

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. Protein**

Protein (menurut bahasa Yunani *proteios* yang berarti "pertama" atau "utama") adalah senyawa organik kompleks berbobot tinggi yang merupakan polimer dari monomer-monomer asam amino yang dihubungkan satu sama lain dengan ikatan peptide. Protein merupakan makromolekul yang menyusun lebih dari separuh bagian sel. Protein menentukan ukuran dan struktur sel, sebagai komponen utama dari system komunikasi antara sel, serta sebagai katalis berbagai reaksi biokimia di dalam sel. Sebagian besar aktivitas penelitian biokimia tertuju pada protein khususnya hormone, antibody dan enzim (Rais et al., 2017). Sedangkan menurut (Kementerian Kesehatan RI, 2010) Protein darah adalah protein yang ada didalam darah, tetapi tidak berhubungan secara fisik dengan sel darah, seperti albumin serum, globulin dan factor koagulasi. Protein total merupakan plasma protein yang disintesa di sel parenkim, hati, sel plasma, kelenjar limfe dan limpa dan sumsum tulang.

##### **2.1.1. Metabolisme Protein**

Protein merupakan salah satu makronolekul kompleks yang terdapat pada tubuh organisme yang berperan sebagai reseptor pensinyalan sel, enzim, hormone, saluran ion, oksigen, pengangkut CO<sub>2</sub> pada hemoglobin, pembentuk otot, pengoikat jaringan dan sebagainya. Secara metabolic protein dapat berfungsi sebagai sumber energi dalam

bentuk glukosa dan trigliserida. Berdasarkan strukturnya, protein terbagi atas 4 struktur utama yakni struktur primer, sekunder, tersier dan kuartener (Whitford, 2013). Struktur – struktur tersebut tersusun atas sejumlah residu senyawa asam amino yang membentuk ikatan peptide dan memberikan ciri khusus pada setiap struktur protein. Meskipun tubuh organisme secara interna dapat melakukan sintesis protein dari asam amino, namun perlu diketahui bahwa secara biologis residu asam amino essential dapat diperoleh dari makanan. Sintesis asam amino sangat penting bagi tubuh manusia. Setelah disintesis atau dicerna, asam amino digunakan sebagai salah satu sumber penyusun makromolekul protein dalam tubuh. Tidak hanya untuk protein tetapi juga untuk beberapa makromolekul protein dalam tubuh. Tidak hanya untuk protein tetapi juga untuk beberapa molekul biologis penting lainnya seperti asam nukleat (purin dan pirimidin), hormone, neurotransmitter, antioksidan dan berbagai molekul pemberi sinyal. Salah satu contoh proses katabolisme protein ialah ketika makanan (sumber protein) terdistribusi dilambung dan terjadi reaksi secara enzimatik (enzim pepsin dan asam klorida (HCl:0,5%) yang akan menghasilkan pH lambung berkisar antara pH 1,5-3,5 (kondisi asam) (Gropper et al., 2012).

### **2.1.2. Fungsi dan Peranan protein**

Protein mempunyai beberapa fungsi protein:

- a) Membentuk jaringan dalam masa pertumbuhan dan perkembangan tubuh.

- b) Memelihara jaringan tubuh, memperbaiki serta mengganti jaringan yang rusak atau mati.
- c) Menyediakan asam amino yang diperlukan untuk membentuk enzim pencernaan dan metabolisme serta antibody yang diperlukan.
- d) Mengatur keseimbangan air yang terdapat dalam 3 kompartemen, yaitu intraseluler, ekstraseluler/intraseluler dan intravaseluler (Adriani & Wirjatmadi, 2012).

Namun menurut (Kurniawan, 2014), terlalu banyak mengonsumsi protein hewani akan menyulitkan sistem pencernaan untuk terurai dan menyerap secara sempurna, karena sisa makanan yang tidak dapat diserap tubuh akan menumpuk dan membusuk di usus. Racun yang terakumulasi oleh sisa makanan dinetralkan oleh hati. Kondisi ini menyebabkan sebagian besar enzim di usus dan hati kehabisan energi hanya untuk melindungi tubuh dari racun di saluran pencernaan. Tubuh kehilangan protein yang akan terbuang melalui urin.

Fungsi Protein Protein memegang peran penting dalam hampir semua proses biologi. Berdasarkan (Stryer, 1995; Sutedjo, 2013) beberapa fungsi protein adalah sebagai berikut :

- a) Katalisis enzimatis Hampir semua reaksi kimia dalam sistem biologi dikatalisis oleh enzim, enzim ini berfungsi untuk mempercepat reaksi yang terjadi didalam tubuh. Fakta menunjukkan bahwa hampir semua enzim yang dikenal adalah protein.

- b) Media Transport Berbagai molekul kecil dan ion ditransport oleh protein spesifik, misalnya transport oksigen dalam eritrosit oleh hemoglobin dan mioglobin suatu protein sejenis yang menstansport oksigen ke dalam otot.

Konsentrasi Total Protein Pengukuran konsentrasi protein total dari serum atau plasma merupakan pemeriksaan laboratorium yang sangat penting dan ikut memberikan gambaran tentang keadaan kesehatan umum seseorang. Hal ini didasarkan oleh kenyataan, bahwa seluruh protein plasma atau serum disintesis dan dikeluarkan oleh beberapa organ tertentu (Sadikin, 2002). Kadar protein total dalam serum orang berkisar antara 6 sampai 8,2 g/dL sedangkan kadar protein plasma lebih tinggi kira-kira 0,3 g/dL sebab mengandung fibrinogen. (Heraramanita, 2017)

Kadar total protein dalam serum dapat berubah. Perubahan ini selalu terjadi sebagai perwujudan suatu kelainan fisiologis di dalam tubuh. Penurunan konsentrasi protein total di dalam serum terjadi karena keluarnya protein tersebut secara patologis dari dalam tubuh. Sebaliknya, kenaikan konsentrasi protein total di dalam serum biasanya terjadi karena proses dehidrasi atau kehilangan air karena berbagai sebab, sehingga terjadi pemekatan. Berdasarkan Sutedjo (2013) kondisi-kondisi yang menyebabkan abnormalitas nilai total protein dalam serum adalah sebagai berikut:

- a. Penurunan total protein, disebabkan oleh malnutrisi, kelaparan, malabsorpsi, penyakit hati berat, kanker usus, luka bakar berat, gagal ginjal kronik, dan ulkus ulserativa.
- b. Peningkatan total protein, disebabkan oleh kondisi seperti dehidrasi, muntah, diare, dan multiple mieloma.

## **2.2. Pemeriksaan Protein total**

Protein total adalah suatu pengukuran kuantitatif konsentrasi dari seluruh protein yang terdapat pada serum tetapi tidak termasuk faktor pembekuan, yaitu albumin dan globulin. Tes protein total berguna untuk mengukur jumlah total dari berbagai jenis protein dalam darah. Konsumsi protein yang berlebihan akan meningkatkan kadar protein total pada darah dan akan berdampak buruk bagi tubuh, diantaranya gangguan pada tulang dan homeostasis kalsium, kelainan dari fungsi ginjal, peningkatan resiko kanker dan fungsi hati lainnya (Delimaris, 2013).

### **2.2.1. Sampel Pemeriksaan Protein Total**

Menurut (Mutiara, 2018), sampel yang akan diuji protein totalnya adalah serum. Serum adalah cairan bening yang dipisahkan dari sel darah menggunakan centrifuge. Bagian cairan darah biasanya mengandung sel darah merah, sel darah putih, dan trombosit. Serum juga tidak mengandung faktor pembekuan karena serum merupakan plasma bebas fibrinogen. Cara pengambilan serum adalah: Siapkan sampel darah dalam tabung dan biarkan selama 15 menit untuk mengalami pemisahan

atau pembekuan, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Lapisan transparan berwarna kuning muda di atas adalah serum tipe. Kemudian pisahkan serum ke dalam tabung lain atau aliquoting. Stabilitas sampel selama 6 hari jika disimpan pada suhu 20 – 25C, dan stabil selama 4 minggu jika disimpan pada suhu 4-8C dan stabil dalam 1 tahun jika disimpan pada keadaan beku disuhu 20 C. Jangan gunakan spesiemen dalam keadaan beku atau terkontaminisasi (Insert Kit 2016 (PANGISTU, 2019).

### **2.2.2. Metode Pemeriksaan Protein Total**

Menurut (Raharjo et al., 2017), analisis protein dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu kualitatif dan kuantitatif. Analisis protein kualitatif dilakukan dengan menggunakan reaksi Xantoprotein, reaksi Hopkins-Cole, reaksi Millon, reaksi Nitropusida dan reaksi Sakaguchi, sedangkan analisis protein kuantitatif dilakukan dengan menggunakan metode Kjeldahl, titrasi formalin, metode metode Lowry, metode spektrofotometri tampak (Biuret) dan UV metode spektrofotometri UV.

#### **a. Metode Kualitatif:**

##### **1. Xantoprotein**

Larutan asam nitrat pekat ditambahkan dengan hati-hati ke dalam larutan protein. Setelah tercampur akan terbentuk endapan putih yang dapat menguning jika dipanaskan. Reaksi yang terjadi adalah nitrasi cincin benzena pada molekul protein. Reaksi ini positif untuk protein yang mengandung tirosin, fenilalanin, dan triptofan.

## **2. Hopkins – Cole**

Larutan protein yang mengandung triptofan dapat bereaksi dengan pereaksi Hopkins-Cole yang mengandung asam glioksilat. Reagen ini dibuat dari asam oksalat dengan bubuk magnesium dalam air. Setelah dicampur dengan pereaksi Hopkins-Cole, asam sulfat dituangkan secara perlahan hingga membentuk lapisan di bawah larutan protein. Sesaat kemudian, akan muncul cincin ungu di batas antara kedua lapisan tersebut.

## **3. Millon**

Reagen Millon merupakan larutan merkuri dan merkuri nitrat dalam asam nitrat. Reagen ini bila ditambahkan ke dalam larutan protein akan menghasilkan endapan berwarna putih, yang bila dipanaskan panas dapat berubah menjadi merah. Reaksi ini pada dasarnya positif untuk fenol karena mengarah pada pembentukan senyawa merkuri dengan gugus hidroksifenil berwarna.

## **4. Nitropusida**

Dalam larutan amonia akan menghasilkan warna merah dengan protein yang mempunyai gugus -SH bebas. Oleh karena itu, protein yang mengandung sistein dapat memberikan hasil yang positif.

## **5. Sakaguchi**

Reagen yang digunakan adalah naftol dan natrium hipobromit. Pada, reaksi ini pada dasarnya positif jika terdapat gugus guanidin.

Oleh karena itu, protein yang mengandung arginin atau arginin dapat menghasilkan warna merah.

## **b. Metode Kuantitatif:**

### **1. Metode Kjeldahl**

Metode ini merupakan metode sederhana untuk penentuan nitrogen total dalam asam amino, protein dan senyawa yang mengandung nitrogen. Sampel dicerna dengan asam sulfat dan dikatalisis dengan katalis yang sesuai untuk menghasilkan amonium sulfat. Setelah alkali dihilangkan secara intensif, amonia yang terbentuk disuling secara kuantitatif dengan uap ke dalam larutan serapan dan ditentukan dengan titrasi.

### **2. Metode Biuret**

Karena asam amino dihubungkan satu sama lain melalui ikatan peptida. Perubahan dari biru menjadi merah muda dalam larutan bertindak sebagai indikator ikatan protein dan peptida dalam sampel. Uji Biuret digunakan untuk mendeteksi senyawa dengan ikatan peptida. Reagen biuret dapat digunakan untuk menguji sampel berair. Jadi, uji biuret digunakan untuk mendeteksi protein. Hal ini karena protein terdiri dari polipeptida, yang selanjutnya terbuat dari asam amino yang dihubungkan melalui ikatan peptida.

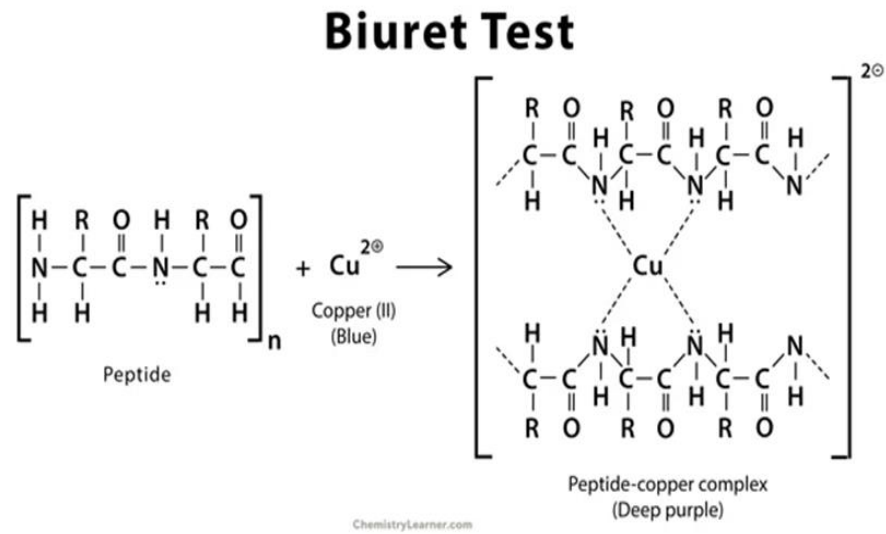
- Warna ungu pucat atau merah muda menunjukkan rantai polipeptida yang lebih pendek atau ikatan peptida yang lebih sedikit.

- Semakin panjang rantai polipeptida, semakin banyak ikatan peptida yang ada, sehingga warna ungu akan semakin pekat ketika uji biuret dilakukan.
- Hasil negatif (kurangnya pembentukan warna ungu) dapat berarti kekurangan protein, atau adanya asam amino bebas (tanpa ikatan peptida).

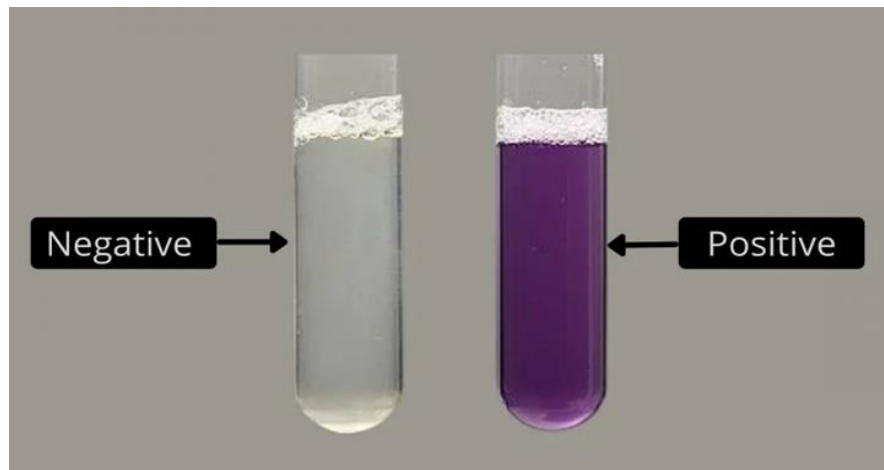
Perhatikan bahwa pengujian ini memberikan hasil positif untuk senyawa apa pun yang mengandung dua gugus karbonil yang terikat pada atom nitrogen atau karbon. Jadi, ini mungkin tidak sepenuhnya spesifik terhadap protein. Melakukan tes protein lainnya mungkin diperlukan.

Prinsip Uji Biuret Mekanisme tembaga (II) berikatan dengan atom nitrogen peptida protein. Ion tembaga (II) bereaksi dengan nitrogen peptida untuk menggantikan hidrogen peptida (selama lingkungan cukup basa).

Kompleks khelat terbentuk ketika empat atom nitrogen menyumbangkan pasangan elektron bebas untuk menciptakan ikatan kovalen koordinat dengan ion kupri. Cahaya 540nm menyerap kompleks khelat ini, mengubahnya menjadi ungu. Protein dalam analit menghasilkan kompleks berwarna ungu. Warna ungu berasal dari konsentrasi ikatan peptida analit.



*Gambar 2. 1 Rumus Metode Biuret*



*Gambar 2. 2 Hasil Positif dan Negatif Reaksi Biuret*

Reagen adalah NaOH kemudian tambahkan larutan  $\text{CuSO}_4$  encer. Pengujian ini dimaksudkan untuk menunjukkan adanya senyawa yang mengandung gugus Amida yang bersifat asam dan terdapat bersama dengan Gugus amida yang lain. Uji ini memberikan reaksi positif, ditandai dengan munculnya warna merah-ungu atau biru-ungu. Terbentuknya bahan kimia tertentu dalam larutan protein pada akhirnya dapat menyebabkan larutan protein yang awalnya

tidak berwarna menjadi berwarna. Reaksi pewarnaan protein sering digunakan untuk menunjukkan adanya satu atau lebih protein spesifik, meskipun beberapa reaksi ini tidak spesifik karena beberapa zat lain dengan reagen yang sama memberikan hasil yang serupa. Pengujian protein total menggunakan metode biuret yang prinsipnya ion tembaga akan bereaksi dengan protein dalam lingkungan basa membentuk kompleks berwarna ungu. Absorbansi kompleks ini sebanding dengan konsentrasi protein dalam sampel.

### **2.2.3. Kesalahan dalam Pemeriksaan Protein Total**

Menurut (Raharjo et al., 2017) menyatakan bahwa hasil pemeriksaan dapat dipengaruhi oleh beberapa hal, yaitu:

#### 1. Pra – analitik

Merupakan kesalahan yang dapat mempengaruhi hasil sebelum sampel si pasien diperiksa, yang meliputi proses pengambilan sampel dan kondisi sampel.

#### 2. Analitik

Adalah suatu kesalahan yang dapat menyebabkan hasil pada saat pengukuran, seperti:

##### a. Prosedur Pemeriksaan

Pada saat pemeriksaan, pemeriksaan yang dilakukan sudah harus sesuai dengan Standar Prosedur Operasional atau SPO

b. Kondisi Reagen

Reagen yang digunakan harus sudah tervalidasi, tidak melewati masa kadaluarsa dan prosedur penyimpanan reagen tersebut.

c. Kemampuan Petugas

Petugas yang melakukan pemeriksaan harus sudah memiliki sertifikat kompetensi.

d. Alat

Peralatan yang digunakan harus sudah terkalibrasi dan dilakukan *Quality Control* secara rutin.

e. Kondisi lingkungan

Ruang Laboratorium cukup untuk menampung peralatan yang digunakan, aktifitas dan jumlah petugas yang berhubungan dengan specimen atau pasien untuk kebutuhan laboratorium.

3. Pasca – Analitik

Adalah kesalahan yang terjadi setelah kedua proses diatas dilakukan

a. Verifikasi hasil

Kesalahan ini terjadi ketika proses penulisan hasil dan identitas pasien.

b. Penyerahan hasil.

Hal ini terjadi ketika penyerahan hasil tidak dilakukan pencocokan identitas pada sang pasien.

## **2.3. Serum dan Plasma**

### **2.3.1 Serum**

Serum adalah bagian cair darah yang tidak mengandung sel darah atau fibrinogen, karena protein dalam darah telah menjadi jaringan fibrin dan terakumulasi bersama sel. Serum diambil dari sampel darah non-antikoagulasi dan dibiarkan menggumpal di dalam tabung selama 15 hingga 30 menit, kemudian disentrifugasi untuk mengendapkan sel darah. Serum selama sentrifugasi terkandung dalam tabung cairan berwarna kuning (Nur Ramadhani et al., 2019). Serum merupakan cairan darah bebas fibrinogen karena tidak ada antikoagulan yang ditambahkan selama proses pembekuan dan fibrinogen diubah menjadi fibrin (Maharani & Noviar, 2018). Menurut (Vignoli et al., 2022) Serum diperoleh setelah pembekuan melalui sentrifugasi, yang memungkinkan pengangkatan bekuan fibrin, sel darah, dan faktor koagulasi terkait.

### **2.3.2 Plasma**

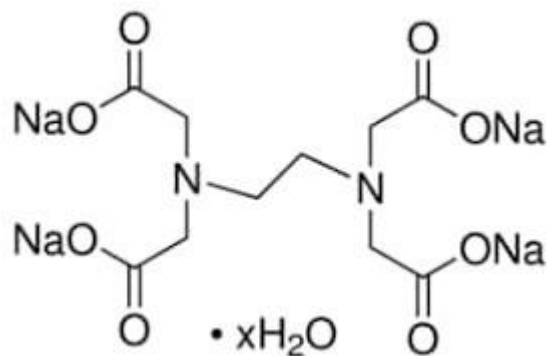
Menurut (Maharani & Noviar, 2018) Plasma adalah komponen cair darah dan membentuk hingga 5% dari berat badan seseorang. Warna plasma ini agak kekuningan, terdiri dari 90% air, 8% protein, 0,9% mineral, oksigen, enzim, antigen, dan selebihnya merupakan zat organik lain seperti kolesterol, urea, lemak, asam amino, dan glukosa. terdiri dari Plasma merupakan cairan darah yang fungsinya mengangkut sari nutrisi ke seluruh tubuh manusia, mengangkut sisa metabolisme melalui jaringan tubuh, dan kemudian menjalani proses ekskresi. Ada perbedaan

antara serum dan plasma. Sampel darah yang disentrifugasi menghasilkan cairan kekuningan. Cairan ini disebut serum atau plasma. Plasma, adalah cairan darah yang ditambahkan antikoagulan untuk mencegah fibrinogen diubah menjadi fibrin.

## 2.4. Antikoagulan

Menurut (Riswanto, 2013) antikoagulan adalah zat yang digunakan untuk mencegah pembekuan darah dengan cara mengikat kalsium atau menghambat pembentukan trombin yang diperlukan untuk konversi fibrinogen menjadi fibrin selama pembekuan darah. Antikoagulan yang banyak digunakan dalam pemeriksaan laboratorium, diantaranya:

### 2.4.1. Antikoagulan EDTA

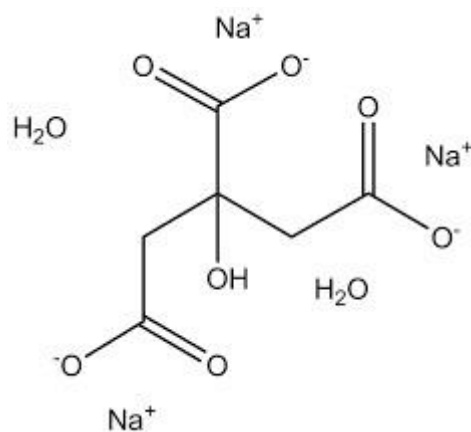


Gambar 2. 3 Struktur Natrium EDTA

Antikoagulan *Ethylene Diamine Tetraacetic Acid* (EDTA) lebih sering digunakan karena dengan *darah Ethylene Diamine Tetraacetic Acid* (EDTA) banyak parameter hematologi yang dapat diukur. Sehingga pada saat dokter meminta untuk pemeriksaan Activated Partial

Thromboplastin Time dan pasien hanya memiliki darah *Ethylene Diamine Tetraacetic Acid* (EDTA) terkadang darah *Ethylene Diamine Tetraacetic Acid* (EDTA) digunakan sebagai pemeriksaan Activated Partial Thromboplastin Time. Antikoagulan *Ethylene Diamine Tetraacetic Acid* (EDTA) juga memiliki cara kerja yang sama yaitu mengikat ion kalsium (Efendi, 2015). Antikoagulan yang sama-sama mengikat ion kalsium selain natrium sitrat dan *Ethylene Diamine Tetraacetic Acid* (EDTA) juga ada kalium oksalat (Kiswari, 2014)

#### 2.4.2. Antikoagulan Natrium Sitrat



Gambar 2. 4 Struktur Natrium Sitrat

Natrium sitrat merupakan antikoagulan yang tidak toksik dan juga antikoagulan yang mengikat kalsium sehingga dapat mencegah terjadinya pembekuan darah. (Maulidiyanti et al., 2022). Natrium sitrat merupakan antikoagulan yang direkomendasikan oleh *International Committee for Standardization in Hematology (ICSH)* dan *International Society for Thrombosis and Haematology* sebagai antikoagulan

pemeriksaan koagulasi. Penggunaannya adalah 1 bagian sitrat dan 9 bagian darah (Kiswari, 2014).

Antikoagulan EDTA maupun Na-sitrat 3,2% memiliki mekanisme yang sama dalam mencegah pembekuan spesimen darah, yaitu dengan cara mengikat ion kalsium menjadi bentuk garam kalsium sehingga ion kalsium tersebut tidak dapat melakukan pengaktifan faktor-faktor koagulasi (Adrianus et al., 2020 (Rizka & Nugraha, 2023)).

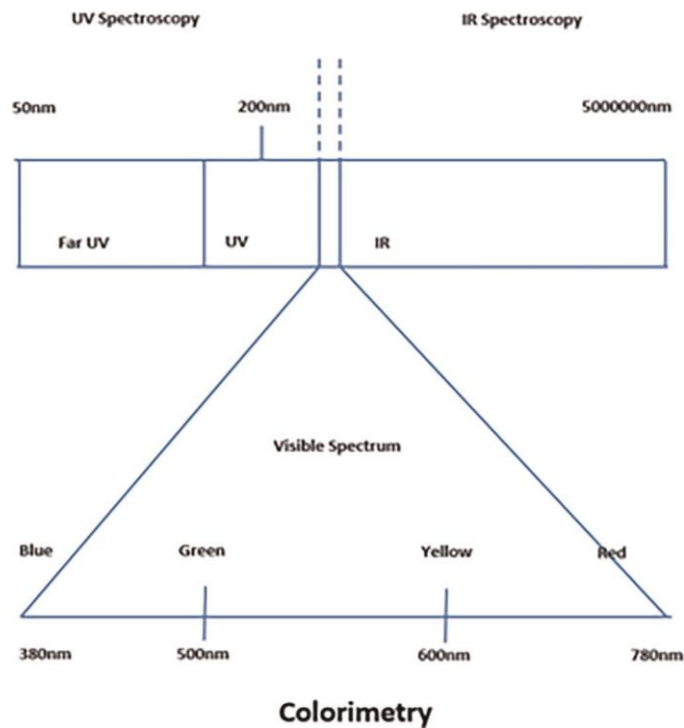
## **2.5. Prinsip Fotometri**

Ada beberapa macam teknik analisis yang mengikuti prinsip fotometri dimana kolorimetri berada di bawah fotometri serapan. Kolorimetri umumnya digunakan teknik analisis yang terlibat dalam estimasi kuantitatif warna, yaitu digunakan untuk mengetahui konsentrasi zat berwarna dalam larutan sampel, misalnya. air, sampel biologis pada spektrum cahaya tampak (380–780 nm). Colorimeter adalah instrumen yang menggunakan teknik ini. Ini juga disebut absorptiometer.

Suatu zat harus berwarna atau mempunyai sifat membentuk kromogen melalui penambahan reagen yang akan menyerap cahaya sesuai dengan intensitas warna yang akan diukur. Intensitas warna sebanding dengan konsentrasi senyawa berwarna. Sebagian besar teknik analisis yang digunakan di laboratorium klinis kami saat ini didasarkan pada prinsip fotometrik yang mengukur cahaya yang diserap, ditransmisikan, atau dipancarkan. Ketika intensitas pada panjang gelombang berbeda pada seluruh rentang spektrum

elektromagnetik diukur, hal itu disebut spektrofotometri. Aksesori ponsel cerdas telah berevolusi untuk memungkinkan nilai molekuler yang dapat direproduksi secara sederhana dan cepat.

Kolorimetri adalah jenis fotometri yang pada dasarnya dianggap sebagai teknik mendeteksi cahaya dan juga mendeteksi perubahan intensitasnya. Akar kata “foto” berarti cahaya. Fotometer adalah mesin yang mengukur energi gelombang elektromagnetik dalam rentang radiasi infra merah hingga radiasi ultra violet, termasuk bagian spektrum elektromagnetik yang terlihat. Ini mengubah cahaya menjadi arus listrik dengan menggunakan fotosel. Kolorimetri dirujuk jika cahaya yang diukur berada dalam kisaran radiasi elektromagnetik yang terlihat. Pada metode ini seberkas cahaya dari sumber cahaya dibiarkan melewati tempat sampel yang berisi analit dalam larutan, intensitas cahaya yang diteruskan akan lebih kecil dibandingkan cahaya yang melewati sampel dalam kuvet. Cahaya yang diserap sebanding dengan konsentrasi analit. Warna sampel merupakan karakteristik intrinsik larutan atau dapat diubah dengan penambahan reagen yang sesuai. Penyerapan sampel dibandingkan dengan standar yang dapat digunakan untuk menghitung konsentrasi sampel uji.



*Gambar 2. 5 Spektrum Sinar Tampak*

### 2.5.1. Bagian-bagian kolorimeter

Bagian-bagian kolorimetri adalah sebagai berikut:

1. Sumber Cahaya/Sumber Radiasi: Lampu listrik sebagian besar digunakan sebagai sumber radiasi. Lampu yang umum digunakan adalah lampu filamen tungsten (untuk panjang gelombang 320–700 nm). Sumber lampu apa pun yang memberikan intensitas radiasi yang memadai pada seluruh wilayah panjang gelombang dapat digunakan. Sumber cahaya untuk kolorimetri harus memberikan radiasi terus menerus dari 320 hingga 700 nm dengan intensitas yang memadai, stabil dan bebas fluktuasi. Karena lampu filamen tungsten memenuhi kriteria di atas, lampu ini mendapat tempat di sebagian besar kolorimeter. Kelemahan utama lampu tungsten adalah sebagian besar

memancarkan energi radiasi di wilayah spektrum inframerah-dekat. Namun pada suhu yang lebih tinggi, umur lampu akan berkurang secara signifikan. Untuk menghilangkan radiasi infra merah yang tidak diinginkan, filter yang menyerap panas ditempatkan di antara lampu dan sampel yang menyerap sebagian besar radiasi infra merah tanpa mempengaruhi energi radiasi pada panjang gelombang lainnya. Hanya sekitar 15% energi radiasi yang dipancarkan berada di wilayah tampak.

2. Celah: Hanya memungkinkan seberkas cahaya dalam spektrum tampak, tidak termasuk cahaya yang tidak diinginkan.
3. Lensa kondensasi: Seberkas cahaya setelah melewati celah jatuh pada lensa kondensor yang berubah menjadi berkas cahaya paralel.
4. Filter atau monokromator: Hanya cahaya dengan panjang gelombang yang diperlukan yang dilewatkan melalui filter atau monokromator sementara cahaya dengan panjang gelombang lain diserap. Filter ini hanya memungkinkan cahaya monokromatik melewatinya sementara menyerap cahaya yang tidak diinginkan. Biasanya terbuat dari kaca berwarna atau gelatin berwarna. Ini adalah cara memilih cahaya dengan panjang gelombang sempit  $\lambda$  (50 nm atau lebih). Filter hijau memungkinkan warna hijau melewatinya sementara sisanya diserap. Warna filter yang digunakan selalu melengkapi warna larutan. Filter serapan: Dapat berupa jenis serapan kaca atau serapan gelatin.

- a. Filter adalah lembaran kaca padat yang diwarnai dengan pigmen (gelatin yang diwarnai atau bahan serupa) yang dilarutkan atau didispersikan dalam kaca.
- b. Filter interferensi: Mungkin interferensi konstruktif atau interferensi destruktif (Fabry-Perot). Ia memiliki film pengatur jarak dielektrik yang terdiri dari  $\text{CaF}_2$ ,  $\text{MgF}_2$  atau  $\text{SiO}_2$ , di antara dua film perak yang memantulkan paralel. Ketebalan film spacer dielektrik bisa  $1/2\lambda$  (urutan ke-1),  $2 \lambda/2$  (urutan ke-2),  $3 \lambda/2$  (urutan ke-3), dll.

Monokromator: Ini lebih baik dan lebih efisien daripada filter dalam mengubah cahaya polikromatik menjadi cahaya monokromatik. Biasanya ditemukan pada spektrofotometer. Monokromator terdiri dari berbagai jenis:

- a. Prisma: Ini adalah prisma tipe bias atau prisma tipe reflektif.
  - b. Grating: Ini mungkin kisi difraksi atau kisi transmisi.
5. Kuvet/sel sampel/tempat sampel: Merupakan tabung yang dirancang khusus yang terbuat dari kaca optik (borosilikat atau kuarsa) untuk menampung sampel berwarna untuk diukur dalam kolorimeter agar pembacaan akurat. Kuvet ada yang berbentuk persegi, persegi panjang atau bulat. Ini digunakan untuk menampung sampel dengan panjang jalur optik tetap yang biasanya 1 cm. Kapasitasnya adalah 3–4 ml atau bahkan lebih kecil jika menggunakan kuvet mikro. Larutan berwarna dalam kuvet menyerap warna komplementer. Itu terbuat dari bahan

yang tidak menyerap cahaya dengan rentang panjang gelombang yang diinginkan.

6. Warna larutan Filter Panjang gelombang (nm) Rentang (nm)

*Tabel 2. 1 Warna Larutan Filter Panjang Gelombang (nm) rentang (nm)*

<b>Color of solution</b>	<b>Filter</b>	<b>Wavelength (nm)</b>	<b>Range (nm)</b>
Blue green	Red	620	650–700
Blue	Yellow	590	570–600
Purple	Green	550	505–555
Red	Blue green	500	495–505
Orange	Green blue	490	475–495
Yellow	Blue	445	420–475
Yellowish green	Violet	410	400–420

7. Detektor (fotosel): Alat yang digunakan untuk mengubah cahaya menjadi energi listrik, berupa pelat logam yang dilapisi unsur fotosensitif seperti selenium atau kadmium (+elektroda ve). Bahan peka cahaya ditutupi dengan lapisan tipis transparan emas atau tembaga (—ve elektroda). Ketika cahaya mengenai lapisan selenium, elektron dibebaskan dan masuk ke lapisan transparan sehingga menjadi elektronegatif. Perbedaan potensial tercipta antara lapisan transparan dan pelat logam. Arus listrik yang dihasilkan berbanding lurus dengan intensitas cahaya yang mengenai fotosel.

8. Perangkat pembacaan: Perbedaan potensial atau sinyal listrik dalam fotosel dideteksi oleh perangkat pembacaan. Perangkat ini juga bisa disebut galvanometer atau ammeter atau pembacaan digital, yang menunjukkan serapan & transmitansi atau keduanya.

9. Prinsip kolorimetri Prinsip kolorimetri: Ketika seberkas cahaya monokromatik melewati larutan berwarna, zat pewarna menyerap sebagian cahaya dan sisanya diteruskan. Penyerapan cahaya ini terkait dengan intensitas warna. Intensitas warna akan sebanding dengan konsentrasi bahan kimia (analit) yang bertanggung jawab menghasilkan warna.

Absorbansi (A): Ketika cahaya melewati suatu medium, rasio log intensitas cahaya datang dengan intensitas cahaya yang ditransmisikan disebut sebagai serapan atau kerapatan optik (OD). Sebelumnya disebut kepunahan.

Transmitansi (%T): Ketika cahaya melewati suatu medium, rasio intensitas cahaya yang ditransmisikan dengan intensitas cahaya yang datang disebut transmitansi.

Panjang lintasan (l): Panjang lintasan bagian dalam kuvet yang dilewati cahaya disebut panjang lintasan. Biasanya 1 cm.

Absorbansi maksimal: Panjang gelombang serapan maksimum dikenal sebagai absorban maksimal. Dilambangkan dengan  $\lambda_{\text{maks}}$ . Panjang gelombang di mana suatu zat menunjukkan serapan maksimum disebut serapan maksimum atau  $\lambda_{\text{maks}}$  (Banyaknya cahaya yang diserap atau diteruskan oleh suatu larutan berwarna sesuai dengan Hukum Lambert dan Beer.

1. Hukum Beer: Ketika cahaya monokromatik melewati larutan berwarna, jumlah cahaya yang ditransmisikan berkurang secara

eksponensial dengan meningkatnya konsentrasi zat berwarna. yaitu banyaknya cahaya yang diserap oleh larutan berwarna berbanding lurus dengan konsentrasi zat dalam larutan berwarna  $A \propto c$ .

2. Hukum Lambert: Jumlah cahaya yang ditransmisikan berkurang, secara eksponensial dengan bertambahnya panjang jalur (l) kuvet atau ketebalan larutan berwarna yang dilalui cahaya. yaitu banyaknya cahaya yang diserap oleh suatu warna. Hubungan antara serapan (A) dan transmitansi (T): Hubungan antara (A) & (T) yaitu

$$I_0 = A + I \quad A = I_0 - I$$

Menurut definisi,

$$A = \log I_0/I$$

$$A = -\log I/I_0$$

$$A = -\log T \quad (\text{As } T = I/I_0)$$

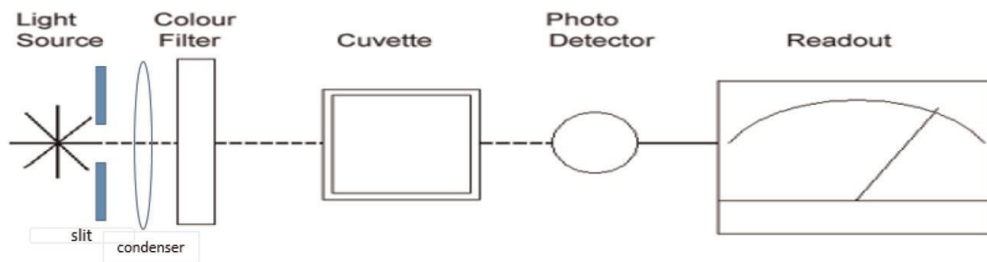
SEBUAH = catatan  $1/T$ .

$$A = \log 100/(\%T)$$

untuk dimasukkan ke dalam persentase dikalikan 100.  $A = \log 100 - \log \%T$  (Karena  $\log a/b = \log a - \log b$ ).

$$A = 2 - \log \%T \quad (\text{Sebagai } \log 100 = 2).$$

Gabungan Beer – Hukum Lambert: Dilambangkan dengan jumlah cahaya yang ditransmisikan melalui larutan berwarna berkurang secara eksponensial dengan peningkatan konsentrasi larutan berwarna & peningkatan panjang jalur kuvet atau ketebalan larutan berwarna.



Gambar 2. 6 Skema Prinsip Kerja Alur Fotometer

Nilai absorptivitas molar  $\epsilon$  adalah konstan untuk senyawa tertentu pada panjang gelombang tertentu di bawah kondisi pelarut, suhu, pH, dan lain-lain yang ditentukan. Ini adalah ukuran seberapa kuat suatu zat kimia menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu. Untuk jenis molekul tertentu, absorptivitas berubah seiring perubahan panjang gelombang radiasi.

AT = Absorbansi uji AS = Absorbansi standar.

CS = Konsentrasi standar CT = konsentrasi tes.

$AT = k \times CT \times L$  dan  $AS = k' \times CS \times L$ .

$AT/AS = (k \times CT \times L)/(k' \times CS \times L)$ .  $AT/AS = CT/CS$ .

Karena itu,

$CT = AT/AS \times CS$

yaitu Konsentrasi uji = Absorbansi uji X konsentrasi standar/Absorbansi standar. Oleh karena itu, persamaan di atas menyatakan bahwa kerapatan optik (OD) sebanding dengan konsentrasi sampel jika panjang jalurnya konstan. Oleh karena itu, jika OD suatu larutan standar diketahui, maka konsentrasi sampel yang tidak diketahui dapat dihitung dari OD-nya dengan menerapkan rumus di atas. Standar yang dipilih harus memiliki kerapatan optik

yang mendekati OD yang tidak diketahui. Cara paling akurat untuk mengukur konsentrasi dalam sampel yang tidak diketahui adalah melalui pembuatan kurva terkalibrasi atau grafik standar dari sejumlah standar.