

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Nata De Coco

Nata de coco dibuat dari air kelapa yang difermentasi oleh bakteri *Acetobacter xylinum*. Ini tidak mengandung nutrisi penting, tetapi mengandung banyak serat. untuk pencernaan, dan kekurangan serat dapat menyebabkan masalah kesehatan yang serius. Akibatnya, baik untuk pengembangan sebagai makanan yang mengandung serat. Beberapa bahan tambahan diperlukan untuk membuat nata de coco dari air kelapa, Tari et al. (2010) menyatakan bahwa tujuan ditambahkannya nitrogen ke nata de coco adalah untuk membuat pembentukan dan perkembangan sel bakteri, yang menghasilkan selulosa. Fungsi nitrogen dalam pengolahan nata de coco adalah untuk menyediakan 0,3% sumber nitrogen dan 0,03% sumber karbon dan 25% sumber asam asetat. Air kelapa (*cocos nucifera*) sering dibuang dan menimbulkan masalah karena baunya yang kuat setelah beberapa waktu dibuang. Pembuatan nata de coco adalah cara sederhana untuk mengolah limbah air kelapa.

2.2. Bahan Tambahan Pangan (BTP)

Menurut Cahyadi (Alivia, 2015), BTP mencakup zat yang dimasukkan secara sengaja ke dalam makanan selama berbagai fase produksi, seperti pembuatan, pengolahan, penyiapan, pengepakan, pengemasan, dan penyimpanan. Zat-zat ini biasanya tidak dikonsumsi sebagai makanan dan tidak terdapat secara alami dalam makanan, apa pun kandungan nutrisinya. Tujuan dari bahan tambahan makanan adalah untuk melestarikan atau meningkatkan nilai gizi dan kualitas makanan secara keseluruhan dimana bahan tersebut digunakan. Secara garis besar bahan tambahan makanan dapat dikategorikan menjadi dua kelompok besar yaitu sebagai berikut:

1. Bahan tambahan pangan seperti pengawet, pewarna, pemanis, dan pengeras sengaja dimasukkan ke dalam pangan untuk menjaga kesegaran, menambah cita rasa, dan membantu dalam pengolahan. Namun, ada kalanya bahan tambahan makanan ditambahkan secara tidak sengaja atau tidak disengaja ke dalam

makanan karena berbagai tahap pembuatan, pemrosesan, dan pengemasan. Bahan tambahan ini mungkin termasuk polutan atau residu dari bahan yang digunakan dalam produksi bahan mentah, yang dapat berakhir pada produk makanan akhir. Contoh bahan tambahan tersebut antara lain antibiotik, residu pestisida (seperti insektisida, herbisida, fungisida, dan rodentisida), dan hidrokarbon aromatik polisiklik.

Aditif makanan hanya boleh digunakan dalam jumlah yang lebih rendah dari ambang batas yang ditetapkan. BTP hadir dalam dua varietas. Yang pertama adalah GRAS (*Generally Recognized as Safe*), yang tidak berbahaya dan tidak memiliki konsekuensi berbahaya seperti gula (glukosa). Di sisi lain, ADI adalah singkatan dari *Acceptable Daily Intake*. Jenis ini memiliki batasan asupan harian yang selalu ditetapkan untuk menjaga kesehatan pengguna.

Berdasarkan Kelompok BTP yang diizinkan menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 722/Menkes/Per/IX/88:

- a. antioksidan (antioksidan)
- b. Pengatur keasaman
- c. Pemanis Buatan (*Artificial Sweetener*)
- d. Pemutih telur dan bahan penuaan (zat pengolah tepung)
- e. Pengemulsi, penstabil dan pengental (*Emulsifier*, penstabil, pengental
- f. Pengawet (Pengawet)
- g. Pengeras (padat)
- h. Pewarna (cat)
- i. Penambah rasa dan aroma (Penambah rasa, aroma)
- j. Sekuestran (Sekuestran).

Penggunaan beberapa bahan tambahan pangan pada pangan dilarang berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia no. 722/Menkes/Per/IX/88 sebagai berikut:

- 1) Natrium tetraborat (*boraks*)
- 2) Formalin (*formaldehida*)

- 3) Minyak nabati terbrominasi (*brominated nava oil*)
- 4) Kloramfenikol (*chloramphenicol*)
- 5) Diethylpyrocarbonate (*Diethylpyrocarbonate , DEPC*)
- 6) Nitrofuranzon (*Nitrofuranzon*)
- 7) P-fenetilkarbamid (*p-fenetilkarbamid*)
- 8) asam salisilat dan garamnya (*salicylic acid and salt*)

2.3. Bahan Pengawet

Pengawet, juga disebut sebagai preservative, adalah BTP yang bertujuan untuk mencegah atau menghentikan mikroorganisme dari fermentasi, pengasaman, penguraian, dan kerusakan lainnya. Tubuh memiliki batas berapa banyak pengawet yang boleh ditambahkan dan berapa banyak minuman yang boleh dikonsumsi. Asupan harian yang dapat diterima atau adalah jumlah maksimum BTP dalam milligram per kilogram berat badan yang dapat dikonsumsi setiap hari selama hidup tanpa menimbulkan efek negatif terhadap kesehatan. Acceptable Daily Intake (ADI). Di sisi lain, asupan maksimum harian yang dapat ditoleransi atau Maximum Tolerable Daily Intake (MTDI) adalah jumlah zat tertinggi dalam milligram per kilogram berat badan yang dapat dikonsumsi setiap hari sepanjang hidup tanpa menimbulkan dampak buruk pada kesehatan (Anonim, 2012).

2.3.1 Tujuan Penggunaan Bahan Pengawet

Tujuan umum menambahkan bahan pengawet untuk makanan adalah sebagai berikut (Cahyadi, 2009:11):

1. mengganggu pertumbuhan mikroba dalam pangan yang bersifat mencegah pertumbuhan mikroba dalam makanan, baik pathogen maupun tidak patogen.
2. Waktu penyimpanan pangan lebih lama
Kualitas Bahan pangan yang diawetkan tidak kehilangan nutrisi, warna, cita rasa, dan baunya.

3. Tidak menyembunyikan keadaan produk makanan yang buruk, penggunaan bahan yang tidak sesuai, tidak mencapai persyaratan, atau kerusakan pada bahan pangan.

2.3.2 Jenis Bahan Pengawet

Bahan pengawet dibagi menjadi dua kategori berdasarkan jenis senyawanya, yaitu (Cahyadi, 2009:6-8):

- a. Bahan pengawet anorganik

Senyawa anorganik (mineral) seperti SO₂, hidrogen, peroksida, nitrat, nitrit, dan sebagainya digunakan untuk membuat pengawet anorganik. Nitrit dan nitrat, yang paling umum digunakan dalam makanan, ditemukan dalam garam.

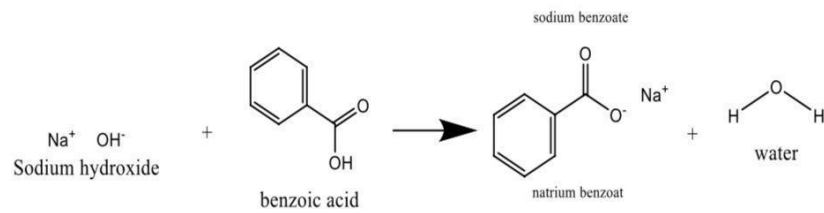
- b. Bahan pengawet organik

Pengawet organik berasal dari makhluk hidup dan ada di alam, lebih mudah dibuat dan terdegradasi, sehingga mudah diekskresikan. Produk nabati seperti roti, sari buah, selai, jeli, dan susu kedelai biasanya menggunakan pengawet organik seperti asam benzoate, asam sorbat, asam asetat, dan natrium benzoate banyak digunakan karena lebih larut dalam air karena kandungan garamnya.

2.4. Natrium Benzoate

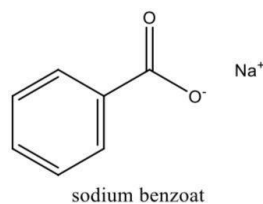
2.4.1 Definisi Natrium Benzoate

Natrium benzoate adalah garam dari asam benzoate yang lebih banyak dipakai karena lebih larut dalam air daripada bentuk asamnya, natrium benzoate, garam yang berasal dari asam benzoate, dibuat dengan mereaksikan asam benzoate dengan sodium hidroksida, yang menghasilkan reaksi berikut:



Gambar 2.1 Reaksi Sodium Hidroksida Dengan Asam Benzoate

Pengawet ini mudah didapatkan di toko dan digunakan untuk menjaga berbagai makanan tetap segar dan bertahan lama. Benzoate digunakan sebagai pengawet makanan dan minuman, seperti minuman ringan, saus tomat, selai, jeli, manisan, kecap, sari kedelai, dan lainnya, mengandung asam benzoate yang telah terurai menjadi natrium benzoate aktif (Rusnadi et al., 2015).



Gambar 2.2 Struktur Kimia Natrium Benzoate (Anonim, 2019)

Dengan PH pada rentang 2,5 dan 4,0, natrium benzoate bisa digunakan dengan baik. Karena mekanisme antimikroba dan keefektifan Jika molekul dalam bentuknya tidak terdisosiasi, daya awetnya akan menurun dengan PH yang lebih tinggi. Dalam batas tertentu, pengawet natrium benzoate boleh untuk digunakan. Untuk bahan makanan, senyawa benzoate tidak boleh digunakan lebih dari 400 mg/kg (Permenkes, 2013).

2.4.2 Sifat Fisika Kimia

Natrium benzoate merupakan garam atau ester asam benzoate yang dibuat secara komersial dengan sintesis kimia. Sodium benzoate ($\text{C}_6\text{H}_5\text{NaO}_2$) memiliki sifat-sifat berikut: berat molekul 144,11; granulat atau serbuk hablur putih; tidak berbau dan hampir tidak berbau; mudah larut dalam air; agak sulit larut dalam

etanol; dan 90% mudah larut dalam etanol. Natrium benzoate sering digunakan sebagai pengawet karena kelarutannya dalam air lebih besar daripada asam benzoate (Heriana, 2010).

2.4.3 Dampak Terhadap Kesehatan

Tubuh manusia tidak memiliki sistem khusus untuk menyerap Natrium benzoat adalah zat kimia yang diabsorpsi dari usus halus dan terikat pada CoA (*coenzyme A*), yang menghasilkan *benzoyl-CoA* (*coenzyme A*). Kemudian, *benzoyl-CoA* bergabung dengan glisin di hati untuk membentuk asam hipurat, yang kemudian dikeluarkan dari tubuh melalui urin. *Enzim synthetase* menghentikan tahap pertama, dan *enzim acyltransferase* menghentikan tahap kedua. Mekanisme ini menghasilkan sekitar 66 hingga 95 persen natrium benzoate. Ada kemungkinan bahwa asam glukuronat dibuat dari sisa benzoate yang tidak dikeluarkan sebagai asam hipurat, yang kemudian dibuang dengan urin. Menurut Organisasi Kesehatan Dunia (2000), natrium benzoate tidak terakumulasi jika tidak ada gangguan pada hati. Jika cukup banyak mengonsumsi natrium benzoate, akan ada peningkatan kadar asam hipurat dalam urin, yang menyebabkan efek buruk untuk kesehatan Anda. Efek sampingnya yaitu sakit kepala, mual, susah tidur, kehilangan nafsu makan, kram perut, dan rasa kebas di mulut bagi mereka yang lelah. Pengawet natrium benzoate dapat meningkatkan kondisi dan bisa menyebabkan kanker. Selain itu, informasi bahwa pengawet ini berpotensi merusak sistem saraf. Orang yang menderita asma dan urticaria (biduran, gatal-gatal) sangat sensitif terhadap natrium benzoate (WHO, 2000), sehingga mengonsumsi terlalu banyak dapat menyebabkan iritasi lambung (Manurung, 2012).

2.5. Analisis Natrium Benzoate dalam minuman kemasan nata de coco

Identifikasi natrium benzoate pada minuman kemasan nata de coco dilakukan dengan uji kualitatif

2.5.1. Analisa Kualitatif

Analisis kualitatif dilakukan untuk mengetahui apakah sampel mengandung zat atau analit yang akan diteliti atau tidak. Analisis ini dilakukan dengan reaksi

pengendapan FeCl_3 5%, dan endapan jingga-kecoklatan menunjukkan hasil positif (Bakhtra, Zulharmita, dan Sriyanti, 2017).

2.5.2. Analisis Kuantitatif

Analisis kuantitatif, digunakan untuk mengetahui berapa banyak atau kadar analit yang ada dalam sampel. Untuk melakukan analisis ini, spektrofotometri ultraviolet dapat digunakan untuk mengukur absorbansi larutan sampel yang sudah dipreparasi pada panjang gelombang maksimum 260 nm. Kemudian, kurva standar digunakan untuk menghitung konsentrasi natrium benzoat dalam sampel (Purwaningsih, 2016).

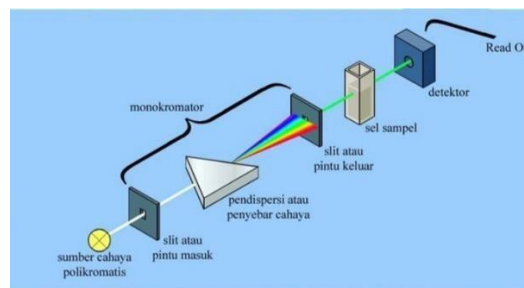
2.6. Spektrofotometri UV

Teknik analisis yang disebut spektrofotometri UV-Vis digunakan untuk menentukan berapa banyak energi yang ditransmisikan, dipantulkan, atau dipancarkan berdasarkan panjang gelombang (Gandjar & Rohman, 2012). Kelebihan spektrofotometer ultraviolet visible adalah mereka dapat digunakan untuk menganalisis banyak zat organik dan anorganik. Mereka sangat efisien, memiliki kesalahan relatif hanya 1% hingga 3%, dan dapat melakukan analisis dengan cepat dan akurat. Dimaksudkan untuk menentukan jumlah minimum suatu zat. Hasil yang diperoleh sangat akurat karena nilai baca dicatat langsung oleh detektor dan menghasilkan output digital dalam bentuk grafik regresi atau data digital lainnya (Yahya, 2013).

Spektrum fotometri adalah teknik analitik yang mengukur penyerapan cahaya monokromatik oleh kolom larutan berwarna pada panjang gelombang tertentu. Ini dilakukan dengan menggunakan kisi difraksi atau prisma monokromatik dengan detector foto tabung Seperti spektrofotometri, spektrofotometri juga merupakan metode pengukuran jumlah suatu zat dan didasarkan pada spektroskopi). Tetapi lebih khusus tentang panjang gelombang tertentu seperti UV (ultraviolet), cahaya tampak, dan cahaya inframerah (Yudono, 2017).

Banyak orang menggunakan menggunakan Spektroskopi UV-Vis adalah pengukuran panjang gelombang, intensitas, dan cahaya tampak sampel sinar ultraviolet untuk menemukan molekul dan ion anorganik atau kompleks dalam larutan. Seolah-olah energi cahaya cukup untuk meningkatkan energi elektron di kulit terluar.

Spektrofotometri ultraviolet cahaya tampak melibatkan penyerapan cahaya tampak oleh molekul, yang mengarahkan elektron dari keadaan dasar ke keadaan keluar. Keadaan tereksitasi hanya berlangsung 10^{-8} detik, dan kemudian molekul kembali ke keadaan dasar. Menurut Zackiyah (2016), panjang gelombang (λ) ultraviolet dan cahaya tampak berkisar antara 180 dan 780 nm, dan penyerapan ultraviolet dan cahaya tampak biasanya menggairahkan elektron ikatan. Akibatnya, jenis ikatan yang ada dalam molekul yang sedang diselidiki dapat dikaitkan dengan panjang gelombang penyerapan maksimum.

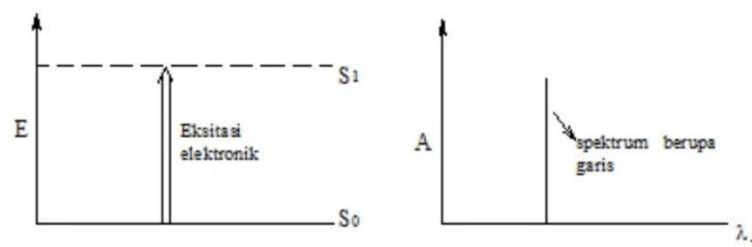


Gambar 2.3 Skema Alat Spektrofotometer

Pada dasarnya, pemahaman tentang spektroskopi dan spektrofotometri, itu berdasarkan interaksi antara materi dan radiasi elektro magnetik, namun spektrofotometri lebih unik atau mempunyai arti lebih sempit yang artinya karena ditampilkan dalam interaksi antara materi dan cahaya. Namun, spektroskopi mencakup hal-hal seperti cahaya, medan magnet, dan gelombang elektromagnetik. Konsep dasar operasinya terutama didasarkan pada penyerapan kekuatan ringan atau pancaran melalui sebuah jawaban. Jumlah daya ringan atau pancaran yang diserap dapat dipertahankan ukuran kuantitatif kuantitas zat penyerap dalam suatu jawaban (Sastrohamidjojo, 20018). Ada banyak metode spektrofotometri sinar ultraviolet dan cahaya tampak dapat dilakukan untuk penentuan senyawa organik umum dimaksudkan untuk pengapdian senyawa dalam porsi yang sangat kecil (Risna *et al.*, 2023).

Radiasi dan cahaya ultraviolet tampaknya diserap oleh molekul organik aromatik yang memiliki elektron π dan/atau atom yang memiliki elektron. Akibatnya, elektron bergeser dari tingkat energi elektron dasar ke tingkat energi elektron

terekstasi yang lebih tinggi. Karena jumlah molekul analit yang ada, dapat digunakan untuk analisis kuantitatif. Menyerap radiasi sebanding. Spektrum cahaya dan ultraviolet tampaknya memiliki kekuatan transisi digital yang cukup. Akibatnya, mereka dianggap sebagai spektrum digital. Kekuatan molekul dari negara dasar akan ditingkatkan melalui transisi elektronik ke tingkat bersemangat atau lebih tinggi. Jika molekul ringan dikenai radiasi elektro magnetik, maka molekul-molekul ini akan menyerap cahaya elektro magnetic dengan kekuatan terbaik. Interaksi antar molekul dan radiasi elektromagnetik bisa meningkat kapasitas daya suatu elektron pada derajat keadaan tereksitasi. Jika molekul sederhana, transisi elektronik paling sederhana terjadi dalam satu jenis organisasi dalam suatu molekul hanya akan timbul satu serapan yaitu garis spectral (Warono et al., 2013; Abidin.,2023). Dapat dilihat pada gambar dibawah ini:



Gambar 2.4 Garis spektrum dengan tipe yang sederhana

Keterangan:

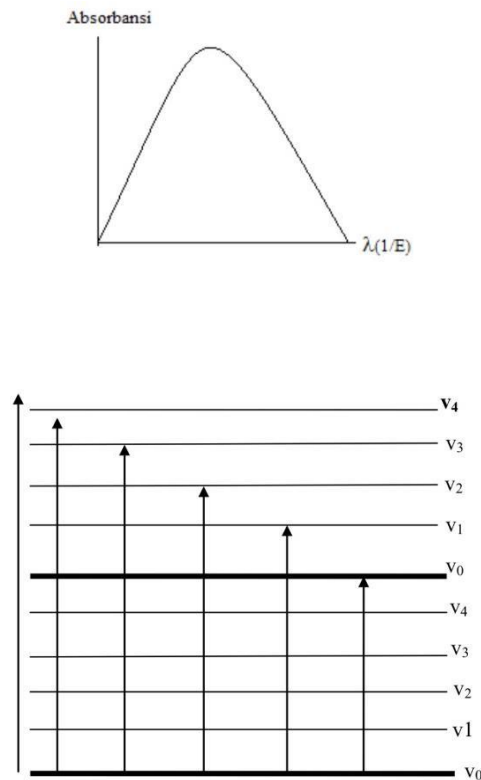
So: tingkat energi elektron pada keadaan dasar (*ground state*)

SI: tingkat energi elektron pada keadaan tereksitasi (*excited state*)

E : energi eksitasi

A : absorbansi

λ_1 : panjang gelombang energi yang sesuai



Gambar 2.5 gambaran terjadinya pita Spektrum UV-Vis

Pita spektral UV-Vis, yang sebenarnya adalah korelasi antara absorpsi (sumbu vertikal) dan panjang gelombang (sumbu horizontal), bukan garis spektral. Eksitasi elektronik yang berlebihan dari satu spesies dalam ansambel molekul yang sangat kompleks menyebabkan pembentukan pita spektral UV-Vis. Untuk mengidentifikasi obat atau metabolitnya secara kualitatif, informasi spektral UV-Vis harus digunakan bersama dengan metode lain seperti spektroskopi inframerah, resonansi magnetik nuklir, dan spektrometri massa. Dalam hal kuantitatif, sinar radiasi diarahkan pada potongan, atau larutan sampel, dan ukurannya digunakan untuk mengukur intensitas sinar radiasi yang ditransmisikan (Fendri et al., 2019).

Solusi molekuler yang menyerap cahaya disebut kromofor. Contohnya termasuk $C = C$, $C = O$, $N = N$, $N = O$. Panjang gelombang dapat berubah pada molekul paling sederhana yang memiliki mekanisme kromofor. Mengandung molekul atau lebih perusahaan kromofor akan menyerap cahaya dalam jangka waktu tertentu Gelombang

ini memiliki organisasi kromofor yang berbeda dari molekul yang paling baik, tetapi ketika penyerapan Interaksi antara kromofor, yang sebanding dengan jumlah kromofor, tidak akan terjadi lagi kecuali ada hubungan antara kedua kromofor. Meskipun agregat organisasi positif yang bermanfaat akan menghasilkan perangkat kromofik yang bisa memberikan dorongan ke atas untuk memfungsikan pita serapan (Hadriyanti et al., 2020).

Reagen ini bereaksi dengan zat yang tidak menyerap untuk menghasilkan efek yang sama menyerap warna yang sangat ungu atau tampak sangat lembut. Penyerapan terjadi ketika foton atau radiasi yang mengenai pola bersama dengan listrik yang diperlukan untuk konversi energi. Hamburan dan pantulan kemauan yang lembut juga mengurangi intensitas radiasi, tetapi ini diabaikan karena sangat tidak signifikan dibandingkan dengan proses penyerapan. Saat melakukan analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis banyak hal yang perlu dipertimbangkan. Ini terutama berlaku untuk senyawa yang tidak berwarna saat menggunakan spektrofotometer tampak karena senyawa ini harus diubah menjadi senyawa berwarna terlebih dahulu (Satria et al., 2022).

Kromofor adalah struktur yang menyerap radiasi dari daerah ultraviolet yang tampak dan dekat. Sebagian besar khromofor memiliki ikatan yang tidak terikat. Kromofor seperti itu adalah jenis perangkat transisi yang memiliki elektron π dalam orbital molekulnya. Ini mengalami transisi dari $\pi \rightarrow \pi^*$ dan menyerap pada λ -maks di bawah 200 nm (tidak terkonjugasi), seperti jagt. Dalam kasus mesin konjugasi, penyerapan yang lebih kecil pada panjang gelombang yang besar disebabkan oleh perbedaan kekuatan antara negara dasar dan negara tereksitasi (Prasiddha et al., 2016).

Sebagai ciri frekuensi radiasi, mengukur jumlah radiasi yang diserap oleh suatu molekul sangat mudah. Spektrum serapan adalah korelasi antara jumlah cahaya yang diserap dan frekuensi (panjang gelombang) cahaya di grafik. Untuk Spektrum serapannya dapat digunakan sebagai informasi yang bermanfaat untuk analisis kualitatif karena molekul dengan bentuk kimia yang berbeda memiliki transisi yang diizinkan yang tidak sama.

Spektrum panjang gelombang positif bisa digunakan untuk evaluasi kuantitatif karena banyaknya cahaya yang diserap sebanding dengan banyaknya molekul yang menyerap radiasi (Teti, 2014).

Hal-hal yang harus diperhatikan dalam analisis spektrofotometri UV-vis:

1. Pemilihan Panjang Gelombang Maksimum

Untuk analisis kuantitatif, panjang gelombang tempat penyerapan maksimum digunakan. Kurva pancaran dibuat antara serapan dan panjang gelombang larutan lama yang sama dalam kingdom tersebut positif.

2. Pembuatan Kurva Kalibrasi

Rangkaian larutan terdiri dari zat yang akan dianalisis dalam berbagai konsentrasi. Setelah konsentrasi setiap larutan serapan diukur, kurva dibuat untuk menggambarkan hubungan antara serapan dan perhatian. Jika persyaratan Lamber-Beert dipenuhi, kurva kalibrasi akan berbentuk garis lurus.

3. Pembuatan Absorbansi Sampel

Absorbansi harus antara 0,2 dan 0,8 pada spektrofotometri. Gagasan bahwa tingkat penyerapan kesalahan fotometrik dalam kisaran ini sangat kecil adalah dasar dari rekomendasi ini (Sembiring et al., 2019).

2.6.1. Hukum Lambert-Beert

Persamaan hukum Lambert-Beert $A = \epsilon \cdot b \cdot C$ mol/liter

Dimana: Aserapan (tanpa dimensi)

A = Absorptivitas ($\text{g}^{-1} \text{cm}^{-1}$)

b = ketebalan sel (cm)

C = konsentrasi (g.l^{-1})

ϵ = absortivitas molar ($\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$)

Menurut hukum Lambert, penyerapan berbanding lurus dengan ketebalan sel yang diekstraksi. Menurut Beert, cahaya biasa paling efektif untuk cahaya monokromatik, reaksinya sangat lemah, dan kapasitas penyerapannya berkorelasi positif dengan konsentrasi, atau jumlah molekul dalam suatu zat. Hukum kesadaran Lambert-Bert dapat dihitung dari penyerapan dan ketebalan sel, sehingga kedua pernyataan tersebut

dapat digabungkan (Salsabila dan Priyamado, 2023). Sifat penyerapannya konsisten dan unik untuk setiap molekul yang memiliki panjang gelombang dan pelarut positif. Preferensi serapan juga sering menggunakan serapan unik, menurut Roth dan Blasck-hke (1981) (Miarti dan Legasari, 2022). Karena muatan ini memberikan penyerapan 1% (b/v) pada ketebalan sel satu cm, persamaan berikut diperoleh:

$$A = A_1 \cdot b \cdot C$$

Dimana:

A_1 = absorptivitas ($\text{g}^{-1} \text{cm}^{-1}$)

b = ketebalan sel (cm)

C = konsentrasi senyawa terlarut (g/100 ml larutan)

Penggunaan Spektrofotometri UV

Secara umum, spektrofotometri UV digunakan dalam analisi senyawa alami digunakan untuk:

1. Menentukan jenis kromofor, ikatan rangkap terkonjugasi, dan ausokrom yang terdapat dalam senyawa alami
2. Menjelaskan rekaman tentang bentuknya terutama berdasarkan Panjang gelombang serapan sebagian besar suatu senyawa
3. Dalam posisi untuk meneliti senyawa organik secara kuantitatif menggunakan hukum Lambert-Beert (Badriyah & Manggara, 2017).

2.6.2 Peralatan Untuk Spektrofotometri UV

Spektrofotometer Vis (tampak), UV (ultraviolet), UV-Vis, dan spektrofotometri inframerah (inframerah) hanyalah beberapa dari berbagai jenis spektrofotometer yang sebagian besar didasarkan pada sumber cahaya yang digunakan. Kekuatan cahaya tampak, atau sumber cahaya, digunakan dalam spektrofotometri Vis. Cahaya tampak adalah spektrum elektromagnetik yang dapat dilihat oleh mata manusia. Panjang gelombang tampak cahaya berkisar antara 380 dan 750 nm.

Spektrofotometri UV hanya mengandalkan interaksi sampel dengan sinar UV untuk evaluasi spektrofotometri tampak. Panjang gelombang sinar ultraviolet adalah 179,380 nm. Terkadang zat yang mampu menyerap radiasi UV juga merupakan zat yang tidak berwarna (bersih dan transparan). Sumber cahaya ultraviolet (UV) dan sumber cahaya tampak (UV) adalah dua sumber cahaya yang sangat baik untuk spektrofotometri

UV-Vis. Sumber cahaya tampak adalah fotodioda dengan monokromator yang dapat digunakan untuk sampel berwarna dan tidak berwarna (Fajrina et al., 2017).

Biasanya, sampel adalah larutan yang telah diencerkan dengan konsentrasi tertentu. Karena kepadatan molekulnya yang sederhana, yang mengurangi kecenderungannya untuk menyerap radiasi elektromagnetik, dan sedikit radiasi yang dianalisis oleh detektor spektrofotometer, larutan dengan konsentrasi transmisi rendah yang sama lebih mudah dinilai (Fajrina et al., 2017). Beberapa komponen spektrofotometer disediakan di bawah ini:

1. Sumber cahaya

Sedangkan lampu kuarsa atau halogen adalah lampu tungsten untuk lingkungan yang terlihat (dengan panjang gelombang 350-900 nm Untuk pengaturan ultraviolet, lampu deuterium dengan panjang gelombang 190-350 nm digunakan.

2. Monochromator

Alat yang paling populer untuk menyediakan sinar radiasi panjang gelombang tunggal adalah monokromator. Peralatan penguat perekam optik monokromator pasokan cahaya dan sebuah kotak pada detektor untuk mengubah cahaya polikromatik menjadi cahaya monokromatik membentuk perangkat. Lensa cermin prisma atau kisi-kisi dan sirkuit peralatan optik membentuk monokromator.

3. Bidang pola (kuvet)

Kotak pola biasanya disebut sebagai kuvet; Kuvet untuk spektroskopi ultraviolet dan yang tampak ringan terdiri dari bahan kuarsa berkualitas tinggi. Sampel cair dimasukkan ke dalam gelas atau kuvet listrik yang diisi dengan silika cair. Sel dibersihkan dengan asam nitrat panas, deterjen, atau air sebelum digunakan. Pelarut spektrofotometri yang Anda gunakan harus:

- a. Larutkan trailernya
- b. Investigasi sedang dilakukan pada radiasi terus menerus di lokasi panjang gelombang. Dalam rentang UV dan terlihat berbagai bahan kimia dapat digunakan, termasuk aseton, benzena, karbon tetraklorida,

kloroform, dioksanena, diklorometan, etanol 95%, etil eter, metanol, dan sebagainya.

4. Detektor

Sampel yang terlibat dalam transformasi tenaga cahaya menjadi energi listrik dapat ditemukan menggunakan detektor. Gambar bergerak atau photomultiplier yang dapat menerjemahkan peringatan analisis radiasi elektro-magnetik (foton) menjadi sinyal tegangan listrik adalah detektor yang digunakan dalam spektrofotometer. Nomor digital dikonversi atau jarum dipindahkan menggunakan listrik yang dihasilkan.

5. Penguat

Penguat digunakan sebagai penguat sinyal yang dihasilkan melalui detektor.

6. Perekam

Sinyal listrik detektor biasanya diperkuat dan direkam dalam bentuk spektrum dengan puncak. Spektrum terbentuk ketika panjang gelombang dan absorbansi digabungkan. Panjang gelombang yang tersedia untuk peralatan spektronik berkisar antara 340 nm dan 700 nm. Menurut Fajrin et al. (2017), tempat pola dimasukkan ke dalam tabung reaksi khusus, dan absorbansi atau persen transmisi dapat diperiksa pada skala analisis.

2.7. Validasi Metode

Proses mengevaluasi parameter sistem tertentu untuk menunjukkan bahwa mereka diperlukan untuk digunakan, dikenal sebagai validasi. Kualitas unik metode adalah kemampuannya untuk secara tepat menganalisis derajat sebagaimana mestinya, sama seperti aditif lain yang ditemukan dalam matriks pola. Konsentrasi analit serendah mungkin ditemukan, atau batasan harga parameter pemeriksaan. Kapasitas untuk secara langsung atau setelah diproses secara matematis secara profesional dengan analit dalam sampel yang berada dalam rentang kesadaran tertentu dikenal sebagai linearitas pendekatan analitis. Purwanto dan Lukiawan (2019) menggambarkan variasi metode analisis sebagai interval waktu dalam bahasa program C antara batas kesadaran optimal dan kesadaran dasar analit yang dapat ditentukan dengan derajat ketelitian dan

linearitas tertentu. Menurut Kementerian Kesehatan (2014), terdapat berbagai jenis parameter analitik, antara lain parameter linearitas, batas kuantifikasi, batas deteksi, spesifisitas, akurasi, presisi, jangkauan, dan kekakuan.

1. Spesifitas

Pada analit dengan komponen lain yang harus ada, seperti kontaminan, matriks, sampel, dan produk degradasi, spesifisitas merupakan parameter uji yang tepat dan tepat (Kemenkes, 2014).

2. Linieritas

Kemampuan metode analisis untuk menampilkan hasil tes baik secara langsung atau melalui penyesuaian matematis secara tepat dan proporsional untuk konsentrasi analit dalam sampel yang termasuk dikisaran tertentu dikenal sebagai linearitasnya. Hubungan linier antara temuan tes dan hubungan konsentrasi menunjukkan linearitas (Kementerian Kesehatan, 2014. ICH menyarankan untuk menggunakan minimal lima konsentrasi untuk mencapai linearitas. Mengukur absorbansi beberapa konsentrasi larutan standar pada panjang gelombang maksimum adalah bagaimana linearitas ditentukan. Koefisien korelasi kemudian dipastikan setelah nilai absorbansi diperiksa menggunakan persamaan garis regresi linier. Kriteria linearitas yang berguna adalah $\geq 0,999$ sehingga linearitas persamaan dapat ditetapkan dan digunakan untuk menghitung presisi dan akurasi (Ermer, 2015).

3. Akurasi

Salah satu cara untuk mengukur seberapa dekat hasil pengujian dengan nilai yang tepat adalah dengan menggunakan parameter akurasi. Analit yang kemurniannya sudah diketahui, atau senyawa lain yang akurasinya telah ditetapkan, memutuskan metode akurasi dalam penentuannya. International Council on Harmonization (ICH) menyarankan bahwa setidaknya sembilan penentuan dilakukan, masing-masing dengan tiga konsentrasi yang berbeda yaitu, tiga konsentrasi dan tiga pengulangan pada setiap konsentrasi. Metode akurasi dapat dinyatakan sebagai perbedaan antara hasil rata-rata dan hasil yang benar diterima ditambah dengan batas kepercayaan, atau sebagai

persentase pemulihan dari penghitungan jumlah analit yang diberikan kepada sampel (Kementerian Kesehatan, 2014).

4. Presisi

Ketika suatu teknik diulang pada banyak sampel homogen, presisi adalah tingkat kesamaan antara hasil tes. Koefisien variasi (CV) dari serangkaian pengukuran dapat digunakan untuk menyatakan presisi. Pengukuran seberapa baik metode analisis berkinerja dalam keadaan khas disebut pengulangan. Pengukuran keragaman dengan presisi menengah adalah pengukuran yang dilakukan di laboratorium yang sama menggunakan berbagai alat, metode, dan hari. International Council on Harmonization (ICH) menyarankan bahwa untuk mencapai pengulangan presisi, setidaknya sembilan penentuan yaitu, tiga konsentrasi dan tiga replikasi untuk setiap konsentrasi atau setidaknya enam tugas pada konsentrasi uji konsentrasi 100% harus dilakukan (Kementerian Kesehatan, 2014).

5. Batas Deteksi

Analit terendah disampel yang dapat dideteksi tetapi mungkin tidak selalu diukur sebagai angka yang akurat dikenal sebagai batas deteksi poseur analitik tertentu.

6. Batas Kuantitasi

Konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan secara kuantitatif dengan presisi dan akurasi yang diperlukan adalah batas kuantitas proses analitik tertentu. Parameter uji kuantitatif untuk bahan kimia tingkat rendah dalam matriks sampel, batas kuantisasi secara khusus digunakan untuk mengidentifikasi kontaminan dan/atau produk degradasi.