

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Validasi Metode

Validasi metode merupakan tindakan dalam proses pembuktian percobaan bahwa parameter tersebut dapat memenuhi persyaratan. Secara umum, validasi metode berhubungan dengan alat dan metode. Di Indonesia telah ditetapkan standar SNI Sertifikasi ISO/IEC 17025:2017 untuk seluruh laboratorium agar terstandarisasi. Standarisasi ini dilakukan untuk penjaminan proses analisis dapat diandalkan dan dipertanggungjawabkan. Pada proses validasi dilakukan pada metode pengembangan atau metode tidak standar secara internal laboratorium. Parameter yang berperan dalam proses validasi metode, antara lain:

2.1.1 Linieritas

Linieritas adalah parameter awal metode analisis dalam memberikan respon senyawa secara langsung yang sesuai dengan konsentrasi sampel. Penetapan linieritas dilakukan dengan pengukuran absorbansi pada konsentrasi sampel minimal sebanyak lima konsentrasi dengan panjang gelombang maksimum (ICH, 2005). Nilai tersebut akan diproses secara statistika hingga memperoleh persamaan garis regresi linier dan koefisien determinasi. Persamaan garis regresi linier dinyatakan dalam $y = ax \pm b$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) yang baik yaitu mendekati +1 atau koefisien korelasi (R) sebesar $\geq 0,98$ (Kesehatan, 2020).

2.1.2 Akurasi

Akurasi merupakan ukuran derajat kedekatan hasil dengan baku yang sebenarnya. Akurasi atau ketepatan nilai dinyatakan dengan persentase *recovery* (perolehan kembali). Penetapan akurasi dapat dilakukan dengan tiga konsentrasi berbeda dengan tiga pengulangan setiap konsentrasi. Pada prosesnya dapat dilakukan dengan metode simulasi atau *spike-placebo recovery*. Metode kedua yaitu metode adisi dengan

penambahan senyawa uji kedalam sampel (Harmita, 2004). Penetapan nilai persen *recovery* menggunakan rumus:

$$\%Recovery = \frac{[C]_{sampel+spike} - [C]_{sampel}}{[C]_{spike}} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (2.1)$$

Persen *recovery* yang baik disesuaikan dengan konsentrasi senyawa uji. (AOAC, 2005)

Tabel 2.1 Persyaratan akurasi

Konsentrasi Senyawa	Rentang Nilai Perolehan Kembali (%)
100%	98-102
10%	98-102
1%	97-103
0.1%	95-105
100 ppm	90-107
10 ppm	80-110
1 ppm	80-110
100 ppb	80-110
10 ppb	60-115
1 ppb	40-120

2.1.3 Presisi

Presisi merupakan nilai kedekatan yang dilakukan secara berulang kali pada beberapa sampel atau sampel satu yang homogen. Nilai presisi dinyatakan sebagai Simpangan Baku Relatif (RSD). Uji presisi dibedakan menjadi tiga tingkat, yaitu:

1. *Repeatability*

Pengukuran presisi dengan kondisi analisis sama dengan perbedaan interval waktu yang pendek

2. *Intermediate precision*

Pengukuran presisi di laboratorium sama dengan perbedaan hari atau peralatan pengujian

3. *Reproducibility*

Pengukuran presisi dengan perbedaan analisis, alat dan laboratorium.

Secara umum, uji presisi yang sering dilakukan yaitu *Repeatability* dengan tiga konsentrasi berbeda atau menggunakan minimal enam pengulangan dengan konsentrasi larutan uji 100%. Nilai presisi yang baik tergantung pada kategori konsentrasi senyawa uji. Semakin tinggi presisi suatu metode uji, maka akan semakin rendah nilai RSD yang diperoleh (Ratnawati, Prasetya, & Rahayu, 2019). Penetapan presisi menggunakan rumus

$$SD = \frac{\sqrt{\sum(x - \bar{x})^2}}{n - 1}$$

$$RSD = \frac{SD}{x} \dots\dots\dots (2.2)$$

Tabel 2.2 Persyaratan Presisi

Persen Senyawa (%)	Rasio Senyawa	Konsentrasi Senyawa	RSD (%)
100	1	100%	1.3
≥ 10	10 ⁻¹	10%	2.7
≥ 1	10 ⁻²	1%	2.8
≥ 0.1	10 ⁻³	0.1%	3.7
0.01	10 ⁻⁴	100 ppm	5.3
0.001	10 ⁻⁵	10 ppm	7.3
0.0001	10 ⁻⁶	1 ppm	11
0.00001	10 ⁻⁷	100 ppb	15
0.000001	10 ⁻⁸	10 ppb	21
0.0000001	10 ⁻⁹	1 ppb	30

2.1.4 Limit of Detection (LoD)

Limit of Detection (LoD) atau batas deteksi merupakan parameter validasi metode yang digunakan untuk menentukan spesifisitas metode analisis pada sampel uji. Selain itu, parameter ini menunjukkan batas konsentrasi terkecil dari suatu senyawa pada sampel secara umum. Perlakuan diberikan dengan menghitung respon blanko beberapa kali lalu diubah menjadi nilai simpangan baku respon. Nilai *LoD* dianggap sebagai rasio pembacaan *noise* dengan perbandingan 3:1. Perhitungan nilai *LoD*

menggunakan statistika yang memanfaatkan persamaan regresi linier yang telah diperoleh. Sehingga dapat memanfaatkan perhitungan berikut:

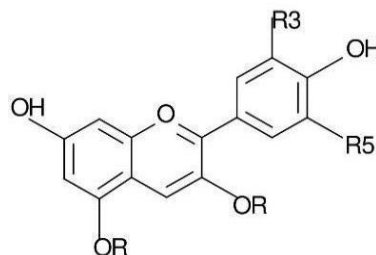
$$LoD = \frac{3 \times SD \text{ blanko}}{\text{slope}} \dots\dots\dots (2.3)$$

2.1.5 Limit of Quantitation (LoQ)

Limit of Quantitation (LoQ) atau batas kuantisasi merupakan parameter validasi metode yang menghasilkan nilai kuantitas terkecil senyawa dalam sampel yang telah memenuhi persyaratan akurasi dan presisi. Nilai *LoQ* tidak bisa dipisahkan dengan nilai *LoD*. Apabila kedua parameter ini menghasilkan nilai kecil maka sensitivitas instrumen bagus dan dapat menghasilkan analisis yang baik. Perbedaan antara keduanya yaitu rasio *signal* terhadap *noise* yang diidentifikasi yaitu 10:1. Sehingga proses penetapan nilai *LoQ* dapat memanfaatkan rumus:

$$LoQ = \frac{10 \times SD \text{ blanko}}{\text{slope}} \dots\dots\dots (2.4)$$

2.2 Antosianin



Gambar 2. 1 Struktur antosianin

Antosianin merupakan senyawa kimia golongan flavonoid yang terdapat pada berbagai polifenol tumbuhan. Antosianin merupakan senyawa dengan tiga atom karbon yang berikatan dengan atom oksigen untuk menghubungkan dua cincin benzena (C₆H₆) dengan struktur dasar berupa 2-fenil-benzofirilium yang berasal dari ion flavilium (Priska, Peni, Carvallo & Ngapa, 2019). Antosianin identik sebagai pigmen alami pada sel epidermis, bunga, buah, akar dan daun pada tumbuhan. Antosianin khas dengan warna merah, biru dan ungu tergantung pada lingkungannya. Antosianin yang ditemukan di tanaman yaitu dalam bentuk senyawa sianidin, peonidin, delphinidin, malvidin dan petunidin. Senyawa antosianin

memiliki kelarutan pada pelarut polar yang telah dikondisikan asam dengan asam format maupun asam klorida. Stabilitas antosianin pada kondisi pH asam dan suhu 50°C. Pada pH asam yang stabil warna antosianin menjadi merah, pada pH netral antosianin berwarna ungu dan pada kondisi basa antosianin berwarna hijau. Dengan sifat inilah antosianin sering dimanfaatkan sebagai indikator pH (Rismiarti, 2022). Perubahan warna antosianin yang disebabkan oleh pH larutan dikarenakan antosianin memiliki struktur ionik. Ketika pada kondisi asam atau penambahan gugus metoksi pada struktur yang ditandai adanya warna merah disebabkan oleh kation flavilium yang terbentuk. Ketika larutan memiliki kondisi basa dengan penambahan gugus hidroksil pada struktur antosianin, dapat ditandai dengan larutan yang berubah menjadi biru menunjukkan adanya proses deprotonasi kation flavilium (Ifadah, Wiratara, & afgani, 2021). Warna yang muncul inilah yang dapat terdeteksi oleh Spektrofotometri *UV-Vis* karena adanya gugus kromofor yang terikat pada antosianin. Penyerapan cahaya umumnya terjadi pada daerah sinar tampak (*Visible*).

2.3 Ubi Jalar Ungu



Gambar 2.1 Ubi jalar ungu

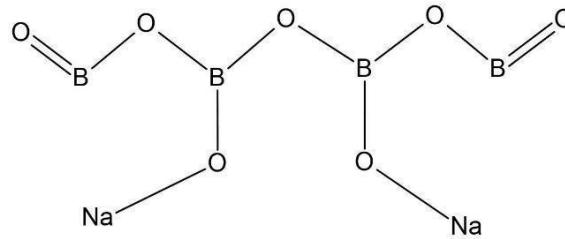
Ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L.) merupakan salah satu sumber makanan pokok yang dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia. Tanaman ini berasal dari Amerika, tetapi diperluas di seluruh dunia sebagai bahan pokok karbohidrat pengganti nasi (Atmaka, 2017). Ubi jalar ungu sering dikonsumsi sebagai makanan tradisional dengan diolah sebagai ubi rebus, ubi goreng, kolak, dan lainnya. Ubi jalar ungu banyak ditemui di daerah Jawa Timur, Jawa Tengah, Yogyakarta dengan khas rasa manisnya.

Ubi jalar ungu dapat tumbuh menjalar pada permukaan tanah dataran tinggi maupun rendah. Tanaman ini dapat tumbuh hingga mencapai 3 m dengan daun berbentuk bulat melebar. Batang dari ubi jalar ungu tidak berkayu tetapi beruas sepanjang kurang lebih 3 cm. Setiap ruas dari batang terdapat daun. Batang ubi jalar ungu dapat tumbuh menjalar dengan arah keatas tumbuh tunas baru dan arah kebawah dapat tumbuh akar. Akar serabut ini akan berkembang menjadi umbi akar dengan fungsi sebagai tempat penyimpanan cadangan makanan (Ula, Insani, Sulistiono, & Rahmawati, 2024). Ubi jalar memiliki taksonomi tanaman sebagai berikut (Fatimatuzahra, 2019):

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Asteridae
Ordo	: Solanales
Famili	: Convolvulaceae
Genus	: <i>Ipomoea</i>
Spesies	: <i>Ipomoea batatas L.</i>

Ubi jalar ungu selain dikenal sebagai sumber karbohidrat tinggi, juga memiliki kandungan vitamin dan antioksidan tinggi. Ubi jalar ungu memiliki sumber vitamin C dan antosianin yang tinggi. Kandungan antosianin yang tinggi ini dapat dilihat secara langsung dari kulit dan daging umbi yang berwarna ungu pekat. Warna ungu pekat inilah yang menjadi daya tarik khusus dari ubi jalar ungu. Kepekatan warna ungu dari ubi jalar ungu tergantung dari kadar antosianin dari kulit maupun daging ubi jalar ungu. Kadar antosianin ubi jalar ungu berkisar antara 61,85 mg/100g hingga 110,51 mg/100 g dalam kondisi basah (Husna, 2013) (Ginting E, 2015). Selain itu kadar antosianin pada kulit ubi jalar ungu juga dapat mencapai 119,65 mg/100g (Devitria, Elfia, & Sarwis, 2023). Sehingga kadar tertinggi antosianin pada tumbuhan ubi jalar ungu terdapat pada kulitnya.

2.4 Boraks



Gambar 2.3 Struktur boraks

Boraks dengan rumus molekul $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ merupakan senyawa kimia berbentuk padatan putih yang tidak berbau dan tidak berwarna dengan rasa sedikit asam. Boraks merupakan turunan dari logam boron (B).

Detail sifat kimia dan fisika boraks (Nasional P. I., 2024):

Nama IUPAC	: <i>Sodium Tetraborate Decahydrate</i>
Berat molekul	: 381,372 g/mol
Bentuk	: kristal putih
Titik didih	: 608 °F
Titik leleh	: 75 °C (terurai)
<i>Specific gravity (sg)</i>	: 1,73 g/cm ³
Tingkat keasaman	: 9,3 (suhu 20°C)
Toksistas	: kerusakan mata/iritasi mata (12%) Toksistas reproduksi/ganggu kesuburan (93,2%)
Kelarutan	: mudah larut dalam air, gliserol, dan aseton; Tidak larut dalam alcohol

Boraks umumnya digunakan pada industri non pangan yaitu sebagai pengawet, campuran detergen, pemutih kertas, dan bagian dari solder. Selain itu boraks juga dapat membunuh mikroba. Sifat ini diperoleh dari sifat asam borat yang merupakan senyawa organik lemah (Azmi, Masri, & Rasyid, 2018). Pada produk pangan terutama kerupuk penggunaan boraks masih lazim. Padatan boraks yang masih terjual bebas disebut sebagai uyah bleng. Uyah bleng merupakan padatan garam (60%) dengan tambahan boraks sebanyak 12%, natrium karbonat sebanyak 28%

dan mineral (besi dan kalsium) sebanyak 0,4% (Setyowati, 2010). Penambahan uyah bleng pada produk pangan memberikan efek cita rasa gurih dan memperbaiki tekstur. Pengaruh inilah yang menjadikan masyarakat senang mengkonsumsi produk pangan tersebut. Ciri-ciri produk pangan mengandung boraks (Earnestly, et al., 2023):

1. Memiliki tekstur kenyal pada produk mie dan bakso,
2. Memiliki tekstur renyah pada kerupuk,
3. Bau khas yang menyengat,
4. Terdapat rasa getir,
5. Tidak mudah busuk pada suhu ruang.

2.5 Kerupuk Puli

Kerupuk merupakan salah satu produk pangan kering berbahan dasar pati dengan atau tanpa penambahan bahan tambahan lainnya. Kerupuk merupakan makanan yang sangat digemari oleh masyarakat Indonesia sebagai pendamping makanan atau hanya sebagai camilan. Setiap kerupuk memiliki ciri khas masing-masing, mulai dari bahan dasar, bahan campuran hingga bentuk yang beragam. Ciri khas ini mempengaruhi warna rasa, bau, kerenyahan dan kandungan gizi. Dengan ciri khas tersebut kerupuk dapat meningkatkan selera makan seseorang (Rosiani, 2015). Pengembangan produk kerupuk yang khas dari Indonesia sudah dilakukan hingga menyebar di masyarakat luar negeri dengan penambahan variasi pada rasa dan bentuk. Hal ini dapat meningkatkan minat masyarakat dalam dan luar negeri. Sehingga ekonomi masyarakat Indonesia semakin berkembang diikuti dengan perkembangan produk kerupuk yang meluas (Adila, 2022).

Salah satu kerupuk yang digemari oleh masyarakat adalah kerupuk puli. Kerupuk puli sering dikenal sebagai kerupuk beras atau kerupuk gendar. Penyebaran kerupuk puli saat ini sudah sangat meluas, dan mudah didapatkan mulai di area pasar, tempat makan hingga *online shop*. Kerupuk ini berbahan dasar beras putih yang ditambahkan bahan lainnya seperti garam, bleng, dan bawang putih (Maharani & Sofianti, 2016).

Produksi kerupuk puli umumnya dilakukan oleh industri rumah tangga sehingga pengawasan yang diberikan sedikit kurang. Pembuatan kerupuk puli dimulai dari pengukusan beras hingga berubah menjadi nasi. Nasi matang ditambahkan bahan tambahan hingga merata. Adonan yang rata tersebut dikukus kembali diatas pengukus untuk memaksimalkan campuran adonan tetapi harus dipastikan adonan tidak terlalu cair. Adonan yang selesai dikukus didinginkan di suhu ruang sambil ditumbuk hingga halus menggunakan alu yang telah dilapisi plastik minyak agar tidak lengket. Kemudian adonan diambil secukupnya membentuk bulatan dan dipipihkan. Adonan pipih dijemur di bawah sinar matahari secara langsung. Pengeringan adonan hingga menjadi kerupuk kering kurang lebih selama 2 hari dengan intensitas sinar matahari yang tinggi. Dengan kondisi kering ini, kerupuk puli umumnya dapat langsung digoreng tanpa dijemur kembali (Suhartatik & Wulandari, 2018).

Menurut SNI 01-4307-1996, kerupuk puli atau kerupuk beras merupakan salah satu produk pangan kering yang terbuat dari beras yang telah diproses dengan penambahan garam dan bahan tambahan makanan yang diizinkan lainnya, baik dalam bentuk mentah maupun produk konsumsi sudah digoreng. Persyaratan mutu menurut SNI 01-4307-1996 tentang kerupuk beras yaitu:

Tabel 2.3 SNI 01-4307-1996

No.	Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan	
			Mentah	Digoreng
1	Keadaan			
1.1	Bau	-	Normal	Normal
1.2	Rasa	-	Normal	Normal
1.3	Warna	-	Normal	Normal
1.4	Kenampakan	-	Renyah	Renyah
1.5	Keutuhan	%b/b	Min.95	Min.95
2	Benda Asing		Tidak Ada	Tidak Ada

3	Air	%b/b	Maks.12	Maks.8
4	Abu Tanpa Garam	%b/b	Maks.1	Maks.1
5	Bahan Tambahan			
5.1	Pewarna		Sesuai SNI 01-0222-1995 & Peraturan Menkes No. 722/MENKES/Per/IX/88	
5.2	Boraks		Tidak Ternyata	Tidak Ternyata
6	Cemaran Logam			
6.1	Timbal (Pb)	mg/kg	Maks. 2,0	Maks. 2,0
6.2	Tembaga (Cu)	mg/kg	Maks. 30,0	Maks. 30,0
6.3	Timah (Sn)	mg/kg	Maks. 40,0	Maks. 40,0
6.4	Seng (Zn)	mg/kg	Maks. 40,0	Maks. 40,0
6.5	Raksa (Hg)	mg/kg	Maks. 0,03	Maks. 0,03
6.6	Arsen (As)	mg/kg	Maks. 1,0	Maks. 1,0
7	Cemaran Mikroba			
7.1	Lempeng Total	Koloni/g	Maks. 106	Maks.105
7.2	E.Coli	APM/g	<3	<3
7.3	Kapang	Koloni/g	Maks. 105	Maks. 104

2.6 Bahan Tambahan Pangan

Bahan tambahan pangan (BTP) merupakan bahan atau campuran bahan yang digunakan dalam proses produksi pangan yang tidak digunakan sebagai bahan baku produk. Bahan tambahan makanan sengaja ditambahkan pada beberapa produk pangan ketika proses produksi, penyimpanan hingga pendistribusian produk sebelum sampai ke konsumen.

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan (Permenkes) Nomor 033 Tahun 2012, bahan tambahan pangan atau yang disingkat sebagai BTP merupakan bahan yang ditambahkan dalam produk pangan untuk

mempengaruhi sifat maupun bentuk produk pangan. Pengaruh yang diberikan oleh bahan tambahan pangan yaitu perubahan warna, rasa, tekstur, dan beberapa sifat ketika produksi pangan. Pada peraturan tersebut dinyatakan dua jenis bahan yang harus dipatuhi oleh produsen pangan. Terdapat aturan bahan tambahan pangan yang diizinkan dengan jumlah tertentu. Golongan yang umum di kalangan masyarakat, antara lain:

1. Antioksidan, yang dimanfaatkan sebagai pencegah atau penghambat kerusakan pangan akibat oksidasi.
2. Pemanis, yang dimanfaatkan sebagai tambahan rasa manis pada produk pangan. Pemanis sendiri dibedakan menjadi pemanis sintetis dan pemanis alami.
3. Pengawet, yang dimanfaatkan sebagai pencegah atau penghambat proses fermentasi, penguraian dan perusakan pada suatu produk yang disebabkan oleh mikroorganisme atau kontaminan.
4. Perisa, dimanfaatkan sebagai penambah bau dan rasa tertentu tanpa mempengaruhi rasa produk. Perisa ini dibagi menjadi 3 yaitu perisa alami, perisa identik alami dan perisa artifisial.
5. Pewarna, dimanfaatkan sebagai penambah dan perbaikan warna pada suatu produk pangan agar terlihat dan stabil. Pewarna dibagi menjadi pewarna alami dan pewarna sintetis.

Selain diatas, masih ada beberapa bahan tambahan lainnya yang diatur dalam peraturan tersebut. Penggunaan bahan tambahan yang diizinkan ini memiliki tujuan tertentu. Walaupun seperti itu, penggunaan bahan tambahan tetap harus sesuai dengan batas. Pada Peraturan Badan Pengawas Obat Dan Makanan Nomor 11 Tahun 2019 Tentang Bahan Tambahan Pangan Tahun 2019 Tentang Bahan Tambahan Pangan lampiran II telah dinyatakan batas maksimum semua bahan tambahan yang diizinkan.

Pada Peraturan Menteri Kesehatan (Permenkes) Nomor 033 Tahun 2012 juga menyatakan bahan yang dilarang sebagai bahan tambahan pangan di bagian lampiran II. Bahan tersebut antara lain:

1. Asam borat (*boric acid*)
2. Asam salisilat (*Salicylic acid*)
3. Dietilpirokarbonat (*DEPC*)
4. Formalin (*Formaldehyde*)
5. Kalium bromat (*Potassium bromate*)
6. Kalium klorat (*Potassium chlorate*)
7. Kloramfenikol (*Chloramphenicol*)
8. Kokain (*Cocaine*)
9. Nitrobenzen (*Nitrobenzene*)
10. Dulkamara (*Dulcamara*)

Bahan yang dilarang sebagai bahan tambahan pangan ini juga dinyatakan lebih detail pada peraturan Badan Pengawas Obat Dan Makanan Nomor 22 Tahun 2023 Tentang Bahan Baku Yang Dilarang Dalam Pangan Olahan dan Bahan yang Dilarang Digunakan Sebagai Bahan Tambahan Pangan. Pada peraturan ini juga menjelaskan mengenai bahan baku nabati maupun hewani yang dilarang secara mendetail diikuti dengan bagian yang dilarang.

2.7 Spektrofotometer *UV-Vis*

Spektrofotometer *UV-Vis* merupakan instrumen atau serangkaian alat yang digunakan untuk mengukur serapan cahaya yang bekerja pada sinar *ultraviolet* (200-400 nm) dan daerah sinar tampak atau *visible* (400-750 nm). Metode spektrofotometri ini memanfaatkan komponen spektrometer yang berperan sebagai penghasil sinar pada panjang gelombang tertentu dan fotometer yang berperan sebagai pengukur intensitas cahaya yang telah ditransmisikan, diemisikan dan diabsorpsi (Jami, Nuri, & Subhiyah, 2021). Sehingga metode Spektrofotometri *UV-Vis* merupakan instrumen pengukuran panjang gelombang dan intensitas absorbansi sampel dengan pemanfaatan sinar *ultraviolet* dan *visible*.

Prinsip yang bekerja pada Spektrofotometer *UV-Vis* yaitu interaksi antara molekul dan cahaya. Prinsip yang bekerja pada instrumen ini yaitu hukum *Lambert-Beer*. Cahaya yang masuk melewati sampel akan diserap dengan bantuan panjang gelombang yang ditentukan. Sinar akan terpecah

menjadi dua, yaitu sinar akan diserap oleh sampel dan sinar lainnya akan diteruskan yang dideteksi sebagai nilai absorbansi. Hasil absorbansi yang dihasilkan menunjukkan jumlah intensitas cahaya yang terserap oleh sampel dan sebanding dengan konsentrasi serta kadar sampel (Ahriani, Zelviani, Hernawati, & Fitriyanti, 2021).

Instrumen Spektrofotometer *UV-Vis* terbagi menjadi dua tipe yaitu *single-beam* dan *double-beam*. Pada spektrofotometer *single-beam* dimanfaatkan dalam pengukuran absorbansi dengan panjang gelombang tunggal antara 190-1000 nm. Sedangkan pada instrumen *double-beam* memiliki dua sinar yang terbentuk dari pemecah sinar dengan panjang gelombang 190-750 nm (Abriyani, Sephia, Srifitriani, Lustianah, & Khafina, 2023). Rangkaian alat dari Spektrofotometer *UV-Vis* terdiri atas:

1. Sumber cahaya

Sumber cahaya merupakan kunci penting dari Spektrofotometer *UV-Vis*. Sumber cahaya digunakan yaitu lampu deuterium dengan pembacaan di daerah sinar 180-350 nm dan lampu tungsten yang memanfaatkan daerah sinar antara 350-900 nm.

2. Monokromator

Monokromator merupakan bagian Spektrofotometer *UV-Vis* yang berperan sebagai media penyeleksi dari sinar polikromatis berubah menjadi sinar monokromatis dengan panjang gelombang tertentu. Pemisahan ini kemudian difokuskan ke fotodetektor secara berurutan. Sinar akan masuk melalui celah optik kemudian dipisahkan dengan bantuan bagian prisma menjadi sinar monokromatis. Sinar yang keluar akan mengarah dengan panjang gelombang tertentu ke kuvet berisi sampel.

3. Kuvet sampel

Kuvet berperan sebagai wadah sampel uji yang harus transparan. Kuvet umumnya terbuat dari kuarsa atau silika maupun bahan kimia yang tidak bereaksi.

4. Detektor

Detektor memiliki peran sebagai penangkap sinar yang berinteraksi dengan sampel yang kemudian diubah menjadi sinyal listrik oleh amplifier sehingga diperoleh nilai pengukuran di *recorder*. Detektor yang umumnya digunakan adalah *photodetector*.

Nilai absorbansi dari sampel dianggap baik jika memenuhi rentang 0.2 hingga 0.8 berdasarkan hukum *Lambert-Beer*. Pada penggunaan instrumen Spektrofotometer *UV-Vis* harus memperhatikan larutan dan senyawa yang diuji. Larutan uji harus berwarna karena sifatnya sensitif terhadap cahaya yang ditransmisikan sehingga nilai absorbansi sebagai penggambaran kandungan senyawa akan mudah terdeteksi. Selain itu, senyawa ada larutan uji harus memiliki gugus kromofor dan auksokrom. Kedua gugus ini dapat menyerap sinar *ultraviolet* dan *visible* dengan baik. Sehingga kedua persyaratan ini harus dipenuhi untuk pengujian menggunakan instrumen Spektrofotometer *UV-Vis* (Chan, 2023)