

***Review Jurnal Kajian Pustaka Analisis Oksalat Dalam Tanaman
Menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis Dan Kromatografi Cair Kinerja
Tinggi (KCKT)***

ARTIKEL ILMIAH

Laporan Akhir

**FEBBY DWI CRISMONICA
191FF04025**



**Universitas Bhakti Kencana
Fakultas Farmasi
Program Strata I Farmasi
Bandung
2021**

LEMBAR PENGESAHAN

SKRIPSI

***Review Jurnal Kajian Pustaka Analisis Oksalat Dalam Tanaman
menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis dan Kromatografi Cair Kinerja
Tinggi (KCKT)***

ARTIKEL ILMIAH

Laporan Akhir

Diajukan untuk memenuhi syarat kelulusan Program Strata I Farmasi

**FEBBY DWI CRISMONICA
191FF04025**

Bandung, 16 Juli 2021

Menyetujui,


Pembimbing Utama,

Pembimbing Serta,



(Emma Emmawati, M.Si)

NIDN. 0416037005



(Ivan Andrianyah, S.Si.,M.Pd.)
NIDN.0424098203

ABSTRAK

***Review* Jurnal Kajian Pustaka Analisis Oksalat Dalam Tanaman Menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis Dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)**

Oleh :

**FEBBY DWI CRISMONICA
191FF04025**

Asam Oksalat ditemukan pada beberapa sayur dan buah-buahan yang sering dikonsumsi oleh masyarakat. Asam oksalat dapat mengikat nutrisi yang penting bagi tubuh, sehingga konsumsi makanan yang banyak mengandung asam oksalat dalam jumlah besar dapat mengakibatkan defisiensi nutrisi, terutama kalsium. *Review* jurnal ini bertujuan untuk mengkaji metode-metode yang dapat digunakan pada analisis oksalat dalam tanaman. Menggunakan metode pendekatan literatur *review* yang berfokus pada evaluasi dari berbagai hasil penelitian yang berkaitan dengan analisis oksalat menggunakan metode KCKT dan Uv-Vis. Hasil *review* diketahui analisis dengan metode KCKT menghasilkan tingkat ketelitian yang baik dan ketepatan yang tinggi, namun metode ini juga mempunyai keterbatasan bagi sampel yang sangat kompleks karena sulit untuk memperoleh resolusi yang baik. Adapun pada Spektrofotometri Uv-Vis dalam pelaksanaannya banyak dipilih dan digunakan karena metodenya yang sederhana, waktu analisisnya yang singkat, dan memiliki ketepatan analisis yang cukup tinggi. Dari kajian *review* yang dilakukan, analisis oksalat menggunakan metode KCKT dapat dilakukan secara langsung dimana pemisahan terjadi didalam kolom kromatogram dengan tetap memperhatikan fase gerak yang sesuai. Pada metode spektrofotometri uv-vis analisis oksalat tidak bisa dianalisis secara langsung, perlu dilakukan preparasi sampel terlebih dahulu dengan menambahkan reagen. Hal ini dikarenakan oksalat yang tidak memiliki gugus kromofor dan aoksokrom.

Kata Kunci : KCKT, Oksalat, Spektrofotometri, Tanaman

ABSTRACT

Review Journal: Literate Review Oxalate Analysis In Plants Using Spectrofotometri Uv-Vis and High Performance Liquid Cromatography (HPLC)

By :

FEBBY DWI CRISMONICA

191FF04025

Oxalic acid is found in several vegetables and fruits that are often consumed by the public. Oxalic acid can bind nutrients that are important for the body, so the consumption of foods containing large amounts of oxalic acid can cause nutritional deficiencies, especially calcium. This journal review aims to examine more deeply the Spectrophotometric and HPLC methods for the analysis of oxalate in several plants. Using a literature review approach that focuses on evaluating various research results related to oxalate analysis using HPLC and UV-Vis methods. The results of the review show that analysis using the HPLC method produces a good level of accuracy and high accuracy, but this method also has limitations for very complex samples because it is difficult to obtain good resolution. As for the Spectrophotometry Uv-Vis in its implementation, it is widely chosen and used because the method is simple, the analysis time is short, and has a fairly high analytical accuracy. From the review study, oxalate analysis using the HPLC method can be carried out directly where the separation occurs in the chromatogram column while still paying attention to the appropriate mobile phase. In the spectrophotometric UV-vis method, analysis of oxalate cannot be analyzed directly, it is necessary to prepare samples first by adding reagents. This is because oxalate does not have chromophore and autochrome groups.

Keywords: HPLC, Oxalate, Plant, Spectrofotometri

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmaanirrahiim

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Dengan mengucapkan puji dan syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan segala karunia dan rahmat-Nya sehingga dapat melakukan seminar pra penelitian yang berjudul: “*Review* Jurnal Kajian Pustaka Analisis Oksalat Dalam Tanaman Menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)”. Kelancaran proses penulisan proposal ini berkat bimbingan, arahan dan petunjuk serta kerjasama dari berbagai pihak, baik pada tahap persiapan, ataupun penyusunan.

Ucapan terimakasih serta penghargaan yang setinggi-tingginya penulis sampaikan kepada yang terhormat:

- I. Emma Emmawati, M. Si dan Ivan Andriansyah, M. Pd. Selaku dosen pembimbing utama dan dosen pembimbing serta yang selama ini telah membimbing, memberi masukan, saran dan nasehatnya selama penelitian.
- II. Apt. Aris Suhardiman, M.Si. Selaku pembimbing akademik yang telah memberikan saran serta nasehat selama saya menjadi mahasiswi di Universitas Bhakti Kencana Bandung
- III. Para dosen pengajar dan staf akademik atas bantuan yang telah diterima selama mengikuti perkuliahan di Universitas Bhakti Kencana Bandung.
- IV. Keluarga tercinta, yang menjadi penyemangat dalam menulis selama menempuh pendidikan.
- V. Teman-teman martikulasi'19 atas rangkulan dan kenangannya.

Bandung, 16 Juli 2021

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
ABSTRAK.....	iii
ABSTRACT.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ix
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG.....	x
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
I.1. Latar Belakang.....	1
I.2. Rumusan Masalah.....	2
I.3. Tujuan.....	2
I.4. Manfaat Penelitian.....	2
I.5. Hipotesis Penelitian.....	2
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	3
II.1. Asam Oksalat.....	3
II.2. Spektrofotometri.....	6
II.3. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).....	11
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN.....	14
III.1. Waktu Penelitian.....	14
III.2. Subyek Penelitian.....	14
III.3. Metode Pengumpulan Data.....	14
BAB IV. PROSEDUR PENELITIAN.....	17
IV.1 Tahap Penulisan Review Jurnal.....	17
BAB. V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	19
V. 1 Hasil.....	19
V. 2 Pembahasan.....	21
BAB. VI SIMPULAN DAN SARAN.....	26
VI.1. Simpulan.....	26
VI.2. Saran.....	26
DAFTAR PUSTAKA.....	27
LAMPIRAN.....	30

DAFTAR TABEL

Tabel II.1 Tabel Data Impor Asam Oksalat di Indonesia..... 5

DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1 Struktur Bangun Asam Oksalat	3
Gambar II.2 Proses pengendapan kristal kalsium oksalat	4
GambarII.3 Radiasi Elektromagnetik dengan panjang gelombang λ	8
Gambar II.4 Diagram sistem KCKT	11

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Submit Jurnal MPI (Media Pharmaceutica Indonesia)	30
Lampiran 2. Balasan Email dari pihak MPI (LOS)	31
Lampiran 3. Format Surat Pernyataan Bebas Plagiasi	32
Lampiran 4. Format Surat Persetujuan untuk dipublikasikan di media on line	33

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

SINGKATAN	MAKNA
KCKT	Kromatografi Cair Kinerja Tinggi
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
AAS	Atom Absorption Spectroscopy
Spektrofotometri uv-vis	Spektrofotometri ultra violet-Visibel
BPS	Badan Pusat Statistik

BAB I. PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang

Indonesia memiliki luas 4.500 km² dengan jumlah pulau lebih dari 17.500 sehingga dikenal dengan negara kepulauan terbesar di dunia. Selain itu, Indonesia berada di urutan ketiga tertinggi di dunia karena memiliki keanekaragaman hayati yang banyak. Hal ini juga didukung oleh letak geografisnya yang dilewati oleh garis khatulistiwa menyebabkan curah hujan yang tinggi hampir di seluruh bagian Indonesia (Zahra & Iskandar, 2015).

Masyarakat Indonesia sendiri terkenal mempunyai aneka ragam makanan dan minuman yang khas. Sebagian besar berasal dari alam seperti sayuran, buah-buahan, dan tanaman pangan lain yang digunakan untuk memenuhi kebutuhan makanan 4 sehat 5 sempurna (gizi sempurna) (Fitriani et al., 2016).

Menurut Badan Pengawas Obat dan Minuman (BPOM), (2008) tanaman pangan, terdiri dari sayuran dan buah-buahan mempunyai kandungan nutrisi, vitamin, dan mineral yang berguna untuk pertumbuhan dan kesehatan serta merupakan komponen penting dalam kebutuhan tubuh. Meskipun digunakan dalam bahan pangan, tetapi terdapat beberapa jenis sayuran dan buah-buahan yang mengandung racun alami berpotensi membahayakan kesehatan manusia. Racun alami merupakan zat yang secara alami terkandung pada tanaman yang berfungsi sebagai alat mekanisme pertahanan diri dari serangan jamur, serangga, dan predator. Salah satu racun alami yang terdapat pada tanaman yaitu asam oksalat.

Asam Oksalat ditemukan pada sayur dan buah-buahan yang sering dikonsumsi oleh masyarakat. Konsumsi makanan yang banyak mengandung asam oksalat dalam jumlah yang berlebih bisa menyebabkan seseorang mengalami kekurangan nutrisi, salah satunya kalsium, karena nutrisi tersebut diikat oleh asam oksalat (Pancasasti, 2016). Oksalat akan mengendapkan kalsium dan membentuk kalsium oksalat yang tidak dapat diserap tubuh, hal ini menyebabkan pengendapan garam yang tidak larut, sehingga timbul penyakit batu ginjal (Hasin & Rachmadana, 2019).

Asam oksalat larut dalam air, dan juga larut dalam etanol. Analisis asam oksalat banyak dilakukan dengan berbagai macam metode, diantaranya dengan menggunakan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) (Kgosana, 2019), kromatografi ion eksklusi (Yang et al., 2000), kromatografi gas (Ohkawa, 1985), Atom Absorption Spectroscopy (AAS) (Saputri & Afrila, 2017), peleburan alkali (Iriany et al., 2015), titrasi permanganometri

(Wardani & Handrianto, 2019), hidrolisis asam fosfat (Irwanda et al., 2017) dan spektrofotometri uv-vis (Emawati & Ramdanawati, 2018).

Review jurnal ini bertujuan untuk mengkaji lebih dalam metode Spektrofotometri dan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) untuk analisis Okasalat dalam tanaman, berdasarkan laporan publikasi yang *direview*.

I.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut maka penulis merumuskan masalah pada *review* ini dengan mengkaji metode-metode analisis apa yang dapat digunakan pada analisis oksalat dalam tanaman?

I.3. Tujuan

I.3.I. Tujuan Umum

Untuk mengkaji metode-metode yang dapat digunakan pada analisis oksalat dalam tanaman.

I.3.II. Tujuan Khusus

Untuk mengkaji lebih dalam metode Spektrofotometri dan KCKT untuk analisis Oksalat dalam tanaman.

I.4. Manfaat Penelitian

Berdasarkan uraian tujuan diatas, maka manfaat pada *review* jurnal ini adalah:

- a. Memberikan informasi kepada masyarakat mengenai bahaya kandungan oksalat pada tanaman.
- b. Memberikan informasi bagi peneliti tentang metode yang lebih sederhana dan mudah digunakan dalam analisis oksalat.

I.5. Hipotesis Penelitian

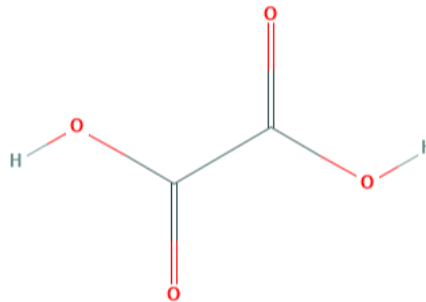
Hipotesis dari *review* jurnal yang peneliti mengetahui bahwa metode KCKT dan Spektrofotometri Uv-Vis dapat digunakan untuk analisis oksalat dalam tanaman.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Asam Oksalat

II.1.1. Pengertian dan Sifat Oksalat

Asam oksalat adalah senyawa dengan rumus kimia $H_2C_2O_4$, dan nama sistemnya adalah asam etadionat. Asam oksalat adalah asam organik yang relatif kuat, lebih kuat 10.000 kali dari asam asetat. Oksalat juga dikenal sebagai agen pereduksi (Cinantya, 2015).



Gambar II.1. Struktur Bangun Asam Oksalat (Pubchem, 2021)

Karena kedekatannya dengan gugus asam karboksilat, konstanta disosiasi asam oksalat lebih besar daripada asam organik lainnya. Besarnya konstanta disosiasi adalah $K_1 = 6,24 \times 10^{-2}$, $K_2 = 6,1 \times 10^{-5}$. Asam oksalat ($H_2C_2O_4$). Ini adalah sejumlah kecil zat kimia yang ditemukan di banyak tanaman, seperti garam natrium atau kalsium dari semanggi dan bayam. Asam oksalat biasanya digunakan sebagai penghilang karat, reagen dalam produksi pewarna, dll (Ambarita et al., 2015).

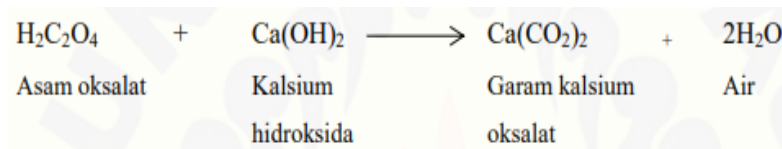
Asam oksalat adalah senyawa organik yang keras dan beracun. Sifat-sifat unik dari asam ini adalah (Purwaningsih & Kuswiyanto, 2016):

- Larut dalam air dingin dan panas, larut dalam etanol.
- Semua garam oksalat basa larut dalam air, tetapi kalsium oksalat hanya larut dalam asam kuat.
- Pada suhu 60-70 ° C, mudah teroksidasi oleh $KMnO_4$.

Berat molekul asam oksalat anhidrat adalah 90,04 g/mol dan titik lelehnya adalah 187°C. Sifat asam oksalat anhidrat yaitu tidak memiliki bau, warnanya putih, dan tidak menyerap. Asam oksalat dihidrat adalah asam oksalat dengan berat molekul 126,07g/mol dan titik leleh 101,5°C. Mengandung 71,42% asam oksalat anhidrat dan 28,58% air, tidak berasa, jika pemanasan hingga 100°C akan kehilangan molekul air (Cinantya, 2015).

Kristal kalsium oksalat adalah hasil sintesis endogen asam oksalat dan kalsium. Pembentukan kristal kalsium oksalat terjadi di dalam vakuola sel sliedoblas, tepatnya di dalam *intravacuolar chamber*, saat sel tumbuh, kristal menjadi sangat elastis setelah pembentukan. Pada tumbuhan, oksalat dapat membentuk kalsium oksalat atau kristal asam oksalat. Kristal kalsium oksalat mengandung senyawa asam oksalat yang tidak larut (*insoluble oxalate*), sehingga struktur kristal memiliki distribusi dan mobilitas yang relatif rendah dibandingkan dengan asam oksalat bentuk aslinya (terlarut) (Kgosana, 2019).

Kristal kalsium oksalat biasanya ditemukan di sel kortikal, tetapi beberapa ditemukan di sel parenkim daun dan xilem. Ada anggapan bahwa jika terlalu banyak asam oksalat bebas dapat bersifat racun bagi tanaman, garam kalium oksalat ($\text{Ca}(\text{CO}_2)_2$) harus diendapkan. Proses pengendapan kristal kalsium oksalat melalui netralisasi adalah sebagai berikut (Madyastuti et al., 2015):



Gambar II.2. Proses pengendapan kristal kalsium oksalat (Madyastuti et al., 2015)

Kristal kalsium oksalat pada tumbuhan terkadang dikendalikan oleh karakteristik genetik masing-masing tumbuhan. Ciri genetik tanaman dapat berupa perbedaan proses pengendapan asam oksalat yang berasal dari proses netralisasi asam oksalat selama metabolisme ion kalsium dan bereaksi membentuk endapan kristal kalsium oksalat (Madyastuti et al., 2015).

Ada dua jenis kalsium oksalat yaitu monohidrat ($\text{CaC}_2\text{O}_4\text{H}_2\text{O}$) dan trihydrate ($\text{CaC}_2\text{O}_4\cdot 3\text{H}_2\text{O}$). Perbedaan keduanya adalah kandungan airnya. Identifikasi kristal kalsium oksalat dapat dilakukan dengan menggunakan pereaksi asam asetat (CH_3COOH) atau NaOH yang tidak dapat melarutkan kristal kalsium oksalat. Kristal kalsium oksalat hanya dapat dilarutkan dalam asam sulfat dan asam klorida (Handayani, 2020).

II.1.2. Kegunaan Asam Oksalat

Penggunaan asam oksalat Indonesia terus meningkat dari tahun ke tahun. Indonesia Saat ini masih mengimpor asam oksalat untuk memenuhi sebagian kebutuhan asam oksalat dalam negeri. Tabel 2.1 menunjukkan konsumsi asam oksalat di Indonesia menurut data Badan Pusat Statistik (BPS).

Tabel II.1. Data impor asam oksalat di Indonesia (Badan Pusat Statistik 2014)

Tahun	Import (Ton)
2011	1.312,355
2012	1.438,517
2013	1.467,626
2014	921,959
2015	1.543,604
2016	1.661,930

Asam oksalat serta garamnya bisa dimanfaatkan sebagai komponen serat untuk pemutih, bahan analisis kimia, serta pewarnaan pada kain. Asam oksalat juga dapat digunakan sebagai penghilang karat pada bubuk pembersih (Ambarita et al., 2015). Industri penyamakan menggunakan asam oksalat untuk menjadikan kulit, sebagai asam pencuci untuk membersihkan kotoran oleh penatu (Cinantya, 2015).

Dalam sintesis organik penggunaan asam oksalat dapat menghasilkan resin, membuat bubuk formaldehida urea, sebagai katalis butadiena, dan dapat dimanfaatkan dalam produksi bakteriofag (Ambarita et al., 2015).

II.1.3. Sumber Asam Oksalat

Asam oksalat bisa dalam bentuk bebas atau dalam garam. Bentuk yang lebih umum adalah bentuk garam. Dua bentuk Asam oksalat ditemukan dalam bahan tumbuhan dan hewan. Kandungan asam oksalat pada tumbuhan lebih besar daripada hewan (Pancasasti, 2016).

Distribusi asam oksalat Banyak terdapat dalam bentuk garam potasium dan kalsium yang terdapat pada tumbuhan Seperti bayam, jeruk, teh, coklat, kacang-kacangan, belimbing, kacang tanah, dll (Ambarita et al., 2015).

II.1.4. Pengaruh Asam Oksalat bagi tubuh

Salah satu efek asam oksalat bagi tubuh adalah penyakit batu ginjal. Asam bentuk oksalat merupakan senyawa yang tidak larut dalam tubuh manusia dan tidak diserap oleh tubuh. Senyawa tersebut menumpuk dan membentuk butiran tajam di uretra, jika kristal-kristal ini

terus menumpuk bisa terbentuk batu di ginjal pada saluran kemih. Asam oksalat beserta garamnya yang terlarut dalam air bisa berbahaya karena senyawanya yang bersifat racun. Pada orang dewasa untuk penggunaa 4-5 gram asam oksalat atau kalium oksalat dapat menyebabkan kematian, tetapi biasanya yang dapat menyebabkan efek fatal yaitu 10 -15 gram. Gejala pada sistem pencernaan (demam, kram perut dan muntah) menimbulkan efek yang cepat yaitu pecahnya pembuluh darah tersebut sehingga menyebabkan kematian (Wardani & Handrianto, 2019).

Menurut Fitriani., et al (2016) oksalat dalam tubuh berikatan dengan kalsium, yang menyebabkan kerja elektrik jantung, otot, dan saraf terganggu. Selain itu asam oksalat juga dapat menghambat penyerapan zat besi, meskipun zat besi merupakan komponen yang dibutuhkan oleh tubuh manusia, namun sulit untuk diserap. Jika jumlah zat besi tidak terpenuhi, maka bisa menyebabkan anemia dan gangguan pertumbuhan.

Kadar asam oksalat dalam tubuh harus dikurangi dan dapat dicegah dengan cara sebagai berikut (Akbar & Amri, 2015):

- a. Mengurangi konsumsi makanan dengan kandungan oksalat larut tinggi, yaitu hindari makan berlebihan atau hindari konsumsi berulang dalam jumlah kecil, jangan mencampur makan yang mengandung oksalat.
- b. Tingkatkan suplai kalsium, yang akan menetralkan efek oksalat.
- c. Rebus makanan yang mengandung asam oksalat dan buang airnya, yang dapat mengurangi proporsi asam oksalat dalam bahan makanan.

II.2. Spektrofotometri

Kadar oksalat yang ditentukan dengan metode spektrofotometri UV-Vis dengan cara multipoint, pada panjang gelombang maksimum komponen. Lakukan uji statistik di akhir penelitian untuk menentukan kadar Asam oksalat. Penetapan kadar oksalat didasari oleh efek katalis besi (II) terhadap oksidasi iodida oleh bromat. Oksalat bertindak sebagai aktivator terhadap efek katalis Fe (II). I_3 yang dihasilkan sebanding dengan konsentrasi oksalat sebagai aktivator. Dalam suasana asam, oksalat berada dalam bentuk asam oksalat. Sehingga oksalat tidak mengalami disosiasi, sedangkan jika pada suasana netral, oksalat dalam bentuk terdisosiasi (Emawati & Ramdanawati, 2018).

Spektrofotometri adalah metode analisis instrumental berdasarkan interaksi antara energi dan materi. Spektrofotometri dapat digunakan untuk menentukan intensitas penyerapan suatu larutan pada panjang gelombang tertentu. Panjang gelombang yang digunakan adalah panjang gelombang maksimum yang memberikan daya serap maksimum. Salah satu prinsip kerja

spektrofotometri didasarkan pada penyerapan sinar oleh zat kimia tertentu di daerah ultraviolet dan sinar tampak (visible) (Gandjar & Rohman, 2018).

Menurut Underwood & R.A.Day (1986) pada spektrofotometer, hal penting yang harus diperhatikan adalah perbedaan antara spektrofotometer sinar tunggal dan spektrofotometer sinar ganda. Spektrofotometer sinar tunggal umumnya digunakan untuk kawasan spectrum ultraungu serta cahaya yang terlihat. Spektrofotometer sinar ganda bisa digunakan baik dalam kawasan ultraungu serta cahaya yang tampak ataupun dalam kawasan inframerah.

II.2.1 Spektrofotometri Sinar Tampak (Visible)

Spektrofotometri visible disebut juga spektrofotometri sinar tampak. Sinar tampak merupakan sinar yang bisa dilihat oleh mata manusia. Cahaya yang dapat dilihat oleh mata manusia merupakan cahaya yang memiliki panjang gelombang 400-800 nm serta mempunyai energi sebesar 299–149 kJ/mol. Ground-state (keadaan dasar) merupakan elektron dalam keadaan normal atau energi terendah pada kulit atom. Energi dari sinar tampak dapat merangsang elektron dari posisi dasar ke kulit atom yang mempunyai energi lebih besar atau menuju keadaan tereksitasi (Gandjar & Rohman, 2018).

Sinar tampak atau cahaya merupakan radiasi elektromagnetik yang merambat dalam bentuk gelombang. Seperti semua gelombang, kecepatan cahaya, panjang gelombang dan frekuensi dapat didefinisikan sebagai berikut (Gandjar & Rohman, 2018):

$$C = V \cdot \lambda$$

Dimana :

C = Kecepatan cahaya

V = Frekuensi dalam gelombang per detik (Hertz)

λ = Panjang gelombang dalam meter



Gambar II.3. Radiasi Elektromagnetik dengan panjang gelombang λ (Underwood & R.A.Day, 1986)

II.2.2 Aspek Spektrofotometri Uv-vis

a. Aspek kualitatif

Data spektral Uv-Vis saja tidak dapat digunakan untuk mengidentifikasi obat atau metabolitnya. Namun, bila dikombinasikan dengan metode lain (seperti spektroskopi inframerah, resonansi magnetik inti, dan spektrometri massa), metode ini dapat digunakan untuk tujuan identifikasi / analisis kualitatif senyawa.

b. Aspek Kuantitatif

Dalam istilah kuantitatif, sinar radiasi diterapkan ke larutan sampel (cuplikan) dan intensitas sinar radiasi diukur. Tentukan radiasi yang diserap oleh cuplikan dengan membandingkan intensitas cahaya yang ditransmisikan dengan intensitas cahaya yang diserap tidak terdapat penyerap lainnya (Gandjar & Rohman, 2018).

II.2.3 Tahap Dalam Analisis Spektrofotometri Uv-Vis

Beberapa hal yang harus diperhatikan dalam analisis spektrofotometri Uv-Vis dalam senyawa yaitu dimana yang semula tidak berwarna akan dianalisis dengan spektrofotometri visible diubah menjadi senyawa yang berwarna (Underwood & R.A.Day, 1986).

Tahap-tahap yang harus diperhatikan adalah sebagai berikut:

a. Terbentuknya molekul-molekul yang dapat menyerap sinar tampak ultra violet

Hal ini terjadi jika senyawa yang dianalisa tidak menyerap pada daerah tersebut

b. Waktu Pengerjaan

Metode ini digunakan untuk mengukur produk reaksi atau pembentukan warna

c. Pemilihan panjang gelombang

Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang dengan absorbansi maksimum (Gandjar & Rohman, 2018).

II.2.4 Instrumentasi Spektrofotometer Uv-Vis

Spektrofotometer yang sesuai untuk pengukuran didaerah spektrum violet dan visible terdiri dari suatu sistem optik yang memiliki kemampuan menghasilkan sinar manokromatis pada jangkauan panjang gelombang 200-800 nm.

a. Sumber lampu: Area UV menggunakan lampu deuterium Panjang gelombang antara

190-350 nm, dan lampu halogen Area cahaya tampak menggunakan lampu filamen kuarsa atau tungsten (panjang tertentu Gelombang antara 350-900 nm)

b. Monokromator : digunakan untuk mendispersikan sinar kedalam komponen-

komponen panjang gelombang yang selanjutnya akan dipilih oleh celah (slit).

Monokromator akan berputar sedemikian rupa sehingga kisaran panjang gelombang dilewatkan pada sampel sebagai scan instrument melewati spektrum

- c. Optik: dapat dirancang untuk memisahkan sumber cahaya agar Sumber cahaya melewati 2 kompartemen dan bertindak sebagai mana bagian dalam Spektrofotometer sinar ganda (pengukuran ganda), larutan blanko bisa Digunakan dalam kompartemen untuk mengoreksi pembacaan atau Spektrum sampel
- d. Kuvet (sel): Kuvet dimanfaatkan sebagai tempat untuk menaruh cairan sampel ke dalam berkas cahaya. Kuvet itu haruslah meneruskan energi radiasi dalam daerah spektrum yang diinginkan. Pada pengukuran di daerah visible, kuvet kaca corex ataupun kuvet kaca bisa digunakan, tetapi untuk mengukur daerah ultraviolet sel kuarsa harus digunakan hal ini dikarenakan gelas tidak mampu menembus cahaya pada daerah tersebut. Kuvet(wadah) visible dan ultraviolet yang khas mempunyai ketebalan yaitu 1 cm, tetapi terdapat kuvet dengan beraneka ragam ketebalan, diantaranya kuvet dengan ketebalan kurang dari 1 mm hingga 10 cm atau lebih.
- e. Detektor: Detektor berperan untuk memberikan respon terhadap cahaya pada berbagai panjang gelombang.
- f. Amplifier dan susunan yang berhubungan, membuat tanda listrik tersebut bisa terdeteksi.
- g. Sistem pembacaan yang memperlihatkan besarnya isyarat listrik (Gandjar & Rohman, 2018).

II.2.5 Penggunaan Spektrofotometer Uv-Vis

Spektrofotometer Uv-Vis digunakan terutama untuk analisis kuantitatif, tetapi dapat juga untuk analisa kualitatif. Untuk analisis kualitatif yang diperhatikan adalah:

- a. Membandingkan λ maksimum
- b. Membandingkan serapan (A), daya serap (a), E1cm 1%
- c. Membandingkan spektrum serapanya obat (Chamjangali et al., 2006)

II.2.6 Spektrum Absorpsi

Spektrofotometer dapat digunakan untuk mengukur besarnya energi yang diabsorpsi atau diteruskan. Jika radiasi monokromatik melewati larutan yang memiliki zat bisa menyerap, maka radiasi tersebut dipantulkan, zat diabsorpsi, dan sisanya ditransmisikan (Gandjar & Rohman, 2018).

$$I_o = I_r + I_a + I_t$$

Pengaruh I_r dapat dihilangkan dengan menggunakan blanko atau kontrol. dengan demikian,

$$I_0 = I_a + I_t$$

II.2.7 Hukum Lambert – Beer

Lambert dan Beer secara empiris telah menyebutkan hubungan antara kedua intensitas cahaya yang ditransmisikan serta ketebalan larutan dan hubungan antara konsentrasi zat dengan intensitas.

Hukum Lambert-Beer (Gandjar & Rohman, 2018):

$$A = \log \frac{I_0}{I_t} = \gamma \cdot b \cdot c = a \cdot b \cdot c$$

Keterangan :

A = Serapan

I_0 = Intensitas sinar yang datang

I_t = Intensitas sinar yang diteruskan

λ = Absorptivitas molekuler ($\frac{\text{mol} \times \text{cm}}{\text{It}}$)

a = Daya serap ($\frac{\text{gr} \times \text{cm}}{\text{It}}$)

b = Tebal Larutan/kuvet

c = Konsentrasi ($\frac{\text{gr}}{\text{It}} \times \frac{\text{mg}}{\text{ml}}$)

Ada beberapa pembatasan dalam hukum Lambert-beer adalah sebagai berikut:

- a. Sinar yang digunakan dianggap monokromatis
- b. Penyerapan terjadi dalam volume dengan penampang luas yang sama
- c. Senyawa yang diserap dalam larutan tidak ada hubungannya dengan senyawa lain di dalam larutan
- d. Tidak terjadi peristiwa fluoresensi atau fosforisensi
- e. Konsentrasi larutan tidak mempengaruhi indeks bias (Gandjar & Rohman, 2018).

II.3. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

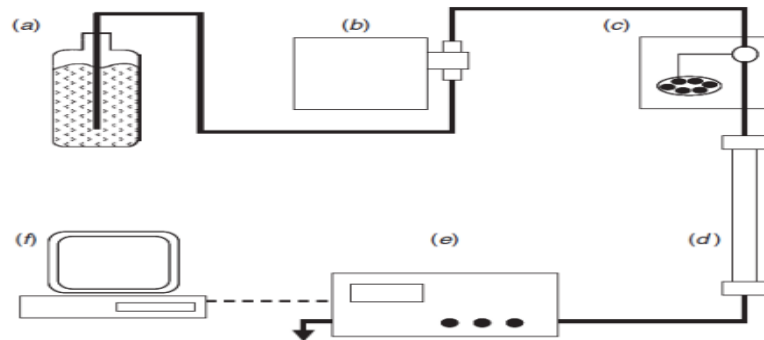
Penentuan konsentrasi asam organik dapat menggunakan Metode KCKT fase terbalik dengan kolom Grace Smart RP 18 5 μ . Metode ini diterapkan pada suhu kolom 40 ° C, dan kalium dihidrogen fosfat (pH 2,8) digunakan sebagai fase gerak untuk mendeteksi pada panjang gelombang 210 nm. Metode KCKT ini telah banyak dimanfaatkan dalam menentukan asam organik diantaranya asam malat, asam askorbat, asam laktat, asam asetat, asam sitrat, asam piroglutamat dan asam fumarat (Sitorus et al., 2015)

Kromatografi cair kinerja tinggi atau juga dikenal sebagai HPLC dikembangkan pada akhir 1960-an dan awal 1970-an. Saat ini, Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) merupakan suatu cara pemisahan yang banyak digunakan dalam analisis dan pemurnian senyawa tertentu dalam sampel, termasuk industri farmasi, lingkungan, bioteknologi, polimer, dan industri makanan (Gandjar & Rohman, 2018).

II.3.1. Prinsip Kerja KCKT

Prinsip kerja KCKT / HPLC adalah pemisahan komponen analit menurut polaritasnya, setiap campuran akan dideteksi oleh detektor dan direkam dalam bentuk kromatogram. Jumlah puncak menunjukkan jumlah komponen, dan luas puncak menunjukkan konsentrasi komponen dalam campuran (Rohman, 2018).

II.3.2. Instrumen KCKT



Gambar II.4. Diagram sistem KCKT (a) wadah fase gerak; (b) Pompa; (c) injector; (d) kolom; (e) detektor; (f) sistem pendataan (Snyder et al., 2010)

Instrumen KCKT pada dasarnya terdiri atas beberapa komponen pokok diantaranya:

a. Wadah Fase Gerak

Wadah yang digunakan harus bersih dan inert untuk menampung fase gerak. Wadah pelarut yang kosong ataupun labu laboratorium bisa dipakai sebagai wadah fase gerak. Wadah penampung tersebut umumnya dapat menampung fase gerak sekitar 1 sampai 2 liter pelarut.

b. Pompa

Pompa yang cocok digunakan untuk KCKT adalah pompa yang mempunyai syarat sebagaimana wadah pelarut, yakni pompa harus inert terhadap fase gerak. Bahan yang biasa digunakan sebagai pompa sejenis gelas, baja yang tahan karat, teflon, dan batu nilam. Pompa yang dipakai harus dapat memberikan tekanan hingga 5000 psi serta mampu mengalirkan fase gerak dengan kecepatan alir 3 ml/menit. Untuk tujuan preparative, pompa yang digunakan harus mampu mengalirkan fase gerak dengan kecepatan 20 ml/menit.

c. Tempat Penyuntikan Sampel

Sampel cair serta larutan diinjeksikan langsung masuk ke fase gerak yang mengalir pada tekanan bawah ke kolom melalui alat injeksi dari bahan tembaga yang tahan karat serta pentup Teflon yang dilengkapi dengan sample loop internal atau eksternal

d. Kolom

KCKT memiliki 2 jenis kolom yaitu kolom mikrobor serta kolom konvensional. Kolom adalah bagian pada KCKT di mana terdapat fase diam sebagai tempat berlangsungnya proses pemisahan solute/analit.

Kolom mikrobor memiliki 3 keuntungan yang utama dibandingkan dengan kolom konvensional, yakni:

1. Penggunaan fase gerak pada kolom mikrobor hanya sekitar 80% atau lebih sedikit jika dibandingkan dengan penggunaan kolom konvensional, hal ini karena kecepatan mengalir fase gerak lebih lambat (10-100 μ l/menit) pada kolom mikrobor.
2. Aliran fase gerak yang tidak terlalu cepat, sehingga membuat kolom mikrobor lebih tepat jika dikombinasikan dengan spektrofotometri massa.
3. Sensitivitas kolom mikrobor ditingkatkan karena solute lebih pekat, karenanya jenis kolom ini sangat bermanfaat jika jumlah sampel terbatas misal sampel klinis.

e. Detektor

Detektor KCKT terbagi menjadi dua kelompok yaitu detektor universal dan detektor spesifik. Idealnya, detektor harus memiliki karakteristik sebagai berikut:

1. Memiliki respon yang cepat serta reproduisibel terhadap solut.
2. Memiliki tingkat sensitifitas yang baik, dimana bisa mendeteksi solute pada kadar yang sangat kecil.
3. Stabil dalam pengoperasiannya.
4. Memiliki volume yang kecil sehingga dapat mengurangi pelebaran pita

5. Sinyal yang dihasilkan sebanding dengan konsentrasi zat terlarut dalam rentang yang luas (rentang dinamis linier), dan
6. Tidak berpengaruh terhadap suhu serta kecepatan alir fase gerak (Gandjar & Rohman, 2018).

II.3.3. Kromatografi Partisi

Prinsip kromatografi partisi didasarkan pada partisi analit antara dua fase yang tidak dapat bercampur. Kecepatan migrasi analit dalam fase diam ditentukan oleh rasio distribusinya (K), yang bergantung pada afinitas relatif fase diam dan fase gerak. Dalam kromatografi, K didefinisikan sebagai rasio konsentrasi analit dalam fase diam (C_s) dan fase gerak (C_m) (Gandjar & Rohman, 2018).

Kolom kromatografi yang biasa digunakan dalam kromatografi partisi fase terbalik adalah kolom kromatografi yang dikemas dengan fase pengikatan, karena fase diam secara kimia terikat pada pembawa, tidak mudah dielusikan oleh fase gerak, sehingga kinerjanya stabil. Buffer dalam fase terikat biasanya terbuat dari silika gel Seragam dan keropos, umumnya berdiameter 3,5 atau 10 μ m (Skoog et al., 1998).

Dalam HPLC, distribusi fase terbalik biasanya mengandung bagian organik yang secara kimia terikat pada gugus silanol pada permukaan silika gel. Kromatografi jenis ini biasanya disebut juga dengan kromatografi fase terikat. Kebanyakan fase diam kromatografi ini adalah silika yang dimodifikasi secara kimiawi atau fase terikat. Sejauh ini yang digunakan untuk memodifikasi silika adalah hidrokarbon-hidrokarbon non-polar seperti oktadesilsilana, oktasilana, atau dengan fenil. Sebagai fase gerak campuran metanol atau asetonitril dengan air atau dengan larutan bufer. Fase gerak yang sering digunakan adalah campuran metanol atau asetonitril dan air atau larutan penyangga. Untuk analit yang bersifat asam lemah atau basa lemah, peran pH sangat penting, karena jika pH fase gerak tidak diatur sehingga analit akan terionisasi, menyebabkan ikatan pada fase diam akan lebih lemah dibandingkan dengan bentuk yang tidak terionisasi, sampel tersebut terionisasi akan terelusikan lebih cepat (Gandjar & Rohman, 2018).

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

III.1. Waktu Penelitian

November - Mei

III.2. Subyek Penelitian

Analisis oksalat pada tanaman menggunakan metode spektrofotometri Uv-Vis dan KCKT

III.3. Metode Pengumpulan Data

1. Rancangan Strategi Pencarian Literatur *Review*

Penelitian *review* jurnal ini menggunakan pendekatan literatur *review* yang berfokus pada evaluasi dari berbagai hasil penelitian yang berkaitan dengan analisis oksalat dengan metoda KCKT dan Uv-Vis. Adapun Jurnal yang digunakan terpublikasi bertaraf nasional dan internasional melalui Google Scholar, Google Chrome, PubMed, Elsvier, yang dilengkapi dengan DOI serta nomor ISSN pada setiap artikel dengan menggunakan kata kunci terkait analisis oksalat dengan metoda KCKT dan UV - Vis yang dicari menunjukkan beberapa jurnal ilmiah, artikel ilmiah, dan buku yang dapat digunakan dalam pembuatan artikel *review* ini.

2. Kriteria Literatur *Review*

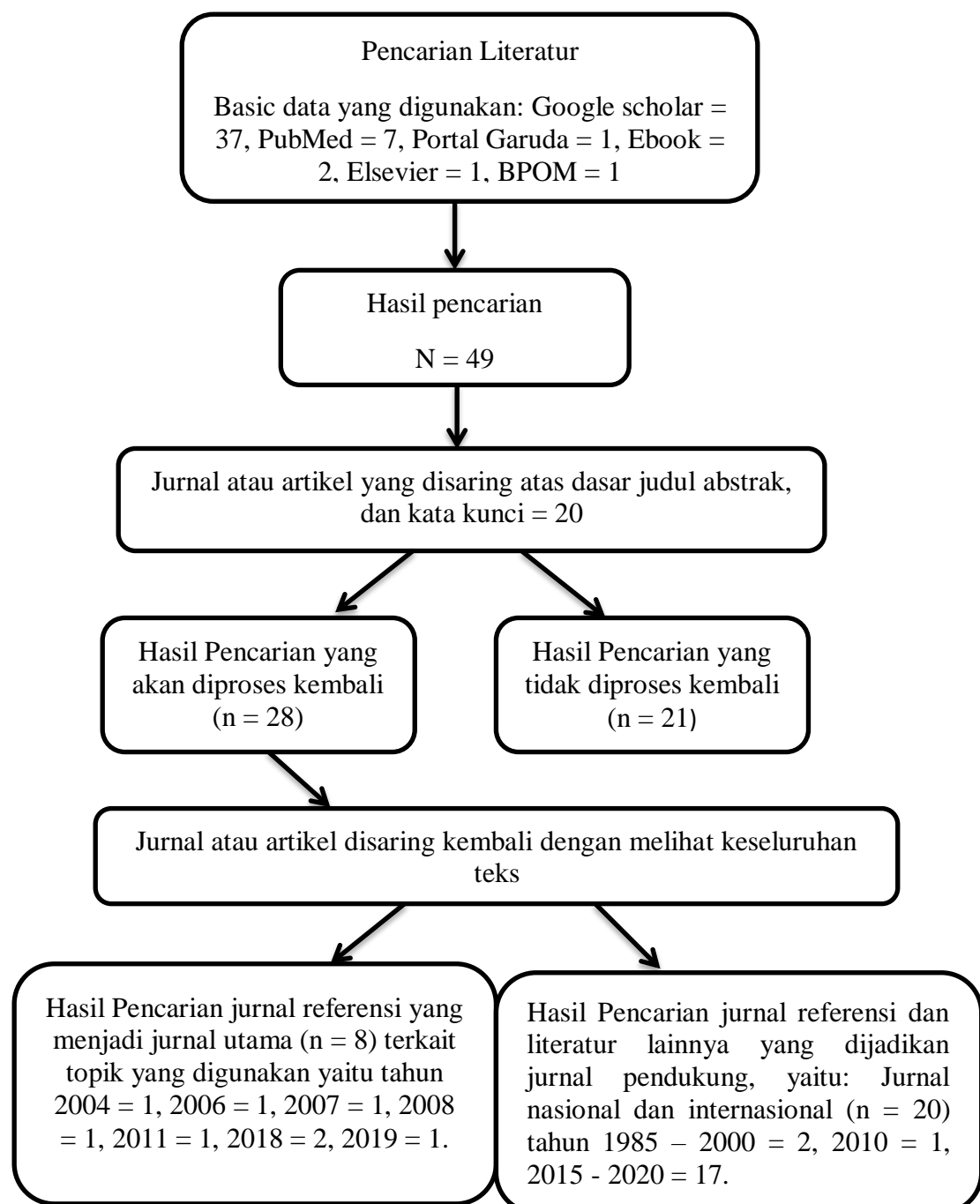
Kriteria literatur yang digunakan yaitu kriteria inklusi dimana jurnal ilmiah dari databes online berupa *original research* atau *research article* yang melaporkan adanya analisis oksalat seperti *e-book*, web, serta jurnal-jurnal yang berkaitan dari *review* yang akan diambil, selanjutnya metode yang dipakai dalam analisis oksalat yaitu Spektrofotometri Uv-Vis dan KCKT. Jurnal nasional yang diambil pada tahun (2007) sebanyak 1 jurnal, (2015 - 2020) sebanyak 37 jurnal, dan jurnal internasional yang diambil pada tahun (1985 - 2000) sebanyak 3 jurnal, (2001 - 2011) sebanyak 5 jurnal, dan (2015 - 2020) sebanyak 1 jurnal. Kemudian jurnal yang telah dikumpulkan dieliminasi lagi, ada beberapa jurnal dapat dijadikan jurnal utama dan beberapa jurnal dijadikan jurnal pendukung.

3. Tahapan artikel ilmiah

Data Based	Temuan	Literatur Terpilih
Google Scholer	37	19
Portal Garuda	1	1

PUBMED	7	4
Ebook	2	2
Elsevier	1	1
BPOM	1	1
JUMLAH	49	28

Menjelaskan setiap tahapan proses pencarian artikel ilmiah, yang diuraikan dalam bentuk skema dibawah ini;

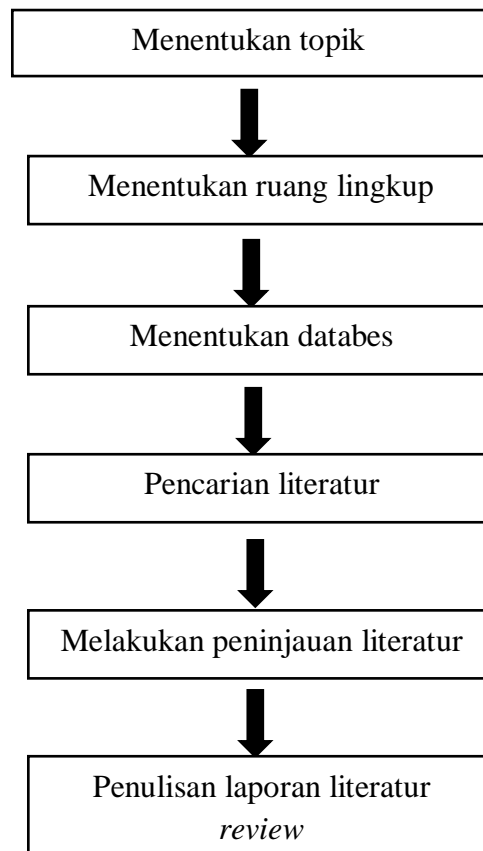


4. Bahan

Jurnal, artikel ilmiah, serta buku-buku baik berbentuk cetak ataupun soft file.

BAB IV. PROSEDUR PENELITIAN

IV.1 Tahap Penulisan Review Jurnal



1. Menentukan topik

Penentuan topik merupakan langkah awal dari permasalahan yang ada di lingkungan sekitar yang dituangkan kedalam latar belakang lalu diangkat menjadi tema penelitian untuk dilakukan pengkajian lebih dalam.

2. Menentukan ruang lingkup

Penentuan ruang lingkup berdasarkan maksud dan tujuan dari penulisan *review* yang akan ditulis.

3. Menentukan databes

Penentuan sumber literatur menggunakan databes yang sering digunakan seperti nasional dan internasional meliputi google scholar, PubMed, portal garuda, *e-book*, elsevier, dan berbagai sumber databes lainnya yang dilengkapi dengan ISSN ataupun DOI pada setiap artikel yang diambil.

4. Mencari literatur

Melakukan pencarian bahan literatur yang akan digunakan dalam *review* menggunakan kata kunci yang tepat.

5. Melakukan peninjauan literatur

Melakukan peninjauan terhadap literatur jurnal yang didapat, dengan menetapkan kriteria eksklusi dan inklusi terhadap jurnal yang akan dimasukkan dalam pendekatan literatur *review* berdasarkan kualitas. Kriteria tersebut dapat digunakan untuk menyeleksi jurnal yang tidak akan digunakan. Penilaian dilakukan pada jurnal dengan topik oksalat dalam tanaman menggunakan metode spektrofotometri Uv-Vis dan KCKT.

6. Penulisan laporan literatur *review*

Melakukan pengkajian literatur serta menjelaskan isi mengenai ringkasan penyebab terjadinya kasus (Variabel) yang diteliti. Variabel yang dimaksud seperti isolasi serta karakterisasi dalam pemanfaatan senyawa sebagai alternatif pengobatan dimana penulis akan melakukan argumentasi secara bebas, singkat, dan logis sesuai dengan tujuan penelitian yang akan dicapai.