

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Daun Katuk

Katuk (*Sauropus androgynus*) merupakan salah satu jenis tanaman semak yang tergolong dalam suku jarak-jarakan (*Euphorbiaceae*), dengan ketinggian mencapai 2-3 m. Katuk dapat tumbuh pada ketinggian 0-1500 m di atas permukaan laut. Sebutan lain untuk daun katuk adalah *memata* (Melayu), *simani* (Minangkabau), *kebing* dan *katukan* (Jawa), serta *kerakur* (Madura). Tanaman katuk tumbuh subur di India, Malaysia, dan Indonesia.

Ciri-ciri tanaman katuk adalah cabang-cabang agak lunak, daun tersusun selang-seling pada satu tangkai, berbentuk lonjong sampai bundar dengan panjang 2,5 cm, dan lebar 1,25-3 cm. Gambar katuk dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Daun katuk (*Sauropus androgynus*)

Sebuah penelitian yang dilakukan oleh Dr. Leenawaty dari ITB membuktikan bahwa daun katuk kaya akan klorofil, yaitu 8 persen dari berat kering, paling banyak diantara jenis tanaman lain. Klorofil atau zat hijau daun adalah molekul kimia yang terdapat pada tumbuhan yang aktivitas utamanya

adalah membantu reaksi fotosintesis. Semua tumbuhan hijau dan tumbuhan yang berwarna selain hijau memiliki klorofil. Klorofil tak hanya terdapat di bagian daun, tetapi juga di batang, biji, umbi, atau buah. Menurut Dr. Leenawaty, klorofil mempunyai manfaat yang sangat baik bagi tubuh manusia. Klorofil dapat membersihkan jaringan tubuh dan tempat pembuangan sisa limbah metabolisme, sekaligus mengatasi parasit, bakteri, dan virus yang ada dalam tubuh manusia. Bahkan, klorofil dapat menghilangkan senyawa kimia yang bersifat racun dalam tubuh.

Turunan dari klorofil (klorofil yang terdegradasi) ternyata masih memiliki manfaat dan tak beracun bagi tubuh. Turunan klorofil *feoditin* (klorofil yang lepas pusat magnesiumnya) dapat berfungsi sebagai antioksidan. Turunan lainnya adalah *chlorophyllide* (yakni klorofil yang ekornya terlepas) dapat menggali ke dalam sel atau jaringan dan mengangkat senyawa hidrokarbon, seperti pestisida, timbunan obat, parasit, bakteri, bahkan virus dari dinding sel serta mengeluarkannya dari dalam tubuh.

Dilihat dari nilai gizinya, daun katuk punya nilai gizi yang cukup baik, seperti protein, lemak, kalsium, fosfor, besi, vitamin A, B, dan C. Komposisi kimia daun katuk dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi kimia daun katuk per 100 gram

Komposisi gizi	Kadar
Energi (kkal)	59
Protein (gr)	4,8
Lemak (gr)	1,0
Karbohidrat (gr)	11,0
Serat (gr)	1,5
Abu (gr)	1,7
Kalsium (mg)	204
Fosfor (mg)	83
Besi (mg)	2,7
Vitamin A (SI)	10,370
Vitamin C (mg)	239
VitaminB1 (mg)	0,1
Air (g)	81

Sumber : Komposisi kimia daun katuk (Rahayu dan Lenawati, 2005)

## 2.2 Klorofil

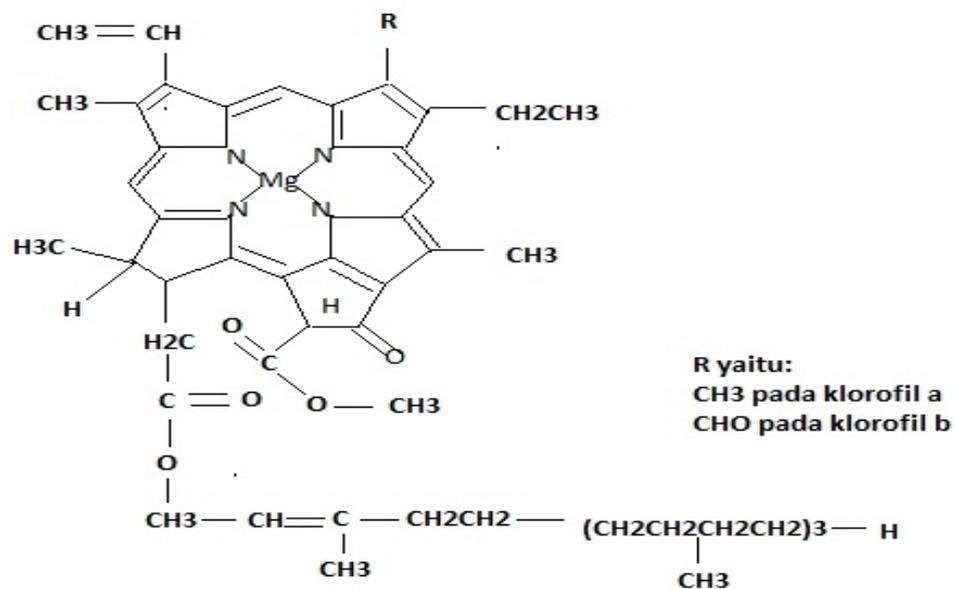
Pada awal tahun 1782, seorang ilmuwan bernama Senebier menemukan suatu senyawa kimia berwarna hijau, yang kemudian pada tahun 1818 oleh Pelletier dan Caventou diberi nama pigmen hijau alami tumbuhan bernama klorofil. Penelitian lebih lanjut senyawa ini dilanjutkan oleh Berzellius dan Verdeil pada tahun 1839 dan 1851 yang berhasil mengisolasi pigmen klorofil dan menemukan kesamaan struktur molekul antara pigmen klorofil ini dengan pigmen merah yang terdapat pada darah mamalia yaitu haemoglobin.

Setiap sel tumbuhan terdapat organel sel yang dinamakan kloroplas. Dalam kloroplas akan dihasilkan pigmen yang akan menyebabkan warna hijau pada tumbuhan (klorofil). Klorofil dapat ditemukan pada daun dan permukaan batang, yaitu di dalam lapisan sponge di bawah kutikula. Klorofil berikatan erat dengan lipid, protein dan lipoprotein. Kloroplas kering mengandung sekitar 10 % klorofil dan 60 % protein. Klorofil sangat sensitif terhadap cahaya, terutama sinar dengan warna ungu atau biru dan jingga atau merah. Klorofil yang tersebar di berbagai jenis tumbuhan ada 5 macam yaitu a,b,c,d, dan e. Klorofil yang terdapat pada daun suji terdiri dari klorofil a dan b, sedangkan golongan klorofil c sampai e hanya ditemukan pada golongan alga.

Klorofil adalah pigmen berwarna hijau yang terdapat dalam kloroplas bersama-sama dengan karoten dan xantofil pada semua makhluk hidup yang mampu melakukan fotosintesis. Pada semua tanaman hijau, sebagian besar klorofil berada dalam dua bentuk yaitu klorofil a dan klorofil b. Klorofil a bersifat kurang polar dan berwarna biru hijau sedangkan klorofil b bersifat polar dan berwarna kuning hijau. Klorofil berwarna hijau karena menyerap secara kuat daerah merah dan biru dari spektrum cahaya *visible*.

Rumus empiris klorofil a adalah  $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$ , sedangkan klorofil b adalah  $C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$ . Perbedaan struktur dari kedua klorofil tersebut kemudian menghasilkan perbedaan dalam penyerapan spektrum, hijau kebiruan untuk klorofil a dan hijau kekuningan untuk klorofil b. Posisi penyerapan maksimum bervariasi sesuai dengan pelarut yang digunakan. Klorofil merupakan ester dan larut pada pelarut organik. Pigmen tersebut merupakan suatu porfirin yang

mengandung cincin dasar tetrapirrol. Keempat cincinnya berikatan dengan ion  $Mg^{2+}$ . Cincin isosiklik yang kelima berada dekat dengan cincin pirol ketiga. Substituen asam propionate diesterifikasi oleh diterpen alkohol fitol ( $C_{20}H_{39}OH$ ) yang bersifat hidrofobik dalam cincin keempat. Struktur molekul klorofil dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur Molekul Klorofil

Klorofil banyak menyerap sinar dengan panjang gelombang antara 400-700 nm, terutama sinar merah dan biru. Sifat kimia klorofil antara lain, tidak larut dalam air, melainkan larut dalam pelarut organik yang lebih polar, seperti etanol dan kloroform, inti Mg akan tergeser oleh 2 atom H bila dalam suasana asam, sehingga membentuk suatu persenyawaan yang disebut *feofitin* yang berwarna coklat.

### 2.2.1 Proses Degradasi Klorofil

Seperti pigmen alami lainnya, klorofil juga mudah terdegradasi akibat paparan panas, cahaya, oksidator, dan kondisi pH lingkungan. Secara umum terdapat tiga reaksi yang dapat menjelaskan degradasi pigmen klorofil, yaitu

reaksi peofitinas, pembentukan klorofilid, dan oksidasi. Reaksi peofitinas adalah reaksi pembentukan peofitin. Peofitin adalah bentuk klorofil yang kehilangan ion  $Mg^{2+}$  sehingga warna yang diekspresikan bukan hijau melainkan hijau kecoklatan. Klorofil a diketahui mengalami reaksi peofitinas lima sampai sepuluh kali lebih cepat dibandingkan klorofil b. Reaksi peofitinas ini dapat terjadi ketika klorofil diperlakukan dengan asam. Ion  $Mg^{2+}$  yang berada ditengah-tengah molekul akan lepas dan digantikan oleh ion hidrogen.

Panas mempercepat reaksi peofitinas karena panas dapat mendenaturasi protein. Pada matriks tanaman, klorofil terdapat dalam bentuk berikatan dengan molekul protein. Ketika daun dipapar dengan panas, misalnya direbus, protein yang melindungi klorofil akan terdenaturasi sehingga klorofil berada dalam bentuk bebas. Klorofil bebas bersifat tidak stabil dan mudah diserang oleh asam. Akibatnya  $Mg^{2+}$  yang terdapat didalam molekul klorofil dapat dengan mudah digantikan oleh ion hidrogen.

Penggunaan garam alkali seperti magnesium karbonat dan kalsium hidroksida pada pengolahan sayur hijau diketahui dapat mencegah ion magnesium di klorofil lepas dan digantikan oleh ion hidrogen. Meskipun metode ini menghasilkan produk dengan warna yang menarik, namun warna tersebut tidak bertahan lama selama penyimpanan. Hasil penelitian Harborne (1973) menunjukkan bahwa klorofil dapat diekstrak dari daun segar dengan menggunakan aseton 80% atau methanol dengan sedikit penambahan  $CaCO_3$  untuk mencegah terbentuknya peofitin. Selain itu, garam seng juga dapat menstabilkan klorofil. Seng akan membentuk kompleks dengan peofitin sehingga warna hijau tetap stabil.

Reaksi jenis kedua yaitu reaksi pembentukan klorofilid. Klorofilid dapat terbentuk dari reaksi hidrolisis pada suasana asam maupun basa. Biasanya reaksi pembentukan klorofilid terjadi akibat aktivitas enzim klorofilase. Enzim klorofilase yang terdapat hampir disemua tanaman mampu menghidrolisis rantai fitol dari klorofil sehingga terlepas membentuk klorofilid dan fitol. Pada kondisi normal, enzim klorofilase diduga terikat kuat secara fisik pada lipoprotein lamella sehingga tidak bereaksi menghidrolisis klorofil. Enzim ini akan aktif pada

temperatur kamar jika berada pada pelarut organik atau pada temperatur 65-75<sup>0</sup>C pada pelarut air.

Berbeda dari reaksi peofitinasi, klorofilid yang dihasilkan pada reaksi hidrolisis ini masih mengekspresikan warna hijau seperti klorofil tetapi lebih larut air. Lebih lanjut klorofilid dapat menjadi peoforbid yaitu senyawa klorofilid yang kehilangan ion Mg<sup>2+</sup> dan digantikan dengan ion hidrogen. Meskipun demikian, perubahan klorofilid menjadi peoforbid relative lebih sulit dibandingkan klorofil menjadi peofitin. Oleh karena itu salah satu usaha untuk menstabilkan warna hijau adalah dengan mengubah klorofil menjadi klorofilid.

Reaksi oksidasi klorofil menghasilkan produk yang tidak berwarna akibat dari teralomerasinya klorofil dan pecahnya cincin tetrapireol. Reaksi oksidasi ini dapat terjadi secara enzimatis maupun non enzimatis. Oksidasi secara enzimatis melibatkan enzim lipoksigenase yang terdapat di sebagian besar sayuran dan buah-buahan. Enzim ini mengkatalisa reaksi oksidasi ketika terdapat oksigen dan lemak, terutama asam lemak linoleat dan linolenat. Blansir dapat dilakukan terhadap bahan untuk menginaktivasi enzim lipoksigenase. Waktu pemblansiran penting untuk diperhatikan karena blansir yang terlalu lama tidak hanya akan menginaktivasi enzim lipoksigenase, namun juga menginduksi terjadinya reaksi oksidasi non enzimatis.

Klorofil yang disubstitusi dengan tembaga (Cu) atau klorofilin merupakan bentuk klorofil yang stabil jika dibandingkan dengan klorofil alami. Klorofilin cukup stabil dikondisi netral dan basa. Kelemahan klorofilin adalah menimbulkan sensasi rasa logam akibat keberadaan ion Cu. Flavor yang mengganggu ini dapat ditutupi dengan menambahkan flavor pada makanan seperti flavor buah sehingga *off flavor* dapat tertutupi. Klorofilin cocok digunakan sebagai pewarna pada permen dengan flavor jeruk. Flavor jeruk dapat mengaburkan rasa logam yang ditimbulkan klorofilin.

### 2.2.2 Manfaat Klorofil

Dalam kehidupan sehari-hari pemakaian klorofil telah berkembang dengan luas dalam dunia pengobatan. Beberapa manfaat klorofil yang telah

diakui antara lain: ( Othmer, 1993 )

1. Zat warna alami
2. Antioksidan/ penghancur radikal bebas.

Penelitian membuktikan kerusakan DNA akibat aflatoksin (senyawa karsinogen) berkurang 50% dengan konsumsi klorofil sebanyak 300 mg/hari.

3. Zat anti kanker
4. Zat antiseptik
5. Zat antigenotoksi
6. Zat yang berperan dalam regenerasi sel dan jaringan

Klorofil akan meningkatkan sistem kekebalan dalam tubuh, dengan segera mengganti keberadaan sel rusak sehingga virus tidak dapat menyerang kesehatan manusia.

7. Agen detoks dan penyerap kolesterol dalam tubuh manusia

Bagian ekor klorofil bersifat lipofilik (suka lemak) mampu menembus sel tubuh dengan sangat cepat tanpa halangan (*barrier*) mengikat dan menarik keluar semua senyawa hidrokarbon berbahaya seperti obat-obat yang tertimbun dalam tubuh, pengawet dan perasa makanan, nikotin, narkotika, logam berat dari air minum dan asap knalpot sekalipun.

8. Penyeimbang (regulator) asam, tekanan dan gula darah

Keberadaan asam dalam makanan yang dikonsumsi dapat menyebabkan berbagai penyakit seperti asam urat, maag, lemahnya kardiovaskular, gangguan ginjal, dan keropos tulang. Klorofil menetralkan keberadaan asam karena bersifat basa kuat.

9. Memperkuat sistem peredaran darah, reproduksi, pencernaan dan pernapasan
- Klorofil secara efisien melepaskan Mg dan membantu darah membawa O<sub>2</sub> yang dibutuhkan ke semua sel di jaringan tubuh. Distribusi O<sub>2</sub> yang baik dalam tubuh akan menunjang reproduksi, pencernaan, dan pernapasan.

Klorofil dan senyawa turunannya dapat diaplikasikan dengan baik dalam berbagai industri. Sebagai contoh dalam pewarna serat, resin atau tinta tertentu. Karena sifatnya yang aman dalam mewarnai lemak dan minyak, klorofil sangat baik dan aman sebagai pewarna makanan yang mengandung lemak atau

minyak. Karena kelarutannya dalam lemak dan minyak, serta sifatnya yang tidak mengiritasi, klorofil dipandang sebagai pewarna yang baik untuk kosmetik, parfum, lotion, bahkan krem muka.

### 2.2.3 Sifat-sifat klorofil

Secara kimiawi, senyawa klorofil baik klorofil a maupun klorofil b mengandung senyawa turunan pirol dan dengan adanya kandungan magnesium di struktur pusatnya, serta adanya gugus ester pada fitol alkohol tidak jenuhnya, seperti  $C_{20}H_{29}OH$ , atau  $(CH_3)_2CH(CH_2)_3CH(CH_3)(CH_2)_3-CH(CH_3)(CH_2)_3C(CH_3) : CHCH_2OH$ , dimana senyawa ini memiliki titik didih 203 – 204 °C. Klorofil a lebih mudah meleleh dibandingkan klorofil b karena titik lelehnya yang lebih rendah yaitu sebesar 117 – 120 °C sedangkan titik leleh klorofil b sebesar 120 - 130°C (Othmer, 1993).

Senyawa klorofil merupakan senyawa yang cukup peka terhadap perubahan cahaya, temperatur, pH, dan oksigen. Senyawa klorofil akan bekerja stabil dalam menunjukkan warna hijau pada rentang temperatur kamar hingga 100°C dan pada pH sekitar netral (7 - 8). Pada pH asam (3 - 5) dan pH basa (11 - 12) klorofil mengalami reaksi dan menghasilkan berbagai senyawa turunan klorofil. Pada suasana asam, atom Mg akan diganti dengan atom H sehingga terbentuk senyawa yang disebut feofitin yang berwarna kecoklatan. Namun dengan adanya perlakuan penambahan basa seperti kapur tohor, reaksi tersebut dapat dihindari sehingga klorofil tidak bereaksi membentuk feofitin. Dari struktur kimianya, dapat dilihat klorofil a bersifat kurang polar atau bahkan sering digolongkan sebagai senyawa non polar, sedangkan klorofil b bersifat polar. Sifat kimia dari klorofil dipengaruhi oleh karbon ketujuh yang mengandung residu propionat, dan teresterifikasi dengan fitol ( Othmer, 1993 ).

### 2.3 Bahan Penstabil Klorofil

Ketidakstabilan senyawa klorofil dalam daun katuk dapat menghambat dan mengganggu perolehan klorofil dalam proses ekstraksi padat-cair ini.

Namun di lain pihak, ketidakstabilan klorofil dalam daun katuk dapat diatasi dengan penambahan zat penstabil klorofil yang cocok seperti asam sitrat dan soda kue, magnesium karbonat 1%, kalsium karbonat, atau dengan dimetilanilina. Tujuan penambahan zat stabil adalah diperolehnya zat warna alami yang stabil pada jangka waktu penyimpanan tertentu sekaligus mencegah terbentuknya senyawa turunan klorofil saat ekstrak berada dengan banyak asam organik.

Berkaitan dengan kepekaannya terhadap cahaya, absorbansi pigmen klorofil akan menurun seiring semakin lamanya waktu penyinaran. Peristiwa ini dikenal sebagai fotooksidasi. Dengan penambahan kurkumin, senyawa klorofil baik klorofil a maupun b akan relatif lebih stabil terhadap fotooksidasi. Senyawa lain yang dipercaya dapat ditambahkan untuk meningkatkan kestabilan klorofil terhadap cahaya adalah asam askorbat. Namun penambahan asam askorbat ini akan dapat menurunkan intensitas dari warna hijau yang dihasilkan daun suji. Oleh karena ketidakstabilannya terhadap cahaya maka pengerjaan dapat dilakukan di ruangan gelap.

Natrium bikarbonat adalah senyawa kimia dengan rumus  $\text{NaHCO}_3$ . Senyawa ini termasuk kelompok garam dan telah digunakan sejak lama. Senyawa ini disebut juga baking soda (soda kue), Sodium bikarbonat, natrium hidrogen karbonat, dan lain-lain. Senyawa ini merupakan kristal yang sering terdapat dalam bentuk serbuk. Natrium bikarbonat larut dalam air.

## **2.4 Macam-macam Ekstraksi**

### **2.4.1 Pengertian Ekstraksi**

Ekstraksi adalah proses penarikan suatu zat dengan pelarut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Seringkali campuran bahan padat dan cair tidak dapat atau sukar sekali dipisahkan dengan metode pemisahan mekanis atau termis. Misalnya saja, karena komponennya saling bercampur secara sangat erat, peka terhadap panas, beda sifat-sifat fisiknya terlalu kecil, atau tersedia dalam konsentrasi yang terlalu rendah. Dengan adanya kontak dengan pelarut, zat terlarut (*solute*) yang terkandung

dalam umpan akan terlarut di dalam pelarut. Dengan kata lain pemisahan dengan proses ekstraksi ini akan didasarkan pada perbedaan kelarutan komponen-komponen yang dipisahkan. Pemisahan yang berlangsung dengan ekstraksi dapat digolongkan pemisahan fisik di mana komponen terlarut kemudian dikembalikan lagi ke keadaan semula tanpa mengalami perubahan kimiawi.

Biasanya proses ekstraksi komponen kimia dalam sel tanaman digunakan pelarut organik. Pelarut organik akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dalam pelarut organik di luar sel, maka larutan terpekat akan berdifusi keluar sel dan proses ini akan berulang terus sampai terjadi keseimbangan antara konsentrasi cairan zat aktif di dalam dan di luar sel ( Treyball, 1980 ; Mc. Cabe, 2005 ).

#### 2.4.2 Prinsip Ekstraksi

Saat terjadi kontak antara padatan dengan pelarut, sebagian *solute* akan berpindah ke dalam *solvent* dan terbentuklah larutan. Perpindahan *solute* tersebut dapat terjadi karena adanya perbedaan konsentrasi *solute* dalam larutan dan dalam padatan. Perbedaan konsentrasi ini akan menjadi *driving force* terjadinya proses ekstraksi. Perpindahan *solute* ini akan terjadi hingga dicapai keadaan setimbang. Keseimbangan yang idealnya harus dicapai dalam ekstraksi padat-cair ini membutuhkan pelarut yang cukup untuk melarutkan semua zat terlarut pada padatan dan tidak ada adsorpsi pada zat terlarut oleh padatan. Keseimbangan kemudian didapatkan ketika zat terlarut sudah sepenuhnya larut dan konsentrasi larutan seragam. Namun struktur padatan dapat menyulitkan tercapainya kondisi ini. Faktor tersebut dipikirkan bila ingin mendapatkan tingkat efisiensi tertentu. Jika diasumsikan titik keseimbangan sudah ditemukan, maka konsentrasi cairan yang ditahan oleh padatan sama dengan cairan yang meluap pada tahap yang sama ( Treyball, 1980 ; Mc. Cabe, 2005 ).

Mekanisme difusi yang terjadi dalam ekstraksi padat-cair sendiri dapat

dibedakan menjadi difusi internal dan difusi eksternal. *Solute* yang terkandung dalam padatan bisa berada pada pori-pori padatan maupun permukaan padatan. Perpindahan *solute* dari pori-pori padatan menuju permukaan padatan terjadi secara difusi internal, sedangkan perpindahan *solute* dari permukaan padatan menuju pelarut merupakan tahap difusi eksternal. Laju perpindahan difusional ini akan bergantung pada luas permukaan padatan di mana laju perpindahan ini akan berbanding lurus dengan luas permukaan partikel padatan. Dan bila padatan yang digunakan merupakan daun, luas permukaan yang besar akan diperoleh bila daun yang dipergunakan cukup tipis ( Treyball, 1980 ; Skoog.W.H. ,2002 ).

### 2.4.3 Macam-macam Ekstraksi

Metode ekstraksi terbagi menjadi 2 macam:

#### 1. Ekstraksi cara dingin

Metode ini artinya tidak ada proses pemanasan selama proses ekstraksi berlangsung, tujuannya untuk menghindari rusaknya senyawa yang dimaksud akibat proses pemanasan. Ekstraksi dingin antara lain:

##### 1. MASERASI

Merupakan proses ekstraksi menggunakan pelarut diam atau dengan pengocokan pada suhu ruangan. Pada dasarnya metode ini dengan cara merendam sampel dengan sekali-kali dilakukan pengocokan. Pengocokan dapat dilakukan dengan menggunakan alat *rotary shaker* dengan kecepatan sekitar 150 rpm. Umumnya perendaman dilakukan 24 jam dan selanjutnya pelarut diganti dengan pelarut baru. Namun dari beberapa penelitian melakukan perendama hingga 72 jam.

Selama proses perendaman, cairan akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Kemudian zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut terus berulang hingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dengan larutan di dalam sel.

Keuntungan cara ekstraksi dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang sederhana. Namun metode ini juga memiliki kekurangan, yaitu cara pengerjaannya yang lama dan ekstraksi yang kurang sempurna.

## 2. PERKOLASI

Merupakan cara ekstraksi yang dilakukan dengan mengalirkan pelarut melalui bahan sehingga komponen dalam bahan tersebut tertarik ke dalam pelarut. Kekuatan yang berperan pada perkolasi antara lain: gaya berat, kekentalan, daya larut, tegangan permukaan, difusi, osmosis, adesi, daya kapiler dan daya geseran (friksi). Hasil perkolasi disebut perkolat. Perkolasi banyak digunakan untuk mengekstraksi komponen dari bahan tumbuhan. Pada proses perkolasi, terjadi partisi komponen yang diekstraksi, antara bahan dan pelarut. Dengan pengaliran pelarut secara berulang-ulang, maka semakin banyak komponen yang tertarik.

Kelemahan dari metode ini yaitu diperlukan banyak pelarut dan waktu yang lama, sedangkan komponen yang didapat relatif tidak banyak. Keuntungannya adalah tidak memerlukan pemanasan sehingga teknik ini baik untuk substansi termolabil (yang tidak tahan terhadap panas).

### 2. Ekstraksi cara panas

Metode ini melibatkan panas dalam prosesnya. Dengan adanya panas secara otomatis akan mempercepat proses ekstraksi dibandingkan cara dingin.

#### 1. REFLUKS

Merupakan ekstraksi dengan pelarut yang dilakukan pada titik didih pelarut tersebut, selama waktu tertentu dan sejumlah pelarut tertentu dengan adanya pendinginan balik (kondensor). Umumnya dilakukan tiga kali sampai lima kali pengulangan proses pada residu pertama agar proses ekstraksinya sempurna.

Prosedur:

Bahan + pelarut -> dipanaskan -> pelarut menguap -> pelarut yang menguap didinginkan oleh kondensor -> jatuh lagi -> menguap lagi karena panas -> dan seterusnya.

Pelarut akan mengekstraksi dengan panas, terus menguap sebagai senyawa murni dan kemudian didinginkan dalam kondensor, turun lagi ke wadah, mengekstraksi lagi dan begitu seterusnya.

## 2. SOXHLET

Proses ekstraksi dimana sampel yang akan diekstraksi ditempatkan dalam suatu timbel yang permeabel terhadap pelarut dan diletakkan di atas tabung destilasi, dididihkan dan dikondensasikan di atas sampel. Kondensat akan jatuh ke dalam timbel dan merendam sampel dan diakumulasi sekeliling timbel. Setelah sampai batas tertentu, pelarut akan kembali masuk ke dalam tabung destilasi secara otomatis. Proses ini berulang terus dengan sendirinya di dalam alat terutama dalam peralatan Soxhlet yang digunakan untuk ekstraksi lipida. Sampel yang bisa diperiksa meliputi pemeriksaan lemak, trigliserida, kolesterol. Proses ekstraksi *soxhlet* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Ekstraksi *soxhlet*

3. **DIGESTI** adalah proses ekstraksi dengan pengadukan kontinu pada temperatur tinggi dari temperatur ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada temperature 40-50 °C.
4. **INFUNDASI** adalah ekstraksi dengan cara perebusan, dimana pelarutnya adalah air pada temperature 96-98 °C selama 14-20 menit.

### 2.4.4 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Ekstraksi

Faktor-faktor yang mempengaruhi proses ekstraksi antara lain: [Treyball,1980 ; Mc. Cabe, 2005 ;; Skoog.W.H. , 2002 ; Nadia Soedhono,2011].

#### 1. Ukuran partikel padatan

Untuk meningkatkan kinerja proses ekstraksi baik dari waktu yang diperlukan yang lebih singkat dan hasil ekstrak yang diperoleh dapat lebih besar, diupayakan sampel padatan yang digunakan memiliki luas permukaan

yang besar. Luas permukaan yang besar ini dapat dicapai dengan memperkecil ukuran bahan padatan. Semakin luas permukaan padatan maka perpindahan massa ekstraksi akan berlangsung lebih cepat. Pengecilan ukuran padatan ini dapat diusahakan dengan penggerusan atau penekanan pada padatan.

## 2. Pelarut

Pelarut yang digunakan dapat murni atau dapat pula mengandung sedikit *solute* sejak awal. Selama proses ekstraksi berlangsung terjadi peningkatan konsentrasi *solute* dan kecepatan ekstraksi akan menurun karena kemampuan pelarut untuk terus melarutkan *solute* semakin berkurang. Pelarut yang biasa digunakan dapat berupa.

### a. Air

Pelarut ini memiliki beberapa keuntungan di mana relatif murah, mudah diperoleh, tidak toksik, stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, dan digunakan bila senyawa yang akan diekstrak larut air. Namun tidak dipungkiri pula dengan penggunaan pelarut air ini dapat dimungkinkan terjadinya reaksi hidrolisa, dapat ditumbuhi jamur dan mikroba, tidak selektif, titik didih 100°C (tidak cocok untuk senyawa yang terurai pada temperatur tinggi), dan untuk pengeringan dibutuhkan waktu yang lama.

### b. Pelarut organik

Ekstraksi dapat dilangsungkan dengan berbagai jenis pelarut organik. Dengan pemakaian pelarut organik senyawa tidak terhidrolisis sebagaimana bila digunakan pelarut air. Keuntungan lainnya pemakaian pelarut organik adalah titik didihnya yang relatif rendah sehingga tidak perlu dilakukan pemanasan tinggi, dan tidak dapat ditumbuhi jamur. Namun pemakaian pelarut organik ini pun memiliki beberapa kerugian seperti mahal, beberapa pelarut organik bersifat toksik (karsinogenik), dan berbahaya (bisa terbakar) seperti: etanol, metanol,  $\text{CHCl}_3$ , eter, heksan dan lain-lain.

Macam-macam pelarut

a. Etanol

Etanol, disebut juga etil alkohol, alkohol murni, alkohol absolut, atau *alkohol* saja, adalah sejenis cairan yang mudah menguap, mudah terbakar, tak berwarna, dan merupakan alkohol yang paling sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari. Sifat fisik etanol dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Sifat fisik senyawa etanol

Parameter	
Rumus Molekul	$C_2H_5OH$
Massa Molar	46,07 g/mol
Densitas	0,789 g/cm <sup>3</sup>
Titik Lebur	-114,3
Titik Didih	78,4
Kelarutan	Dalam air tercampur penuh
Keasaman ( $pK_a$ )	15,9
Viskositas	1,200 cP (20 <sup>0</sup> C)

b. Aseton

Aseton, juga dikenal sebagai propanon, dimetil keton, 2-propanon, propan-2-on, dimetilformaldehida, dan -ketopropana, adalah senyawa berbentuk cairan yang tidak berwarna dan mudah terbakar. Sifat fisik aseton dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Sifat fisik senyawa aseton

Parameter	
Rumus Molekul	$CH_3COCH_3$
Masa Molar	58,08 g/mol
Densitas	0,79 g/cm <sup>3</sup> , cair
Titik lebur	-94,9 <sup>0</sup> C (178,2 K)
Titik didih	56,53 <sup>0</sup> C (329,4 K)
Kelarutan	Dalam air larut dalam berbagai perbandingan
Viskositas	0,32 cp pada 20 <sup>0</sup> C

Pelarut yang dipilih harus disesuaikan dengan beberapa kriteria berikut:

- Kepolaran dan kelarutan pelarut

Pelarut yang dipilih memiliki kepolaran yang sama dengan bahan yang akan diekstrak sehingga pelarut dapat melarutkan *solute* dengan baik. Dengan tingkat kelarutan yang tinggi, hanya sedikit pelarut yang diperlukan.

- Selektifitas

Pelarut diharapkan memiliki selektifitas yang tinggi sehingga hanya akan melarutkan senyawa-senyawa tertentu yang ingin diekstrak atau sedikit mungkin melarutkan senyawa-senyawa pengotor, sehingga pemisahan dari campurannya pun dapat berlangsung lebih sempurna.

- Murah dan mudah diperoleh.
- Tidak korosif, tidak beracun, stabil secara termal dan tidak mudah terbakar.
- Tidak menyebabkan terbentuknya emulsi.
- Tidak reaktif.

Pelarut hanya berfungsi melarutkan dan diharapkan tidak mengubah susunan kimia dari bahan yang diekstrak (tidak terjadi reaksi antara pelarut dengan bahan yang diekstrak)

- Titik didih

Titik didih pelarut cukup rendah sehingga hanya membutuhkan pemanasan yang tidak terlampau besar. Bila pemanasan yang diperlukan membutuhkan energi yang sangat besar, dapat menimbulkan kerusakan pada bahan yang diekstrak dan hal seperti itu tentu saja dihindari. Namun titik didih pelarut pun tidak boleh terlampau rendah yang dapat menyebabkan kehilangan pelarut dalam jumlah yang besar akibat pemanasan. Titik didih pelarut pun harus seragam agar tidak menimbulkan residu di bahan pangan.

- Viskositas dan densitas

Viskositas dan densitas dari pelarut diharapkan cukup rendah agar pelarut lebih mudah mengalir dan kontak dengan padatan berlangsung lebih baik.

- Sifatnya terhadap air

Pelarut yang digunakan sebaiknya bersifat hidrofilik terlebih bila bahan yang akan diekstrak masih mengandung sedikit air. Bila pelarut yang digunakan bersifat hidrofob, pelarut yang diharapkan dapat menembus dinding sel dan melarutkan isi sel (klorofil/bahan yang akan diekstrak) akan ditolak terlebih dahulu oleh keberadaan air.

- Kecepatan alir pelarut

Kecepatan alir pelarut, sedapat mungkin besar dibandingkan dengan laju alir bahan ekstraksi, agar ekstrak yang terlarut dapat segera diangkut keluar dari permukaan bahan padat.

- Temperatur

Temperatur operasi yang tinggi akan berpengaruh positif terhadap ekstraksi karena adanya peningkatan kecepatan difusi, peningkatan kelarutan dari larutan, dan penurunan viskositas pelarut. Dengan viskositas pelarut yang rendah, kelarutan yang dapat dicapai lebih besar. Temperatur yang digunakan harus dapat disesuaikan dengan kelarutan pelarut, stabilitas pelarut, tekanan uap pelarut, dan selektifitas pelarut.

### 3. pH

Rentang pH yang digunakan harus disesuaikan dengan kestabilan bahan yang akan diekstrak. Misalnya untuk klorofil, suasana asam dan basa dapat membuat klorofil terhidrolisis menjadi klorofilid.

### 4. Porositas dan difusivitas

Perlu diperhatikan apakah struktur bahan padat yang diekstrak berpori atau tidak. Struktur yang berpori dari padatan berarti memungkinkan terjadinya difusi internal *solute* dari permukaan padatan ke pori-pori padatan tersebut. Difusivitas sendiri merupakan suatu parameter yang menunjukkan kemampuan *solute* berpindah secara difusional. Semakin besar difusivitas bahan padatan maka semakin cepat pula difusi internal yang terjadi dalam padatan tersebut.

### 5. Pengadukan

Pengadukan diperlukan untuk meningkatkan difusi *eddy* sehingga perpindahan massa dari permukaan padatan ke pelarut dapat meningkat pula. Pengadukan akan mencegah terbentuknya suspensi atau bahkan endapan serta efektif untuk

membentuk suatu lapisan *interphase*. Pengadukan yang tinggi akan meminimalkan tahanan perpindahan masa selama reaksi dan ekstraksi namun kemudian akan membentuk emulsi atau padatan yang sangat kecil dan sulit diendapkan.

#### 6. Waktu ekstraksi

Semakin lama waktu ekstraksi, maka semakin lama waktu kontak antara pelarut dan *solute* sehingga perolehan ekstrak akan semakin besar. Namun bila waktu yang dibutuhkan terlalu lama maka secara ekonomis proses ekstraksi tersebut berlangsung dengan tidak efisien.

#### 7. Rasio zat padat terhadap pelarut

Jumlah pelarut perlu disesuaikan dengan kebutuhan. Pelarut yang terlalu banyak dapat mengakibatkan pemborosan biaya dalam operasi ekstraksi.

#### 8. Mode operasi

Pemilihan mode operasi dalam pelaksanaan ekstraksi padat-cair pun perlu dipertimbangkan karena menentukan keberhasilan pemisahan yang dapat berlangsung.

### 2.5 Destilasi

Prinsip pada destilasi adalah pemisahan dua zat atau lebih yang mempunyai perbedaan titik didih. Jika zat-zat yang dipisahkan mempunyai perbedaan titik didih yang jauh berbeda, dapat digunakan metode isolasi biasa. Zat yang memiliki titik didih rendah akan cepat terdestilasi daripada zat yang bertitik didih tinggi. Uap zat yang bersifat volatil dan memiliki titik didih yang rendah akan masuk ke dalam pipa pada kondensator (terjadi proses pendinginan) sehingga akan turun berupa tetesan-tetesan yang turun ke dalam penampung atau disebut juga destilat. Perlu diketahui distilasi ialah salah satu pemisahan campuran yang memiliki prinsip sederhana namun tetap memiliki variasi dengan kekuatan dan kelemahan tertentu. Secara umum pada distilasi ada labu distilasi, pemanas, kolom distilasi dan labu penerimanya. Jadi mula mula labu distilasi yang berupa cairan dipanaskan, lalu uapnya akan naik ke kolom. Zat yang memiliki titik didih

tinggi yang terbawa menguap akan mencair lagi pada kolom. Zat yang titik didihnya lebih rendah akan terus terbawa hingga di labu penerima.

Macam-macam distilasi:

### **2.5.1 Distilasi Sederhana**

Pada proses distilasi sederhana, campuran larutan yang dipanaskan akan menguap. Distilasi sederhana ini cocok untuk memisahkan campuran 2 zat yang memiliki titik didih yang cukup jauh beda. Zat yang lebih mudah menguap akan menguap lebih dahulu sehingga yang tersisa hanyalah zat yang titik didihnya lebih tinggi. Hal ini bisa diulangi beberapa kali untuk mendapatkan hasil dan pemisahan yang lebih baik

### **2.5.2 Distilasi Bertingkat**

Secara Prinsip distilasi bertingkat ini ialah distilasi sederhana yang hasil distilasinya dilakukan distilasi ulang. Hal ini dilakukan berulang ulang bergantung dari panjang kolom distilasi yang disesuaikan dengan sifat komponen campuran sehingga dihasilkan masing masing komponen yang murni. Distilasi bertingkat ini dapat digunakan untuk memisahkan campuran yang memiliki lebih dari dua komponen sehingga diperlukan suatu rancangan bentuk kondensor yang khusus. Distilasi bertingkat ini digunakan untuk memisahkan komponen komponen minyak bumi

### **2.5.3 Distilasi Vakum**

Prinsip dari Distilasi Vakum ini yaitu dengan cara menurunkan tekanan diatas permukaan cairan dengan bantuan pompa vakum, maka cairan yang didistilasi akan mudah menguap, karena cairan ini akan mendidih dibawah titik didih normalnya. Hal ini sangat menguntungkan untuk mendistilasi campuran yang senyawa penyusunnya mudah rusak atau terurai pada titik didihnya atau untuk menguapkan campuran yang sangat pekat karena penguapannya tidak memerlukan panas yang tinggi.

Proses distilasi dengan tekanan dibawah tekanan atmosfer atau distilasi vakum adalah merupakan destilasi tekanan dibawah 1 atmosfer tekanan operasinya 0,4 atm ( 300 mmHg absolut), pada bidang migas distilasi vakum digunakan untuk memisahkan fraksi –fraksi yang tidak dapat dipisahkan dengan destilasi atmosferik seperti gas oil berat, parafine *destilate* atau vakum *distilate* yang masih terkandung didalam long residu dari hasil destilasi atmosferik. Residu yang terdapat dari destilasi atmosferik ini tidak dapat dipisahkan dengan destilasi atmosferik, apabila dipanaskan pada tekanan atmosferik akan terjadi cracking sehingga akan merusak mutu produk dan menimbulkan *tar (coke)* yang kemudian dapat diberikan kenutuhan pada *tube* dapur. Dengan cara penyulingan di bawah tekanan atmosferik atau tekanan vakum fraksi–fraksi yang terkandung di dalam long residu dapat *dicovery*.

Prinsip ini didasarkan pada hukum fisika dimana zat cair akan mendidih dibawah titik didih normalnya apabila tekanan pada permukaan zat cair itu diperkecil atau vakum. Pada prinsipnya proses vakum ini tidak jauh dari proses destilasi atmosferik. Proses destilasi vakum pada sistem vakum proses berlangsung dibawah kondisi normal  $\pm 30 - 35$  mmHg dengan tujuan menurunkan titik didihnya.

#### 2.5.4 Distilasi Uap

Distilasi uap digunakan pada campuran senyawa-senyawa yang memiliki titik didih mencapai 200 °C atau lebih. Distilasi uap dapat menguapkan senyawa-senyawa ini dengan suhu mendekati 100 °C dalam tekanan atmosfer dengan menggunakan uap atau air mendidih. Sifat yang fundamental dari distilasi uap adalah dapat mendistilasi campuran senyawa di bawah titik didih dari masing-masing senyawa campurannya. Selain itu distilasi uap dapat digunakan untuk campuran yang tidak larut dalam air di semua temperatur, tapi dapat didistilasi dengan air. Aplikasi dari distilasi uap adalah untuk mengekstrak beberapa produk alam seperti minyak eucalyptus dari eucalyptus, minyak citrus dari lemon atau jeruk, dan untuk ekstraksi minyak parfum dari tumbuhan. Campuran dipanaskan melalui uap air yang dialirkan ke dalam campuran dan mungkin ditambah juga

dengan pemanasan. Uap dari campuran akan naik ke atas menuju ke kondensor dan akhirnya masuk ke labu distilat.

## 2.6 Spektrofotometer UV/Vis

Spektrofotometer adalah alat untuk mengukur transmitan atau absorbansi suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang. Spektrofotometri merupakan salah satu metode dalam kimia analisis yang digunakan untuk menentukan komposisi baik secara kualitatif maupun kuantitatif yang didasarkan pada interaksi antara materi dengan cahaya.

Spektrofotometer UV-Vis merupakan gabungan antara prinsip spektrofotometri UV dan Visible. Alat ini menggunakan dua buah sumber cahaya yang berbeda, yaitu sumber cahaya UV dan sumber cahaya Visible. Larutan yang dianalisa diukur serapan sinar UV atau sinar tampaknya. Konsentrasi larutan yang dianalisa akan sebanding dengan jumlah sinar yang diserap oleh zat yang terdapat dalam larutan tersebut.

Cahaya yang dapat dilihat oleh manusia disebut cahaya terlihat atau tampak. Biasanya cahaya yang terlihat merupakan campuran dari cahaya yang mempunyai berbagai panjang gelombang, mulai dari 400 nm sampai 700 nm, seperti pelangi dilangit.

Dalam analisis secara spektrofotometer terdapat tiga daerah panjang gelombang elektromagnetik yang digunakan, yaitu:

- Daerah UV (panjang gelombang 380-380 nm)
- Daerah visible (panjang gelombang 380-700 nm)
- Daerah inframerah (panjang gelombang >700 nm )

Hubungan antara warna pada sinar tampak dengan panjang gelombang terlihat seperti tabel 4. Dalam tabel berikut ini tercantum warna dan warna komplementernya merupakan pasangan dari setiap dua warna dari spektrum yang menghasilkan warna putih jika dicampurkan.

Tabel 4. Warna dan warna komplementer

Panjang gelombang (nm)	Warna	Warna komplementer
400-435	Ungu	Hijau kekuningan
435-480	Biru	Kuning

480-490	Biru kehijauan	Jingga
490-500	Hijau kebiruan	Merah
500-560	Hijau	Ungu kemerahan
560-580	Hijau kekuningan	Ungu
595-610	Jingga	Biru kehijauan
610-680	Merah	Hijau kebiruan
680-700	Ungu kemerahan	hijau

Sumber: *Jobsheet* Kimia Analitik Instrumen, ( Rusdianasari, 2011 )

### 2.6.1 Penerapan Hukum Beer

Hukum Lambert-Beer menyatakan hubungan linieritas antara absorban dengan konsentrasi larutan analit dan berbanding terbalik dengan transmitan.

Dalam hukum Lambert-Beer tersebut ada beberapa pembatasan, yaitu :

- Sinar yang digunakan dianggap monokromatis.
- Penyerapan terjadi dalam suatu volume yang mempunyai penampang yang sama.
- Senyawa yang menyerap dalam larutan tersebut tidak tergantung terhadap yang lain dalam larutan tersebut.
- Tidak terjadi fluorensensi atau fosforisensi.
- Indeks bias tidak tergantung pada konsentrasi larutan.

Hukum Lambert-Beer dinyatakan dalam rumus sbb :

$$A = e \cdot b \cdot c$$

dimana :

A = absorban

e = absorptivitas molar

b = tebal kuvet (cm)

c = konsentrasi

Dapat terlihat bahwa jika kita melakukan pengukuran suatu unsur yang sama pada panjang gelombang yang sama dalam kuvet sampel yang sama pula, maka akan tampak hubungan linear antara absorbansi A dan konsentrasi c, selama absorpsivitas molar e dan tebal kuvet b konstan. Karena nilai b adalah tetap, maka ini adalah penerapan Hukum Beer. Oleh karenanya, jika suatu larutan dengan konsentrasi C1 menghasilkan absorbansi A1 maka larutan unsur yang sama dengan konsentrasi C2 (diukur pada kondisi yang sama) akan menghasilkan absorbansi A2 sehingga, konsentrasi dari larutan yang belum diketahui kemudian

dapat dihitung dengan mengukur absorbansi dari larutan yang diketahui konsentrasinya dan larutan yang belum diketahui konsentrasinya pada kondisi yang sama. Perhitungan dengan metode sederhana ini tidak mempertimbangkan ketidakpastian percobaan yang terlibat dalam persiapan larutan dan dalam pengukuran absorbansi. Oleh karena itu dalam praktek sangat dianjurkan untuk menyiapkan beberapa larutan dengan konsentrasi yang berbeda biasanya disebut larutan standar, kemudian diukur absorbansinya. Hasil pengukuran dibuat grafik kalibrasi absorbansi vs konsentrasi. Selanjutnya konsentrasi larutan yang belum diketahui dapat ditentukan dari grafik tersebut.

Dengan menggunakan grafik kalibrasi yang diperoleh dari beberapa standar dibanding dengan menggunakan satu standar, ketidakpastian analisa dapat dikurangi dan karenanya ketelitian akan sangat meningkat.

Perlu dicatat bahwa garis lurus pada grafik kalibrasi tidak akan diperoleh dengan cara mem-plot transmitans vs konsentrasi. Karena absorbansi dan transmitans dihubungkan oleh persamaan :

$$A = -\log T$$

maka tidak ada hubungan linear antara transmitans dan konsentrasi. Oleh karena itu jika hasil pengukuran berupa transmitans, maka harus diubah ke bentuk absorbansi agar dapat membuat kurva kalibrasi.

### 2.6.2 Pemilihan panjang gelombang untuk Analisa Kuantitatif

Dalam spektrometri molekular kuantitatif, pengukuran absorbansi atau transmitans dibuat berdasarkan satu seri (rangkai) larutan pada panjang gelombang yang telah ditetapkan. Panjang gelombang paling yang sesuai ditentukan dengan membuat spektrum absorpsi dimana panjang gelombang yang paling sesuai adalah yang menghasilkan absorbansi maksimum. Selanjutnya panjang gelombang ini digunakan untuk pengukuran kuantitatif.

Dengan menggunakan panjang gelombang dari absorbansi yang maksimum, maka jika terjadi penyimpangan (deviasi) kecil panjang gelombang dari cahaya masuk hanya akan menyebabkan kesalahan yang kecil dalam pengukuran tersebut. Jika panjang gelombang dipilih dari daerah spektrum di

mana ada suatu perubahan yang besar absorbansi dalam daerah (range) panjang gelombang yang sempit, maka jika terjadi penyimpangan (deviasi) kecil panjang gelombang dari cahaya masuk akan menyebabkan kesalahan yang besar dalam pengukuran absorbansi tersebut.

### 2.6.3 Tahapan Penentuan Kadar Sampel Secara Spektrofotometri

#### 1. Penentuan panjang gelombang maksimum

Definisi: panjang gelombang yang mempunyai absorbansi maksimal, dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari suatu larutan baku pada konsentrasi tertentu. Alasan mengapa dipergunakan panjang gelombang maksimum dalam pemeriksaan spektrofotometri, sbb :

- panjang gelombang max memiliki kepekaan maksimal karena terjadi perubahan absorbansi yang paling besar
- Pada panjang gelombang max bentuk kurva absorbansi memenuhi hukum Lambert-Beer

Hal yang perlu diperhatikan pada penentuan panjang gelombang maksimum sbb : Absorban yang terbaca pada spektrofotometer hendaknya antara 0,2 sampai 0,8 atau 15% sampai 70% jika dibaca sebagai transmitans. Anjuran ini berdasarkan anggapan bahwa kesalahan dalam pembacaan T adalah 0,005 atau 0,5% (kesalahan fotometrik).

#### 2. Penentuan Operating Time (OT)

Tujuan : untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil yaitu saat sampel bereaksi sempurna dengan reagen warna . Waktu kerja ditentukan dengan mengukur hubungan antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan.

#### 3. Pembuatan Kurva Larutan Baku Linier

Tujuan : untuk memperoleh persamaan larutan baku dalam penentuan kadar sampel. Tahapan yang diperlukan sbb :

- Dibuat seri larutan baku dari zat yang akan dianalisis dengan berbagai konsentrasi.

- Masing-masing absorbansi larutan dengan berbagai konsentrasi diukur pada panjang gelombang maksimal (berdasarkan hasil panjang gelombang maksimal yang diperoleh dari tahap 1) dan *Operating Time* (berdasarkan waktu yang diperoleh pada tahap 2)
- Membuat Kurva Larutan Baku yang merupakan hubungan antara konsentrasi (sumbu y) dan absorbansi (sumbu x)
- Bila hukum Lambert-Beer terpenuhi maka kurva baku berupa garis lurus
- Paling sedikit menggunakan 5 rentang konsentrasi yang meningkat yang dapat memberikan serapan linier
- Kemiringan atau slope adalah nilai  $\epsilon$  (absorptivitas molar)
- Nilai R antara 0,70 – 1,00 (pertanda terbentuk garis lurus linear pada rentang konsentrasi yang dibuat)

Apabila persyaratan pembuatan kurva baku di atas tidak terpenuhi maka penyimpangan dari garis lurus biasanya dapat disebabkan oleh: (i) kekuatan ion yang tinggi, (ii) perubahan suhu, dan (iii) reaksi ikutan terjadi.

#### 4. Penentuan Kadar Sampel

Penentuan kadar sampel metode regresi linier yaitu metode parametrik dengan variabel bebas (konsentrasi sampel) dan variabel terikat (absorbansi sampel) menggunakan persamaan garis regresi Kurva Larutan Baku. Konsentrasi sampel dapat dihitung berdasarkan persamaan kurva baku tersebut.

