



**TUGAS II REGULER C**  
**AKADEMI ANALIS KESEHATAN NASIONAL SURAKARTA**  
**TAHUN AKADEMIK 2011/2012**

Mata Kuliah : Kimia Analitik II  
Topik : Spektrofotometri UV-Vis  
Smt / Kelas : II  
Beban Kredit : 1 Sks  
Dosen Pengampu : Elisabeth Deta Lustiyati, M.Si  
Batas Pengumpulan : Kamis, 14 Juni 2012 (Jam. 13.00 WIB)

**MATERI : SPEKTRIFOTOMETRI UV-VIS**

Spektrofotometri Sinar Tampak (UV-Vis) adalah pengukuran energi cahaya oleh suatu sistem kimia pada panjang gelombang tertentu (Day, 2002). Sinar ultraviolet (UV) mempunyai panjang gelombang antara 200-400 nm, dan sinar tampak (*visible*) mempunyai panjang gelombang 400-750 nm. Pengukuran spektrofotometri menggunakan alat spektrofotometer yang melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga spektrofotometer UV-Vis lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif dibandingkan kualitatif. Spektrum UV-Vis sangat berguna untuk pengukuran secara kuantitatif. Konsentrasi dari analit di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorban pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan **hukum Lambert-Beer** (Rohman, 2007).

Hukum Lambert-Beer menyatakan hubungan linieritas antara absorban dengan konsentrasi larutan analit dan berbanding terbalik dengan transmitan. Dalam hukum Lambert-Beer tersebut ada beberapa pembatasan, yaitu :

- a. Sinar yang digunakan dianggap monokromatis
- b. Penyerapan terjadi dalam suatu volume yang mempunyai penampang yang sama
- c. Senyawa yang menyerap dalam larutan tersebut tidak tergantung terhadap yang lain dalam larutan tersebut
- d. Tidak terjadi fluoresensi atau fosforisensi
- e. Indeks bias tidak tergantung pada konsentrasi larutan

Hukum Lambert-Beer dinyatakan dalam rumus sbb :

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

dimana :

A = absorban

$\epsilon$  = absorptivitas molar

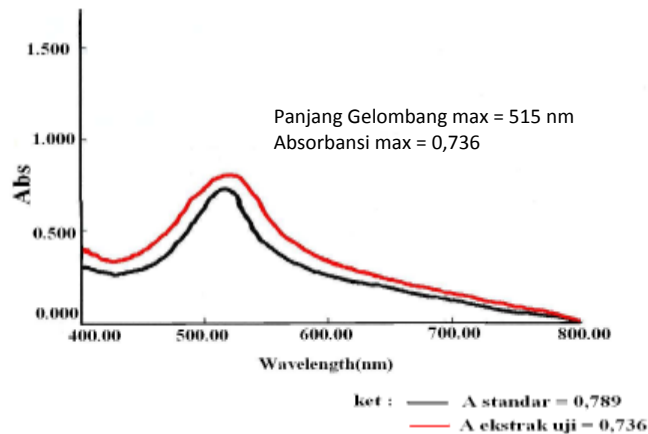
b = tebal kuvet (cm)

c = konsentrasi

**TAHAPAN PENENTUAN KADAR SAMPEL SECARA SPEKTRIFOTOMETRI**

**1. Penentuan panjang gelombang maksimum ( $\lambda_{\max}$ )**

*Definisi:* panjang gelombang yang mempunyai absorbansi maksimal, dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari suatu larutan baku pada konsentrasi tertentu



**Gambar 1. Kurva Penentuan Panjang Gelombang Maksimum**

Alasan mengapa dipergunakan panjang gelombang maksimum dalam pemeriksaan spektrofotometri, sbb :

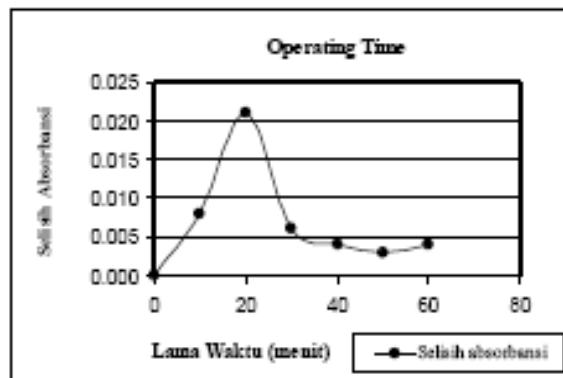
- $\lambda$  max memiliki kepekaan maksimal karena terjadi perubahan absorbansi yang paling besar
- Pada  $\lambda$  max bentuk kurva absorbansi memenuhi hukum Lambert-Beer

Hal yang perlu diperhatikan pada penentuan  $\lambda_{max}$  sbb :

Absorban yang terbaca pada spektrofotometer hendaknya antara 0,2 sampai 0,8 atau 15% sampai 70% jika dibaca sebagai transmitansi. Anjuran ini berdasarkan anggapan bahwa kesalahan dalam pembacaan T adalah 0,005 atau 0,5% (kesalahan fotometrik). (Rohman, A. 2007)

## 2. Penentuan Operating Time (OT)

TUJUAN : untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil yaitu saat sampel bereaksi sempurna dengan reagen warna . Waktu kerja ditentukan dengan mengukur hubungan antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan



**Gambar 2. Grafik Penentuan Operating Time (OT)**

### 3. Pembuatan Kurva Larutan Baku Linier

TUJUAN : untuk memperoleh persamaan larutan baku dalam penentuan kadar sampel

Tahapan yang diperlukan sbb :

- Dibuat seri larutan baku dari zat yang akan dianalisis dengan berbagai konsentrasi.
- Masing-masing absorbansi larutan dengan berbagai konsentrasi diukur pada  $\lambda_{\max}$  (berdasarkan hasil  $\lambda_{\max}$  yang diperoleh dari tahap 1) dan Operating Time (berdasarkan waktu yang diperoleh pada tahap 2)
- Membuat Kurva Larutan Baku yang merupakan hubungan antara konsentrasi (sumbu y) dan absorbansi (sumbu x).
- Bila hukum Lambert-Beer terpenuhi maka kurva baku berupa garis lurus.
- Paling sedikit menggunakan 5 rentang konsentrasi yang meningkat yang dapat memberikan serapan linier
- Kemiringan atau *slope* adalah nilai  $\epsilon$  (*absorptivitas molar*).
- Nilai R antara 0,70 – 1,00 (pertanda terbentuk garis lurus linear pada rentang konsentrasi yang dibuat)

Apabila persyaratan pembuatan kurva baku di atas tidak terpenuhi maka penyimpangan dari garis lurus biasanya dapat disebabkan oleh: (i) kekuatan ion yang tinggi, (ii) perubahan suhu, dan (iii) reaksi ikutan terjadi.

Contoh : Kurva Baku Penentuan Kadar Kalsium dalam multivitamin

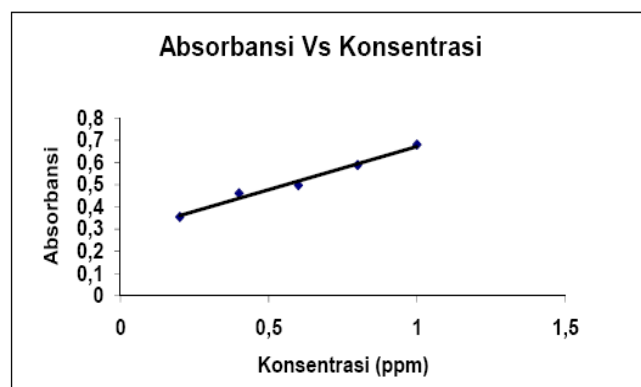
Persamaan Garis yang diperoleh ;  **$Y = 0,387 X + 0,2836$**

Koefisien korelasi  **$r = 0,9833$** .

Persamaan Kurva  **$Y = BX + A$** , secara manual bisa diperoleh dengan perhitungan rumus sbb :

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

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



**Gambar 3. Grafik Kurva Larutan Baku**

#### 4. Penentuan Kadar Sampel

Penentuan kadar sampel metode regresi linier yaitu metode parametrik dengan variabel bebas (konsentrasi sampel) dan variabel terikat (absorbansi sampel) menggunakan persamaan garis regresi Kurva Larutan Baku. Konsentrasi sampel dapat dihitung berdasarkan persamaan kurva baku tersebut (Rohman, 2007).

**Tabel 1. Data Hasil Absorbansi Sampel**

Ulangan	Bobot Sampel (mg)	Pengenceran	Absorbansi	Kadar Ca (mg/tablet)
1	250,2	250 kali	0,665	6,058
2	250,1	250 kali	0,594	4,929
3	250,5	250 kali	0,619	5,320
4	250,9	250 kali	0,666	6,053
5	250,1	250 kali	0,630	5,501
			Rata-rata	5,572

#### **PENENTUAN KETELITIAN METODE SPEKTROFOTOMETRI**

Melalui Perhitungan *Standar Deviation (SD)* dan *Relative Standar Deviation (RSD)* harga **SD < 2** dan harga **RSD < 2 %** dapat dikatakan mempunyai harga ketelitian yang baik (Harminta, 2004)

**Tabel 2. Data Hasil Ketelitian Eksperimen**

Ulangan ke-	Absorbansi
1	0,562
2	0,545
3	0,559
4	0,563
5	0,561
6	0,576
SD	0,009
RSD	1,604%

## **PENENTUAN KETEPATAN METODE SPEKTROFOTOMETRI**

### **Metode Penambahan Baku (*standard addition method*)**

Dilakukan dengan menambahkan analit dengan konsentrasi tertentu pada sampel yang diperiksa, lalu dianalisis lagi metode tersebut (WHO, 1992). Nilai rentang recovery dianggap baik 80 – 120%

$$\text{Uji Perolehan Kembali / Recovery (\%)} = \frac{C_0 - C_1}{C}$$

$C_0$  = konsentrasi sampel yang diperoleh setelah penambahan larutan baku

$C_1$  = konsentrasi sampel sebelum penambahan larutan baku

$C$  = Konsentrasi larutan baku yang ditambahkan

**Tabel 3. Data Hasil Metode Standar Adisi**

Ulangan ke-	Berat sampel	Pengenceran	Serapan	Recovery %
1a	250,2	250 kali	0,679	116,25
1b	250,1+ 2 ml baku Ca 1000 ppm	250 kali	0,547	
2a	250,1	250 kali	0,67	117,85
2b	250,2+ 2 ml baku Ca 1000 ppm	250 kali	0,624	
3a	250,2	250 kali	0,678	115,6
3b	250,1+ 2 ml baku Ca 1000 ppm	250 kali	0,548	
			Rata-rata	116,567

## TUGAS

1. Diperoleh data larutan standar, sbb :

Konsentrasi	Absorbansi
0 ppm	0
1 ppm	0.12
2 ppm	0.18
3 ppm	0.24
4 ppm	0.32
5 ppm	0.40

Tentukan persamaan kurva regresi linier ( $Y = Bx + A$ ) untuk data di atas melalui perhitungan manual

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

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

2. Berdasarkan persamaan kurva larutan baku yang diperoleh pada gambar 3. Jelaskan dengan perhitungan Anda untuk menentukan kadar sampel (dalam ppm) untuk sampel ulangan 3 (Tabel 1) !
3. Berdasarkan persamaan kurva larutan baku yang diperoleh pada gambar 3. Jelaskan dengan perhitungan Anda untuk menentukan kadar sampel (dalam mg/tablet) untuk sampel ulangan 3 (Tabel 1) !