

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang Kangkung Air

2.1.1 Definisi kangkung air

Kangkung air (*Ipomoea aquatica forssk*) adalah tumbuhan akuatik yang sering digunakan orang sebagai sayuran. Kangkung air merupakan sejenis tumbuhan yang termasuk jenis sayur- sayuran yang banyak mengandung senyawa kimia dan merupakan tumbuhan yang dapat dijumpai di kawasan berair.

Kangkung merupakan tanaman yang tumbuh cepat dan memberikan hasil dalam waktu 4-6 minggu sejak dari benih dan tempat-tempat yang basah seperti tepi kali, rawa-rawa, atau terapung di atas air. Kangkung biasa ditemukan di daratan rendah hingga 1.000 m di atas permukaan laut (Warsidi, 1991).

Perbedaan antara kangkung darat dan kangkung air terletak pada warna bunga. Kangkung air berbunga putih kemerah merahan, sedangkan kangkung darat memiliki bunga putih bersih. Perbedaan lainnya terletak pada bentuk daun dan batang. Kangkung air berbatang dan berdaun lebih besar dari pada kangkung darat (Warsidi, 1991).

Kangkung air merupakan sejenis tumbuhan yang termasuk jenis sayur-sayuran yang banyak mengandung betakaroten dan ditanam sebagai makanan dan merupakan tumbuhan yang dapat dijumpai dikawasan berair.

Perbedaan lainnya pada bentuk daun dan batang. Kangkung air berbatang dan berdaun lebih besar dari pada kangkung darat. Warna batangnya juga berbeda. Kangkung air berbatang hijau, sedangkan kangkung darat putih kehijau-hijauan. Kangkung darat lebih banyak bijinya dari pada kangkung air. Itu sebabnya

kangkung darat diperbanyak lewat biji, sedangkan kangkung air dengan stek pucuk batang (Warsidi, 1991).

Warna batangnya juga berbeda. Kangkung air berbatang hijau, sedangkan kangkung darat putih kehijau-hijauan. Selain itu, kangkung darat lebih banyak bijinya dari pada kangkung air. Kangkung darat lebih digemari daripada kangkung air karena rasanya lebih renyah dan tidak terlalu keras.

Kalau kangkung air bisa dipanen 1 bulan setelah tanam, maka kangkung darat baru 1,5 bulan setelah tanam. Hingga harga kangkung darat juga selalu lebih tinggi dibanding kangkung air.

Menurut Dr. Setiawan, efek farmakologis tanaman kangkung sebagai antiracun (antitoksik), antiradang, peluruh kencing (diuretik), menghentikan perdarahan (hemostatik), sedatif (obat tidur). Kangkung juga bersifat menyejukkan dan menenangkan.

2.1.2 Klasifikasi kangkung air

Bagian tanaman kangkung yang paling penting adalah batang muda dan pucuknya sebagai bahan sayur-mayur. Kangkung mempunyai rasa manis, tawar, sejuk. Sifat tanaman ini masuk ke dalam meridian usus dan lambung. Nilai gizi / komposisi kimia organisme berbeda-beda.

Batang tanaman ini beruas dan berongga. Daunnya merupakan daun tunggal dengan tangkai panjang dan tumbuh berseling. Bentuknya segitiga memanjang. Permukaan daun kangkung bagian atas berwarna hijau, sedangkan bagian bawahnya hijau muda. Daunnya berbentuk seperti tameng, meruncing pada bagian atasnya, bertangkai panjang dengan permukaan sebelah atas berwarna hijau lebih

tua daripada permukaan sebelah bawah. Daun dan tangkai kangkung yang biasa digunakan untuk dimasak adalah yang masih muda.

Kangkung termasuk sayur yang sangat populer. Kangkung dapat diolah menjadi tumis, cah atau lalap. Kangkung ternyata juga berkhasiat sebagai antiracun dan mampu mengobati berbagai gangguan kesehatan (Warsidi, 1991).

Kangkung termasuk dalam keluarga Kangkung-kangkungan (Family *Convolvulaceae*). Berikut adalah klasifikasi kangkung air dalam taksonomi tumbuhan (Heyne, 1987) :

Kingdom	:	Plantae
Divisi	:	Spermatophyta
Sub Divisi	:	Angiospermae
Kelas	:	Dicotyledoneae
Ordo	:	Convolvulales
Famili	:	Convolvulaceae
Genus	:	<i>Ipomoea</i>
Spesies	:	<i>Ipomoea aquatica</i>



(a)



(b)

Gambar 2.1 Perbedaan morfologi, kangkung air (a) dan kangkung darat (b) (Hildafauziah, 2012).

Kangkung air dengan daun agak pendek, berujung agak tumpul, warnanya hijau kelam, bunganya berwarna putih kekuning-kuningan atau putih kemerah-merahan, hidup di tempat yang berair seperti rawa, kolam, atau sungai yang airnya tenang. Sedangkan Kangkung darat bunga putih bersih. Kangkung air berbatang dan berdaun lebih besar dari pada kangkung darat. Warna batang berbeda. kangkung darat putih kehijau-hijauan.

2.1.3 Manfaat kangkung air

Menurut Warsidi (1991), kangkung air mempunyai banyak manfaat seperti, mimisan, sakit kepala, ambeien, insomnia, sakit gigi, melancarkan air seni, menghilangkan ketombe, sembelit dan mual pada ibu hamil, gusi bengkak, kapalan, kulit gatal karena eksim, penghilang sakit akibat gigitan lipan, menetralkan racun, penuh zat besi dan mineral, Pemasok betakaroten, kaya akan serat, Untuk mengobati susah tidur, mencegah konstipasi, menurunkan ketegangan syaraf.

2.1.4 Kandungan gizi kangkung air

Kangkung air mempunyai beberapa zat penting bagi tubuh, yaitu serat, vitamin C, vitamin A, protein, dan kalsium. Kangkung termasuk dalam sayuran yang bernilai nutrisi tinggi dan sangat mudah untuk dibudidayakan karena bisa tahan terhadap perubahan cuaca. Bila memakan kangkung dalam porsi 150 gram maka akan mendapatkan banyak kandungan gizi diantaranya yaitu: 45 kkalori, 40 g protein, 90 mg kalsium, 5 mg besi, 6 mg vitamin A, 45 mg vitamin C (Ahira, 2010).

2.2 Tinjauan Tentang Timbal (Pb)

2.2.1 Pengertian umum timbal (Pb)

Timbal adalah suatu unsur kimia yang terdapat pada golongan IV A dan periode ke enam pada tabel periodik. Timbal yang diberi lambang Pb yang merupakan singkatan dari bahasa Latinnya, yaitu plumbum. Timbal memiliki nomor atom 82 dan nomor massa 207,2. Timbal merupakan logam berwarna abu-abu, mempunyai massa jenis yang sangat tinggi yaitu 11,34 g/cm³, jauh lebih tinggi daripada massa jenis tertinggi bagi logam transisi pertama yaitu 8,92 g/cm³ untuk tembaga (Hielda, 2010).

Timbal (Pb) adalah logam yang mendapat perhatian khusus karena sifatnya yang toksik (beracun) terhadap manusia. Timbal (Pb) dapat masuk ke dalam tubuh melalui konsumsi makanan, minuman, udara, air, serta debu yang tercemar Pb (Herman, 2006).

Pada perairan tawar bentuk Pb paling umum dijumpai adalah timbal karbonat dan kompleks timbal organik dan bentuk ion logam bebas jumlahnya sedikit. Penurunan pH air menyebabkan daya racun logam berat semakin besar, kesadahan tinggi dapat mengurangi toksisitas logam berat karena akan membentuk senyawa kompleks yang mengendap pada dasar perairan (Bryan, 1976).



Gambar 2.2 Timbal (Doull, 1986).

2.2.2 Sifat-sifat Timbal (Pb)

Menurut Palar (2004), logam timbal (Pb) mempunyai sifat-sifat yang khusus seperti berikut:

- a. Merupakan logam yang lunak, sehingga dapat dipotong dengan menggunakan pisau atau dengan tangan dan dapat dibentuk dengan mudah.
- b. Merupakan logam yang tahan terhadap peristiwa korosi atau karat, sehingga logam timbal sering digunakan sebagai bahan coating.
- c. Mempunyai titik lebur rendah hanya 327, 5°C.
- d. Mempunyai kerapatan yang lebih besar dibandingkan dengan logam-logam, kecuali emas dan merkuri.
- e. Merupakan pengantar listrik yang baik.

2.2.2.1 Sifat fisika

- a. Timbal sebagai logam berat merupakan unsur yang terbanyak di dunia. Istilah logam berat digunakan pada timbal karena mempunyai kerapatan (massa jenis) yang sangat tinggi yaitu 11,34 gram/cm³, jauh lebih tinggi daripada kerapatan tertinggi bagi logam transisi pertama yaitu 8,92 gram/cm³ untuk tembaga.
- b. Timbal bersifat lembek-lemah dengan titik leburnya 327,460C. Timbal akan nampak mengkilat-berkilauan ketika baru dipotong, tetapi segera menjadi pudar (buram) ketika terjadi kontak dengan udara terbuka; hal ini karena terjadi pembentukan lapisan timbal-oksida atau karbonat yang melapisi secara kuat sehingga mencegah terjadinya reaksi lanjut.

- c. Lempengan timbal banyak dipakai sebagai pelindung bahan radioaktif karena sifatnya yang mempunyai kemampuan yang sangat tinggi dalam menahan sinar X dan sinar Y.
- d. Harga potensial elektroda timbal adalah $-0,13V$. Kereaktifannya yang rendah ini dapat dikaitkan dengan overvoltage yang tinggi terhadap hidrogen. Jadi, timbal tidak terlarutkan oleh H_2SO_4 encer dan HCl pekat (Hielda, 2010).

2.2.2.2 Sifat kimia

- a. Mempunyai valensi 2 dan 4
- b. Relatif tahan terhadap asam sulfat dan HCl
- c. Merupakan logam yang tahan terhadap peristiwa korosi atau karat, sehingga logam timbal sering digunakan sebagai bahan coating (lapisan).
- d. Larut secara perlahan terhadap asam nitrat.
- e. Merupakan amphoteric, garam Pb terbentuk dari asam plumbic.
- f. Merupakan penghantar listrik yang tidak baik (Gabriel, 2001).

2.2.3 Toksisitas Timbal (Pb)

Mekanisme toksisitas Pb berdasarkan organ yang dipengaruhi adalah:

1. Sistem haemopoietik; dimana Pb menghambat sistem pembentukan hemoglobin (Hb) sehingga menyebabkan anemia.
2. Sistem saraf; dimana Pb dapat menyebabkan kerusakan otak dengan gejala epilepsi, halusinasi, kerusakan otak besar, dan delirium.
3. Sistem urinaria; dimana Pb bisa menyebabkan lesi tubulus proksimalis, lengkung henle, serta menyebabkan aminosiduria.

4. Sistem pencernaan; dimana Pb dapat menyebabkan kolik dan konstipasi.
5. Sistem kardiovaskular; dimana Pb dapat menyebabkan peningkatan permeabilitas pembuluh darah (Doull,1986).

2.2.4 Batas Aman Timbal (Pb) pada sayuran

Menurut SNI No.7387-2009, batas maksimum cemaran logam berat yang diperbolehkan dalam sayuran adalah $0,5 \mu\text{g/g}$ untuk timbal sedangkan batas aman timbal (Pb) yang diperbolehkan oleh Ditjen POM pada makanan hanya 2 ppm (Suismono, 2005).

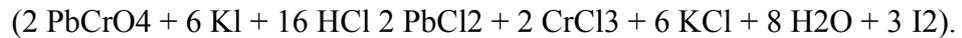
2.3 Analisa timbal

Timbal di alam didapat dalam keadaan murni tetapi dalam bentuk senyawa, senyawa timbal terdapat dalam mineral yang dikenal dengan galena (PbS), cerussite (PbCO_3), anglesite (PbSO_4), pyromorphite $\text{Pb}_4(\text{PbCl})(\text{PO}_4)_3$ dan sebagainya (Hielda, 2010).

Metoda analisa timbal antara lain:

1. Analisa basah menggunakan gravimetri dan volumetri;
 - a) Gravimetri, metoda gravimetri sebagai timbal kromat. Pada analisa gravimetri mula-mula timbal diendapkan sebagai timbal sulfat, lalu dilarutkan dan diendapkan kembali sebagai timbal kromat dalam larutan asam asetat, endapan dikeringkan pada temperatur $105-110^\circ\text{C}$ dan ditimbang sebagai PbCrO_4 .
 - b) Volumetri, volumetri sebagai kromat iodida. Untuk analisa volumetri timbal diendapkan sebagai timbal kromat dalam larutan asam asetat,

dilarutkan dalam HCl dan direaksikan dengan kalium iodida, iodium yang dibebaskan dititrasi dengan larutan baku natrium thiosulfat



2. Analisa instrumental (spektrofotometri, ASS) pada metoda fotometri sebagai timbal dithizonat, pada analisa spektrofotometri, timbal dithizonat diekstrak dari larutan buffer sianida pada pH 8.5-9.5 dengan larutan dithizon dalam khloroform, kelebihan dithizon dalam khloroform dihilangkan dengan ekstraksi oleh larutan natrium sulfid amoniakal pada pH yang lebih tinggi.
3. Uji kering
 - a) Uji pipa tiup. Bila suatu garam timbel dipanaskan dengan karbon alkali di atas arang, diperoleh manik timbel yang dapat ditempa (yang lembut dan akan menodai kertas) dikelilingi oleh kerak kuning timbel monoksida.
 - b) Uji nyala. Menghasilkan warna biru muda (tak memastikan). Konsentrasi Pb juga dapat ditentukan dengan menggunakan spektrofotometer serapan atom (AAS). Teknik operasi alat tersebut yaitu dengan mengukur perubahan energi analit dalam bentuk atom. Sampel diuapkan dan diubah menjadi unsure dalam keadaan gas. Atom akan mengalami eksitasi karena adanya radiasi dari lampu cekung katoda (*Hallow Cathode Lamp* / HCl) dari keadaan dasar (*ground state*) menjadi keadaan tereksitasi (*excited state*) dengan menyerap energi yang lebih tinggi. Panjang gelombang untuk radiasi tersebut yaitu pada

283,3 nm. Penentuan kandungan atau konsentrasi logam Pb dilakukan dengan membuat kurva kalibrasi atau pembacaan langsung dari alat SSA/AAS.

2.4 Pencemaran Kali Brantas Mojokerto

Kali Brantas Mojokerto merupakan daerah yang padat penduduknya. Di daerah ini terdapat berbagai macam aktifitas masyarakat terutama masyarakat yang tinggal di sepanjang Kali Brantas, dimana mereka cenderung dengan mudah membuang air limbahnya ke Kali Brantas. Disamping itu terdapat juga enam buah industri yang mengalirkan air limbahnya ke Kali Brantas, baik secara langsung maupun tidak langsung. Jenis industri tersebut adalah kertas, gula, penyedap rasa dan bahan kimia (Jasa Tirta, 1999). Hal ini menyebabkan pencemaran air Kali Brantas semakin meningkat.

2.5 Spektrofotometri Serapan Atom SSA/AAS



Gambar 2.5.1 Spektrofotometri Serapan Atom SSA/AAS (Retno, 2012).

2.5.2 Pengertian Spektrofotometri Serapan Atom

Spektrofotometri Serapan Atom (AAS) adalah suatu alat yang digunakan pada metode analisis untuk penentuan unsur-unsur logam dan metaloid yang berdasarkan pada penyerapan absorpsi radiasi oleh atom bebas. Sekitar 67 unsur telah dapat ditentukan dengan cara AAS. Banyak penentuan unsur-unsur logam

yang sebelumnya dilakukan dengan metoda polarografi, kemudian dengan metoda spektrofotometri UV-VIS, sekarang banyak diganti dengan metoda AAS (Gusti, 2012).

2.5.3 Fungsi Spektrofotometri Serapan Atom

Spektrofotometer serapan atom berfungsi untuk menentukan kadar konsentrasi dari unsur metalik untuk kepentingan medis dalam pemeliharaan kesehatan, seperti kalsium, magnesium, tembaga, seng, dan besi. Selain itu spektrofotometer serapan atom juga dapat digunakan untuk menentukan apakah obat-obatan terapeutik tingkat seperti lithium telah dicapai dalam darah dan juga dapat mendeteksi quantitativ kadar racun pada logam.

2.5.4 Prinsip Kerja Spektrofotometri Serapan Atom

Spektrofotometri serapan atom akan menentukan konsentrasi elemen yang diserap oleh optikal pengukuran dan pancaran cahaya. Penyerapan atom terjadi ketika satu atom di dalamnya dalam keadaan menyerap cahaya dari satu panjang gelombang tertentu, sehingga menyebabkan salah satu elektron bergerak untuk pindah ke tingkat energy yang lebih tinggi. Kemudian atom tersebut akan berada dalam tingkat energi yang lebih tinggi. Emisi atomik terjadi ketika elektron jatuh kembali ke tingkat energi yang lebih rendah dan emisi cahaya akan sama seperti panjang gelombang yang diserap sebelumnya.

Prinsip dasar spektrofotometri serapan atom adalah interaksi antara radiasi elektromagnetik dengan sampel. Spektrofotometri serapan atom merupakan metode yang sangat tepat untuk analisis zat pada konsentrasi rendah (Khopkar, 1990). Teknik ini adalah teknik yang paling umum dipakai untuk analisis unsur. Teknik-teknik ini didasarkan pada emisi dan absorbansi dari uap atom. Komponen

kunci pada metode spektrofotometri serapan atom adalah sistem (alat) yang dipakai untuk menghasilkan uap atom dalam sampel (Anonim, 2003).

Spektrofotometri serapan atom (SSA) adalah salah satu bentuk alat yang dapat digunakan untuk menganalisis logam-logam dalam jumlah yang sangat sedikit. Prinsip kerja dari spektrofotometri adalah penyerapan energi sinar oleh atom-atom netral dalam keadaan gas. Sampel yang akan dianalisa diuraikan dengan suatu alat yang disebut "atomizer" sehingga menjadi atom netralnya yang berbentuk uap, kemudian atom netral ini disinari oleh sinar yang sesuai sehingga terjadi serapan atom (absorbansi) (Musrin, 2010).

Prinsip dari Spektrofotometri Serapan Atom, larutan sampel diaspirasikan ke suatu nyala dan unsur-unsur di dalam sampel diubah menjadi uap atom sehingga nyala mengandung atom unsur-unsur yang dianalisis. Beberapa diantara atom akan tereksitasi secara termal oleh nyala, tetapi kebanyakan atom tetap tinggal sebagai atom netral dalam keadaan dasar (*ground state*). Atom-atom *ground state* ini kemudian menyerap radiasi yang diberikan oleh sumber radiasi yang terbuat dari unsur-unsur yang bersangkutan.

Menurut Darmono (1995), prinsip spektrofotometri serapan atom ini adalah berdasarkan atas penguapan larutan sampel, kemudian logam yang terkandung di dalamnya diubah menjadi atom bebas. Atom tersebut mengabsorpsi radiasi dari sumber cahaya yang dipancarkan dari lampu katoda (*Hollow Cathode Lamp*) yang mengandung unsur yang akan ditentukan. Banyaknya penyerapan radiasi kemudian diukur pada panjang gelombang tertentu menurut jenis logamnya.

2.5.5 Instrumen Spektrofotometri Serapan Atom

Alat spektrofotometri serapan atom terdiri dari rangkaian dalam diagram skematik berikut:

Komponen-komponen Spektrofotometri Serapan Atom (SSA):

1. Sumber Sinar

Sumber radiasi SSA adalah *Hallow Cathode Lamp* (HCL). Setiap pengukuran dengan SSA kita harus menggunakan *Hallow Cathode Lamp* khusus misalnya akan menentukan konsentrasi tembaga dari suatu cuplikan. Maka kita harus menggunakan *Hallow Cathode* khusus. *Hallow Cathode* akan memancarkan energi radiasi yang sesuai dengan energi yang diperlukan untuk transisi elektron atom.

Hallow Cathode Lamp terdiri dari katoda cekung yang silindris yang terbuat dari unsur yang sama dengan yang akan dianalisis dan anoda yang terbuat dari tungsten. Dengan pemberian tegangan pada arus tertentu, logam mulai memijar dan atom-atom logam katodanya akan teruapkan dengan pemercikan. Atom akan tereksitasi kemudian mengemisikan radiasi pada panjang gelombang tertentu (Khopkar, 1990).

Sumber radiasi lain yang sering dipakai adalah "*Electrodless Dischcarge Lamp*" lampu ini mempunyai prinsip kerja hampir sama dengan *Hallow Cathode Lamp* (lampu katoda cekung), tetapi mempunyai *output* radiasi lebih tinggi dan biasanya digunakan untuk analisis unsur-unsur As dan Se, karena lampu HCL untuk unsur-unsur ini mempunyai signal yang lemah dan tidak stabil.

2. Sumber atomisasi

Sumber atomisasi dibagi menjadi dua yaitu sistem nyala dan sistem tanpa nyala. Kebanyakan instrumen sumber atomisasinya adalah nyala dan sampel diintroduksi dalam bentuk larutan. Sampel masuk ke nyala dalam bentuk aerosol. Aerosol biasa dihasilkan oleh nebulizer (pengabut) yang dihubungkan ke nyala oleh ruang penyemprot (*chamber spray*). Jenis nyala yang digunakan secara luas untuk pengukuran analitik adalah udara-asetilen dan nitrous oksida-asetilen. Dengan kedua jenis nyala ini, kondisi analisis yang sesuai untuk kebanyakan analit dapat ditentukan dengan menggunakan metode-metode emisi, absorpsi dan juga fluoresensi.

1). Nyala udara asetilen

Biasanya menjadi pilihan untuk analisis menggunakan SSA. Temperatur nyalanya yang lebih rendah mendorong terbentuknya atom netral dan dengan nyala yang kaya bahan bakar pembentukan oksida dari banyak unsur dapat diminimalkan.

2). Nitrous oksida-asetilen

Dianjurkan dipakai untuk penentuan unsur-unsur yang mudah membentuk oksida dan sulit terurai. Hal ini disebabkan karena temperatur nyala yang dihasilkan relatif tinggi.

3). Monokromator

Monokromator merupakan alat yang berfungsi untuk memisahkan radiasi yang tidak diperlukan dari spektrum radiasi lain yang dihasilkan oleh *Hollow Cathode Lamp*

4). Detektor

Detektor merupakan alat yang mengubah energi cahaya menjadi energi listrik, yang memberikan suatu isyarat listrik berhubungan dengan daya radiasi yang diserap oleh permukaan yang peka.

5). Sistem pengolah

Sistem pengolah berfungsi untuk mengolah kuat arus dari detektor menjadi besaran daya serap atom transmisi yang selanjutnya diubah menjadi data dalam sistem pembacaan.

6). Sistem pembacaan

Sistem pembacaan merupakan bagian yang menampilkan suatu angka atau gambar yang dapat dibaca oleh mata (Sumarlin, 1990).

2.5.6 Optimasi peralatan Spektrofotometri Serapan Atom

Pada peralatan optimasi Spektrofotometri Serapan Atom agar memberikan wacana dan sejauh mana sensitivitas dan batas deteksi alat terhadap sampel yang akan dianalisis, optimasi pada peralatan SSA meliputi:

- 1) Pemilihan persen (%) pada transmisi
- 2) Lebar celah (*slith width*)
- 3) Kedudukan lampu terhadap *focus slit*
- 4) Kemampuan arus lampu *Hallow Cathode*
- 5) Kedudukan panjang gelombang (λ)
- 6) Set monokromator untuk memberikan sinyal maksimum
- 7) Pemilihan nyala udara tekanan asetilen
- 8) Kedudukan *burner* agar memberikan absorbansi maksimum
- 9) Kedudukan atas kecepatan udara tekan

10) Kedudukan atas kecepatan asetilen.

2.5.7 Teknik-teknik analisis

Dalam analisa secara spektrometri teknik yang biasa dipergunakan antara lain:

1). Metode kurva kalibrasi

Dalam metode kurva kalibrasi ini, dibuat seri larutan standard dengan berbagai konsentrasi dan absorbansi dari larutan tersebut diukur dengan SSA. Selanjutnya membuat grafik antara konsentrasi (C) dengan Absorbansi (A) yang akan merupakan garis lurus melewati titik nol dengan slope = $\epsilon \cdot B$ atau slope = $a \cdot b$, konsentrasi larutan sampel diukur dan diinterpolasi ke dalam kurva kalibrasi atau di masukkan ke dalam persamaan regresi linear pada kurva kalibrasi

2). Metode standar tunggal

Metode ini sangat praktis karena hanya menggunakan satu larutan standar yang telah diketahui konsentrasinya. Selanjutnya absorpsi larutan standard dan absorpsi larutan sampel diukur dengan spektrofotometri.

3). Metode adisi standard

Metode ini dipakai secara luas karena mampu meminimalkan kesalahan yang disebabkan oleh perbedaan kondisi lingkungan (matriks) sampel dan standard. Dalam metode ini dua atau lebih sejumlah volume tertentu dari sampel dipindahkan ke dalam labu takar. Satu larutan diencerkan sampai volume tertentu, kemudian diukur absorbansinya tanpa ditambah dengan zat standard, sedangkan larutan yang lain sebelum diukur absorbansinya ditambah terlebih dulu dengan sejumlah tertentu larutan standard dan diencerkan seperti pada larutan yang pertama (Sumarlin, 1990).