

Validasi Metode Analisis Konsentrasi Larutan Kopi berdasarkan Spektroskopi Absorpsi Cahaya

Nurullina Fajri, Eka Prima Cahya*, Riandi dan Siti Sriyati

Jurusan Pendidikan IPA, Universitas Pendidikan Indonesia
Jalan Dr. Setiabudhi no. 229, Kota Bandung, Jawa Barat
* E-mail: ekacahyaprima@upi.edu

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk memvalidasi metode analisis konsentrasi larutan kopi melalui pengukuran absorbansi cahaya dengan menggunakan spektrofotometri sederhana. Spektrofotometri adalah teknik yang memanfaatkan interaksi antara sinar tampak pada gelombang elektromagnetik terhadap suatu materi. Pengukuran absorbansi larutan kopi dilakukan dengan membuat lima sampel larutan kopi dengan konsentrasi yang berbeda-beda, yaitu 100 ppm, 160 ppm, 200 ppm, 350 ppm dan 400 ppm. Pengukuran absorbansi larutan dilakukan pada panjang gelombang sinar tampak (380–750 nm). Koefisien korelasi larutan kopi pada validasi metode larutan mempunyai linearitas yang baik sebesar 0,9818; 0,9902 dan 0,9788. Rata-rata nilai presisi untuk ketiga perlakuan sebesar 0,0056% dengan *Limit of Detection* (LOD) dan *Limit of Quantitation* (LOQ) sebesar 115 ppm dan 383,33 ppm untuk ($\lambda = 405 \text{ nm} \pm 10$); 44 ppm dan 146,67 ppm untuk ($\lambda = 532 \text{ nm} \pm 10$); 70,2 ppm dan 234 ppm untuk ($\lambda = 650 \text{ nm} \pm 10$). Hal ini menandakan bahwa hasil validasi metode analitik absorbansi larutan kopi menggunakan spektroskopi sederhana terhadap pengukuran standar tidak jauh berbeda.

Kata kunci: konsentrasi larutan kopi, validasi metode, absorbansi, spektroskopi.

Abstract

This research aims to validate the method of analyzing the concentration of coffee solution by measuring light absorbance using simple spectrophotometry. Spectrophotometry is a technique that utilizes the interaction between visible light and electromagnetic waves on a substance. Measurement of the absorbency of the coffee was carried out by making five samples of coffee solution with different concentrations, namely 100 ppm, 160 ppm, 200 ppm, 350 ppm and 400 ppm. Absorbance measurements were carried out at visible light wavelengths (380–750 nm). The validation of the coffee has good linearity with a correlation coefficient of 0.9818; 0.9902 and 0.9788. The average precision value for the three treatments was 0.0056% with a Limit of Detection (LOD) and Limit of Quantitation (LOQ) of 115 ppm and 383.33 ppm for ($\lambda = 405 \text{ nm} \pm 10$); 44 ppm and 146.67 ppm for ($\lambda = 532 \text{ nm} \pm 10$); 70.2 ppm and 234 ppm for ($\lambda = 650 \text{ nm} \pm 10$). This indicates that the validation result of absorbance analytical method of the coffee, using simple spectrophotometry is not different from the standard measurement.

Keywords: concentration of coffee, method validation, absorbance, spectroscopy.

PENDAHULUAN

Spektrofotometri adalah teknik yang mengukur interaksi sinar tampak dengan materi melalui gelombang elektromagnetik. Ini dikenal sebagai metode pengukuran kuantitatif yang digunakan dalam fisika dan kimia (Listiaji & Suparta, 2020). Dalam laboratorium riset, spektrofotometri digunakan untuk mengukur absorbansi cahaya dari interaksi sinar tampak dengan jumlah suatu zat. Namun, permasalahan yang terjadi adalah biaya tinggi

dari alat spektrofotometer yang menghambat penggunaannya secara luas, terutama dalam institusi pendidikan (Albert et al., 2012). Saat ini, pengembangan alat spektroskopi sederhana masih dibutuhkan sebagai alat alternatif ketika spektrofotometer modern sulit didapat. Secara umum, spektrofotometer terdiri atas empat bagian, yaitu sumber cahaya radiasi, monokromator, sel sampel dan detektor (penangkap). Sumber sinar pada alat spektrofotometer merupakan sumber cahaya yang memiliki intensitas tinggi dan konstan (stabil), misalnya lampu wolfram (Laganovska et al., 2020).

Monokromator adalah alat yang digunakan untuk memisahkan sinar radiasi polikromatik menjadi komponen monokromatik dengan panjang gelombang tertentu. Larutan sampel yang diukur dalam pengukuran, dimasukkan ke dalam sebuah wadah yang disebut kuvet. Berdasarkan bahan penyusunnya, kuvet terdiri dari beberapa jenis seperti, kuvet kwarsa, plexiglass, kaca atau plastik yang berbentuk persegi panjang. Kuvet kwarsa atau plexiglass digunakan untuk pengukuran larutan di daerah Ultraviolet (UV). Sementara itu, kuvet yang terbuat dari kaca tidak dapat digunakan untuk pengukuran pada panjang gelombang Ultraviolet (UV), karena kaca memiliki kemampuan menyerap sinar UV. Sedangkan, untuk pengukuran absorpsi larutan di daerah sinar tampak dapat menggunakan kuvet dari jenis apapun. Bagian terakhir pada perangkat spektrofotometer, yaitu detektor yang berfungsi mendeteksi spektrum yang melewati larutan sampel dengan output berupa data (Vanderveen et al., 2013).

Reaksi warna dalam spektrofotometri dapat digunakan untuk meningkatkan sensitivitas dan selektivitas suatu senyawa. Laganovska et al (2020) menjelaskan bahwa memodifikasi spektrum molekul penyerap, senyawa pada larutan dapat diamati pada panjang gelombang sinar tampak (*visible light*) dan juga dapat melalui pemisahan larutan sampel dari komponen pengganggu yang mungkin dapat dideteksi pada wilayah Ultraviolet.

Spektrofotometri reaksi warna dapat digunakan untuk meningkatkan sensitivitas dan selektivitas suatu senyawa. Menurut Vanderveen et al (2013) beberapa hal yang harus diperhatikan dalam perubahan warna terhadap reaksi suatu larutan yaitu sebagai berikut.

1. Tingkat kespesifikan perubahan warna, yaitu reaksi warna khusus yang dihasilkan untuk suatu zat tertentu atau perubahan-perubahan warna yang hanya cocok untuk sekelompok kecil zat yang terkait.
2. Konsentrasi dan perubahan warna pada larutan harus sebanding, artinya warna yang dihasilkan larutan akan meningkat secara linear sesuai dengan naiknya konsentrasi larutan yang telah ditentukan.
3. Kestabilan terhadap warna, yaitu warna yang dihasilkan memiliki perubahan yang stabil atau memiliki periode perubahan warna yang cukup panjang, sehingga memungkinkan pembacaan yang tepat.
4. Respodusibilitas, yaitu percobaan reaksi warna yang dihasilkan dapat diulang dan memberikan hasil yang sama pada kondisi eksperimen yang khas.
5. Kepekaan warna tinggi, misalnya pada larutan yang memiliki kuantitas kecil, reaksi warna yang dihasilkan memiliki kemampuan dalam menyerap cahaya dengan kuat pada daerah sinar tampak (*visible light*).
6. Kejernihan suatu larutan, yaitu larutan bebas dari endapan atau zat pengotor lainnya yang dapat menghamburkan maupun menyerap cahaya.

Proses penilaian pada beberapa kriteria, dilakukan melalui percobaan laboratorium untuk memastikan bahwa kriteria tersebut sesuai dengan persyaratan dan dapat digunakan sebagai instrumen disebut validasi metode analisis (Syamdini et al., 2022). HPTLC adalah teknologi pemisahan yang terkenal dan mudah beradaptasi yang didasarkan pada konsep adsorpsi. Ini telah terbukti sebagai teknik yang sangat berguna karena biaya operasinya yang rendah, tingginya output sampel, dan kebutuhan pembersihan sampel yang minimal. Pelarut fase gerak bergerak sesuai dengan aksi kapiler. Komponen yang berbeda dari larutan terpisah berdasarkan afinitas mereka terhadap adsorben (Nethra et al., 2022). Terdapat beberapa parameter yang digunakan dalam validasi metode analitik sebagai berikut.

a) Uji Linearitas

Uji Linearitas adalah proses yang bertujuan untuk menetapkan rentang konsentrasi dengan menghasilkan keterkaitan yang cukup dengan kurva garis linear. Linearitas adalah kemampuan konsentrasi analit yang terdapat dalam larutan sampel dalam memberi respon yang proporsional pada rentang yang diberikan. Uji linearitas dilakukan untuk menentukan batas rentang konsentrasi yang dapat digunakan dalam analisis (Astuti et al., 2016).

b) Uji Presisi

Uji Presisi adalah proses untuk menentukan konsistensi hasil dari analisis yang dilakukan. Presisi terdiri dari 3 jenis, diantaranya reproducibility, intermediate precision, dan repeatability. Konsistensi hasil yang didapatkan jika analisis dilakukan pada laboratorium yang berbeda disebut reproducibility. Selain itu, konsistensi hasil yang didapatkan apabila analisis dilakukan di laboratorium yang sama namun pada hari yang berbeda disebut dengan intermediate precision. Sedangkan, konsistensi hasil apabila analisis dilakukan oleh analis yang sama dengan menggunakan peralatan yang sama pada interval waktu yang singkat disebut dengan repeatability

Uji presisi diukur dengan menghitung *Relative Standard Deviation* (RSD) dengan menggunakan rumus (1) berikut ini.

$$RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\% \quad (1)$$

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

Dimana, *RSD* = Deviasi Standar Relatif
SD = Deviasi Standar
X = Kadar yang diukur
x = Kadar rata-rata
n = Jumlah perlakuan

c) *Limit of Detection* (LOD) dan *Limit of Quantitation* (LOQ)

LOD dan LOQ merujuk pada konsentrasi minimum suatu zat yang dapat dideteksi atau diukur menggunakan metode analisis tertentu. LOD adalah konsentrasi terendah dimana suatu zat dapat dideteksi, sedangkan LOQ adalah konsentrasi terendah dimana suatu zat dapat diukur dengan akurat dan tepat.

Menurut Dewan Harmonisasi Teknis Internasional persamaan *Limit of Detection* (LOD) dan *Limit of Quantification* (LOQ) dirumuskan sebagai berikut (3) dan (4):

$$LOD = 3\sigma/s \quad (3)$$

$$LOQ = 10\sigma/s \quad (4)$$

Dimana σ merupakan standar deviasi dari garis regresi, dan *s* adalah kemiringan dari kurva kalibrasi (Barazandeh et al., 2021).

METODE/EKSPERIMEN

Hukum Lambert-Beer

Ketika seberkas sinar melewati suatu medium yang homogen, maka sebagian sinar yang datang (*P_o*) tersebut diserap oleh bahan (*P_a*), sedangkan sebagian lainnya akan dipantulkan (*P_r*), sementara sisanya diteruskan atau di transmisi (*P_t*). Hal tersebut dapat dijabarkan pada persamaan (5) berikut.

$$P_o = P_a + P_r + P_t \quad (5)$$

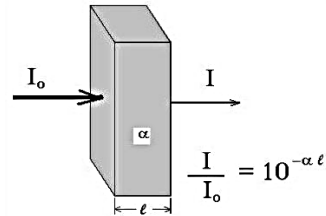
dimana, *P_o* merupakan intensitas sinar atau cahaya yang masuk, *P_a* merupakan intensitas sinar yang diserap, *P_r* merupakan intensitas sinar yang dipantulkan, dan *P_t* merupakan intensitas sinar cahaya yang diteruskan.

Ketika suatu senyawa menyerap radiasi *Ultraviolet-visible* (UV-Vis), maka terjadi proses penyerapan yang disebut absorpsi. Ketika radiasi elektromagnetik dari sumber radiasi (*I_o*) melewati larutan, sinar tersebut akan melewati larutan sebagai sinar keluar (*I_T*). Nilai perbandingan antara *I_o* dan *I_T* adalah nilai transmisi cahaya suatu larutan.

$$T = I_T/I_o \quad (6)$$

Apabila nilai transmisi dikalikan dengan

100, akan menghasilkan nilai persen transmisi larutan sampel (*T%*). Jika transmisi larutan sampel bernilai 100%, artinya tidak ada penyerapan pada larutan sampel. Apabila transmisi larutan sampel bernilai 0%, artinya terdapat penyerapan sempurna pada larutan. Rasio radiasi untuk transmisi dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Transmittansi Sampel

Analisis sampel dengan menggunakan spektrofotometer merupakan suatu aktivitas pengukuran serapan sinar elektromagnetik atau pengukuran terhadap sinar radiasi elektromagnetik yang melewati larutan sampel. Kedua radiasi tersebut dikenal sebagai serapan atau absorpsivitas (*A*) dan transmisi dengan satuan persen (*T%*). Absorpsivitas (*A*) merupakan hasil logaritma dari perbandingan intensitas yang dilepaskan (*I_o*) terhadap intensitas melewati larutan sampel (*I_T*) (Lokare et al., 2019). Dirumuskan pada persamaan (7):

$$A = \log \frac{I_o}{I_T} \text{ atau } A = \log \frac{1}{T} \quad (7)$$

Salah satu interaksi yang terjadi ketika sinar melewati suatu larutan adalah serapan atau absorpsi. Penyerapan sinar elektromagnetik oleh zat absorpsi pada panjang gelombang monokromatik dijelaskan oleh dua hukum tentang intensitas cahaya, yaitu:

Pertama, Hukum Lambert, menyebutkan bahwa intensitas cahaya yang dilewati (*I_T*) memiliki pengaruh terhadap ketebalan larutan (*b*). Kedua, Hukum Beer, menjelaskan bahwa intensitas cahaya yang dilewati (*I_T*) berpengaruh terhadap konsentrasi larutan. Nilai *I_T* menurun secara eksponensial seiring dengan peningkatan konsentrasi sampel (*C*). Oleh karena itu, absorpsi atau daya serap suatu larutan dijelaskan oleh hukum yang dikenal dengan Lambert-Beer. Hukum ini menjelaskan adanya hubungan yang linear antara serapan cahaya dan konsentrasi larutan, melalui pengukuran absorpsi larutan sampel pada panjang gelombang tertentu (Md. Ashfaque E Alam, 2017).

$$\log \frac{I_o}{I_T} = A = \epsilon \cdot b \cdot C \quad (8)$$

dimana, *A* = absorban (daya serap)

ϵ = absorbtivitas molar (L/mol cm)
 b = lebar kuvet (cm)
 C = konsentrasi larutan (mol/cm)

V_1 = volume larutan pekat
 C_2 = konsentrasi larutan encer
 V_2 = volume larutan encer

Aspek kuantitatif pada spektrofotometri didasari oleh hukum Lambert-Beer, yang menjelaskan bahwa konsentrasi sampel dapat dihitung menggunakan rumus pada hukum Lambert-Beer. Absorbtivitas (A) adalah nilai yang bergantung pada ketebalan kuvet, konsentrasi sampel dan intensitas yang mengenai larutan (Day and Underwood, 1986).

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu seperangkat alat spektrofotometer UV-Vis, laser biru (405 nm \pm 10), laser hijau (532 nm \pm 10) dan laser merah (650 nm \pm 10), timbangan analitik, botol sampel, batang pengaduk (spatula), gelas ukur, pipet tetes, gelas kimia dan luxmeter. Sedangkan, bahan yang digunakan yaitu kopi bubuk dan akuades.

Preparasi Sampel Kopi

Pembuatan larutan standar kopi 500 ppm

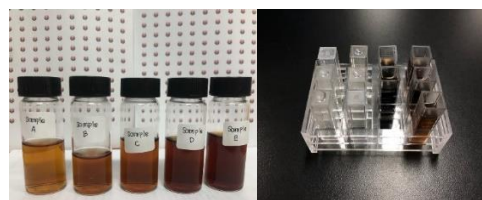
Gelas kimia yang berisi 100 mL akuades ditambahkan dengan bubuk kopi sebanyak 5 gram dan diaduk hingga homogen. Lakukan proses filtrasi pada larutan kopi untuk memisahkan larutan dengan ampasnya. Hasil filtrasi larutan tersebut akan menghasilkan larutan standar dengan konsentrasi 500 ppm.

Pengenceran larutan standar kopi

Larutan standar diencerkan pada labu terukur 35 mL dengan lima konsentrasi yang berbeda, yaitu 100 ppm, 160 ppm, 200 ppm, 350 ppm dan 400 ppm, seperti yang dapat dilihat pada Gambar 2. Pengembangan larutan standar pada penelitian ini dibuat dengan konsentrasi yang berbeda, variasi selisih konsentrasi yang tidak sama dapat disebabkan oleh kebutuhan untuk menyesuaikan dengan kisaran pengukuran tertentu yang relevan dengan penelitian. Dalam hal ini, variasi selisih yang tidak sama terkait dengan sifat-sifat spesifik dari substansi yang dianalisis atau dengan teknik pengukuran yang digunakan, di mana perubahan konsentrasi yang lebih kecil atau lebih besar pada titik-titik tertentu lebih sesuai untuk mendeteksi efek yang diinginkan (Yang et al., 2024). Dengan cara ini, penelitian dapat mencakup seluruh rentang konsentrasi yang diperlukan tanpa mengorbankan kualitas data yang diperoleh. Pengembangan larutan standar dihitung dengan menggunakan persamaan (9) berikut:

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2 \quad (9)$$

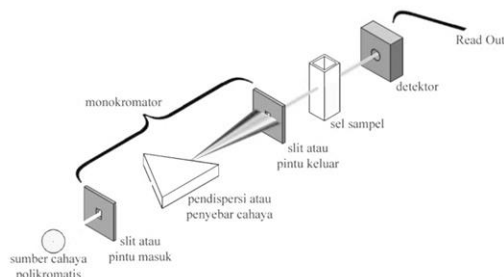
Dimana, C_1 = konsentrasi larutan pekat



Gambar 2. Larutan kopi konsentrasi 100 ppm, 160 ppm, 200 ppm, 350 ppm dan 400 ppm

Preparasi Alat Spektroskopi Sederhana

Desain spektroskopi dalam penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Skema desain alat spektroskopi sederhana

Laser digunakan sebagai sumber cahaya dengan panjang gelombang yang bervariasi, seperti 405 nm \pm 10 (laser biru), 532 nm \pm 10 (laser hijau) dan 650 nm \pm 10 (laser merah). Larutan sampel yang akan diukur nilai absorbansinya dipindahkan ke kuvet.

Pengukuran Serapan Cahaya terhadap Larutan Kopi

Alat Spektrofotometer UV-Vis

Sebelum melakukan pengukuran menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis, alat tersebut dikalibrasi terlebih dahulu. Setelah itu ukur absorpsivitas larutan blanko (zat pelarut) pada panjang gelombang (λ) 380-750 nm, data ini dapat dijadikan sebagai data awal atau data kontrol (González-Morales et al., 2020). Kemudian, masukkan larutan dengan konsentrasi (100, 160, 200, 350 dan 400 ppm) pada masing-masing kuvet. Lakukan pengukuran setiap konsentrasi larutan sampel menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis. Sinar yang berasal dari sumber cahaya pada alat akan diubah menjadi sinyal listrik, kemudian akan ditampilkan bentuk grafik atau angka digital sebagai hasil pengukuran (Hespanhol et al., 2019).

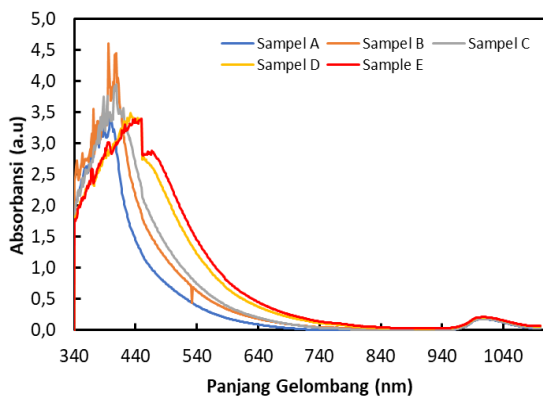
Alat Spektroskopi Sederhana

Larutan dengan konsentrasi (100, 160, 200, 350 dan 400 ppm) dipipet kedalam kuvet, kemudian posisi kuvet diletakkan seperti Gambar 3. Jarak antara sumber cahaya, sel

sampel dan detektor harus dipastikan konstan untuk setiap pengukuran konsentrasi larutan. Pengukuran pertama dilakukan dengan mengukur intensitas cahaya awal (I_0) dengan melewati cahaya dari sinar laser ke kuvet yang tidak berisi sampel untuk dijadikan sebagai kontrol. Setelah itu, lanjutkan pengukuran pada masing-masing sampel yang telah disiapkan (100, 160, 200, 350 dan 400 ppm), untuk mendapatkan nilai radiasi keluar (I_T).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan panjang gelombang (λ) maksimum larutan kopi dilakukan dalam upaya mendapatkan nilai absorsivitas yang memberikan sensitivitas pengukuran tertinggi (Kesia Maramis et al., 2013). Berdasarkan pengukuran, diperoleh panjang gelombang (λ) sebesar 340 nm hingga 650 nm. Panjang gelombang tersebut ditetapkan untuk pengukuran selanjutnya agar proses absorpsi larutan terhadap sinar dapat diukur pada panjang gelombang daerah sinar tampak (*visible light*) (Albert et al., 2012; Hosker, 2018). Hasil pengukuran panjang gelombang (λ) menggunakan spektrofotometer dapat dilihat pada Gambar 4.

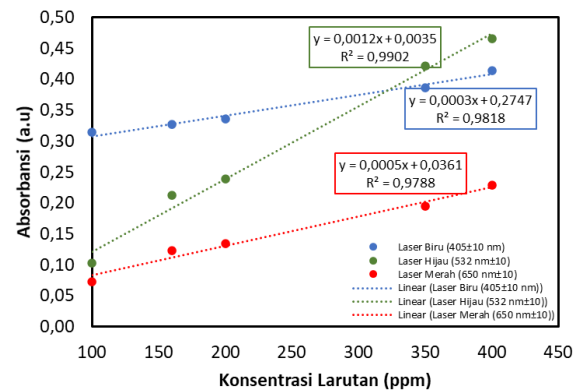


Gambar 4. Spektra pada larutan kopi

Pembuatan Kurva Kalibrasi Larutan Kopi

Variasi konsentrasi larutan kopi (100, 160, 200, 350 dan 400 ppm) dibuat dari larutan standar. Serapan cahaya setiap konsentrasi larutan diukur pada panjang gelombang yang sudah ditetapkan, yaitu 405 nm \pm 10 (laser biru), 532 nm \pm 10 (laser hijau) dan 650 nm \pm 10 (laser merah), yang dipilih sesuai hasil penetapan panjang gelombang maksimum

larutan kopi pada Gambar 5.



Gambar 5. Kurva kalibrasi absorbansi dan konsentrasi larutan kopi

Data absorbansi untuk semua jenis sampel larutan kopi menunjukkan bahwa serapan tertinggi terjadi pada panjang gelombang violet (405 nm). Secara fisik, hal ini menunjukkan bahwa energi foton yang berinteraksi dengan banyak sampel kopi merupakan energi radiasi pada rentang panjang gelombang ungu (Listiaji & Suparta, 2020). Berdasarkan Gambar 5, menunjukkan bahwa variasi konsentrasi larutan kopi memiliki hubungan yang positif dengan absorbansi cahaya pada setiap larutan, yang berarti semakin tinggi konsentrasi larutan kopi, maka nilai serapan cahaya larutan tersebut juga akan meningkat.

Hasil Validasi Metode Analitik pada Spektroskopi Sederhana

Validasi dilakukan terhadap beberapa parameter dengan tujuan menjamin keakuratan data pengukuran, mengevaluasi kinerja metode yang dilakukan, menjamin prosedur dan mengurangi resiko deviasi. Parameter analitik dalam validasi ini diantaranya yaitu, linearitas, presisi, *Limit of Detection (LOD)* dan *Limit of Quantification (LOQ)* (Astuti et al., 2016).

Linearitas

Penentuan linearitas pengukuran spektroskopi sederhana terhadap larutan kopi, diawali dengan membuat larutan dengan lima perbandingan konsentrasi, yaitu 100, 160, 200, 350 dan 400 ppm. Analisis dilakukan pada masing-masing konsentrasi untuk melihat korelasi masing-masing larutan, seperti yang disajikan Tabel 1.

Tabel 1. Penetapan kurva baku larutan kopi

Konsentrasi	Absorbansi larutan kopi pada panjang gelombang (λ)		
	405 nm ± 10	532 nm ± 10	650 nm ± 10
100 ppm	0,3139	0,1031	0,0730
160 ppm	0,3268	0,2129	0,1236
200 ppm	0,3353	0,2391	0,1349
350 ppm	0,3866	0,4212	0,1950
400 ppm	0,4143	0,4650	0,2286
	$a = 0,2747$	$a = 0,0035$	$a = 0,0361$
	$b = 0,0003$	$b = 0,0012$	$b = 0,0005$
	$r^2 = 0,9818$	$r^2 = 0,9902$	$r^2 = 0,9788$

Berdasarkan hasil analisis yang diperoleh pada kurva kalibrasi yaitu, $y = 0,0003x + 0,2747$ dengan $r^2 = 0,9818$ untuk ($\lambda = 405 \text{ nm} \pm 10$), $y = 0,0012x + 0,0035$ dengan $r^2 = 0,9902$ untuk ($\lambda = 532 \text{ nm} \pm 10$) dan $y = 0,0005x + 0,0361$ dengan $r^2 = 0,9788$ untuk ($\lambda = 650 \text{ nm} \pm 10$). Syarat linearitas terpenuhi apabila nilai koefisien korelasi (r^2) antara konsentrasi dan absorbansi mendekati 1 pada kurva kalibrasi (Astuti et al., 2016). Berdasarkan data tersebut, validasi metode analitik spektroskopi sederhana terhadap larutan kopi menunjukkan linearitas yang baik, sehingga dapat dijadikan sebagai kurva standar dalam pengukuran. Pengujian kuantitatif kadar kafein menggunakan metode

spektrofotometri UV-Vis juga dilakukan oleh (Kesia Maramis et al., 2013). Berdasarkan hasil percobaan, didapatkan $y = 0,1029x - 0,0989$ dengan $r^2 = 0,90$. Larutan baku kafein dibuat dengan enam variasi konsentrasi (1, 2, 3, 4, 5 dan 6 mg/L) juga memberikan linearitas yang baik.

Presisi

Ketepatan nilai presisi pada validasi metode analitik terletak pada daerah RSD. Hasil menunjukkan bahwa presisi pada percobaan yang dilakukan berada dalam batas yang dapat diterima. Hal tersebut diuraikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Presisi Laruan Kopi berdasarkan panjang gelombang

Panjang Gelombang	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (y)	\hat{y}	$(y - \hat{y})^2$	SD	RSD
405 nm ± 10	100	0,3139	0,3047	0,00008464	0,0115	0,0047%
	160	0,3268	0,3227	0,00001681		
	200	0,3353	0,3347	0,00000036		
	350	0,3866	0,3797	0,00004761		
	400	0,4143	0,3947	0,00038416		
			$\Sigma = 0,00053358$			
532 nm ± 10	100	0,1031	0,1235	0,000576	0,0176	0,0073%
	160	0,2129	0,1955	0,0003028		
	200	0,2391	0,2435	0,0000194		
	350	0,4212	0,4235	0,0000053		
	400	0,4650	0,4835	0,00034225		
			$\Sigma = 0,00124045$			
650 nm ± 10	100	0,0730	0,0861	0,00017161	0,0117	0,0048%
	160	0,1236	0,1161	0,00005625		
	200	0,1349	0,1361	0,00000144		
	350	0,1950	0,2111	0,00025921		
	400	0,2286	0,2361	0,00005625		
			$\Sigma = 0,00054476$			
						$\Sigma = 0,0056\%$

Metode validasi spektrofotometri dinyatakan memiliki nilai presisi yang baik apabila nilai RSD < 2% (Nethra et al., 2022). Berdasarkan hasil analisis data, menunjukkan bahwa nilai RSD untuk ($\lambda = 405 \text{ nm} \pm 10$) sebesar 0,0047%, untuk ($\lambda = 532 \text{ nm} \pm 10$) sebesar 0,0073% dan untuk ($\lambda = 650 \text{ nm} \pm 10$) sebesar 0,0048%, dengan rata-rata sebesar 0,0056%. Berdasarkan data tersebut, bahwa validasi metode analitik parameter presisi menunjukkan hasil yang baik. Kurva kalibrasi diperoleh dari sembilan rentang konsentrasi

kopi pada penelitian (Angela, 2005), juga menghasilkan nilai rata-rata %RSD untuk studi presisi sebesar <1,8%. Berdasarkan metode yang dikembangkan dalam penentuan sukrosa pada biji kopi tersebut, juga mendapatkan nilai presisi yang baik.

Limit of Detection (LOD) dan Limit of Quantification (LOQ)

Sensitivitas metode dinilai melalui perhitungan *Limit of Detection (LOD)* dan *Limit of Quantitation (LOQ)* dari data linearitas disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai *Limit of Detection (LOD)* dan *Limit of Quantification (LOQ)*

Panjang gelombang	Regression equation	Slope	Intercept	LOD (ppm)	LOQ (ppm)
405 nm ± 10	$y = 0,0003x + 0,2747$	0,0003	0,2747	115	383,33
532 nm ± 10	$y = 0,0012x + 0,0035$	0,0012	0,0035	44	146,67
650 nm ± 10	$y = 0,0005x + 0,0361$	0,0005	0,0361	70,2	234

Penetapan nilai *Limit of Detection (LOD)* dan *Limit of Quantification (LOQ)* pada penelitian ini dengan cara membuat lima seri konsentrasi dibawah seri konsentrasi baku, melalui pengukuran pada panjang gelombang yang berbeda. Berdasarkan hasil pengukuran LOD dan LOQ, untuk ($\lambda = 405 \text{ nm} \pm 10$) didapatkan nilai LOD sebesar 115 ppm dan nilai LOQ sebesar 383,33 ppm, untuk ($\lambda = 532 \text{ nm} \pm 10$) didapatkan nilai LOD sebesar 44 ppm dan nilai LOQ sebesar 146,67 ppm dan untuk ($\lambda = 650 \text{ nm} \pm 10$) didapatkan nilai LOD sebesar 70,2 ppm dan nilai LOQ sebesar 234 ppm. Sensitivitas metode dan dihitung dari *peak-to-noise ratios* ditentukan oleh *Limit of Detection (LOD)* dan *Limit of Quantitation (LOQ)*. Berdasarkan penelitian (Belay & Gholap, 2009) dalam menentukan *chlorogenic acids (CGA)* pada biji kopi, diperoleh nilai LOD dan LOQ dari CGA adalah 16 mg/L dan 54 mg/L.

PENUTUP

Berdasarkan percobaan dan hasil analisis, dapat disimpulkan bahwa validasi metode analitik pada parameter linearitas, presisi, LOD dan LOQ terhadap spektroskopi yang dikembangkan dalam mengukur absorbansi larutan kopi telah memenuhi kriteria validasi. Hasil linearitas ditunjukkan oleh nilai r^2 berturut-turut sebesar 0,9818; 0,9902 dan 0,9788 terhadap tiga panjang gelombang yang berbeda. Rata-rata nilai presisi untuk ketiga perlakuan sebesar 0,0056% dengan *Limit of Detection (LOD)* dan *Limit of Quantitation*

(LOQ) sebesar 115 ppm dan 383,33 ppm untuk ($\lambda = 405 \text{ nm} \pm 10$); 44 ppm dan 146,67 ppm untuk ($\lambda = 532 \text{ nm} \pm 10$); 70,2 ppm dan 234 ppm untuk ($\lambda = 650 \text{ nm} \pm 10$).

REFERENSI

- Albert, D. R., Todt, M. A., & Davis, H. F. (2012). A low-cost quantitative absorption spectrophotometer. *Journal of Chemical Education*, 89(11), 1432–1435. <https://doi.org/dx.doi.org/10.1021/ed200829d>
- Angela, Alcázar. , J. M. Jurado. , M. M. Jesús. , P. Fernando. , G. A. G. (2005). Enzymatic-spectrophotometric determination of sucrose in coffee beans'Angela. *Talanta*, 67, 760–766. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2005.04.005> A
- Astuti, P., Idiawati, N., & Destianti, L. (2016). Validasi Metode Pengukuran Kadar Asam Humat Hasil Ekstraksi Kalium Hidroksida dengan Spektrofotometri Ultraviolet. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 5(2), 69–77.
- Barazandeh, A., Najafpour, G. D., Alihosseini, A., Kazemi, S., & Akhondi, E. (2021). Spectrophotometric determination of naproxen using chitosan capped silver

- nanoparticles in pharmaceutical formulation. *International Journal of Engineering, Transactions A: Basics*, 34(7), 1576–1585. <https://doi.org/10.5829/ije.2021.34.07a.03>
- Belay, A., & Gholap, A. v. (2009). Characterization and determination of chlorogenic acids (CGA) in coffee beans by UV-Vis spectroscopy. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, 3(11), 234–240. <http://www.academicjournals.org/ajpac>
- González-Morales, D., Valencia, A., Díaz-Núñez, A., Fuentes-Estrada, M., López-Santos, O., & García-Beltrán, O. (2020). Development of a low-cost UV-Vis spectrophotometer and its application for the detection of mercuric ions assisted by chemosensors. *Sensors (Switzerland)*, 20(3), 1–16. <https://doi.org/10.3390/s20030906>
- Hespanhol, M. C., Pasquini, C., & Maldaner, A. O. (2019). Evaluation of a low-cost portable near-infrared spectrophotometer for in situ cocaine profiling. *Talanta*, 200, 553–561. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.03.091>
- Hosker, B. S. (2018). Demonstrating Principles of Spectrophotometry by Constructing a Simple, Low-Cost, Functional Spectrophotometer Utilizing the Light Sensor on a Smartphone. *Journal of Chemical Education*, 95(1), 178–181. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.7b00548>
- Kesia Maramis, R., Citraningtyas, G., & Wehantouw, F. (2013). Analisis Kafein dalam Kopi Bubuk di Kota Manado menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(04), 2302–2493. <https://doi.org/10.17605/OSF.IO/RBFSE>
- Listiaji, P., & Suparta, G. B. (2020). Low-cost imaging spectrophotometer system for absorbance measurement. *International Conference on Mathematics, Science, and Education (ICMSE)*, 1567(4), 1–6. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1567/4/042093>
- Lokare, O. R., Ji, P., Wadekar, S., Dutt, G., & Vidic, R. D. (2019). Concentration polarization in membrane distillation: I. Development of a laser-based spectrophotometric method for in-situ characterization. *Journal of Membrane Science*, 581, 462–471. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.memsci.2019.03.080>
- Md. Ashfaque E Alam, Md. R. I. and I. J. F. (2017). Development and Validation of a Low-cost Visible Light Spectrophotometer. *International Conference on Advances in Electrical Engineering (ICAEE)*, 653–657.
- Nethra, K., Shaik Mohammed, Z., Kavitha, J., Seetharaman, R., Kokilambigai, K. S., & Lakshmi, K. S. (2022). Development and Validation of Stability Indicating HPTLC Method for the Simultaneous Estimation of Tinidazole and Fluconazole and Its Applicability in Marketed Dosage Form. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 14(5), 153–160. <https://doi.org/https://doi.org/10.22159/ijap.2022v14i5.44460>
- Syam dini, C. F. S., Muthiah, I. K., & Ainurofiq, A. (2022). Validation of UV spectrophotometric method for ketoprofen multicomponent crystals with malic acid and tartaric acid. *Journal of Physics: Conference Series*, 2190(1), 1–7. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/2190/1/012034>
- Vanderveen, J. R., Martin, B., & Ooms, K. J. (2013). Developing tools for undergraduate spectroscopy: An inexpensive visible light spectrometer. *Journal of Chemical Education*, 90(7), 894–899.

<https://doi.org/10.1021/ed300396x>

Yang, X. D., Gong, B., Chen, W., Chen, J. J., Qian, C., Lu, R., Min, Y., Jiang, T., Li, L., & Yu, H. Q. (2024). In Situ Quantitative Monitoring of Adsorption from Aqueous Phase by UV–vis Spectroscopy: Implication for Understanding of Heterogeneous Processes. *Advanced Science*.
<https://doi.org/10.1002/advs.202402732>