

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Proses analisa suatu bahan kimia diharapkan memberikan hasil analisa yang akurat. Proses analisa yang menggunakan instrumen dapat membuat hasil pengukurannya lebih akurat. Salah satu analisa kuantitatif menggunakan instrumen adalah spektrofotometri dimana analisa ini dilakukan berdasarkan transmitansi atau absorbansi larutan terhadap cahaya pada panjang gelombang tertentu. Absorbansi adalah perbandingan intensitas cahaya yang diserap dengan intensitas cahaya yang datang. Kemudian untuk transmitansi itu sendiri merupakan fraksi cahaya yang datang pada panjang gelombang tertentu yang melewati sampel. Cahaya yang diserap diukur sebagai absorbansi dan cahaya yang dikeluarkan diukur sebagai transmitansi sehingga dapat disimpulkan hubungan absorbansi dan transmitansi berbanding terbalik.

Hasil analisis yang akurat mengenai kadar suatu zat sangat diperlukan untuk keperluan berbagai macam industri. Contoh pada industri air minum, dimana sumber air minum harus memenuhi baku mutu kualitas air minum. Salah satu parameter kualitas air minum adalah kandungan nitrit dan nitrat. Sumber air minum yang mengandung nitrit dan nitrat melebihi baku mutu dapat membahayakan kesehatan manusia, khususnya ibu hamil dan bayi. Berdasarkan bahaya yang ditimbulkan oleh kontaminasi nitrit dan nitrat pada air minum maka perlu dilakukan monitoring kualitas air minum agar kandungan nitrit dan nitrat tidak melebihi baku mutu. Metode analisis nitrit yang sering digunakan yaitu spektrofotometri karena mempunyai sensitivitas yang baik dan dapat dilakukan dengan alat spektrofotometer yang sederhana. Selain digunakan untuk mengukur kadar nitrit dan nitrat dari air agar kualitasnya layak digunakan sebagai konsumsi sehari-hari, metode spektrofotometri ini juga dapat digunakan untuk mengukur kadar besi sebagai parameter kelayakan air minum pula. Kadar besi yang terdapat dalam air tanah umumnya berupa Fe (II) karena belum tercampur dengan oksigen dari

atmosfer. Menurut Peraturan Menteri Kesehatan RI no. 32 tahun 2017 ambang batas maksimum besi di dalam air minum ialah 1 mg/L. Metode pengujian menggunakan Spektrofotometri yang berjenis Visible dengan panjang gelombang 510 nm dapat digunakan untuk mengukur kadar besi tersebut dengan bantuan reagen fenantrolin yang membuat warna larutan uji menjadi merah jingga.

1.2 Tujuan Praktikum

1. Menentukan kurva standar hubungan konsentrasi antosianin vs absorbansi dengan spektrofotometer metode spektrofotometri.
2. Mampu menentukan panjang gelombang optimum pada konsentrasi larutan standar ditinjau dari nilai absorbansi.
3. Menentukan konsentrasi ion SO_4^{2-} dalam larutan secara turbidimetri dengan alat spektrofotometri.

1.3 Manfaat Praktikum

1. Mahasiswa mampu melakukan analisa kuantitatif secara akurat suatu zat kimia dengan menggunakan instrumen yang dalam hal ini spektrofotometer.
2. Mahasiswa mampu memahami proses langkah pada instrumen yang digunakan hingga didapat hasil yang diinginkan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pengertian Spektrofotometri

Spektrofotometri adalah cara analisa kuantitatif berdasarkan transmitansi atau absorban larutan terhadap cahaya pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan instrumen spektrofotometer. Apabila suatu cahaya yang mengandung seluruh spektrum dari panjang gelombang melewati suatu medium, misal kaca berwarna atau larutan yang meneruskan cahaya dengan panjang gelombang tertentu dan menyerap cahaya yang lainnya maka medium seakan- akan berwarna. Warna ini sesuai dengan panjang gelombang yang diteruskan dan disebut sebagai warna komplementer.

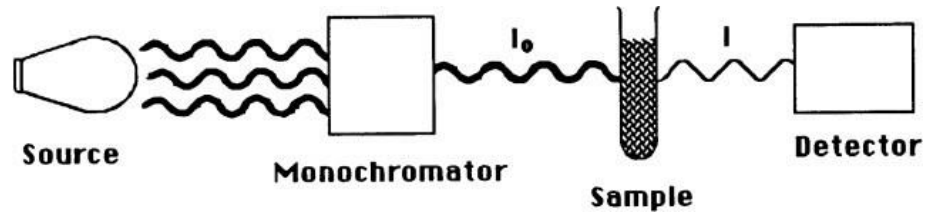
Panjang gelombang yang digunakan adalah panjang gelombang optimum yakni panjang gelombang yang diserap paling banyak oleh senyawa/campuran yang dianalisis. Ada beberapa alasan mengapa harus menggunakan panjang gelombang optimum, yaitu Pada panjang gelombang optimum maka kepekaanya maksimal karena perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar. Di sekitar panjang gelombang optimum, bentuk kurva absorbansi datar dan pada kondisi tersebut hukum Lambert- Beer akan terpenuhi. Jika dilakukan pengukuran ulang maka kesalahan yang disebabkan oleh pemasangan ulang panjang gelombang akan kecil sekali, ketika digunakan panjang gelombang optimum. Tabel 2.1 Hubungan antara energi terabsorpsi dengan gerakan molekul.

Tabel 2.1 Hubungan antara energi terabsorpsi dengan gerakan molekul

Gerakan Molekul	Cahaya yang diabsorpsi	Energi
Rotasi	Microwave,	Rendah
Vibrasi	<i>Infrared</i>	Sedang
Transisi electron	Tampak, Ultraviolet	Tinggi

Kisaran spektrum elektromagnetik seperti *infrared*, sinar tampak, ultraviolet atau X-ray dapat digunakan untuk berinteraksi dengan suatu zat. Alat yang dipakai pada praktikum ini dapat disebut juga dengan kolorimeter,

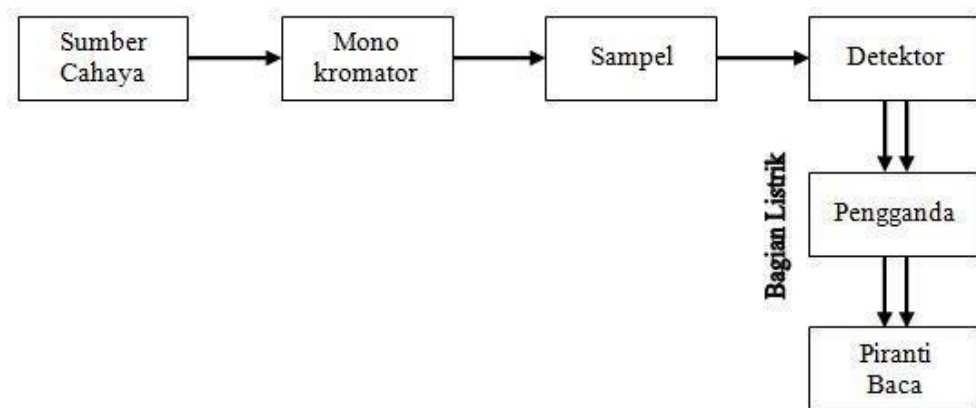
karena dapat mengukur absorpsi cahaya pada spektrum sinar tampak. Skema dari proses absorpsi cahaya oleh suatu larutan contoh dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Absorpsi cahaya oleh larutan contoh

2.2 Peralatan untuk Spektrofotometri

Komponen yang penting sekali dari suatu spektrofotometer, yang secara skema ditunjukkan dalam gambar di bawah ini:



Gambar 2.2 Prinsip alat spektrofotometer

1. Suatu sumber energi cahaya yang berkesinambungan yang meliputi daerah spektrum dalam mana instrumen itu dirancang untuk beroperasi. Sumber cahaya yang digunakan biasanya berupa lampu. Lampu yang digunakan tentunya berbeda- beda berdasarkan jenis spektrofotometri yang digunakan.
2. Suatu monokromator, yakni suatu piranti untuk memencilkan pita sempit panjang gelombang dari spektrum lebar yang dipancarkan oleh sumber cahaya (tentu saja kemonokromatikan yang benar- benar, tidaklah tercapai). Monokromator terdiri atas:
 - Celah masuk untuk menentukan berkas radiasi yang sempit dari sumber.
 - Lensa kolimasi untuk mengumpulkan cahaya.

- Prisma untuk menyebarkan cahaya ke dalam panjang gelombang tertentu.
 - Lensa pemfokusan untuk menangkap cahaya yang terdispersi dan mempertajam cahaya tersebut untuk masuk ke kuvet melalui celah keluar.
 - Celah keluar untuk membiarkan panjang gelombang cahaya yang dikoreksi ke kuvet sampel.
3. Suatu wadah untuk sampel. Wadah yang digunakan untuk sampel adalah kuvet. Kuvet memiliki memiliki dua sisi yaitu sisi transparan dan sisi buram.
 4. Suatu detektor, yang berupa transduser yang mengubah energi cahaya menjadi suatu isyarat listrik. Detektor harus sensitif dan memiliki respons yang cepat pada rentang panjang gelombang yang cukup besar. Selain itu, sinyal listrik yang dihasilkan oleh detektor harus berbanding lurus dengan intensitas yang dipancarkan.
 5. Suatu pengganda (amplifier) dan rangkaian yang berkaitan yang membuat isyarat listrik itu memadai untuk dibaca.
 6. Suatu sistem baca pada mana diperagakan besarnya isyarat listrik.

Tabel 2.1 Serapan sinar dan zat warna

λ (nm)	Warna yang Diteruskan	Warna yang Diserap/ Warna Komplementer
400 – 435	Violet	Hijau-Kekuningan
435 – 480	Biru	Kuning
480 – 490	Biru-Kehijauan	Jingga
490 – 500	Hijau-Kebiruan	Merah
500 – 560	Hijau	Ungu
560 – 580	Hijau-Kekuningan	Violet
580 – 595	Kuning	Biru
595 – 610	Jingga	Biru-Kehijauan
610 - 750	Merah	Hijau-Kebiruan

2.3 Jenis-jenis Spektrofotometri dan Mekanisme Kerja

2.3.1 Spektrofotometri Visible

Pada spektrofotometri ini yang digunakan sebagai energi adalah sinar cahaya tampak dengan λ 380-750 nm. Cara kerja dari spektrofotometri ini adalah sampel yang akan dinalisa harus memiliki warna. Oleh sebab itu untuk sampel yang tidak berwarna harus terlebih dulu diberi warna dengan reagen spesifik yang akan memberi warna pada senyawa.

2.3.2 Spektrofotometri UV

Spektrofotometri UV berdasarkan interaksi sampel dengan sinar UV yang memiliki λ 190- 380 nm. Arena sinar Uv tidak dapat dideteksi oleh mata kita makasenyawa yang dapat menyerap sinar ini terkadang merupakan senyawa yang tidak memiliki warna, bening, dan transparan. Oleh sebab itu maka sampel yang tidak berwarna tidak perlu dibuat berwarna dengan penambahan reagen tertentu. Namun perlu diingat bahwa sampel keruh harus dibuat bening dulu dengan filtrasi atau centrifugasi.

2.3.3 Spektrofotometri UV-Vis

Merupakan gabungan antara spektrofotometri visual dan UV Karen menggunakan dua buah sumber cahaya yang berbeda. Sehingga dapat digunakan baik untuk sampel berwarna maupun sampel yang tidak berwarna. Spektrofotometri UV/vis dapat mengidentifikasi molekul dalam sampel padat atau cair, menentukan konsentrasi molekul tertentu dalam larutan, mengidentifikasi absorbansi atau transmitansi melalui cairan atau padatan dengan berbagai panjang gelombang, mengidentifikasi sifat reflektansi suatu permukaan atau mengukur warna suatu bahan, dan mempelajari reaksi kimia atau proses biologis.

2.3.4 Spektrofotometri IR (Infrared)

Spektrofotometri ini berdasarkan pada penyerapan λ inframerah. Cahaya inframerah terbagi menjadi inframerah dekat, pertengahan, dan jauh. Inframerah pada spektrofotometri adalah inframerah jauh dan inframerah pertengahan yang mempunyai panjang

gelombang kira-kira 2,5-1000 μm . Umumnya pada spektrofotometri IR digunakan dalam analisa kualitatif, biasanya digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi pada suatu senyawa terutama senyawa organik. Hasil analisa biasanya berupa signal kromatogram hubungan intensitas IR terhadap panjang gelombang.

2.5 Manfaat Spektrofotometri dalam Bidang Industri

1. Pengukuran kadar protein pada susu
2. Menganalisis kadar senyawa anorganik pada limbah cair
3. Pengujian tingkat kualitas pada minyak sayur
4. Menganalisis kadar senyawa kimia pada industri farmasi

2.6 Hukum Lambert-Beer

Lambert merumuskan hubungan antara absorbansi dan tebal lapisan medium yang ditempuh sinar dalam larutan.

$$\log P_o = k \cdot b \dots\dots\dots(1)$$

Di mana $\log \frac{P_o}{P} = \text{absorbansi}$

P = tenaga radiasi yang keluar medium

P_o = tenaga radiasi yang masuk medium

b = tebal lapisan medium

Menurut Beer, absorbansi dipengaruhi oleh konsentrasi sehingga

$$\log P_o = k \cdot c \dots\dots\dots(2)$$

Bila $k_1' = f(c)$ dan $k_2' = f(b)$ maka substitusi dari persamaan (1) dan (2) adalah:

$$\frac{f(c)}{c} = \frac{f(b)}{b} = k$$

$$f(c) = k \cdot c \text{ dan } f(b) = k \cdot b$$

Substitusi ke persamaan awal

$$\log \frac{P_o}{P} = f(c) \cdot b$$

$$\log \frac{P_o}{P} = f(b) \cdot c$$

$$\log \frac{P_o}{P} = k. c. b$$

$$\log \frac{P_o}{P} = k. b. c$$

Jika konsentrasi larutan dalam

- mol/liter maka k harus ditulis sebagai ϵ , dimana ϵ = absortivitas molar

$$\log \frac{P_o}{P} = \epsilon. b. c$$

- gram/liter maka k harus ditulis sebagai a dimana a = absortivitas

$$\log \frac{P_o}{P} = a. b. c$$

$$A = a. b. c$$

Jika absorbansi (A) = $\log \frac{P_o}{P}$

$$\%T = \frac{P_o}{P} \cdot 100\%$$

$$A = \log \frac{P_o}{P} = \log \frac{1}{T} = -\log T = 2 - \log \%T$$

2.7 Metode Least Square

Metode Least Square dipilih untuk pendekatan spektrofotometer menurut Hukum Beer yang merupakan dasar dari absorpsi cahaya.

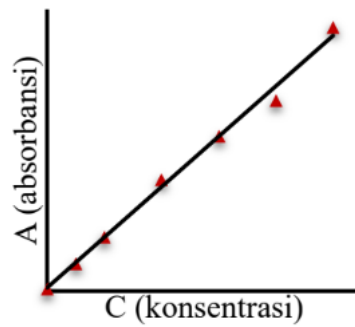
$A = a.b.c$, di mana:

a = absorbtivitas

b = tebal cuvet

c = konsentrasi zat pengabsorpsi

Bila A dialirkan untuk c terhadap cuplikan yang tebalnya b cm akan menghasilkan daerah dimana hukum Beer berlaku suatu garis lurus dengan lereng ab.



Gambar 2.3 Kurva standar hubungan absorbansi vs konsentrasi

Hubungan linier antara absorbansi dan konsentrasi menunjukkan bahwa absorbansi bergantung pada konsentrasi. Semakin besar konsentrasi suatu zat maka semakin besar absorbansinya, begitu pula sebaliknya. Hukum Beer, $A = a.b.c$, dapat dikembangkan menjadi persamaan linier, karena absorbansi (A) sama dengan y , $a.b$ sama dengan m , dan konsentrasi (c) sama dengan kemiringan (x) dalam persamaan $y = mx + c$.

Tetapi secara instrumentasi didapat grafik yang kurang memenuhi hubungan linier antara absorpsi dan konsentrasi pada penentuan absorbansi larutan sehingga untuk memenuhi hukum Beer kurva A vs C dipakai metode Least Square, dimana:

$$y = mx + c$$

y = absorbansi

m = bilangan tetap (konstanta), *slope*

x = kadar larutan

c = bilangan tetap (konstanta), *y-intercept*

$$m = \frac{n\sum xy - \sum x \sum y}{n\sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$c = \frac{\sum x^2 \sum y - \sum x \sum xy}{n\sum x^2 - (\sum x)^2}$$

BAB III

METODE PRAKTIKUM

3.1 Bahan dan Alat

3.1.1 Bahan

1. Larutan induk CuSO_4
2. HCl pekat
3. $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
4. Aquades

3.1.2 Alat

1. Spektrofotometer OPTIMA SP-300
2. Cuvet dan tempat cuvet
3. Labu takar 50 ml
4. Gelas ukur
5. Kertas pH
6. Beaker glass
7. Pipet

3.1.3 Gambar Alat Utama



Gambar 3.1 Spektrofotometri Optima Sp-300

Keterangan gambar :

1. Tempat sampel
2. Pengontrol Panjang gelombang
3. Indikator power ON/OFF
4. Pembacaan LCD Digital
5. Tombol pengganti Mode
6. Tombol control 100% T

7. Tombol control 0% T
8. Tombol print
9. Jendela pembacaan panjang gelombang



Gambar 3.2 Cuvet

3.2 Cara Kerja

3.2.1 Kalibrasi Alat

1. Tempat sampel (1) pada spektrofotometer dikosongkan.
2. Cuvet (berbentuk kotak yang sederhana tetapi dari bahan gelas dengan kualitas super, berharga cukup mahal, sehingga perlu kehati-hatian) diambil dan dibersihkan kemudian diisi dengan aquadest sampai $\frac{3}{4}$ nya (disebut dengan blangko). Bagian luar cuvet dibersihkan dengan kapas secara hati-hati (jangan sampai tergores).
3. Tutup sampel pada spektrofotometer (1) dibuka, dan tempat cuvet diambil.
4. Cuvet dimasukkan pada tempat cuvet dengan sisi yang bening menghadap ke luar dan kembali ditutup (tinggi larutan disesuaikan dengan tanda yang ada).
5. Atur pada panjang gelombang tertentu menggunakan tombol (2).
6. Pembacaan transmittan diatur 100% ($A=0$) untuk larutan blangko menggunakan tombol (6).
7. Cuvet diambil dari tempat sampel kemudian ditutup. Pembacaan skala transmittan dapat dilihat pada layar (4). Dalam tahap ini pembacaan transmittansi harus 100% hingga muncul kata blank. Jika tidak, diulangi dari langkah 3 hingga pembacaan diperoleh pembacaan transmittan yang konsisten.

8. Jika sudah diperoleh pembacaan transmittan 100% konsisten, cuvet disimpan dengan larutan blanko tersebut sampai praktikum selesai.
9. Alat spektrofotometer sudah siap digunakan untuk pengukuran panjang gelombang optimum maupun kurva kalibrasi pada sampel.

3.2.2 Pembuatan Kurva Standar

1. Mengambil X1, X2, X3, X4 ml larutan induk CuSO_4 lalu masukkan dalam labu takar 50 ml.
2. Encerkan dengan *aquadest* sampai tanda batas.
3. Mengambil 10 ml dari masing-masing labu takar, lalu masukkan ke dalam labu takar 50 ml.
4. Encerkan dengan aquades sampai mendekati tanda batas.
5. Mengasamkan dengan HCl pekat sampai pH=1. Uji pH dengan menggunakan indikator universal.
6. Tambahkan 200 mg $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.
7. Encerkan dengan aquadest sampai tanda batas.
8. Kocok hingga terbentuk endapan BaSO_4 .
9. Larutan dipindah ke dalam cuvet.
10. Mengukur transmittannya pada $\lambda = 480 \text{ nm}$.
11. Membuat kurva standar hubungan absorbansi terhadap konsentrasi.

3.2.3 Pengukuran Larutan Sampel

1. Ambil 10 ml larutan sampel dengan pipet, masukkan ke dalam labu takar 50 ml.
2. Encerkan sampai mendekati tanda batas.
3. Asamkan dengan HCl pekat sampai pH = 1. Uji pH dengan menggunakan indikator universal
4. Tambahkan 200 mg $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ke dalam larutan.
5. Encerkan dengan aquades sampai tanda batas, kocok hingga terbentuk endapan BaSO_4 .
6. Larutan dipindah ke cuvet.
7. Mengukur transmittannya pada $\lambda = 480 \text{ nm}$.

8. Menghitung konsentrasinya.

3.2.4 Perhitungan Kadar SO_4^{2-}

Perhitungan kadar SO_4^{2-} dilakukan pada larutan induk maupun larutan sampel darimasing- masing panjang gelombang.

- Perhitungan Kadar SO_4^{2-} pada Larutan Induk

Kadar SO_4^{2-} pada X_1 ml larutan induk, panjang gelombang λ_1 nm dapat diperoleh dengan:

$$C = \frac{X_1}{50} \times \frac{10}{50} \times \text{kadar asli larutan induk}$$

- Perhitungan Kadar SO_4^{2-} pada Larutan Sampel

Perhitungan Kadar SO_4^{2-} pada larutan sampel dapat diperoleh dengan menggunakan persamaan Least Square

$$y = mx + c$$

$$x = \frac{(y - c)}{m} \text{ xfp}$$

y = absorbansi

m = bilangan tetap (konstanta), *slope*

x = kadar larutan

c = bilangan tetap (konstanta), *y-intercept*

$$m = \frac{n\sum xy - \sum x \sum y}{n\sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$c = \frac{\sum x^2 \sum y - \sum x \sum xy}{n\sum x^2 - (\sum x)^2}$$

DAFTAR PUSTAKA

- Flaschka, H. A. 1959. *EDTA Titration*. New York: Pergamon Press, Inc.
- Huber, W. 1967. *Titration in Nonaqueous Solvents*. New York: Academic Press, Inc.
- John, H. P. 1960. *Chemical Engineers Handbook (5th ed.)*. New York: Mc Graw Hill Book Company Inc.
- Kolthoff, I. M. & Stenge, U. A.. 1957. *Volumetric Analysis (2nd ed.)*. New York: John Wiley and Sons, Inc.
- Miller, M. 1957. *Separation Methods in Chemical Analysis*. New York: John Wiley and Sons, Inc.
- Raza, A. A & Tariq, M. A. 2015. *Development and applications of spectrophotometric methods for quantitative determination of caroverine in pharmaceutical pure and tablet formulations*. Multan: Bahauddin Zakariya University.
- Underwood, A. I. & Day R. A. 1981. *Analisa Kimia Kuantitatif (ed. 4.)*. Jakarta: Erlangga.
- Wagner, W. & Hull, C, J.. 1971. *Inorganic Titrimetric Analysis*. New York: Marcel Dekker, Inc.