

# KOMPARASI UNJUK KERJA PERALATAN SPEKTROFOTOMETER UV-VIS PERKIN ELMER LAMBDA 3 DENGAN HITACHI U-2900 PADA PENENTUAN TOTAL PHENOLIC CONTENT

Lia Agustin<sup>1</sup>, Rilla Agustina<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup> Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Malang

<sup>1</sup>rilla\_raihan@yahoo.com, <sup>2</sup>link\_deus@yahoo.com

(Artikel diterima: Oktober 2019, direvisi: September 2019, diterima untuk terbit: Januari 2020)

**Abstrak** – Komparasi dua alat Spektrofotometer dengan merk dan tahun pemakaian yang berbeda diperlukan untuk mengetahui unjuk kerja alat. Pengujian dilakukan pada penentuan kandungan fenolik total (TPC) metode Folin-Ciocalteu. Hasil analisa TPC dari dua alat spektrofotometer kemudian dikomparasi dengan menggunakan uji paired t-test. Uji paired t-test merupakan uji membandingkan rata-rata hasil pengujian dari kedua alat tersebut. Hasil pengujian dikatakan akurat apabila hasil keduanya tidak berbeda signifikan. Uji t berpengaruh positif dan signifikan apabila hasil perhitungan t hitung lebih besar dari t tabel ( $t\text{-hitung} > t\text{-tabel}$ ). Hasil penelitian menunjukkan nilai  $\bar{d}$  rata-rata sebesar 85.934, dan standar deviasi bernilai 51130.27368. Nilai tersebut digunakan untuk menghitung nilai t. Nilai t yang didapatkan sebesar 0,0053. Dengan nilai  $\alpha$  sebesar 0,05 maka didapat t tabel sebesar 2,262. Karena nilai  $T\text{-hitung} < T\text{-tabel}$ , maka  $H_0$  diterima dan  $H_1$  ditolak, sehingga dapat dikatakan kinerja hasil uji kedua alat sama.

**Kata kunci:** Komparasi, TPC, Folin-Ciocalteu, Spektrofotometer UV/Vis, uji paired t-test

## I. PENDAHULUAN

Laboratorium instrumentasi Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Malang memiliki peralatan spektrofotometer uv-vis pemakaian tahun 1989 dengan merk Perkin Elmer lambda 3 dan tahun 2011 dengan merk Hitachi U-2900. Pada penelitian ini pengujian kinerja kedua alat tersebut dilakukan pada analisa kandungan fenolik total. Sehingga hasil analisa kandungan fenolik total pada kedua alat spektrofotometer uv/vis tersebut dikomparasi menggunakan uji paired t-test. Uji paired t-test merupakan uji membandingkan rata-rata hasil pengujian dari kedua alat tersebut. Metode yang dipilih untuk penentuan kandungan fenolik total adalah metode Folin-Ciocalteu. Metode ini merupakan metode yang umum digunakan sebagai standar penentuan kandungan fenolik total karena merupakan metode yang cepat dan sederhana yang dinyatakan sebagai massa ekuivalen asam galat tiap mg sampel (Fu, Xu, Gan, Zhang, Xia, dan Li, 2011). Prinsip dari metode ini adalah reaksi oksidasi senyawa fenol dalam suasana basa oleh pereaksi Folin-Ciocalteu menghasilkan kompleks berwarna biru yang memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 760 nm. Peningkatan intensitas warna biru akan sebanding dengan jumlah senyawa fenolik yang ada dalam sampel (Blainski, Cristiny, dan de Mello, 2013).

## II. TINJAUAN PUSTAKA

Spektrofotometri sinar tampak (UV-Vis) adalah pengukuran energi cahaya oleh suatu sistem kimia pada panjang gelombang tertentu (Day, 2002). Electron pada ikatan dalam molekul menjadi tereksitasi sehingga berada pada keadaan energy yang lebih tinggi dalam proses menyerap sejumlah energy yang melewati larutan tersebut (Watson, 2010). Spektrum UV-Vis sangat berguna untuk pengukuran secara kuantitatif. Konsentrasi dari analit di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorban pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer (Rohman, 2007). Hukum Lambert-

Beer menyatakan hubungan linieritas antara absorban (besarnya sinar radiasi yang terserap oleh zat) dengan konsentrasi larutan analit dan berbanding terbalik dengan transmitan (besarnya sinar radiasi yang melewati zat dan ditangkap detektor).

### A. Uji sampel t berpasangan

Uji-t berpasangan (paired t-test) adalah salah satu metode pengujian hipotesis yang digunakan untuk membandingkan rata-rata (mean) dari dua kumpulan data yang ada dimana kedua kumpulan data tersebut berasal dari 1 kelompok obyek/responden yang sama. Dalam penelitian ini data yang digunakan adalah data fenolik total menggunakan metode Folin-Ciocalteu yang absorbansinya diukur pada panjang gelombang 765 nm menggunakan kedua spektrofotometer UV/Vis. Rumus untuk menghitung t :

$$t = \frac{\bar{d}\sqrt{n}}{s_d} \quad (1)$$

Di mana :

$\bar{d}$  = nilai rata-rata dari d

$S_d$  = standar deviasi dari d

n = jumlah data

Pengujian melalui uji t adalah dengan membandingkan t hitung dengan t tabel pada taraf nyata (taraf Signifikansi)  $\alpha = 0,05$ . Menurut Widiyanto (2013), paired sample t-test merupakan salah satu metode pengujian yang digunakan untuk mengkaji keefektifan perlakuan, ditandai adanya perbedaan rata-rata sebelum dan rata-rata sesudah diberikan perlakuan. Langkah pengujiannya adalah sebagai berikut :

1. Menentukan formulasi  $H_0$  dan  $H_1$ 
  - $H_0$  : Hasil uji kedua alat sama
  - $H_1$  : Hasil uji kedua alat berbeda secara nyata
2. Tes statistic.
  - Jika  $T\text{-hitung} > T\text{-tabel}$ , maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima
  - Jika  $T\text{-hitung} < T\text{-tabel}$ , maka  $H_0$  diterima dan  $H_1$

ditolak

### B. Penentuan Total Phenolik Content

Analisis kandungan fenolik total menggunakan metode Folin-Ciocalteu yang absorbansinya diukur pada panjang gelombang 765 nm (Pourmorad dkk; 2006). Standar asam galat dibuat dengan variasi konsentrasi dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 765 nm. Asam galat adalah senyawa golongan asam fenolik C6-C1 (en:phenolic acid} atau hidroksibenzoat, yaitu asam 3,4,5-trihidroksibenzoat.

Analisis kandungan fenolik total menggunakan metode Folin-Ciocalteu yang absorbansinya diukur pada panjang gelombang 765 nm. Standar asam galat dibuat dengan variasi konsentrasi 5-125 ppm dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 765 nm. Prosedur pengukuran sampel dilakukan dengan cara menimbang beberapa sampel lalu ditambahkan dengan 0,5 ml metanol, 2,5 ml aquadest dan 2,5 ml reagent Folin-Ciocalteu 50%. Campuran didiamkan selama 5 menit kemudian ditambahkan dengan 2 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7,5% dan divortex lalu diinkubasi selama 15 menit pada suhu 45°C. Absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang 765 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS. Perhitungan kandungan fenolik total menggunakan rumus berikut Perhitungan kandungan fenolik total menggunakan rumus berikut :

$$TPC = C.V.f.p.g$$

Di mana : c = konsentrasi Fenolik (nilai x)

v = volume ekstrak yang digunakan (ml)

fp = Faktor pengenceran

g = Berat sampel yang digunakan (g)

Asam galat digunakan sebagai larutan standar karena asam galat merupakan salah satu jenis golongan senyawa phenolik. Yang mana asam galat ini memiliki nama lain pyrogallol. Senyawa ini dapat ditemukan pada daun ek dan anggur dan memiliki aktivitas sebagai antioksidan (penangkal radikal bebas).

Prinsip metode Folin-Ciocalteu adalah reaksi oksidasi dan reduksi kolorimetrik untuk mengukur semua senyawa fenolik dalam sampel uji. Fenolat hanya terdapat pada larutan basa, tetapi pereaksi Folin-Ciocalteu dan produknya tidak stabil pada kondisi basa. Selama reaksi berlangsung, gugus fenolik-hidroksil bereaksi dengan pereaksi Folin-Ciocalteu, membentuk kompleks fosfotungstat-fosfomolibdat berwarna biru dengan struktur yang belum diketahui dan dapat dideteksi dengan spektrofotometer.

## III. METODE PENELITIAN

### A. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu : Spektrofotometer UV-VIS Perkin Elmer Lambda 3 pemakaian tahun 1989, Spektrofotometer UV/VIS Hitachi U-2900 pemakaian tahun 2011, Labu ukur, Mikropipet, Gelas Kimia, Botol Vial, Neraca Analitik, Spatula, Incubator Oven.

### B. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan yaitu : Aquadest, Methanol, Folin-Ciocalteu's phenol Reagent, Na-Carbonat, Gallic Acid

### C. Pembuatan Larutan Standar Asam Gallat

Ditimbang Asam Gallat 1 gram, Ditambahkan Aquadest hingga 1000 ml pada labu ukur, Didapatkan larutan induk dengan konsentrasi 1000 ppm.

### D. Preparasi Sampel

Sampel daun kering dihaluskan/ditumbuk, Kemudian dimaserasi dengan methanol selama 1 hari, kemudian diambil ekstraknya.

### E. Penentuan Panjang Gelombang yang mempunyai Serapan Maximum

- Dipilih salah satu konsentrasi asam galat, kemudian dilakukan preparasi dengan ditambahkan Methanol 0,5 ml, Aquadest 2,5 ml, Reagent-Folin-Ciocalteu 2,5 ml, didiamkan selama 5 menit
- Ditambahkan Na-carbonat 7,5 % sebanyak 2 ml
- Divortex
- Diinkubasi pada suhu 45° C selama 15 menit
- Kemudian diukur serapannya dengan spektrofotometer uv/vis pada panjang gelombang 600-850 nm dengan menggunakan blangko.

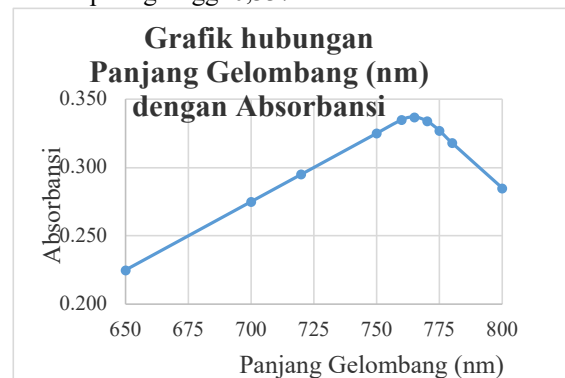
### F. Analisa Hasil

Penentuan TPC (Total Phenolic Content) dilakukan dengan menggunakan kedua alat Spektrofotometer UV-VIS. Pertama membuat larutan baku (standard) dengan berbagai macam konsentrasi. Kedua melakukan analisis larutan baku. Ketiga mengolah data yang dihasilkan dengan paired t test.

## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Penentuan Panjang Gelombang yang mempunyai Serapan Maximum pada alat Spektrofotometer uv/vis Hitachi U-2900

Dipilih salah satu dari larutan standar Asam Galat untuk menentukan panjang gelombang yang mempunyai Absorbansi maksimum dimulai dari 650 nm sampai dengan 850 nm. Dari Grafik hubungan antara Panjang Gelombang dengan Absorbansi didapatkan panjang gelombang yang mempunyai Absorbansi Maximum pada 765,0 nm dengan absorbansi paling tinggi 0,337.

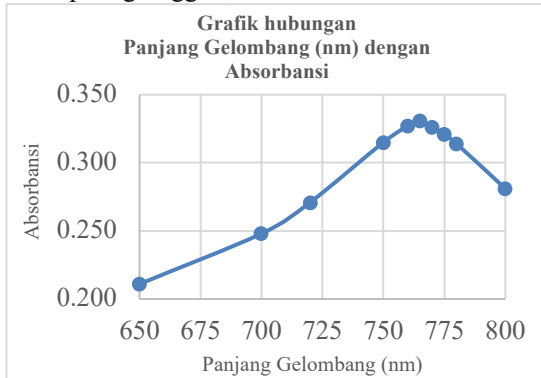


Gambar 1. Grafik Hubungan Panjang Gelombang (nm) dengan Absorbansi pada alat Spektrofotometer uv/vis Hitachi U-2900

### B. Penentuan Panjang Gelombang yang mempunyai Serapan Maximum pada alat Spektrofotometer UV-VIS Perkin Elmer Lambda 3

Dipilih salah satu dari larutan standar Asam Galat untuk

menentukan panjang gelombang yang mempunyai Absorbansi maksimum dimulai dari 650 nm sampai dengan 850 nm. Dari Grafik hubungan antara Panjang Gelombang dengan Absorbansi didapatkan panjang gelombang yang mempunyai Absorbansi Maximum pada 765,0 nm dengan absorbansi paling tinggi 0,331.

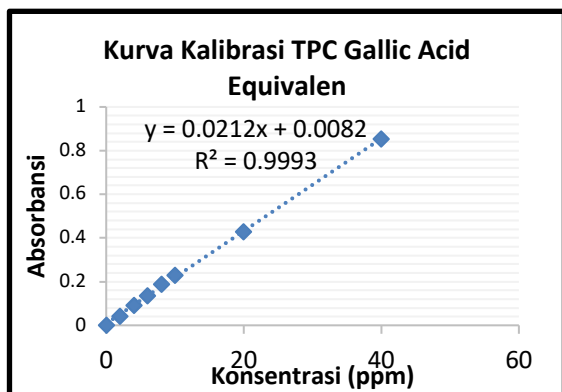


Gambar 2. Grafik Hubungan Panjang Gelombang (nm) dengan Absorbansi pada alat Spektrofotometer UV-VIS Perkin Elmer Lambda 3

**C. Hasil percobaan dengan alat Spektrofotometer uv/vis Hitachi U-2900**

Tabel 1 Pengukuran absorbansi standar asam gallat pada panjang gelombang 765 nm

NO	Konsentrasi (ppm)	ABS I	ABS II	ABS RATA2
1	-	-	-	-
2	2	0.042	0.044	0.043
3	4	0.094	0.092	0.093
4	6	0.137	0.135	0.136
5	8	0.186	0.190	0.188
6	10	0.230	0.232	0.231
7	20	0.427	0.430	0.429
8	40	0.854	0.851	0.853



Gambar 3. Kurva Kalibrasi TPC Gallic Acid Equivalen

Dilakukan pengukuran absorbansi larutan standar asam galat dari beberapa konsentrasi yang diukur pada panjang gelombang maksimal yang diperoleh. Hasil pengukuran absorbansi larutan standar asam galat dibuat kurva kalibrasi. Persamaan regresi linear yang diperoleh yaitu  $y=0,0212x+0,0082$  dengan koefisien korelasi (r) 0,9993.

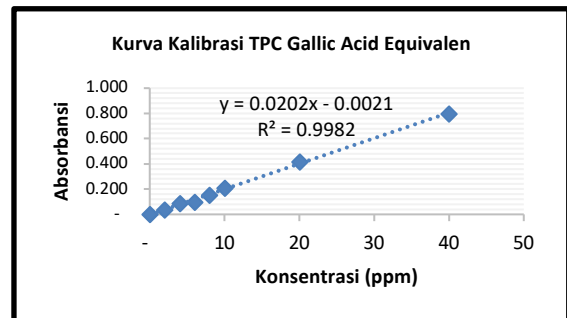
Tabel 2 Perhitungan TPC dengan absorbansi yang diukur dengan Spektrofotometer uv/vis Hitachi U-2900

NO	NAMA SAMPEL	TPC (µg/g)
----	-------------	------------

1	A1	518,026
2	B1	1,066,085
3	C1	549,994
4	D1	721,751
5	E1	751,033
6	F1	588,979
7	G1	706,245
8	H1	687,640
9	I1	697,634
10	J1	554,395

Tabel 3 Pengukuran absorbansi standar asam galat pada panjang gelombang 765 nm

NO	Konsentrasi (ppm)	ABS I	ABS II	ABS RATA2
1	-	-	-	-
2	2	0.034	0.039	0.037
3	4	0.087	0.086	0.087
4	6	0.098	0.095	0.097
5	8	0.157	0.154	0.156
6	10	0.211	0.210	0.211
7	20	0.410	0.419	0.415
8	40	0.801	0.798	0.800



Gambar 4. Kurva Kalibrasi TPC Gallic Acid Equivalen

Dilakukan pengukuran absorbansi larutan standar asam galat dari beberapa konsentrasi yang diukur pada panjang gelombang maksimal yang diperoleh. Hasil pengukuran absorbansi larutan standar asam galat dibuat kurva kalibrasi. Persamaan regresi linear yang diperoleh yaitu  $y=0,0202x-0,0021$  dengan koefisien korelasi (r) 0,9982.

Tabel 4 Perhitungan TPC dengan absorbansi yang diukur dengan Spektrofotometer UV-VIS Perkin Elmer Lambda 3

NO	NAMA SAMPEL	TPC (µg/g)
1	A1	510,149
2	B1	946,221
3	C1	489,130
4	D1	650,825
5	E1	575,088
6	F1	494,259
7	G1	641,182
8	H1	554,565
9	I1	675,483
10	J1	445,537

**D. Perhitungan Standar Deviasi**

Tabel 5 Perhitungan d rata-rata dan standar Deviasi

TPC (µg/g) Hitachi U-2900	TPC (µg/g) PERKIN ELMER LAMBDA 3	Differences (d)
518,026	510,149	7,877
1,066,085	946,221	119,865
549,994	489,130	60,864
721,751	650,825	70,925
751,033	575,088	175,945
588,979	494,259	94,719
706,245	641,182	65,063
687,640	554,565	133,075
697,634	675,483	22,151
554,395	445,537	108,858
rata-rata d		85,934
Standar deviasi, Sd		51130.27368

E. Perhitungan nilai t hitung

$$t = \frac{\bar{d}\sqrt{n}}{S_d}$$

$$t = \frac{85.934\sqrt{10}}{51130.27368}$$

$$t = 0,0053$$

F. Nilai t tabel

Tabel 6 t tabel  
Significance level =  $\alpha$

Degrees of Freedom	.05 (1-tail)	.01 (1-tail)	.025 (1-tail)	.05 (1-tail)	.10 (1-tail)	.25 (1-tail)
	.01 (2-tails)	.02 (2-tails)	.05 (2-tails)	.10 (2-tails)	.20 (2-tails)	.50 (2-tails)
1	63.657	31.821	12.706	6.314	3.078	1.000
2	9.925	6.965	4.303	2.920	1.886	.816
3	5.841	4.541	3.182	2.353	1.638	.766
4	4.604	3.747	2.776	2.132	1.533	.741
5	4.032	3.365	2.571	2.015	1.476	.727
6	3.707	3.143	2.447	1.943	1.440	.718
7	3.500	2.998	2.365	1.895	1.415	.711
8	3.355	2.896	2.306	1.860	1.397	.706
9	3.250	2.821	2.262	1.833	1.383	.703
10	3.169	2.764	2.228	1.812	1.372	.700
11	3.106	2.718	2.201	1.796	1.363	.697
12	3.054	2.681	2.179	1.782	1.356	.696
13	3.012	2.650	2.160	1.771	1.350	.694
14	2.977	2.625	2.145	1.761	1.345	.692
15	2.947	2.602	2.132	1.753	1.341	.691
16	2.921	2.584	2.120	1.746	1.337	.690
17	2.898	2.567	2.110	1.740	1.333	.689
18	2.878	2.552	2.101	1.734	1.330	.688
19	2.861	2.540	2.093	1.729	1.328	.688
20	2.845	2.528	2.086	1.725	1.325	.687
21	2.831	2.518	2.080	1.721	1.323	.686
22	2.819	2.508	2.074	1.717	1.321	.686
23	2.807	2.500	2.069	1.714	1.320	.685
24	2.797	2.492	2.064	1.711	1.318	.685
25	2.788	2.485	2.060	1.708	1.316	.684
26	2.779	2.479	2.056	1.706	1.315	.684
27	2.771	2.473	2.052	1.703	1.314	.684
28	2.763	2.467	2.048	1.701	1.313	.683
29	2.756	2.462	2.045	1.699	1.311	.683
Large	2.575	2.327	1.960	1.645	1.282	.675

$$\text{Degree of freedom (df)} = n - 1$$

$$= 10 - 1$$

$$= 9$$

Dengan nilai  $\alpha$  sebesar 0,05 maka didapat t tabel sebesar 2,262

G. Hipotesis uji Paired t-test

Nilai t-hitung < t-tabel, maka H0 diterima dan H1 ditolak sehingga dapat dikatakan kinerja hasil uji kedua alat sama.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Komparasi kinerja peralatan Spektrofotometer uv-vis perkin elmer lambda 3 da hitachi u-2900 dengan Metode Analisa Total Phenolic Content (TPC) menggunakan Reagent Folin Ciocalteu dengan 10 sampel :

- 1. Nilai t hitung yang diperoleh dri percobaan sebesar 0,0053
- 2. Nilai t tabel yang diperoleh dari tabel sebesar 2.262.
- 3. Nilai T-hitung < T-tabel, maka H0 diterima dan H1 ditolak, sehingga dapat dikatakan kinerja hasil uji kedua alat sama.

B. Saran

Perlunya dilakukan Komparasi kinerja alat secara berkala, juga terhadap peralatan yang lain.

VI. DAFTAR PUSTAKA

[1] Agus, Mikha widiyanto. 2013. Statistika Terapan. Konsep dan Aplikasi dalam Penelitian Bidang Pendidikan, Psikologi dan Ilmu Sosial Lainnya. Jakarta: PT Elex Media Komputindo.

[2] Blainski, A., Gisely Cristiny L., and Palazzo de Mello, J.C.2013. Application and Analysis of the Folin Ciocalteu Method for the Determination of the Total Phenolic Content from Limonium Brasiliense L. Molecules,18: 6852-6865.

[3] Day, R A, dan Underwood, A L., (2002), Analsis Kimia Kuantitatif Edisi Keenam, Erlangga, Jakarta.

[4] Fu, L., B.T. Xu., R.Y. Gan., Y. Zhang., X.R. Xu., E.Q. Xia. and H.B. Li. 2011. Total Phenolic Contents and Antioxidant Capacities of Herbal and Tea Infusions, International Journal of Molecular Sciences. 12 : 2112-2124.

[5] Pourmorad, F., Hosseinimehr, S.J., Shahabimajd, N., 2006, Antioxidant Activity, Phenol, and Flavonoid Content of Some Selected Iranian Medicinal Plants, African Journal of Biotechnology, 5 (11), 1142-1145.

[6] Rohman, A. Kimia Farmasi Analisis. Yogyakarta: Pustaka Pelajar 2007.

[7] Watson, D.G. (2010). Analisis Farmasi: Buku Ajar untuk Mahasiswa Farmasidan Praktisi Kimia Farmasi, Edisi 2.Penerbit Buku Kedokteran EGC,Jakarta.

[8] [https://web.stanford.edu/dept/radiology/cgi-bin/classes/stats\\_data\\_analysis/234\\_99.html](https://web.stanford.edu/dept/radiology/cgi-bin/classes/stats_data_analysis/234_99.html)

[9] [https://id.wikipedia.org/wiki/Asam\\_galat](https://id.wikipedia.org/wiki/Asam_galat)