dapat diproduksi dalam waktu relatif singkat serta selulosa yang dihasilkan sudah dalam bentuk lembaran (Syamsu, 2012; Fitriani et al., 2016).

Karena beberapa keunggulan tersebut, selulosa bakterial kini banyak diaplikasikan sebagai biosensor serta dalam industri kertas, kemasan, hingga elektronik. Bakteri penghasil selulosa yang efektif adalah dari *Acetobacter* salah satunya adalah *Acetobacter xylinum* yang merupakan bakteri asam asetat yang aman bila dikonsumsi oleh manusia. *Nata de coco* merupakan contoh selulosa bakterial yang dihasilkan oleh bakteri *Acetobacter xylinum*.

*Nata de coco* adalah hasil fermentasi air kelapa dengan tekstur kenyal berwarna putih susu atau bening. Secara etimologis, *nata de coco* berarti krim kelapa. Proses fermentasi *nata de coco* dibantu dengan bakteri *Acetobacter Xylinum* yang menghasilkan enzim untuk mengubah gula dalam air kelapa menjadi serat selulosa yang berbentuk lembaran. Kelebihan *nata de coco* sebagai selulosa bakterial yaitu bersifat *biodegradable* yaitu memiliki kapasitas penyimpanan dan penyerapan air yang besar, dimana hampir 97% dari masanya

adalah air, permukaannya spesifik dengan gugus hidroksil, memiliki struktur jaringan yang sangat halus dengan pori yang luas dengan kisaran 12-160 nm, hal ini memudahkan molekul asing menyebar keseluruh bagian dengan rata, serta memiliki derajat kristalinitas polimer dan kekuatan mekanis yang baik (Pourjavaher et al., 2017).

## **2.6 Imobilisasi Reagen**

Untuk meningkatkan stabilitas dan memberikan kepraktisan dalam penggunaan, reagen indikator membutuhkan media pembawa dan proses ini dinamakan pengikatan reagen ke dalam membran atau imobilisasi. Imobilisasi reagen merupakan proses pengikatan molekul reagen ke dalam fasa padat yang persebarannya secara merata dan homogen, yang memungkinkan adanya pertukaran dengan larutan sampel dimana terdapat analit untuk dideteksi. Menurut Kuswandi (2010), macam-macam teknik imobilisasi yang dikembangkan dalam sensor kimia yaitu adsorpsi, entrapmen, mikroenkapsulasi, *crosslinking*, dan ikatan kovalen.

Terdapat dua metode imobilisasi yaitu secara fisik dan kimia (Kuswandi, 2010). Metode imobilisasi secara fisik antara lain penyerapan reagen kimia pada permukaan matriks pendukung padat, pemerangkapan molekul reagen di dalam ruang antara matriks pendukung, pengkapsulan reagen di dalam membran semipermeabel pada permukaan sensor dan interaksi elektrostatik antara reagen dan matriks pendukung yang memiliki muatan yang berlawanan. Metode imobilisasi secara kimia dapat terjadi melalui reaksi pembentukan ikatan kovalen reagen kimia dengan matriks pendukung dan pembentukan ikatan kimia antara reagen dengan matriks pada permukaan sensor melalui agen penghubung.

Dalam melakukan imobilisasi terdapat beberapa faktor yang perlu diperhatikan dalam keberhasilan imobilisasi diantaranya adalah materi pendukung hanya dapat berinteraksi dengan molekul tertentu dari reagen tersebut, material pendukung memiliki pori yang cukup untuk memfasilitasi terjadinya difusi analit ke dalam fasa reagen, reagen stabil dalam kondisi yang dibutuhkan selama proses imobilisasi, serta material pendukung harus tidak larut dalam air, stabil, dan dapat mengikat reagen dengan cukup kuat pada permukaannya. Teknik adsorpsi atau

penyerapan melibatkan gaya *Van der Waals* atau ikatan hidrogen untuk mengikat molekul reagen pada material pendukung. Menurut Kuswandi (2010), teknik adsorpsi dikelompokkan menjadi dua yaitu adsorpsi fisik dan adsorpsi kimia. Ikatan yang terbentuk pada adsorpsi fisik adalah ikatan *Van der Waals* dimana ikatan ini biasanya cukup lemah. Sedangkan ikatan yang digunakan dalam adsorpsi kimia adalah ikatan kovalen yang lebih kuat.

## **2.7 Mutu Kesegaran Ikan**

Ikan segar atau ikan basah adalah ikan yang belum atau tidak mengalami proses pengawetan dengan apa pun kecuali didinginkan dengan es. Ikan dapat dikatakan mempunyai kesegaran maksimal, apabila sifat-sifatnya masih sama seperti ikan hidup, baik rupa, aroma, cita rasa, maupun teksturnya. Apabila dalam penanganannya yang kurang baik, maka mutu atau kualitasnya akan menurun. Penanganan ikan segar merupakan semua perlakuan yang dikerjakan terhadap ikan segar sejak ditangkap sampai saat diterima oleh konsumen. Pekerjaan ini dilakukan oleh nelayan, pedagang pengolah, penyalur, pengecer dan seterusnya hingga konsumen. (Murniyati dan Sunarman, 2000).

Ikan merupakan salah satu komoditi pangan yang sangat dibutuhkan oleh manusia karena banyak mengandung protein. Karena adanya kandungan protein dan air yang cukup tinggi pada ikan, maka ikan digolongkan ke dalam komoditi pangan yang mudah busuk. Pembusukan tersebut merupakan salah satu penyebab penurunan mutu kesegaran ikan. Penurunan mutu kesegaran ikan dapat berlangsung secara enzimatis, kimiawi dan bakteriologi dengan diikuti penurunan organoleptik yang dipengaruhi oleh suhu, dimana seiring dengan meningkatnya suhu, mutu kesegaran ikan semakin cepat menurun.

Parameter dalam menentukan mutu ikan segar antara lain parameter fisika, kimia, dan mikrobiologi. Parameter fisika merupakan parameter yang dapat dinilai melalui panca indera manusia dengan cepat dan mudah (rapid test) yang dapat dilakukan oleh banyak orang, sedangkan parameter kimia dan mikrobiologis perlu dilakukan di laboratorium dengan orang yang ahli. Salah satu parameter dalam penilaian kimiawi untuk menentukan mutu kesegaran ikan adalah nilai keasaman-kebasaan (pH). Ikan yang sudah tidak segar nilai pH-nya cenderung lebih tinggi

atau bersifat basa dibandingkan dengan ikan yang masih segar. Waluyo dan Kusuma (2017) menyatakan bahwa nilai pH daging hasil perikanan yang masih hidup adalah netral atau pH 7, pada pH rendah (2-6,5) produk perikanan telah memasuki fase kekakuan, sedangkan fase kebusukan ditandai dengan pH tinggi (pH 8-10). Hal ini timbul karena adanya senyawa-senyawa yang bersifat basa seperti, amonia, trimetilamin, dan senyawa volatil lainnya.

## **2.8 Metode pH Differential**

Metode pH diferensial kini telah digunakan secara luas pada bidang makanan dan hortikultural dalam menilai kualitas buah-buahan, sayuran segar, dan olahannya. Salah satunya digunakan dalam penentuan konsentrasi antosianin total pada tanaman yang berwarna merah, ungu, dan biru. Penentuan konsentrasi antosianin total didasarkan pada perubahan struktur antosianin pada pH 1 dan pH 4,5.

Pada pH 1, antosianin membentuk senyawa flavilium atau oxonium yang berwarna merah. Sedangkan pada pH 4,5 antosianin berbentuk karbinol yang tidak berwarna. Berdasarkan prinsip tersebut, metode pH diferensial dapat digunakan untuk mengukur total antosianin yang cukup akurat dan cepat (Durst et al., 2005).

Penentuan konsentrasi antosianin total dengan metode pH diferensial ini dilakukan dengan mengukur absorbansi setiap larutan pada panjang gelombang 510 nm dan 700 nm dalam larutan buffer pH 1 dan pH 4,5 sebagai blanko menggunakan spektrofotometer UV-Visible. Adapun rumus yang digunakan dalam menentukan konsentrasi antosianin total sebagai sianidin-3-glukosida dengan metode pH diferensial adalah sebagai berikut:

$$A = (A_{\lambda_{max}} - A_{700\text{ nm}})_{pH\ 1} - (A_{\lambda_{max}} - A_{700\text{ nm}})_{pH\ 4,5}$$

$$\text{Antosianin} = \frac{(A \times Mr \times Fp \times 1000)}{\epsilon \times l}$$

Keterangan : A = Absorbansi antosianin

Mr = Berat molekul antosianin

Fp = Faktor pengenceran

$\varepsilon$  = Koefisien ekstingsi molar (29600L/cm<sup>-1</sup>)

## 2.9 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri sesuai merupakan alat yang terdiri dari spektrometer dan fotometer. Spektrometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu sedangkan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau diabsorpsi. Sehingga spektrofotometer digunakan untuk mengukur energi relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi panjang gelombang. Kelebihan spektrofotometer dengan fotometer adalah panjang gelombang dari sinar putih dapat lebih dideteksi dan cara ini 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).

Spektrofotometer merupakan instrumen yang digunakan untuk mengukur transmitans atau absorbansi suatu sampel dengan menggunakan radiasi elektromagnetik atau REM yang dianggap sebagai energi yang merambat dalam bentuk gelombang (Susanti, dkk., 2018). Prinsip kerja Spektrofotometer UV-Vis yaitu apabila cahaya monokromatik melalui suatu larutan, maka sebagian cahaya tersebut diserap, sebagian akan dipantulkan, dan sebagian lagi dipancarkan (Yanlinastuti & Fatimah, 2011). Jika absorbansi suatu seri konsentrasi larutan diukur pada panjang gelombang, suhu, dan kondisi pelarut yang sama; dan absorbansi masing-masing larutan diplotkan terhadap konsentrasinya, maka suatu garis lurus akan teramati sesuatu dengan persamaan  $A = \varepsilon \cdot b \cdot C$ . Grafik ini disebut dengan plot hukum Lambert-Beer dan jika garis yang dihasilkan merupakan suatu garis lurus maka dapat dikatakan bahwa hukum Lambert-Beer dipenuhi pada kisaran konsentrasi yang diamati.

Spektrum elektromagnetik dibagi dalam beberapa daerah cahaya. Suatu daerah 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 absorpsi 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 energi tinggi, atau panjang gelombang pendek, diperlukan eksitasinya (Wunas,2011).

Spektrum UV-Vis merupakan hasil interaksi antara radiasi elektromagnetik (REM) dengan molekul. REM merupakan bentuk energi radiasi yang mempunyai sifat gelombang dan partikel foton. Karena bersifat sebagai gelombang maka beberapa parameter perlu diketahui, misalnya panjang gelombang ( $\lambda$ ), frekuensi ( $\nu$ ), bilangan gelombang ( $\bar{\nu}$ ) dan serapan (A) (Harmita, dkk., 2006). Pengukuran serapan dapat dilakukan pada daerah ultraviolet dengan panjang gelombang 190 nm – 380 nm atau pada daerah cahaya tampak dengan panjang gelombang 380-780 nm. Daya serap atau serapan jenis zat pada batas-batas kadar tertentu tidak bergantung dari intensitas radiasi, panjang jalan sinar dan kadar. Penyimpangan dari ketentuan tersebut dapat disebabkan oleh adanya variasi alat atau adanya perubahan fisika kimia. Penyimpangan oleh alat dapat disebabkan oleh lebar celah, sinar hambur atau sinar polikromatik. Perubahan sifat fisika kimia dapat terjadi perubahan kadar yang disebabkan oleh terjadinya asosiasi antara molekul yang terlarut atau antara molekul zat dan molekul pelarut, atau terjadinya ionisasi atau disosiasi (FI III, 1979).

Spektrofotometer UV-Vis umumnya digunakan untuk analisis secara kuantitatif, tetapi dapat juga digunakan untuk analisis kualitatif. Untuk analisis secara kualitatif terdapat beberapa hal yang harus diperhatikan seperti membandingkan panjang gelombang maksimum, membandingkan serapan (A), daya serap, serta membandingkan spektrum serapan (Gandjar Ibnu G dan Rohman Abdul, 2007).

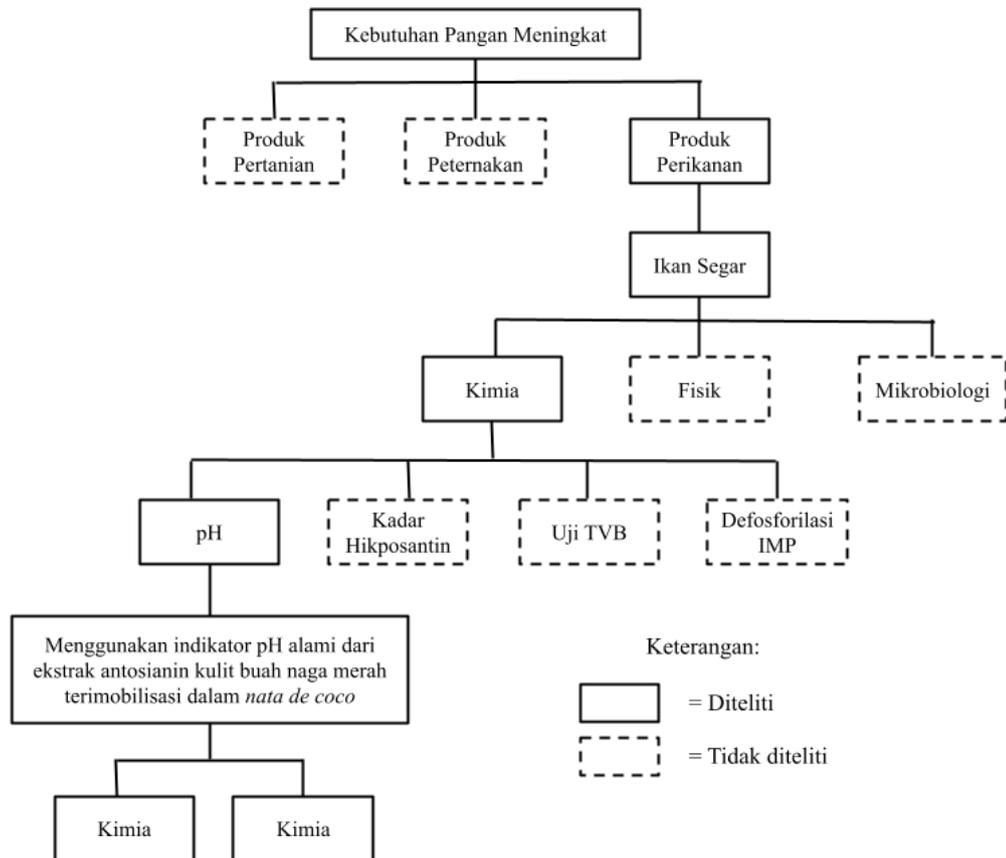
## 2.10 *ImageJ*

*ImageJ* adalah program yang digunakan untuk analisis gambar yang dibuat oleh *National Institute of Health* sebagai *software* pemrosesan atau analisis citra dominan. Program ini dapat digunakan untuk mengedit, menganalisis, memproses, dan menyimpan gambar. Selain itu kegunaan program ini sebagai analisis kuantitatif gambar, analisis fluoresensi, dan data mikroskop dalam satu lapang pandang (Hartig, 2013).

Program ini berisi menu bar, tool bar, dan status bar. Cara pengoperasian program *ImageJ* yaitu ketika kursor berada diatas gambar, maka akan ditampilkan nilai koordinat dan koordinat tersebut diukur dalam satuan pixel atau detik (Reinking, 2007). Perhitungan nilai RGB merupakan pengukuran intensitas warna cahaya yang dapat menghasilkan spektrum tiga warna yaitu merah (R), hijau (G), dan biru (B).

Penentuan nilai RGB dengan menggunakan *ImageJ* didasarkan pada nilai perhitungan dari tiga warna merah, hijau, dan biru karena merupakan warna cahaya yang dapat menghasilkan spektrum sehingga dapat terlihat oleh pembaca. Apabila intensitas tertinggi dari setiap warna dicampurkan maka akan diperoleh cahaya putih. Sedangkan bila intensitasnya sama dengan nol, maka akan dihasilkan cahaya hitam (Reinking, 2007).

## 2.11 Kerangka Konsep Penelitian



**Gambar 2. 4 Kerangka Konsep Penelitian**