

Prof.Dr.Ir.Krishna Purnawan Candra, M.S.
Jurusan Teknologi Hasil Pertanian
FAPERTA UNMUL

KIMIA ANALITIK (2-1)

PERTEMUAN KE-10 DAN 11

SPEKTROFOTOMETRI

Abstrak

- ◉ Spektrofotometri: pengukuran dengan menggunakan prinsip spektroskopi / cahaya
- ◉ Cahaya terdiri dari banyak spektrum, dan setiap benda akan menyerap spektrum cahaya tertentu
- ◉ Alatnya: spektrofotometer (single beam, dan double beam)
- ◉ Prinsip:
 - sumber cahaya dilewatkan pada celah sempit untuk mendapatkan spektrum cahaya (λ) tertentu
 - Spektrum cahaya diarahkan ke sampel dan intensitas spektrum yang lewat/terserap diukur sebagai nilai transmitans (%) atau absorbans (abs)
- ◉ Cara Pengukuran:
 - Menggunakan analit yang akan dianalisis, dibuat kurva standar yang menunjukkan hubungan antara abs dengan konsentrasi analit
 - Menentukan konsentrasi analit berdasarkan abs yang diperoleh dengan membandingkannya dengan kurva standar.

Beberapa definisi berkaitan dengan spektrofotometri

- ⊙ Spektroskopi (*spectroscopy*) : ilmu yang mempelajari interaksi antara bahan dengan energi radiasi.
- ⊙ Radiasi menunjukkan sifat sebagai komponen elektrik dan komponen magnetik, sehingga kemudian disebut sebagai radiasi elektromagnetik.
- ⊙ Energi radiasi (foton) didefinisikan sebagai

$$E = h \vartheta$$

Ket: h = tetapan Plank ($6,63 \times 10^{-34}$ J.det); ϑ = frekuensi
 Sehingga:

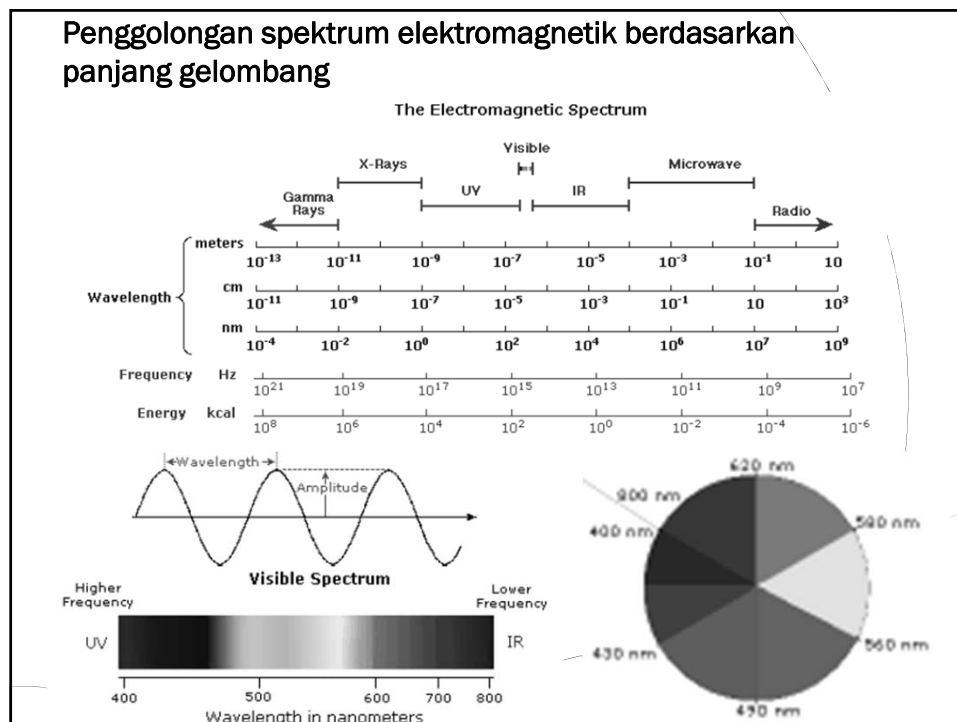
$$E = h (c/\lambda)$$

Ket: c = kecepatan cahaya ($3,00 \times 10^8$ m.det⁻¹); λ = panjang gelombang

Spektrum elektromagnetik

- ⊙ Karakteristik interaksi antara bahan dengan radiasi elektromagnetik sangat bergantung dari jenis spektrum radiasinya, yang ditentukan oleh panjang gelombang elektromagnetik spektrumnya.
- ⊙ Karakteristik interaksinya digolongkan sebagai sinar gamma, sinar X, ultraviolet, cahaya tampak (*visible*), infra merah (*infrared*), gelombang mikro (*micro wave*), dan gelombang radio (*radio wave*)

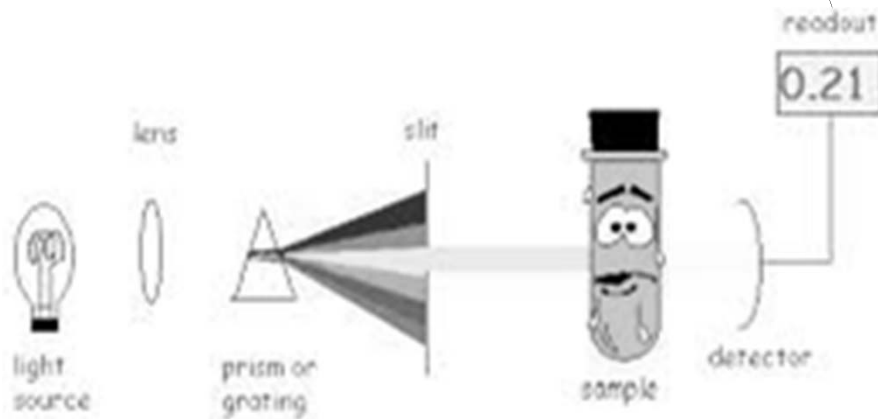
Penggolongan spektrum elektromagnetik berdasarkan panjang gelombang



Definisi spektrofotometri dan prinsip kerja spektrofotometer

- ⦿ Spektrofotometri : pengukuran kuantitatif dari karakteristik refleksi atau transmisi suatu bahan sebagai fungsi dari panjang gelombang
- ⦿ Spektrofotometri dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer sebagai instrumen analisisnya
- ⦿ Prinsip kerja spektrofotometer:
 - Terdiri dari dua bagian, yaitu
 - Spektrometer, bagian untuk memproduksi cahaya pada warna/panjang gelombang tertentu, dan
 - Fotometer, bagian untuk mengukur intensitas cahaya
 - Spektrometer dan fotometer didisain sehingga suatu kuvet larutan dapat diletakkan diantara keduanya
 - Jumlah cahaya yang melewati/menembus kuvet diukur oleh fotometer
 - Fotometer memberikan signal ke alat display (biasanya galvanometer)
 - Signal berubah sesuai dengan perubahan jumlah cahaya yang diserap oleh larutan

Prinsip Kerja Spektrofotometer



◉ Spektrofotometer

- Sumber radiasi
 - Lampu deuterium
 - Lampu tungsten
- Seleksi Panjang Gelombang
 - *Grating monochromators* (monokromator refleksi)
 - *Prism monochromator* (monokromator prisma)

◉ Tempat sampel (kuvet/sel)

◉ Fotometer (detektor radiasi)

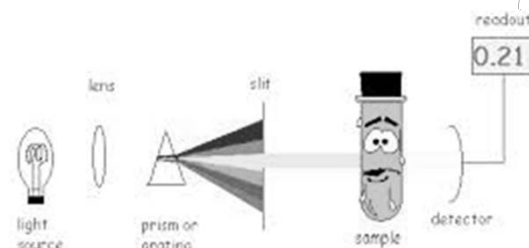
- Phototube
- Photomultiplier tube
- Photodiode array

◉ Alat perekam

◉ Sistem Optik

- Single beam
- Double beam
- Multichannel, disode array

Instrumen pada Spektrofotometer



Prinsip pengukuran dengan spektrofotometer

- ⊙ Pengembangan warna dikaitkan dengan konsentrasi suatu bahan dalam larutan
- ⊙ Konsentrasi dapat diukur melalui jumlah absorpsi cahaya pada panjang gelombang tertentu
- ⊙ Bila cahaya monokromatik (spektrum tunggal) dilewatkan pada kuvet, maka terdapat hubungan kuantitatif antara intensitas cahaya yang lewat melalui kuvet dengan konsentrasi, sebagai

$$I = I_0 \times 10^{-kcl}$$

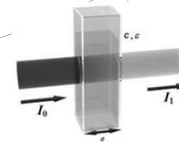
I_0 = intensitas cahaya yang ditransmisikan oleh solven murni (blank);

I = intensitas cahaya yang ditransmisikan bila senyawa berwarna ditambahkan;

c = konsentrasi dari senyawa berwarna;

l = jarak cahaya yang melewati larutan, dan

k = konstanta



Prinsip pengukuran dengan spektrofotometer (lanjutan)

- ⊙ Bila jarak cahaya adalah tetap (untuk satu spektrofotometer), maka hukum Beer dapat ditulis sebagai,

$$I : I_0 = 10^{-kc} = T$$

Ket: k = adalah konstanta yang baru, dan T = transmittan dari larutan

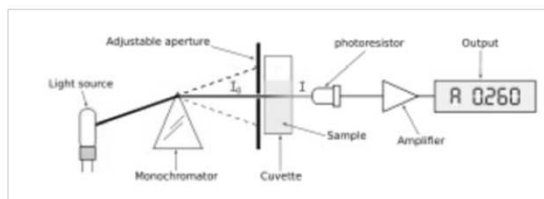
- ⊙ Terdapat hubungan logaritmik antara transmittan dan konsentrasi dari senyawa berwarna, yaitu

$$-\log T = \log (1/T) = kc = \text{densitas optik (optical density) (O.D.)} = \text{Abs}$$

- O.D. dinyatakan sebagai absorban unit (abs), merupakan skala logaritmik, atau sebagai % transmittans yang merupakan skala aritmatika. Abs merupakan skala yang sangat berguna dalam uji kolorimetri.

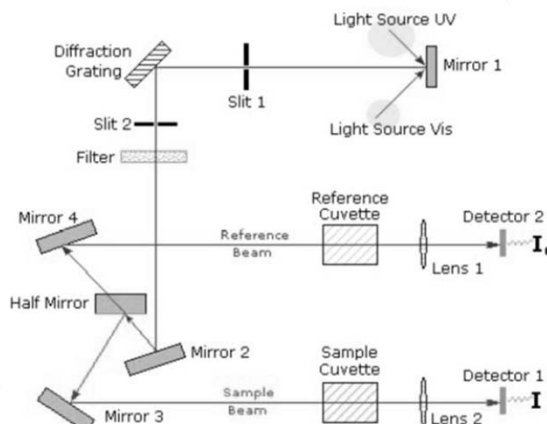
- ⊙ Untuk $A=1$, maka $T=10\%$; untuk $A=2$, maka $T=1\%$; untuk $A=3$, maka $T=0,1\%$

Desain sebuah Spektrofotometer



Single beam spectrophotometer

Double beam spectrophotometer

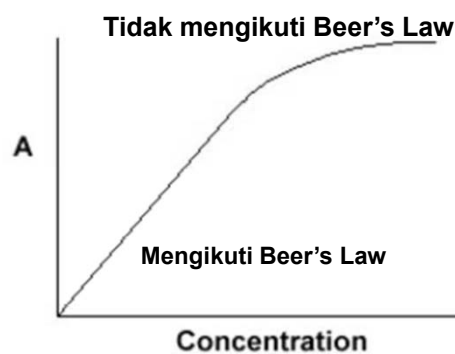


Cara penggunaan spektrofotometer single beam

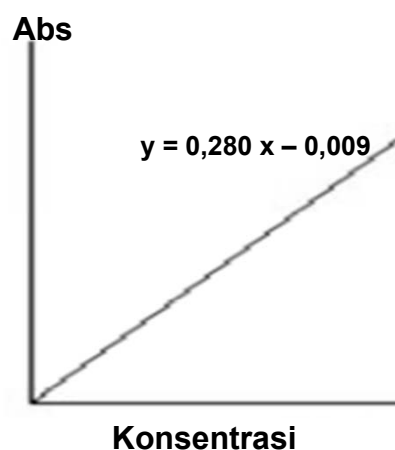
1. Alat harus dipanaskan paling tidak 15 menit sebelum digunakan
2. Setting panjang gelombang sesuai dengan metode yang digunakan
3. Tutup penutup contoh, dan adjust %transmitans pada nilai "0"
4. Masukkan kuvet yang berisi larutan reference (blank) yang telah dibersihkan, tutup penutup contoh dan adjust absorbans pada nilai "0"
5. Ambil kuvet reference dan masukkan kuvet sampel dan baca absorbansinya
6. Ambil kuvet sampel, adjust kembali pada nilai "0" dan ulangi untuk sampel yang lain

Yang diperhatikan pada pengukuran dengan spektrofotometri

- Penyimpangan pada hukum Beer (Beer's Law) untuk larutan dengan konsentrasi tinggi



Kurva Kalibrasi/Standar



- Kurva disamping adalah kurva standar dari larutan Pb pada $\lambda = 515 \text{ nm}$. Diperoleh dengan mengukur sederetan larutan standar (0.5, 1.0, 2.0, 3.0, dan 4.0 ppm).
- Bila zat dengan konsentrasi tsb mengikuti Beer's Law, plot antara absorbansi Vs konsentrasi merupakan garis lurus
- Pembacaan yg baik adalah pada Transmittans 20-85% atau Absorbansi sampai 1.2
- Perhitungan dapat dilakukan dengan regresi linier

Teknik Spektroskopi lain

Beberapa teknik analisis dengan spektroskopi adalah

1. Spektroskopi Atom (*Atomic spectroscopy*)
2. Spektroskopi Absorpsi Atom (*Atomic Absorption Spectroscopy, AAS*)
3. Spektroskopi Infra Merah (*Infrared Spectroscopy*)
4. Spektroskopi Fluoresensi (*Fluorescence Spectroscopy*)
5. Spektroskopi Resonansi Magnet Inti (*Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*)
6. Spektroskopi Massa (*Mass Spectroscopy*)