UNIVERSITAS GADJAH MADA
LABORATORIUM PENELITIAN DAN PENGUJIAN TERPADU

KAN Komite Akreditasi Nasional
LP-1502-IDN
LK-324-IDN

LPPT NEWSLETTER

Edisi 2 • Mei 2025

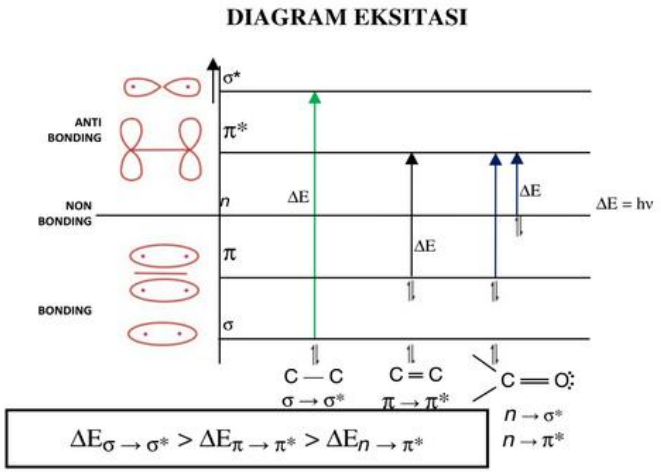
INSTRUMEN SPEKTROFOTOMETER UV-VIS

Salah satu instrumen yang digunakan dalam pengujian di LPPT adalah spektrofotometer UV-Vis. Spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk mengukur transmitansi, reflektansi, dan absorbansi dari suatu cuplikan sebagai fungsi dari panjang gelombang. Alat ini menggunakan sinar dengan panjang gelombang 180-380 nm untuk daerah ultraviolet (UV) dan 380-780 nm untuk daerah *visible* atau sinar tampak.

Penggunaan spektrofotometri UV-Vis pada umumnya untuk analisis kuantitatif, yaitu penentuan kandungan zat organik maupun anorganik dari suatu larutan. Keuntungan utama dari metode ini adalah memberikan cara sederhana untuk menetapkan kuantitas zat yang kecil. Selain itu, hasil yang diperoleh cukup akurat, dimana angka yang terbaca langsung dicatat oleh detektor dan tercetak dalam bentuk angka digital ataupun grafik yang sudah diregresikan.

Spektrofotometri UV-Vis merupakan metode pengukuran yang didasarkan pada pengukuran absorbsi (penyerapan) radiasi sinar ultraviolet-*visible* yang menimbulkan vibrasi molekul dan transisi elektronik dalam molekul. Energi yang diserap oleh ikatan dalam molekul dapat menaikkan tenaga ikatan dalam molekul, mengakibatkan terjadinya transisi elektronik, yaitu promosi elektron-elektron dari orbital dasar σ, π, dan n yang berenergi rendah (*ground state*) ke orbital tereksitasi yang berenergi lebih tinggi (*excited state*). Bentuk dari transisi elektronik pada daerah UV-Vis adalah $\sigma \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \pi^*$, dan

π → π*. Tetapi, transisi yang banyak terjadi pada daerah UV-Vis adalah transisi elektron oleh orbital n dan π yaitu n → π*, dan π → π* karena memiliki tingkat energi yang dapat disediakan oleh instrumen spektrofotometer modern (energi dengan panjang gelombang 190 – 1100 nm). Transisi n → π* terjadi pada senyawa yang memiliki elektron nonbonding (pasangan elektron bebas), contohnya senyawa-senyawa yang mengandung gugus C=O, C=S, C=N, dan N=O, sedangkan transisi π → π* dihasilkan oleh senyawa dengan ikatan rangkap dua dan tiga alkena dan alkuna.



Gambar 1. Diagram eksitasi elektron (Sastrohamidjojo, 2018)

Fungsi spektrofotometri UV-Vis secara kualitatif adalah memberikan informasi mengenai ada tidaknya gugus fungsional pada suatu senyawa. Selain itu, metode ini juga dapat digunakan untuk mengidentifikasi spesies molekuler dengan membandingkan spektra spesies sampel dengan spektra standar atau literatur yang sudah diketahui. Prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis didasarkan pada hukum Lambert-Beer, dimana absorbansi diukur dengan cara melewatkan berkas cahaya monokromatik dengan panjang gelombang tertentu melalui suatu media (larutan) dalam suatu objek kaca atau kuarsa yang disebut kuvet. Sebagian dari cahaya tersebut akan diserap, sebagian dipantulkan, dan dan sisanya akan dilewatkan. Nilai absorbansi dari cahaya yang diserap sebanding dengan konsentrasi larutan di dalam kuvet. Persamaan hukum Lambert-Beer ditulis sebagai berikut:

$$-\log T = A = \varepsilon . b . C \left(\frac{mol}{L}\right)$$

$$atau\ A = a . b . C\ (g/L)$$

A = absorbansi,

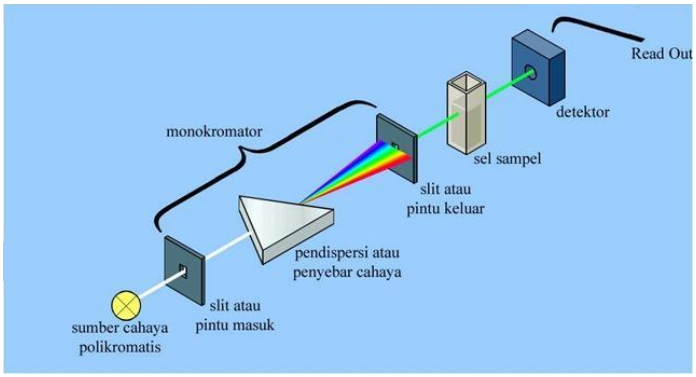
ε = absorptivitas molar,

a = absorptivitas,

b = ketebalan sel,

C = konsentrasi.

Bagian-bagian dari spektrofotometer UV-Vis adalah sumber cahaya yang berasal dari dua lampu yang berbeda yaitu lampu wolfram untuk sinar tampak dan lampu deuterium untuk sinar ultraviolet, monokromator yang berfungsi untuk menguraikan sinar polikromatis menjadi beberapa panjang gelombang yang berbeda-beda, kuvet sebagai wadah untuk cuplikan yang akan dianalisis, dan detektor yang berfungsi untuk mengubah cahaya menjadi sinyal listrik yang kemudian akan ditampilkan oleh penampil data dalam bentuk jarum penunjuk atau angka digital.



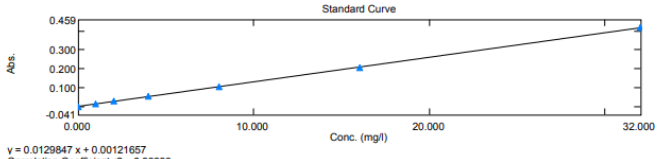
Gambar 2. Bagian-bagian dari spektrofotometer UV-Vis

Alat spektrofotometer UV-Vis terbaru yang dimiliki LPPT adalah Shimadzu UV-1800. Kelebihan dari instrumen ini adalah resolusi yang dapat mencapai 1 nm dalam instrumen yang ringkas, dapat digunakan sebagai satu unit tersendiri maupun disambungkan dengan komputer, dapat dihubungkan langsung ke memori USB, dan software validasi bawaan yang memastikan akurasi pengoperasian.

Catalog number		T-83400-20
Type/model		UV/Visible scanning wavelength
Beam type		Double beam
Bandwidth		1 nm
Wavelength range		190 to 1100 nm
Wavelength accuracy		±0.1 nm at D2 peak 656.1 nm, ±0.3 nm for entire range
Wavelength repeatability		±0.1 nm
Scanning speed		2 to 3000 nm/min
Photometric ranges	Transmittance	0.0 to 400% T
	Absorbance	–4.0 to 4.0 A
Noise		<0.00005 A at 700 nm
Drift		<0.0003 A/hour (after warm-up)
Stray light		<0.02% T at 340 and 400 nm, <1.0% T at 198 nm
Source lamp		Tungsten-halogen and deuterium
Lamp life, typical		Tungsten-halogen: 2000 hours
Display		Graphical LCD, 4¾ x 3½" (12.1 x 8.9 cm)
Detector		Silicon photodiode
Input/output		USB
Dimensions (W x H x D)		17⅞" x 10⅜" x 19⅜" (45 x 27 x 49 cm)
Power		100 to 120 VAC, 50/60 Hz

Gambar 3. Spesifikasi Shimadzu UV-1800

Alat ini dilengkapi dengan berbagai mode pengukuran seperti mode fotometri, spektrum, kuantitasi, kinetika, scan-waktu, kuantitasi multikomponen, dan biometode. Contoh sampel yang dapat dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis antara lain kometik, obat, tanaman, makanan ternak, pupuk, dan lain-lain dengan parameter-parameter yaitu tanin, saponin, alkaloid, fenol, flavonoid, kurkuminoid, beta karoten, lecithin, asam askorbat, fosfor/fosfat, sulfur/sulfat, silika, ammonia, formalin, detergen, dan lain-lain.



y = 0.0129847 x + 0.00121657
Correlation Coefficient r2 = 0.99996

Standard Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL430.0	Wgt.Factor	Comments
1	std 1	Std-Repeat		0.000	0.000	1.000	
2	std 1-2	Std-Repeat		0.000	0.000	1.000	
3	std 1-3	Std-Repeat		0.000	0.000	1.000	
4	std 1-Avg	Average		0.000	0.000	1.000	Avg of preceding 3 Samples
5	std 2	Std-Repeat		1.000	0.015	1.000	
6	std 2-2	Std-Repeat		1.000	0.015	1.000	
7	std 2-3	Std-Repeat		1.000	0.015	1.000	
8	std 2-Avg	Average		1.000	0.015	1.000	Avg of preceding 3 Samples
9	std 3	Std-Repeat		2.000	0.029	1.000	
10	std 3-2	Std-Repeat		2.000	0.029	1.000	
11	std 3-3	Std-Repeat		2.000	0.029	1.000	
12	std 3-Avg	Average		2.000	0.029	1.000	Avg of preceding 3 Samples
13	std 4	Std-Repeat		4.000	0.052	1.000	
14	std 4-2	Std-Repeat		4.000	0.052	1.000	
15	std 4-3	Std-Repeat		4.000	0.052	1.000	
16	std 4-Avg	Average		4.000	0.052	1.000	Avg of preceding 3 Samples
17	std 5	Std-Repeat		8.000	0.105	1.000	
18	std 5-2	Std-Repeat		8.000	0.105	1.000	
19	std 5-3	Std-Repeat		8.000	0.105	1.000	
20	std 5-Avg	Average		8.000	0.105	1.000	Avg of preceding 3 Samples
21	std 6	Std-Repeat		16.000	0.208	1.000	
22	std 6-2	Std-Repeat		16.000	0.208	1.000	
23	std 6-3	Std-Repeat		16.000	0.208	1.000	
24	std 6-Avg	Average		16.000	0.208	1.000	Avg of preceding 3 Samples
25	std 7	Std-Repeat		32.000	0.417	1.000	
26	std 7-2	Std-Repeat		32.000	0.417	1.000	
27	std 7-3	Std-Repeat		32.000	0.417	1.000	
28	std 7-Avg	Average		32.000	0.417	1.000	Avg of preceding 3 Samples
29							

Gambar 4. Contoh grafik pengukuran absorbansi dari larutan standar yang sudah diketahui konsentrasinya

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL430.0	Comments
1	A1_1	Unk-Repeat			0.138	fp 10/1
2	A1_1-2	Unk-Repeat			0.138	
3	A1_1-3	Unk-Repeat			0.138	
4	A1_1-Avg	Average		10.517	0.138	Avg of preceding 3 Samples
5	A1_2	Unk-Repeat			0.138	
6	A1_2-2	Unk-Repeat			0.138	
7	A1_2-3	Unk-Repeat			0.138	
8	A1_2-Avg	Average		10.527	0.138	Avg of preceding 3 Samples
9	A2_1	Unk-Repeat			0.158	
10	A2_1-2	Unk-Repeat			0.158	
11	A2_1-3	Unk-Repeat			0.158	
12	A2_1-Avg	Average		12.045	0.158	Avg of preceding 3 Samples
13	A2_2	Unk-Repeat			0.150	
14	A2_2-2	Unk-Repeat			0.150	
15	A2_2-3	Unk-Repeat			0.150	
16	A2_2-Avg	Average		11.439	0.150	Avg of preceding 3 Samples
17						

Gambar 5. Pengukuran absorbansi dari suatu cuplikan

Butuh layanan pengujian?
Akses layanan pengujian UGM dengan mudah melalui:
https://market.ugm.ac.id