



PANCASILA
"A PLACE TO CREATE YOUR SUCCESS"



MODUL PEMBELAJARAN

ANALISIS INSTRUMENTAL

Semester Genap Tahun 2025-2026

Dosen:

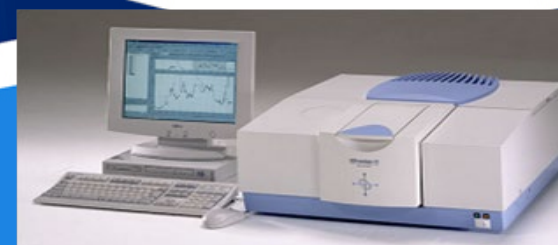
Dr. apt. Zuhelmi Aziz., M.Si

Dr. apt. Novi Yantih., M.Si

Dr. apt. Liliek Nurhidayati., M.Si

Dr. apt. Rahmatul Qodriah., M.Farm

apt. Intan Permata Sari., M.Farm





**UNIVERSITAS
PANCASILA**
"A PLACE TO CREATE YOUR SUCCESS"



II. SPEKTROFOTOMETRI

Pertemuan 2

SUBPOKOK BAHASAN

II A

PENDAHULUAN

II B

SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

II C

SPEKTROFOTOMETRI IR/ FTIR

II D

SPEKTROFLUOROMETRI

II E

SPEKTROFOTOMETRI SERAPAN ATOM



UNIVERSITAS
PANCASILA
"A PLACE TO CREATE YOUR SUCCESS"



II.A.PENDAHULUAN



II. A. PENDAHULUAN

- 1. Definisi Spektrofotometri**
- 2. Istilah-istilah Penting**
- 3. Spektrum Elektromagnetik**
- 4. Interaksi zat dengan Cahaya**
- 5. Aspek kuantitatif dari Serapan: Hukum Beer**
- 6. Pembagian Metode Spektrofotometri**



Definisi Spektrofotometri

Spektrofotometri adalah:

metode analisis instrumental yang didasarkan atas pengukuran intensitas cahaya pada panjang gelombang yang hampir monokromatis, setelah berinteraksi dengan Zat uji.

Cahaya monokromatis adalah:

Cahaya dengan panjang gelombang tunggal.

Cahaya polikromatis adalah:

Cahaya dengan panjang gelombang campuran.

Istilah-istilah Penting



CAHAYA

- Cahaya
- Spektrum elektromagnetis
- Spektrum cahaya-tampak
- Spektrum ultraviolet
- Warna
- Cahaya monokromatis
- Panjang gelombang
- Frekuensi
- Bilangan gelombang

INTERAKSI CAHAYA - ZAT

- Transmitan (T)
- Serapan (A)
- Serapan relatif
- Daya serap
- Daya serap jenis
- Daya serap molar
- Spektrum serapan
- Spektrum transmisi
- Spektrum elektromagnetis

- **Gelombang**

- Gelombang (Christiaan Huygens, 1629-1695)
- Gelombang elektromagnetik (J.C. Maxwell))

- **Partikel**

- Foton (Isaac Newton dan Planck)

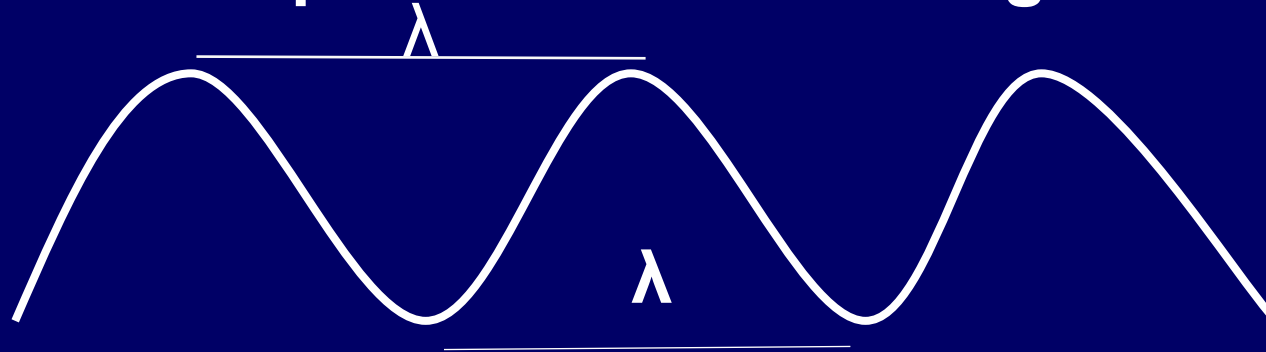
Partikel foton memiliki energi berbanding lurus dengan frekuensinya, namun berbanding terbalik dengan panjang gelombangnya

$$E = h\nu = hc/\lambda$$

Panjang Gelombang, Frekuensi & Bilangan Gelombang

- **Panjang gelombang, λ** (nm = 10^{-9} m)

Jarak antara dua puncak atau lembah gelombang.



- **Frekuensi, ν** (cps = Hertz) : Banyaknya gelombang per detik.
- **Bilangan gelombang, $\bar{\nu}$** (cm^{-1}): Banyaknya gelombang per cm
- **Warna** adalah sensasi psikologik yang merupakan hasil respon faali maupun psikologik terhadap panjang gelombang **cahaya tampak (380 – 780 nm)** yang jatuh pada selaput jala mata.

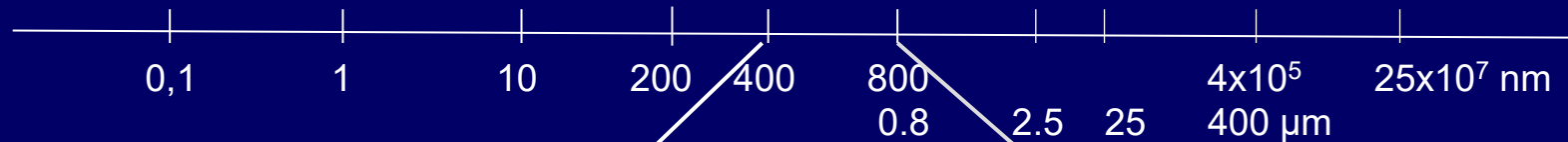
Spektrum Elektromagnetik



Energy changes Involved	Nuclear	Inner shell electrons	Ionization of atoms and molecules	Valence electrons	Molec. Vibrations: stretching, bending	Spin orientation in magnetic field Electrons Nuclei ESR NMR
-------------------------	---------	-----------------------	-----------------------------------	-------------------	--	---

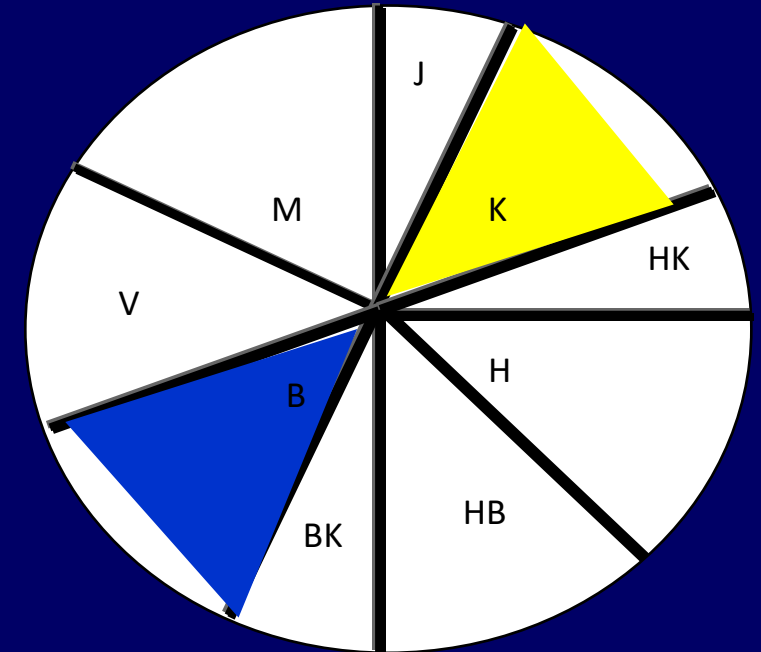
Region in
Electro-

Magnetic Spcktrum	Gamma rays	X-rays	"Soft" X-rays	Vacuum UV	Near UV	Vis	Near IR	Far IR	Micro-waves	Radio waves
-------------------	------------	--------	---------------	-----------	---------	-----	---------	--------	-------------	-------------



Spektrum Visibel dan Warna Komplementer

λ nm	Warna	Warna Komplementer*
400-435	Violet	Hijau kekuningan
435-480	Biru	Kuning
480-490	Biru kehijauan	Jingga
490-500	Hijau kebiruan	Red
500-560	Hijau	Ungu
560-580	Hijau kekuningan	Violet
580-595	Kuning	Biru
595-610	Jingga	Biru kehijauan
610-750	Merah	Hijau kebiruan



Warna komplementer adalah warna yang berhadap-hadapan dalam lingkaran warna, misalnya, kuning berkomplementer dengan biru

*contoh: warna larutan kuning, warna radiasi biru

Hubungan E, λ , dan ν Cahaya

$$E = h \cdot \nu$$

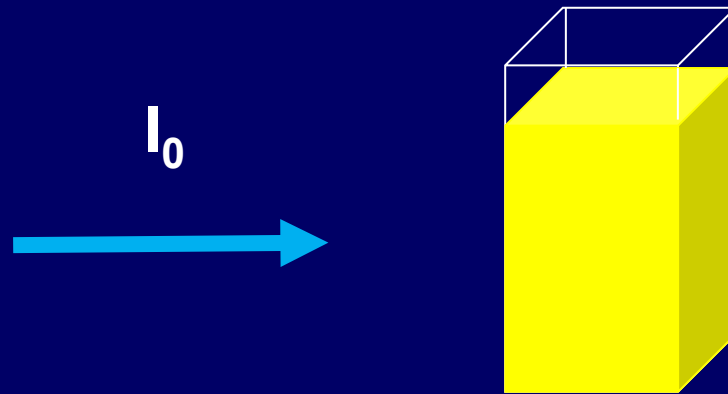
$$E = h \frac{c}{\lambda} \rightarrow \nu = \frac{c}{\lambda}$$

$$E = h \cdot c \cdot \bar{\nu} \rightarrow \bar{\nu} = \frac{1}{\lambda}$$

h = tetapan Planck ($6,62 \cdot 10^{-27}$ erg.sec) = $6,626 \times 10^{-34}$ Js

C = kecepatan cahaya

• Interaksi Zat dengan Cahaya



Hasil interaksi:

- Absorption
- Emission
- Scattering

Transmitan, T

$$T = I / I_0$$
$$\%T = 100 \times T$$

Serapan, A

$$A = -\log T$$
$$= \log 1/T = \log I_0/I$$

I_0 = Intensitas cahaya masuk

I = Intensitas cahaya keluar atau yang ditransmisikan

Hukum Beer (Bouguer's-Beer, Lambert – Beer)

Besarnya serapan dari larutan suatu zat berbanding lurus dengan tebal larutan dan konsentrasinya.

$$A = abc$$

A = serapan

a = daya serap (*absorptivity*)

b = tebal larutan, cm (Bouguer 1729, Lambert 1768)

c = konsentrasi, g/L (Beer 1859)

- Hukum Beer dapat ditulis dengan 3 cara:

1. $A = abc$

c = konsentrasi, g/L

a = daya serap

2. $A = (A_{1\%,1\text{cm}})bc$

c = konsentrasi, %

$A_{1\%,1\text{cm}}$ = daya serap jenis

3. $A = \epsilon bc$

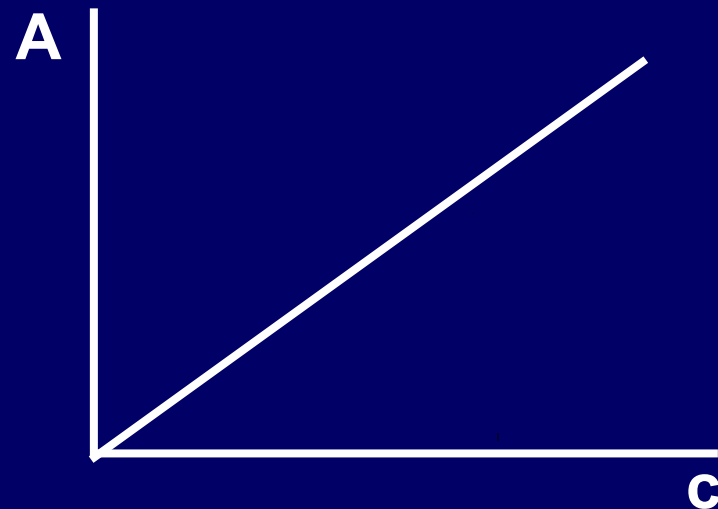
c = konsentrasi, molar (M)

ϵ = daya serap molar

A = serapan

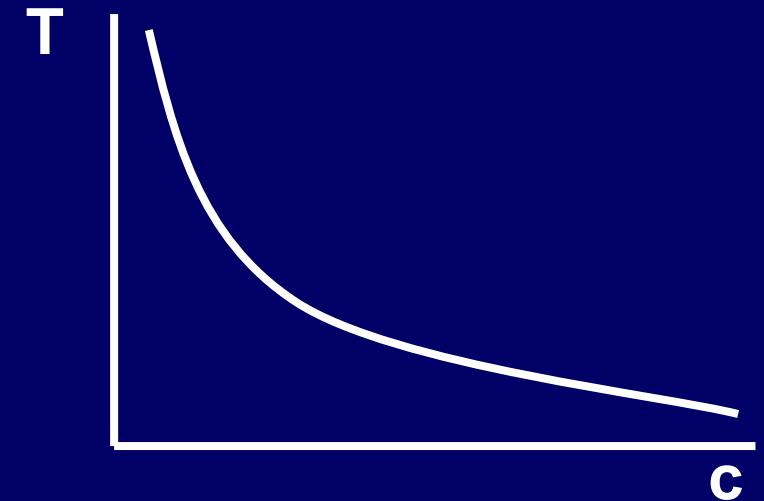
b = tebal larutan, cm

- Hubungan Serapan vs Konsentrasi



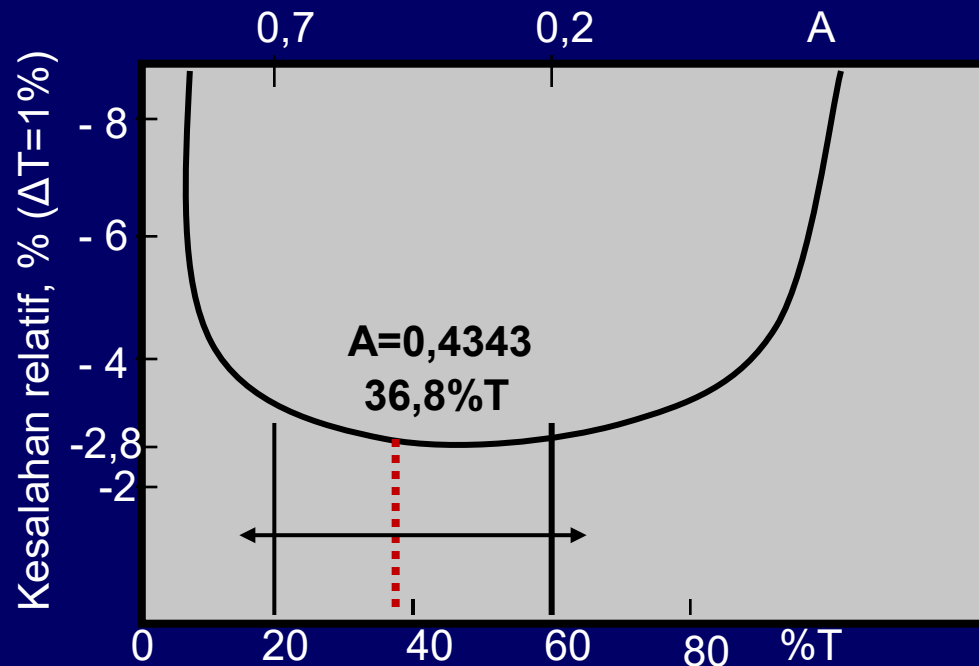
$$A = abc = kc$$

- Hubungan transmittan vs Konsentrasi



Keakuratan Fotometrik

- Penyimpangan hukum Beer juga terjadi berkaitan dengan kemampuan detektor untuk mendeteksi cahaya yang berasal dari larutan yang terlalu pekat atau terlalu encer.
- Kesalahan terkecil bila serapan $A = 0,4343$ atau $T = 36,8\%$.
- Kesalahan masih dapat diterima bila serapan **$A = 0,2-0,7$** atau **$T = 20-60\%$** .
- Keakuratan fotometrik dapat digambarkan dengan grafik berikut.



Gb. Grafik hubungan %T vs Kesalahan relatif (%) untuk kesalahan fotometrik 1% ($\Delta T = 1\%$)



Energi dan level energi

*LEVEL ENERGI

1. Energi eksternal

2. Energi internal

- energi rotasi
- energi vibrasi
- energi elektronik

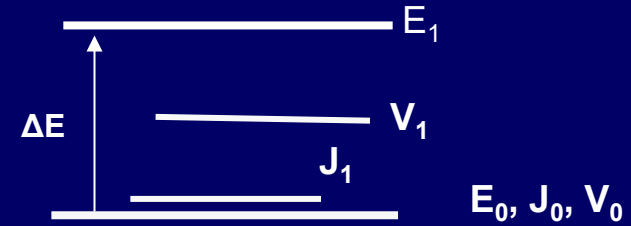
TRANSISI ENERGI Absorpsi dan Emisi Cahaya

- Absorpsi dan emisi cahaya terjadi karena transisi energi pada atom maupun molekul.

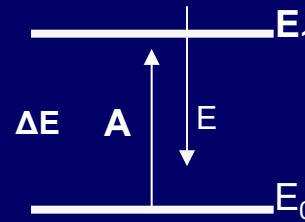
Absorpsi adalah transisi energi dari energi tingkat dasar (*ground state*) ke tingkat energi yang lebih tinggi (*excited state*). Sebaliknya dinamakan emisi. Absorpsi terjadi karena adanya rangsangan cahaya dengan energi yang sama dengan selisih energi (ΔE) dari kedua level energi tersebut.

- Besarnya absorpsi atau banyaknya (intensitas) cahaya yang diserap berbanding lurus dengan jumlah atom atau molekul yang dilalui oleh cahaya tersebut. Peristiwa ini merupakan dasar analisis kuantitatif (lihat hukum Beer).

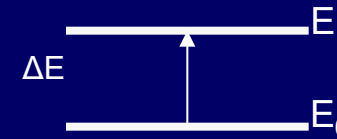
- Energi cahaya atau λ yang menyebabkan terjadinya absorpsi tergantung dari selisih energi dari kedua level energi tersebut. Karena setiap zat mempunyai level energi yang berbeda (spesifik), maka peristiwa ini merupakan dasar analisis kualitatif.



Gb-1. Level energi molekul



Gb-2. Level energi Molekul A



Gb-3. Level energi Molekul B

Keterangan

E_0 = Level energi elektronik *ground state*

E_1 = Level energi elektronik *excited state*

J = Level energi rotasi A = Absorpsi

V = Level energi vibrasi E = Emisi

$E > V > J$ $\Delta E = E_1 - E_2$

Kromofor, auksokrom, dan transisi elektronik

-KROMOFOR :

adalah gugus fungsional dari molekul yang mengabsorpsi cahaya dan mengandung satu atau lebih ikatan rangkap, contoh : benzen **atau** Gugus kovalen tidak jenuh yang menyebabkan terjadinya serapan elektronik \rightarrow $-C=C$, $C=O$, $N=N$, $N=O$

-AUKSOKROM :

adalah gugus fungsional yang tidak mampu menyerap cahaya, tapi dapat merubah intensitas serapan, menggeser λ maks dari gugus kromofor suatu molekul , contoh :- OH , $-NH_2$, $-Cl$, $-OCH_3$ atau gugus fungsional jenuh yang terikat pada kromofor dan menyebabkan perubahan intensitas **serapan maupun λ maks.**

\rightarrow gugus auksokrom sendiri tidak menyerap cahaya.

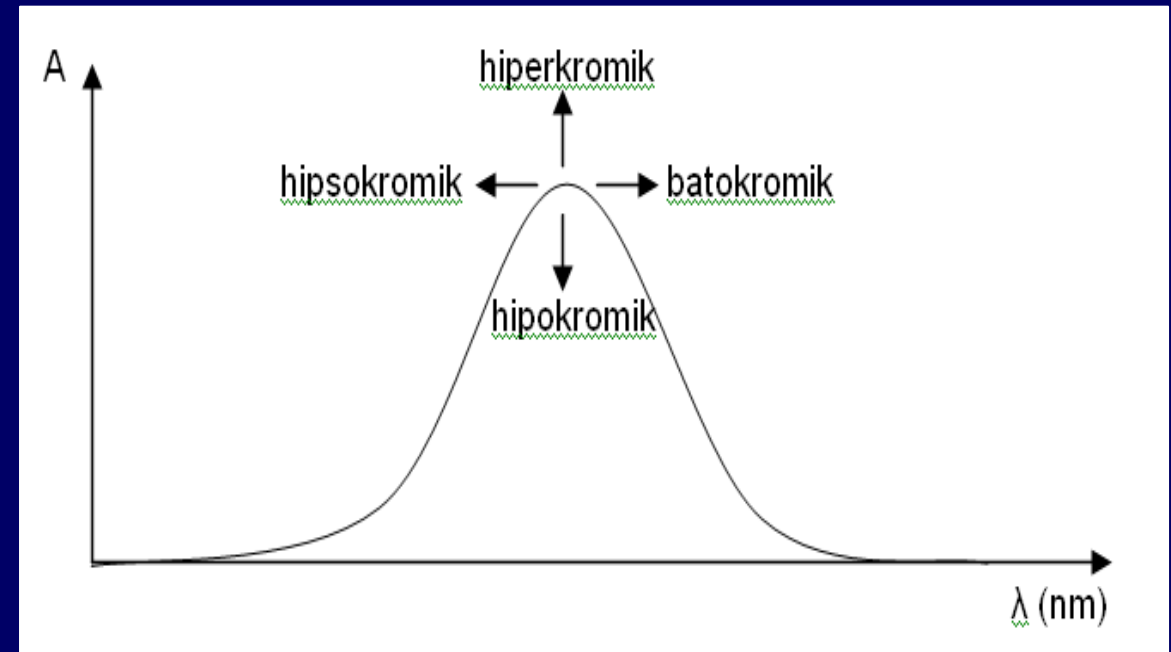
* Terikatnya gugusnya auksokrom oleh gugus kromofor \rightarrow pergeseran pita absorpsi ke panjang gelombang yang lebih panjang disebut : Pergeseran merah / Batokromik (*red shift*)

* Pergeseran batokromik juga terjadi pada dua ikatan rangkap terkonyugasi : $-C=C-C=C-$ butadien

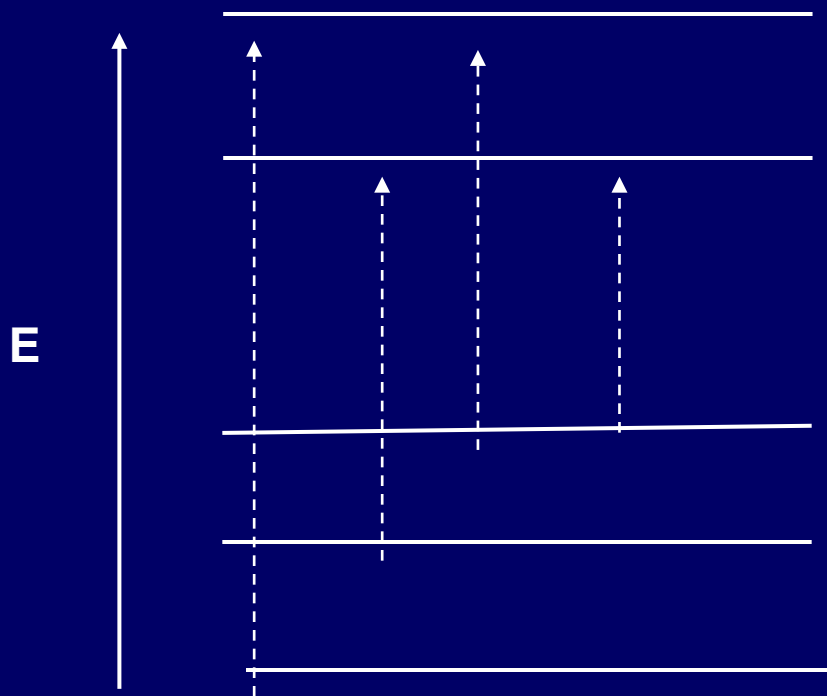


Empat efek kemungkinan perubahan pita absorpsi

- 1. **Pergeseran Batokromik (Red shift)** : pergeseran ke panjang gelombang yang lebih panjang /kearah frekuensi lebih rendah
- 2. **Pergeseran Hipsokromik (Blue shift)** : pergeseran ke panjang gelombang lebih pendek/ frekuensi lebih tinggi
- 3. **Efek Hiperkromik** : → kenaikan intensitas
- 4. **Efek Hipokromi** : → penurunan intensitas



Gambar: Efek batokromik, hipsokromik, hiperkromik, dan hipokromik pada spektrum serapan ultraviolet – cahaya tampak



σ^* (= anti bonding orbitals = unoccupied orbitals
= excited state energy level)

π^* (= anti bonding orbitals)

n (= non-bonding, paired, outer-shell
electrons: O_2 , S, N_2 , halogen anti bonding)

π (= bonding of double and triple bond electrons)

σ (= bonding of single bond electron, absorption in far UV)

Pembagian Metode Spektrofotometri

- **Spektrofotometri Serapan**

1. Serapan Molekul

- a. *Vis Spectrofotometry*

- b. *UV-Vis Spectrofotometry*

- c. *IR Spectrofotometry*

2. Serapan Atom

- *Atomic Absorption Spectrofotometry (AAS)*

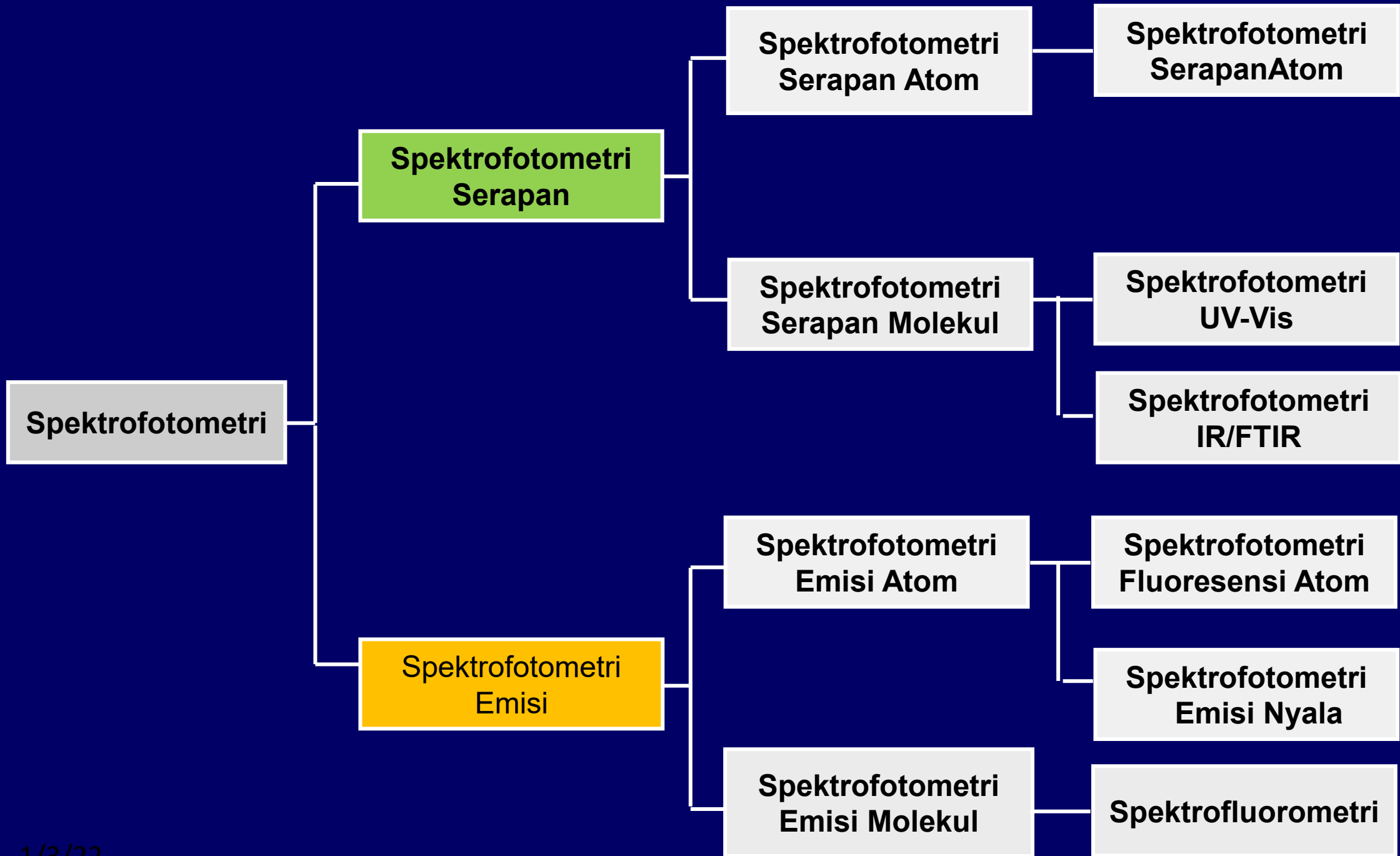
- **Spektrofotometri Emisi**

1. Emisi Molekul

- *Spectrofluorometry*

2. Emisi Atom

- **AFS**



Soal latihan

1. Larutan A yang diukur dengan metode spektrofotometri UV, menunjukkan serapan 0,220 pada panjang gelombang 265 nm dengan menggunakan sel setebal 1 cm diketahui daya serap jenis ($A_{1\%, 1\text{ cm}}$) adalah 270. Hitung konsentrasi larutan tersebut dan berapa % Tnya
2. Transmittan larutan zat A yang diukur pada panjang gelombang 485 nm dalam sel setebal 1 cm adalah 48%; hitung absorben larutan tersebut dan hitung transmittannya bila diukur dengan sel setebal 2 cm dan 4 cm pada panjang gelombang yang sama.
3. Suatu larutan zat berbobot molekul 200 dengan konsentrasi 30 bpj ternyata menunjukkan serapan sebesar 0,430 pada λ 370 nm dan tebal sel 1 cm. Hitunglah persen transmittan, daya serap, daya serap jenis, daya serap molar dari larutan zat tersebut.



FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS PANCASILA

Terima kasih