

TROUBLE SHOOTING

DALAM ANALISIS MENGGUNAKAN

SPEKTRO FOTOMETER UV-VIS

PANDUAN
SINGKAT



Drs. Hokcu Suhandi, M.Si.



Troubleshooting Dalam Analisis Spektrofometer UV-VIS

Troubleshooting Dalam Analisis Spektrofometer UV-VIS

Drs. Hokcu Suhandi M.Si



Troubleshooting Dalam Analisis Spektrofometer UV-VIS

© Penerbit Perkumpulan Rumah Cemerlang Indonesia (PRCI)

Penulis:

Drs. Hokcu Suhanda M.Si

Editor:

Dr. Korry Novitriani, M. Si

Cetakan Pertama: Mei 2022

Cover: Rusli

Tata Letak: Tim Kreatif PRCI

Hak Cipta 2022, pada Penulis. Diterbitkan pertama kali oleh:

Perkumpulan Rumah Cemerlang Indonesia

ANGGOTA IKAPI JAWA BARAT

Pondok Karisma Residence Jalan Raflesia VI D.151

Panglayungan, Cipedes Tasikmalaya – 085223186009

Website: www.rcipress.rcipublisher.org

E-mail: rumahcemerlangindonesia@gmail.com

Copyright © 2022 by Perkumpulan Rumah Cemerlang Indonesia

All Right Reserved

- Cet. I –: Perkumpulan Rumah Cemerlang Indonesia, 2022

Dimensi : 14,8 x 21 cm

ISBN: 978-623-448-088-7

Hak cipta dilindungi undang-undang

Dilarang memperbanyak buku ini dalam bentuk dan dengan
cara apapun tanpa izin tertulis dari penulis dan penerbit

Undang-undang No.19 Tahun 2002 Tentang

Hak Cipta Pasal 72

Undang-undang No.19 Tahun 2002 Tentang Hak Cipta
Pasal 72

Barang siapa dengan sengaja melanggar dan tanpa hak melakukan perbuatan sebagaimana dimaksud dalam pasal ayat (1) atau pasal 49 ayat (1) dan ayat (2) dipidana dengan pidana penjara masing-masing paling sedikit 1 (satu) bulan dan/atau denda paling sedikit Rp.1.000.000,00 (satu juta rupiah), atau pidana penjara paling lama 7 (tujuh) tahun dan/atau denda paling banyak Rp.5.000.000.000,00 (lima miliar rupiah).

Barang siapa dengan sengaja menyiarkan, memamerkan, mengedarkan, atau menjual kepada umum suatu ciptaan atau barang hasil pelanggaran hak cipta terkait sebagai dimaksud pada ayat (1) dipidana dengan pidana penjara paling lama 5 (lima) tahun dan/atau denda paling banyak Rp.500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah).

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan Kehadhirat Tuhan Yang Maha Esa, karena atas segala rahmat dan anugrah-Nya buku panduan singkat tentang *troubleshooting* dalam analisis menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dapat diselesaikan dan diterbitkan.

Buku panduan singkat ini diharapkan dapat digunakan untuk lebih meningkatkan pemahaman tentang Spektrofotometer UV-Vis, meminimalisir terjadinya kesalahan serta panduan untuk pemecahan masalah (*troubleshooting*) jika terjadi masalah (*trouble*) didalam analis menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.

Uraian dalam buku panduan singkat ini dibagi menjadi dua bagian, pertama membahas tentang tinjauan teoritis dari Spektrofotometer UV-Vis dan yang kedua membahas *Troubleshooting* Dalam Analisis Secara Spektrofotometer UV-Vis.

Ucapan terimakasih pertama penulis haturkan kepada Yth. Pimpinan LabMania Indonesia Bpk Ivan Sarifudin, ST. atas gagasan, motivasi, dan dukungan untuk penyusunan buku ini. Tidak lupa juga ucapan terimakasih diberikan kepada Dr. Korry Novitriani, M. Si. yang telah banyak memberikan masukan sekaligus menjadi editor didalam penyempurnaan buku ini.

Penulisan buku ini masih jauh dari sempurna, mohon kritik dan sarannya untuk penyempurnaan penulisan lebih lanjut.

Bandung, Maret 2020

Penyusun

PRAKATA

Instrumen spektrofotometer ultraviolet-visibel (UV-Vis) merupakan salah satu dari sekian banyak instrumen analisis di laboratorium yang sangat penting, karena memberikan hasil pengukuran yang cepat, handal, akurat, dan memiliki kepekaan yang tinggi. Instrumen ini biasanya digunakan untuk analisis kimia, selain itu digunakan pula pada hampir segala bidang keilmuan seperti farmasi, medis, pertanian, peternakan, lingkungan, dan industri kimia. Spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk analisis secara kualitatif dan kuantitatif pada berbagai molekul organik, ion anorganik serta senyawa kompleks di dalam larutan, hal ini dapat menjelaskan luasnya penggunaan spektrofotometer UV-Vis pada berbagai bidang.

Spektrofotometer UV-Vis termasuk pada instrumen analisis modern yang memberikan hasil analisis yang cepat. Instrumen ini banyak diminati oleh berbagai laboratorium penelitian ataupun pengujian. Meskipun termasuk instrumen yang modern tidak menjadi jaminan terhadap keakuratan hasil pengukuran. Salah satu yang berperan dalam keberterimaan hasil pengukuran adalah tingkat kompetensi personal. Seseorang dikatakan kompeten jika memiliki kemampuan yang dilandasi oleh pengetahuan, keterampilan dan sikap kerja untuk menyelesaikan tugas atau pekerjaan pada jabatannya ditempat kerja.

Mengingat luasnya penggunaan instrumen spektrofotometer UV-Vis sebagai alat ukur pada berbagai bidang keilmuan

dan industri kimia serta tuntutan atas jaminan terhadap kualitas data hasil pengukuran (*quality assurance*) maka kita sebagai *user* instrumen spektrofotometer UV-Vis dituntut untuk meningkatkan kompetensi, salah satunya melalui peningkatan pengetahuan tentang instrumen spektrofotometer UV-Vis.

Pengetahuan sangat diperlukan oleh seorang analis untuk menunjang dimensi keterampilan dan sikap sehingga mampu mendeskripsikan dan mengaplikasikannya dalam melakukan kinerja dengan cara yang benar dan efektif. Dengan pengetahuan yang memadai juga diharapkan dapat digunakan untuk menentukan penyelesaian masalah (*troubleshooting*) didalam analisis menggunakan instrumen spektrofotometer UV/Vis.

Uraian dalam buku panduan singkat ini dibagi menjadi dua materi, materi pertama yaitu Spektrofotometer UV-Vis yang membahas tentang: jenis-jenis spektrofotometer UV-Vis; komponen utama spektrofotometer UV-Vis; interaksi cahaya dengan materi; analisis kuantitatif; persyaratan sampel dan pelarut; cara menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis; tahapan-tahapan dalam analisis secara spektrofotometer UV-Vis; dan cara merawat spektrofotometer UV-Vis. Sedangkan materi kedua yaitu *Troubleshooting* dalam analisis menggunakan Spektrofotometer UV-Vis yang berisi panduan singkat tentang *troubleshooting* (penyelesaian masalah) dan cara mencegah/mengantisipasi *trouble* (masalah) yang dapat terjadi didalam analisis menggunakan instrumen Spektrofotometer UV-Vis.

Dengan diterbitkannya buku panduan singkat ini diharapkan dapat digunakan untuk lebih meningkatkan pemahaman tentang instrumen Spektrofotometer UV-Vis, meminimalisir terjadinya kesalahan serta panduan untuk pemecahan masalah (*troubleshooting*) jika terjadi *trouble* didalam analisis menggunakan instrumen Spektrofotometer UV-Vis.

Penulis
Drs. Hokcu Suhandu, M.Si

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	i
PRAKATA.....	iii
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
SPEKTROFOTOMETER UV-VIS	1
A. Jenis-jenis Spektrofotometer UV-Vis	3
B. Komponen Utama Spektrofotometer UV-Vis	8
C. Interaksi Cahaya Dengan Materi	12
D. Analisis Kuantitatif.....	14
E. Persyaratan Sampel dan Pelarut	19
F. Cara Menggunakan Instrumen Spektrofotometer UV-Vis	25
G. Tahapan-Tahapan Dalam Analisis Spektrofotometri UV- Vis.....	27
H. Cara Merawat Spektrofotometer di Laboratorium.....	30
 <i>TROUBLESHOOTING DALAM ANALISIS SECARA</i>	
SPEKTROFOTOMETER UV-VIS	33
A. Kalibrasi Spektrofotometer UV-Vis	34
B. Rentang Panjang Gelombang Pengukuran.....	42
C. Kuvet	46
D. Panjang Gelombang Maksimum ($\lambda_{\max}$).....	61
E. Pembuatan Kurva Kalibrasi.....	67
F. Preparasi Sampel	70
G. Hasil Pengukuran Absorbansi Yang Bernilai Negatif....	72
 DAFTAR PUSTAKA.....	 75
TENTANG PENULIS	79

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Data serapan beberapa kromofor sederhana	22
Tabel 2. Absorpsi pelarut-pelarut pada panjang gelombang spesifik sinar UV	25
Tabel 3. Panjang gelombang pada maksimum absorban dari holmium (III) dalam asam perklorat untuk dua nilai bandwidth 1,0 nm dan 2,0 nm. Band 10a pada umumnya hanya terukur ketika digunakan SBW kurang dari 0,9 nm.....	37
Tabel 4. Nilai panjang gelombang pilihan untuk maksimum absorban dari filter holmium glass diukur dengan SBW sebesar 1,0 nm	39
Tabel 5. Nilai panjang gelombang pilihan untuk maksimum absorban dari filter didymium glass diukur dengan SBW 1,5 nm dan 3,0 nm.....	40
Tabel 6. Nilai absorban untuk $K_2Cr_2O_7$ dalam $5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ H_2SO_4	42

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Interaksi antara cahaya dengan materi	2
Gambar 2. Skema spektrofotometer single beam.....	5
Gambar 3. Spektrofotometer single beam (Spectronic 20)	5
Gambar 4. Skema spektrofotometer double beam.....	6
Gambar 5. Alat spektrofotometer double beam	7
Gambar 6. Sumber radiasi (a) lampu deuterium (b) lampu tungsten;	9
Gambar 7. Spektrum UV dari senyawa asam benzoat dalam sikloheksan	12
Gambar 8. Interaksi cahaya dengan materi. Dalam (a), pancaran radiasi sebesar I_0 diserap oleh analit, sebagian radiasi ditransmisikan dengan daya pancaran yang lebih rendah I_t . Untuk terjadinya penyerapan energi sinar datang harus sesuai dengan salah satu tingkat energi yang ditunjukkan pada (b). Spektrum serapan yang dihasilkan ditunjukkan pada (c). (Sumber:Skoog, D.A. West, D.M. Holler, F.J., Crouch, S.R., 2014) ...	14
Gambar 9. Spektrum serapan khas kalium permanganat pada lima konsentrasi yang berbeda. yaitu; 4,00; 8,00; 12,00; 16,00; dan 20,00 ppm. Spesi ion permanganat, MnO_4^- menyerap pada panjang gelombang maksimum 525 nm, lebar sel 1.00 cm.	16
Gambar 10. Kurva kalibrasi larutan ion permanganat, MnO_4^{2-} pada lima konsentrasi yang berbeda. yaitu; 4,00; 8,00; 12,00; 16,00; dan 20,00 ppm.....	17
Gambar 11. Contoh jenis orbital sigma (σ); orbital pi (π); dan orbital elektron bebas (n).....	19
Gambar 12. Transisi-transisi elektronik yang paling lazim....	20

Gambar 13. Contoh spektrum isoprena.....	23
Gambar 14. Contoh bahan acuan (a) Holmium glass dan (b) didymium glass	38
Gambar 15. Skema komponen alat spektrometri UV-Vis double beam.....	44
Gambar 16. Serapan daerah UV-Vis dengan daerah overlap terjadi pada panjang gelombang 340–380 nm. ..	46
Gambar 17. Contoh macam-macam tipe kuvet plastik.....	49
Gambar 18. Hasil scanning kuvet plastik dengan background udara pada rentang panjang gelombang 200 - 800 nm.....	50
Gambar 19. Contoh macam-macam kuvet gelas yang berlabel GG dan OS	51
Gambar 20. Hasil scanning kuvet gelas/kaca dengan background udara pada rentang panjang gelombang 200 - 800 nm	52
Gambar 21. Contoh macam-macam kuvet kuarsa.....	53
Gambar 22. Hasil scanning kuvet kuarsa dengan background udara pada rentang panjang gelombang 200 - 800 nms.....	54
Gambar 23. Ilustrasi pemilihan matching kuvet.....	56
Gambar 24. Contoh kuvet yang kotor dan cara membilas kuvet kotor.....	58
Gambar 25. Contoh kimwipes sebagai bahan pengering kuvet	59
Gambar 26. (a) Dua bagian sisi kuvet, (b) cara memegang dan mengeringkat kuvet yang benar	60
Gambar 27. (a) Cara menempatkan kuvet berbentuk tabung pada spektronik 20, (b) Cara menempatkan kuvet berbentuk persegi.....	61

Gambar 28. Hasil scanning pelarut air menggunakan kuvet kuarsa pada rentang panjang gelombang 200 - 800 nm	62
Gambar 29. Hasil scanning pelarut etanol menggunakan kuvet kuarsa pada rentang panjang gelombang 200 - 800 nm	63
Gambar 30. Hasil scanning pelarut heksan menggunakan kuvet kuarsa pada rentang panjang gelombang 200 - 800 nm	63
Gambar 31. Hasil scanning pelarut aseton menggunakan kuvet kuarsa pada rentang panjang gelombang 200 - 800 nm	64
Gambar 32. (a) Blanko (larutan bening) dan sampel (larutan oranye pekat). (b) Spektra sampel yang pekat. Larutan sampel yang terlalu pekat yang mengakibatkan spektra hasil scanning terlalu tinggi (lingkaran warna merah putus-putus).....	65
Gambar 33. (a) Sampel sebelum diencerkan (larutan oranye), blanko (larutan bening) dan sampel setelah diencerkan (larutan kuning). (b) spektra sampel yang telah diencerkan (lingkaran merah putus-putus). Sampel berwarna oranye adalah sampel asli, sedangkan sampel berwarna kuning adalah sampel yang diencerkan, spektra hasil scanning larutan hasil pengenceran yang dapat digunakan untuk penentuan $\lambda_{\max}$	66
Gambar 34. (a) Deret larutan standar. (b) spektra deret larutan standar. Deret larutan standar yang terlihat pekat dengan hasil pengukuran absorban yang sangat besar di 4,679.	67
Gambar 35. (a) teknik pengenceran sampel. (b) spectra hasil pengenceran. Deret larutan standar hasil	

	pengenceran dengan hasil pengukuran absorban dibawah 1,5 (lingkaran kuning putus-putus).....	68
Gambar 36.	(a) larutan sampel yang keruh, (b) perbandingan fisik larutan yang keruh dan bening, (c) absorban larutan yang keruh. Contoh sampel yang keruh dan hasil pengukuran absorbannya	70
Gambar 37.	(a) Larutan sampel tersuspensi, (b) perbandingan fisik larutan bening, keruh dan tersuspensi, (c) absorban larutan tersuspensi. Contoh sampel yang mengandung sejumlah besar padatan tersuspensi dan hasil pengukuran absorbannya.....	71
Gambar 38.	Contoh teknik preparasi sampel yang mengandung sejumlah besar padatan tersuspensi	72

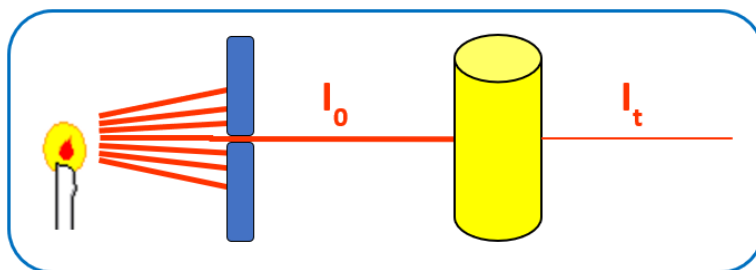
SPEKTROFOTOMETER UV-VIS

Spektrofotometer UV-Vis merupakan suatu alat ukur yang digunakan didalam analisis sampel secara spektrofotometri. Spektrofotometri UV-Vis adalah suatu metode analisis yang digunakan untuk menentukan jumlah (konsentrasi) suatu sampel melalui pengukuran serapan pada rentang panjang gelombang ultraviolet (UV) atau pada rentang panjang gelombang sinar tampak (*visible* =Vis).

Pemanfaatan instrumen spektrofotometer UV-VIS pada umumnya digunakan untuk berbagai hal seperti dibawah ini:

1. Menentukan jenis kromofor, yaitu ikatan rangkap yang terkonjugasi dan aoksokrom dari suatu senyawa organik.
2. Menjelaskan informasi dari struktur berdasarkan panjang gelombang maksimum suatu senyawa.
3. Menganalisis senyawa organik secara kuantitatif dengan menggunakan hukum Lambert-Beer.

Metode spektrofotometri didasarkan pada prinsip spektroskopi. Spektroskopi merupakan ilmu yang mempelajari interaksi antara radiasi elektromagnetik (cahaya) dengan materi sebagai fungsi panjang gelombang. Sebagai ilustrasi sederhana dapat dilihat pada Gambar 1 di bawah.



Gambar 1. Interaksi antara cahaya dengan materi

Gambar 1 di atas mengilustrasikan adanya perubahan intensitas cahaya setelah berinteraksi dengan materi, yaitu bila intensitas cahaya awal sebesar (I_0) dilewatkan pada materi maka sebagian cahaya akan diserap dan sebagian akan diteruskan dengan intensitas sebesar (I_t). Sebenarnya apa yang terjadi ketika materi berinteraksi dengan cahaya yang diserap tersebut? Silahkan cermati penjelasan pada materi bagian C tentang **interaksi cahaya dengan materi**.

Spektrofotometer sebetulnya merupakan gabungan dari dua buah alat, yakni spektrometer dan fotometer. Spektrometer merupakan sebuah alat yang berfungsi untuk menghasilkan sinar dari spektrum dengan nilai panjang gelombang yang telah ditentukan, dalam hal ini adalah pada rentang panjang gelombang sinar ultraviolet (UV) dan rentang panjang gelombang sinar tampak, *Visible* (Vis). Spektrometer sendiri memiliki alat pengurai cahaya seperti kisi difraksi atau prisma yang dapat menyeleksi atau memisahkan panjang gelombang yang berbeda dari sinar putih (cahaya polikromatis) menjadi cahaya monokromatis. Sedangkan fotometer merupakan alat ukur intensitas atau kekuatan cahaya yang ditransmisikan.

A. Jenis-jenis Spektrofotometer UV-Vis

Berdasarkan sumber cahaya yang digunakan spektrofotometer UV-Vis dibedakan menjadi beberapa macam seperti:

1. Spektrofotometer Vis (*Visible spectrophotometer*)

Spektrofotometer Vis (*Visible*), merupakan salah satu jenis spektrofotometer yang menggunakan sumber cahaya atau energi sinar tampak (*Visible*). Jenis cahaya *visible* termasuk spektrum elektromagnetik yang bisa ditangkap oleh mata manusia. Rentang panjang gelombang sinar

visible berada diantara 340 – 800 nm. Lampu yang digunakan pada spektrofotometer jenis ini adalah lampu tungsten atau lampu wolfram.

2. Spektrofotometer UV (*Ultraviolet spectrophotometer*)

Spektrofotometer jenis ini menggunakan sumber cahaya ultraviolet dengan kisaran panjang gelombang antara 190 – 380 nm. Lampu yang digunakan pada spektrofotometer jenis ini adalah lampu deuterium (D2). Sifat sinar ultraviolet tidak bisa terdeteksi oleh mata manusia.

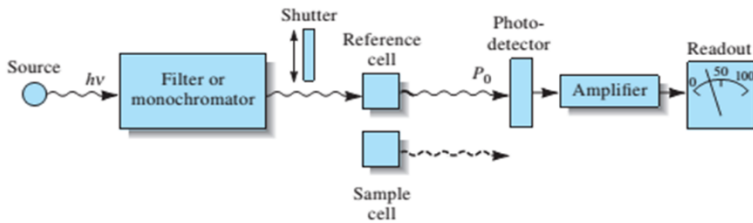
3. Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis merupakan spektrofotometer yang menggabungkan jenis spektrofotometer Vis (*Visible*) dan spektrofotometer UV (*Ultraviolet*). Spektrofotometer jenis ini terdapat dua jenis sumber cahaya berbeda, yaitu lampu tungsten dan lampu deuterium. Pada instrumen yang sudah lebih canggih sumber cahaya tidak lagi menggunakan dua sumber cahaya yang berbeda, namun menggunakan satu sumber cahaya dengan jangkauan panjang gelombang yang lebar.

Macam-macam spektrofotometer UV-Vis tidak hanya berdasarkan sumber cahaya yang digunakan. Perlakuan sumber cahaya yang digunakan pun dapat membedakan ragam instrument spektrofotometer UV-Vis yang telah ada di pasaran. Jika dilihat dari segi perlakuan sumber cahaya, maka instrumen Spektrofotometer UV-Vis terbagi menjadi 2 jenis, yakni:

a. Spektrofotometer *Single beam*

Spektrofotometer jenis ini hanya menggunakan 1 sumber cahaya/energi. Berikut adalah gambaran skema spektrofotometer *single beam*:



Gambar 2. Skema spektrofotometer single beam

(Sumber:Skoog, D.A. West, D.M. Holler, F.J., Crouch, S.R., 2014)

Pada Gambar 2 dapat dilihat bahwa cahaya monokromatis hanya dilewatkan pada satu sel (kuvet) saja sebelum menuju detektor. Secara praktik pertama kita tempatkan kuvet yang berisi larutan blanko untuk diukur, kemudian ketika akan mengukur larutan sampel atau larutan standar kita ganti kuvet yang berisi larutan blanko tersebut dengan kuvet lain yang berisi larutan sampel atau larutan standar secara manual, demikian seterusnya sampai seluruh larutan standar dan larutan sampel diukur. Contoh spektrofotometer *single beam* yang cukup melegenda yaitu Spectronic 20 seperti yang dapat dilihat pada Gambar 3.

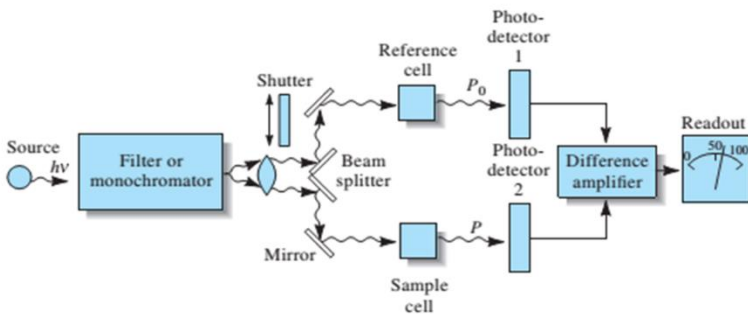


Gambar 3. Spektrofotometer single beam (Spectronic 20)

(*"Spectrophotometer"* by Bausch & Lomb, n.d.)

b. Spektrofotometer *Double Beam*

Berbeda dengan jenis spektrofotometer *single beam*, pada jenis spektrofotometer *double beam* ini cahaya monokromatis oleh *beam splitter* dibagi menjadi dua arah, sehingga secara bersamaan dapat melewati dua buah kuvet (*reference cell* dan *sample cell*) secara bersamaan sebelum ditangkap oleh detector tanpa harus mengeluarkan salah satu kuvet terlebih dahulu secara manual. Gambar 4. berikut adalah gambaran skema spektrofotometer *double beam*.



Gambar 4. Skema spektrofotometer double beam

(Sumber:Skoog, D.A. West, D.M. Holler, F.J., Crouch, S.R., 2014)

Pada gambar 5 di bawah ini merupakan contoh spektrofotometer *double beam*, dimana tempat sampel/*sample compartment*-nya minimal ada dua, yaitu untuk kuvet blanko dan kuvet larutan standar/sampel.



Gambar 5. Alat spektrofotometer double beam
(Spektronik Uv-Vis Shimadzu - Google Search, n.d.)

Spektrofotometer *double beam*, merupakan jenis spektrofotometer yang paling sering digunakan oleh kalangan peneliti maupun industri, hal ini dikarenakan pada penggunaannya spektrofotometer jenis ini menjadi lebih praktis karena antara larutan blanko dan larutan standar/sampel dimasukkan bersama-sama. Pada spektrofotometer dengan merek dan tipe lain untuk tempat sampel bisa lebih dari dua. Sehingga penggunaannya akan menjadi lebih praktis lagi.

B. Komponen Utama Spektrofotometer UV-Vis

Setelah anda dingatkan kembali tentang pengertian, kegunaan, dan jenis spektrofotometer UV-Vis. Selanjutnya yang perlu anda ketahui ialah komponen-komponen apa saja yang ada pada spektrofotometer UV-Vis dan apa fungsi dari masing-masing komponen tersebut. Untuk yang belum tahu atau sudah lupa, maka dipersilahkan untuk mencermati uraian singkat berikut ini.

Komponen-komponen utama yang terdapat pada spektrofotometer UV-Vis, baik yang *single beam* maupun *double beam* yaitu:

1. Sumber cahaya
2. Monokromator
3. Sample kompartemen
4. Detektor

Berikut adalah penjelasan dari masing-masing bagiannya.

1. Sumber radiasi/cahaya

Sumber radiasi/cahaya pada spektrofotometer berasal dari lampu. Sumber cahaya yang ideal harus menghasilkan spektrum kontinyu dengan intensitas yang seragam pada keseluruhan kisaran panjang gelombang. Sesuai dengan jenis sumber radiasinya dibedakan atas:

a) Sumber radiasi ultraviolet (UV)

Sebagai sumber radiasi ultraviolet digunakan berupa lampu hidrogen atau lampu deuterium. Kedua lampu ini berupa sepasang elektroda yang terselubung dalam tabung gelas bertekanan rendah yang berisi gas hidrogen atau deuterium. Bila diberi tegangan listrik tinggi akan mengeksitasi elektron dari gas hidrogen atau deuterium, selanjutnya dihasilkan

radiasi emisi cahaya sebagai sumber radiasi panjang gelombang ultraviolet yaitu pada rentang 180 - 380 nm. Lampu deuterium memiliki *life time* kira-kira 500 jam.

b) Sumber radiasi cahaya tampak (Vis)

Sumber radiasi cahaya tampak yang biasa digunakan adalah lampu tungsten atau lampu wolfram. Lampu tungsten biasa digunakan untuk mengukur sampel pada daerah sinar tampak (Vis) yaitu untuk panjang gelombang antara 340 – 800 nm. Jenis lampu tungsten memiliki *life time* kira-kira 1000 jam.

Lampu deuterium memiliki bentuk yang khas, sedangkan bentuk lampu tungsten seperti bohlam atau lampu pijar pada umumnya. Di bawah ini adalah contoh lampu tungsten dan lampu deuterium.



(a)



(b)

Gambar 6. Sumber radiasi (a) lampu deuterium (b) lampu tungsten;

(Sumber: *Spektrofotometer - Pengertian, Jenis, Bagian Dan Prinsip Kerjanya*, n.d.)

2. Monokromator (*wavelength selector*)

Monokromator berfungsi untuk memecah cahaya polikromatis menjadi cahaya monokromatis. Untuk mengarahkan sinar monokromatis yang diinginkan dari hasil penguraian ini dapat digunakan celah/*slit*. Jika celah/*slit* posisinya tetap, maka prisma atau gratingnya yang dirotasikan untuk mendapatkan λ yang diinginkan. Komponen pada monokromator itu sendiri terdapat beberapa bagian, diantaranya:

Slit in atau pintu masuk sering juga disebut celah optik, fungsi bagian ini adalah memberikan celah kecil dengan ukuran yang sesuai dimana sinar dari lampu bisa masuk (perhatikan ilustrasi pada Gambar 1.)

Prisma merupakan bagian yang berfungsi untuk mendispersikan radiasi cahaya polikromatis menjadi radiasi monokromatis.

Slit out atau pintu keluar berfungsi mengarahkan radiasi cahaya mengarah ke kuvet yang berisi larutan blanko/standar/sampel. Beberapa jenis spektrofotometer memiliki celah *optic out* yang bisa di-*setting* ukuran diameternya.

3. Sampel kompartemen

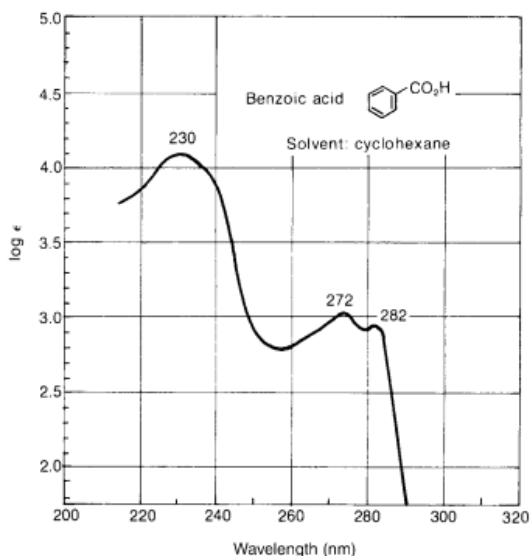
Sampel kompartemen merupakan bagian dari instrument spektrofotometer UV-Vis yang digunakan untuk meletakkan kuvet. Kuvet sendiri merupakan suatu wadah yang terbuat dari plastik, kaca atau kuarsa untuk menaruh sampel yang akan di ukur. Umumnya tebal kuvet adalah 10 mm, tetapi yang lebih kecil ataupun yang lebih besar dapat digunakan. Sel yang digunakan biasanya berbentuk persegi atau bentuk silinder.

Kuvet yang baik haruslah memenuhi syarat seperti permukaannya harus lurus dan sejajar secara optis, tidak berwarna, tidak bereaksi terhadap bahan kimia, tidak mudah rapuh, memiliki bentuk yang sederhana namun solid.

Untuk lebih detailnya berbagai hal yang berhubungan dengan kuvet akan dibahas secara rinci dan tuntas pada materi ***troubleshooting bagian C***.

4. Detektor

Detektor memiliki fungsi untuk menangkap energi/sinar/cahaya yang telah melewati sampel untuk diubah menjadi sinyal listrik yang kemudian oleh *amplifier* akan diperkuat untuk dapat mengaktifkan pencatat. Setiap pencatat harus menghasilkan sinyal yang secara kuantitatif berkaitan dengan energi/sinar/cahaya yang mengenainya lalu direkam oleh *recorder* sebagai spektrum yang berbentuk puncak-puncak. Gambar 7 merupakan contoh Spektrum UV dari senyawa asam benzoat dalam sikloheksan.



Gambar 7. Spektrum UV dari senyawa asam benzoat dalam sikloheksan

(Sumber: Pavia, D.L., Lampman, G.L., Kriz, G.S., 2009)

C. Interaksi Cahaya Dengan Materi

Sesuai dengan skema spektrofotometer pada Gambar 3 dan Gambar 4, dan uraian tentang komponen utama spektrofotometer ketika spektrofotometer UV-Vis dinyalakan, maka lampu sebagai sumber cahaya ultraviolet atau *visible* akan menghasilkan radiasi/cahaya polikromatis. Cahaya polikromatis kemudian akan melewati suatu monokromator.

Cahaya polikromatis di dalam monokromator akan diarahkan pada celah sempit ***slit in*** berupa celah optik, selanjutnya cahaya polikromatis akan didispersikan/diuraikan oleh prisma sehingga menjadi cahaya-cahaya monokromatis. Melalui pemilihan panjang gelombang tertentu maka cahaya

monokromatis terpilih dengan intensitas awal sebesar (I_0) akan diarahkan oleh ***Slit out*** menuju sel sampel atau kuvet berdiameter (b) yang berisi larutan sampel dengan konsentrasi (C).

Ketika cahaya monokromatis pada panjang gelombang terpilih dikenakan pada senyawa maka sebagian cahaya tersebut akan diserap oleh molekul yang mempunyai tingkatan energi yang spesifik. Setiap molekul mempunyai tingkat energi dasar (*ground state*) yang spesifik. Cahaya yang diserap digunakan untuk menaikkan elektron ikatan ke tingkat energi eksitasi. Karena tingkat energi dasar ke energi tingkat energi eksitasi yang diserap juga spesifik, maka inilah yang menjadi dasar didalam analisis kualitatif.

Sebagai akibat diserapnya sebagian dari energi/cahaya oleh molekul dalam sampel maka intensitasnya akan turun menjadi I_t , yang akan diterima sebagai sinyal listrik oleh detektor. Sinyal dari detektor akan diperkuat oleh *amplifier*. Besarnya perbandingan intensitas cahaya yang diteruskan (I_t) terhadap intensitas cahaya awal (I_0) merupakan besarnya cahaya yang ditransmisikan (T). Spektrometer optik mencatat panjang gelombang di mana penyerapan terjadi, bersama-sama dengan tingkat penyerapan pada setiap panjang gelombang. Spektrum yang dihasilkan disajikan sebagai grafik absorbansi (A) versus panjang gelombang. Untuk ilustrasi dapat dilihat pada Gambar 8. di bawah ini.