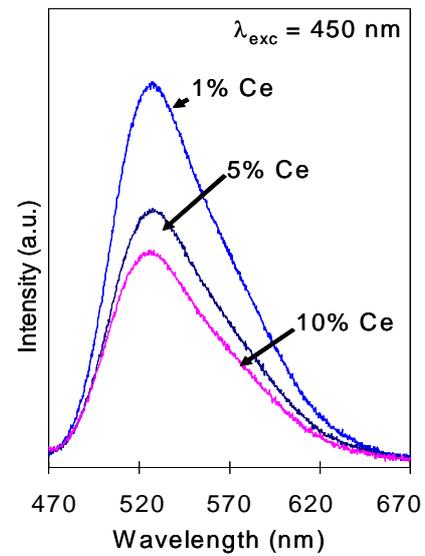
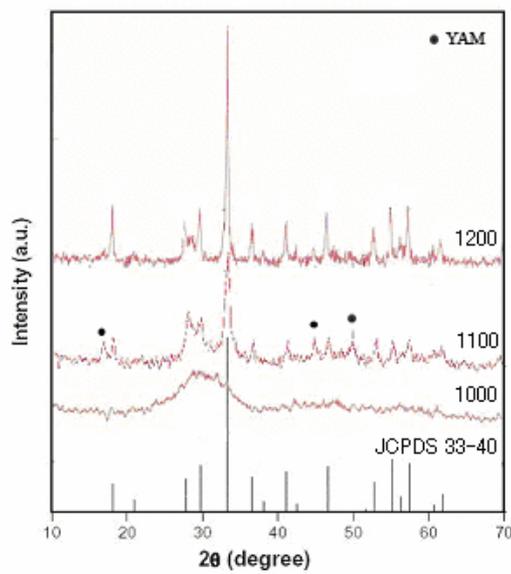


DIKTAT MATA KULIAH

PENGANTAR BIOSPEKTROKOPI



Oleh
I Made Joni, M.Sc.



Jurusan Fisika FMIPA
Universitas Padjadjaran
2007

KONTRAK PERKULIAHAN

Nama Mata Kuliah	: Pengantar Biospektroskopi
Jumlah SKS	: 2
Kode Mata Kuliah	: D1C
Pengajar	: I Made Joni, S.Si, M.Sc.
Semester	: IV(Lima)
Hari Pertemuan/Jam	: Selasa , 13:00 -15:00
Tempat Pertemuan	: D3-202

1. Manfaat

Setelah mengikuti mata kuliah Pengantar Biospektrokopi , mahasiswa akan dapat menggunakan prinsip interaksi EM-BioMolekul dalam menganalisis sifat struktur dan proses fisika pada suatu biosistem.

2. Deskripsi Perkuliahan

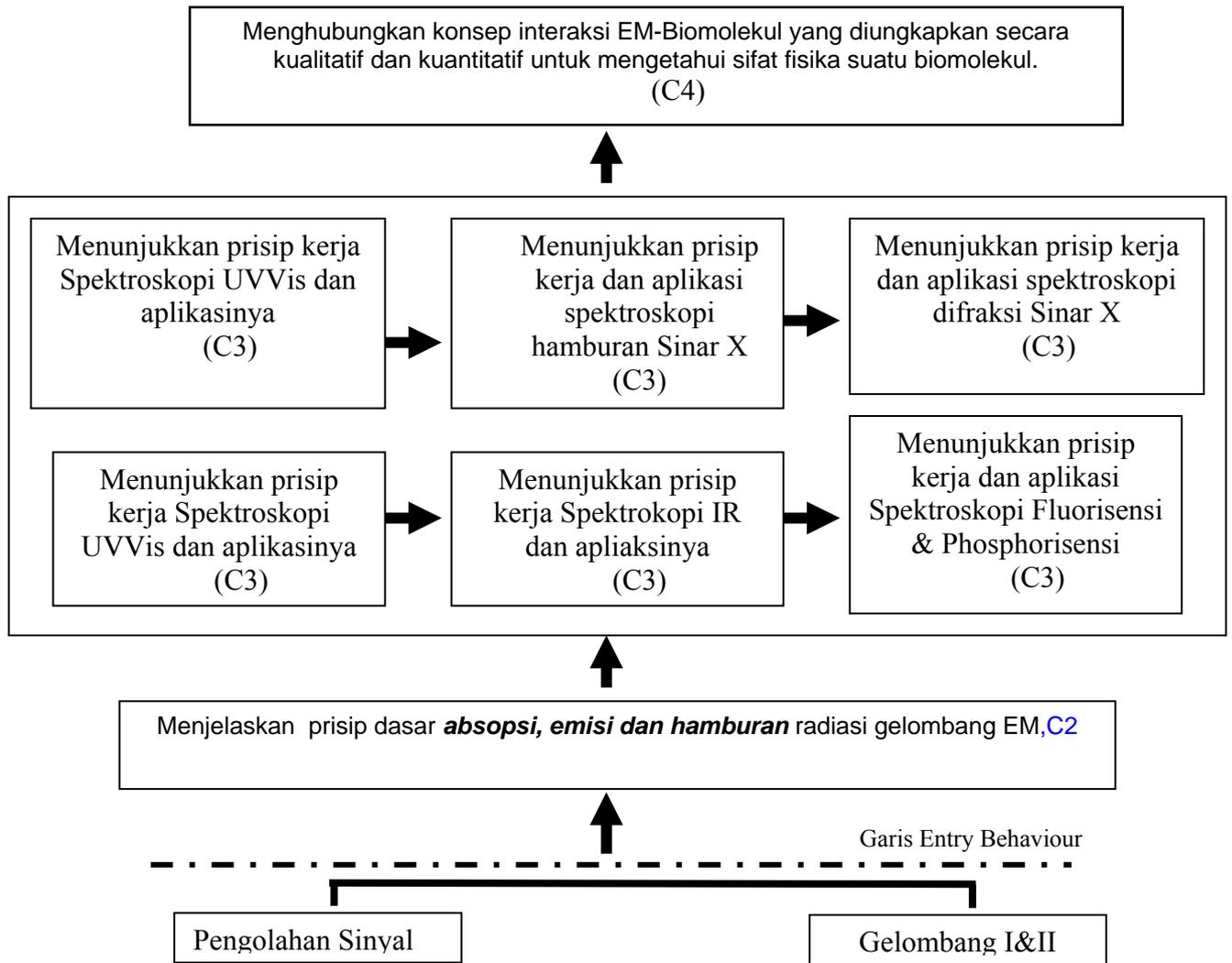
Mata Kuliah Pengantar Biospektrokopi merupakan Mata Kuliah yang mempelajari metode analisa yang menggunakan prinsip *absorpsi*, *emisi* dan *hamburan* radiasi elektromagnetik oleh **atom atau molekul** untuk studi kualitatif atau kuantitatif atom atau molekul, atau untuk mempelajari proses-proses fisika.

3. Tujuan Instruksional

Setelah mengikuti perkuliahan Pengantar BioSpektroskopi Mahasiswa akan dapat:

1. Menggunakan prinsip interaksi antara gelombang EM dengan bimolekul yaitu *absorpsi*, *emisi* dan *hamburan* radiasi elektromagnetik untuk berbagai jenis Spektroskopi yaitu:
 1. Spektroskopi UVVis
 2. Spektrokopi IR
 3. Fluorisensi dan Phosphorisensi
 4. Spektrokopi Resonansi Spin
 5. Spektroskopi hamburan Sinar X
 6. Spektroskopi difraksi Sinar X
2. Memahami prinsip kerja sistem instrumentasi dan aplikasi Biospektroskopi.

SKEMA MATERI PERKULIAHAN FISIKA STATISTIKA



Keterangan:

C₂-C₄ adalah ranah kognitif; C₂ : Pemahaman C₃ : Penerapan; C₄ : Analisis

4. Strategi Perkuliahan

Metode perkuliahan yang akan digunakan adalah ceramah & tanya jawab, Quiz dan juga tugas pembuatan makalah dan presentasi kelompok yang terjadwal.

Ceramah& Tanya Jawab

Agar perkuliahan tatap muka dapat berjalan dengan efektif dan efisien, Mahasiswa diharapkan mempersiapkan materi dari sumber-sumber referensi buku bacaan wajib dan bacaan anjuran dan juga mencari bahan tambahan di internet.

Quiz

Kuis ini akan diberikan pada suatu saat tatap muka yang waktunya tidak ditentukan. Hal ini bertujuan agar setiap mahasiswa selalu menyiapkan diri untuk mengulang materi yang telah dipelajari selama perkuliahan berjalan.

Tugas : Pembuatan makalah dan presentasi

Tema makalah yang akan dipresentasikan adalah aplikasi biospektroskopi. Makalah ini dikerjakan dan dipresentasikan oleh setiap mahasiswa. Presentasi makalah akan dilakukan sesuai jadwal yang telah ditentukan dan dikumpulkan dalam bentuk soft copy dengan format paper standar. **Pembuatan makalah** ini bertujuan untuk meningkatkan kemampuan mahasiswa merealisasikan teori, mengumpulkan informasi, menghubungkan antara satu konsep, elaborasi bahan dan kemampuan menulis.

Kesempatan **presentasi** diberikan kepada mahasiswa bertujuan untuk meningkatkan kemampuan berkomunikasi secara ilmiah, sistematis dan logis. Hal ini juga bertujuan untuk mengasah kemampuan menangkap ide, pertanyaan, gagasan dari orang lain dan memberikan jawaban dan alasan-alasan atas pertanyaan orang lain.

Mahasiswa yang tidak mengumpulkan makalah dan hadir kurang dari 80 % tidak diperkenankan mengikuti UAS.

5. Materi/Bacaan Perkuliahan

BUKU/BACAAN WAJIB (BW)	
1	Laurence M. Harwood, Timothy D.W. Claridge. 1997. <i>Introduction to Organic Spectroscopy</i> . New York : Oxford University Press.
2	Mool Chand Gupta. 2001. <i>Atomic and Molecular Spectroscopy</i> . New Delhi : New Age International (P) Limited, Publishers.
3	R. Murugesan. 1997. <i>Optics and Spectroscopy</i> . New Delhi : S. Chand & Company Ltd.
4	Kensal Edward Van Holde. 1971. <i>Physical Biochemistry</i> . Englewood Cliffs, New Jersey : Prentice Hall.
5	I Made Joni, Diktat Kuliah BioSpektroskopi, Jurusan Fisika UNPAD
6	R.E. Siregar, Diktat Kuliah Spektroskopi Molekul, Jurusan Fisika UNPAD
BUKU/BACAAN ANJURAN (BA)	
1	Pain, H.J., 1993. <i>The Physics of Vibrations and Waves</i> . London, England : John Wiley and Sons.
2	J.D. Jackson. 1975. <i>Classical Electrodynamics</i> . New York : John Wiley & Sons.

6. Tugas

1. Setiap bacaan perkuliahan sebagaimana disebutkan pada jadwal program harus sudah dibaca sebelum mengikuti kuliah
2. Anda diwajibkan menyerahkan makalah pada tanggal 20 April 2007 dan dipresnetaiskan sesuai jadwal. Isi format makalah sebagai berikut:

Abstrak

1. Pendahuluan:

- Latar belakang masalah
- Identifikasi dan Perumusan masalah
- Pendekatan metode yang digunakan

2. Teori

3. Aplikasi: Salah satu jenis biospektroskopi

4. Pembahasan

5. Kesimpulan

Referensi

(Ditulis dalam MSWord dengan spasi 1 dan font 11 dengan total halaman maksimal 15)

3. Evaluasi Tengah semester akan diadakan tanggal 3 April 2007 dan evaluasi akhir semester akan diadakan Sesuai jadwal yang dikeluarkan oleh panitia.

7. Kriteria Penilaian

Penilaian akan dilakukan oleh pengajar dengan menggunakan kriteia berikut

Nilai	Point	Rentang
A	4	≥ 80
B	3	70-79
C	2	60-69
D	1	50-59
E	0	≤ 49

Dalam menentukan nilai akhir akan digunakan pembobotan sebagai berikut

Presentasi Makalah	20 %
Evaluasi Tengah Semester	30 %
Evaluasi Akhir Semester	30 %
Kehadiran	5 %
Tugas dan Quiz	15 %

8. Jadwal Perkuliahan

No	Tanggal	Topik Bahasan	Bacaan
1	13 Februari 2007	Kuliah Pertama: ✚ Penjelasan Umum Kontrak Perkuliahan dan materi secara keseluruhan ✚ pendahuluan	BW1-5
2	20 Februari 2007	Spektroskopi UV-Vis dan Aplikasinya	BW1-5
3	27 Februari 2007	Spektroskopi IR dan Aplikasinya Prinsip fiska dan sistem Instrumentasi Spketroskopi IR	BW1-5
4	6 Maret 2007	Aplikasi Spektroskopi IR	BW1-5
5	13 Maret 2007	Fluorisensi dan Phosphorisensi	BW1-5
6	20 Maret 2007	Pendahuluan Spektrokopi Resonansi Spin	BW1-5
6	27 Maret 2007	Sistem instrumentasi dan aplikasi Spektrokopi Resonansi Spin	BW1-5
	3 April 2007	UTS	
7	10 April 2007	Spektroskopi hamburan Sinar X Dan aplikasinya	BW1-5
8	17 April 2007	Spektroskopi difraksi Sinar X dan aplikasinya	BW1-5
9	24 April 2007	Prenstasi 1 dan 2	BW1-5
10	1 Mei 2007	Prsentasi 3 dan 4	BW1-5
9	UAS 8 atau 15 Mei 2007	UAS	

BAB I

PENDAHULUAN BIOSPEKTROKOPI

1. Pengertian dan Prinsip Dasar Spektrum Elektromagnetik

Spektroskopi merupakan suatu metode analisa yang menggunakan prinsip *absorpsi*, *emisi* dan *hamburan* radiasi elektromagnetik oleh **atom atau molekul** untuk studi kualitatif atau kuantitatif atom atau molekul, atau untuk mempelajari proses-proses fisika. Dalam mata kuliah ini tentu saja molekul yang dibahas adalah biomolekul. Sudahkah Anda punya gambaran tentang apa itu biomolekul? Kalau belum silahkan cari referensi yang membahas apa itu biomolekul?

Saat ini, dikenal empat teknik spektroskopi yang biasa digunakan untuk analisa struktural, yaitu spektroskopi ultraviolet, spektroskopi inframerah, dan spektroskopi resonansi magnetik inti (*nuclear magnetic resonance spectroscopy*), yang termasuk spektroskopi absorpsi, serta spektrometri massa. Dengan menggunakan metode-metode analisa tersebut, suatu molekul, baik molekul sederhana maupun molekul kompleks, dapat diidentifikasi dengan resolusi tinggi, tanpa menimbulkan kerusakan pada molekul uji, hanya dengan menggunakan beberapa nanogram sampai satu miligram sampel.

Spektroskopi juga dapat didefinisikan sebagai suatu metoda analisis yang mempelajari interaksi antara suatu materi dan radiasi gelombang elektromagnetik. Interaksi ini dapat mengakibatkan terjadinya perubahan arah radiasi dan atau transisi antar tingkat energi atom atau molekul. Transisi dari tingkat energi yang lebih rendah menuju tingkat energi yang lebih tinggi dan disertai transfer energi dari medan radiasi terhadap atom atau molekul disebut sebagai **absorpsi**. Sebaliknya, transisi dari tingkat energi yang lebih tinggi menuju tingkat energi yang lebih rendah disebut sebagai **emisi**, jika disertai transfer energi menuju medan radiasi, atau disebut sebagai peluruhan nonradiatif, jika tidak ada radiasi yang diemisikan. Sedangkan perubahan arah cahaya akibat interaksi radiasi dengan materi disebut sebagai **hamburan**, yang dapat terjadi dengan atau tanpa adanya transfer energi.

Dalam fisika klasik, radiasi elektromagnetik dapat dianggap sebagai sebuah penjalaran gelombang yang memiliki komponen listrik yang tegak lurus terhadap komponen magnetiknya dan beresilasi dengan frekuensi yang tepat sama. Berdasarkan pendekatan ini, radiasi elektromagnetik dapat dinyatakan dalam frekuensi atau panjang gelombang. Kedua variabel ini berbanding terbalik satu sama lain dan dihubungkan oleh persamaan :

$$c = \lambda \nu \quad (1.1)$$

dengan : λ = panjang gelombang radiasi

ν = frekuensi radiasi elektromagnetik

c = kecepatan cahaya = 3.0×10^8 m/s

Molekul organik akan mengabsorpsi panjang gelombang (frekuensi) radiasi elektromagnetik yang berbeda, dan mengalami transisi sebagai akibat adanya transfer energi antara medan radiasi dan atom atau molekul. Semakin pendek panjang gelombang (semakin tinggi frekuensi) radiasi elektromagnetik, maka energinya akan semakin besar, dan sebaliknya. Namun, fisika klasik tidak dapat memberikan gambaran menyeluruh tentang proses transfer energi tersebut.

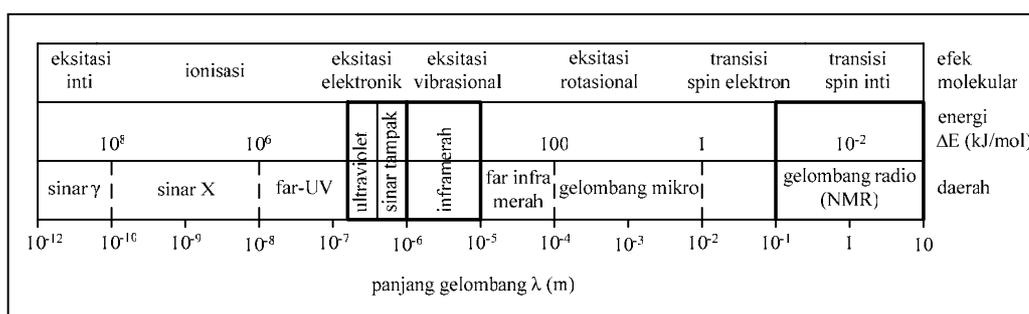
Berbeda dengan pendekatan fisika klasik, dalam fisika kuantum, radiasi elektromagnetik dianggap sebagai penjalaran paket-paket energi diskrit yang disebut foton.

Foton memiliki energi yang sangat spesifik dan dikatakan terkuantisasi. Energi masing-masing foton diperoleh berdasarkan persamaan :

$$E = h\nu \quad (1.2)$$

dengan : h = konstanta Planck = 6.626×10^{-34} J s
 ν = frekuensi foton

Hal ini mempermudah pemahaman tentang fakta bahwa transfer energi hanya terjadi jika besarnya energi kuantum radiasi elektromagnetik tepat sama dengan besarnya energi transisi.



Gambar 1.1 Efek molekular absorpsi foton beserta perkiraan energi foton pada masing-masing daerah spektrum elektromagnetik.

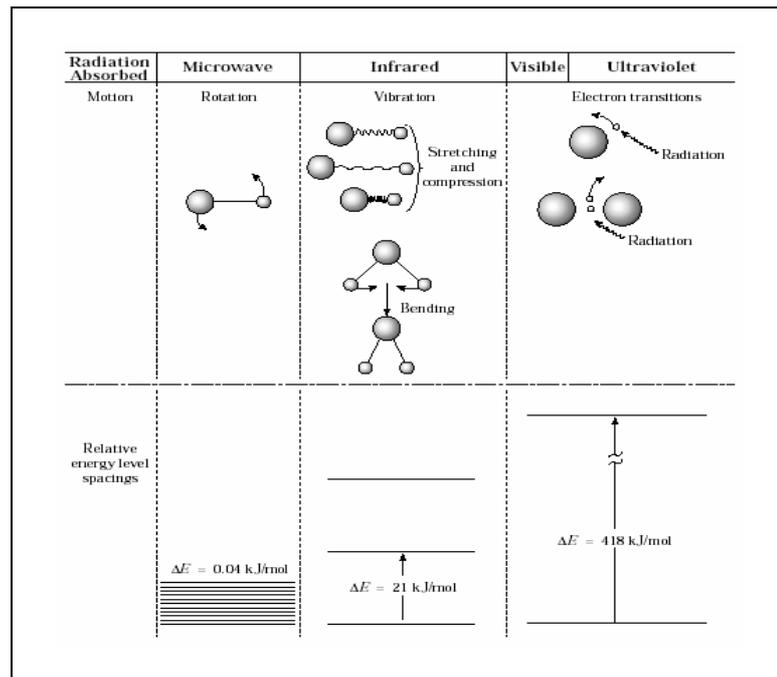
Catatan : panjang gelombang dalam skala logaritmik.

Sumber : Laurence M. Harwood, Timothy D.W. Claridge. 1997. *Introduction to Organic Spectroscopy* hal 3. New York : Oxford University Press.

Energi kuantisasi tersebut ditransfer pada molekul dan mengakibatkan terjadinya perpindahan menuju tingkat energi yang lebih tinggi, dengan sifat eksitasi tertentu yang bergantung pada besarnya energi elektromagnetik yang diabsorpsi. Namun, dalam beberapa kasus, foton hanya akan diabsorpsi oleh molekul jika memiliki energi yang tepat sama dengan perbedaan energi antara dua tingkat energi molekul, yang sesuai dengan persamaan :

$$\Delta E = h\nu \quad (1.3)$$

dengan : ΔE = perbedaan energi antara dua tingkat energi molekul



Gambar 1.2 Pergerakan molekular dan jarak relatif tingkat energi molekular dihubungkan dengan radiasi absorpsi

Sumber : Mary Virginia Orna. 1994. *Instrumentation A Source Book Module Version 1.0* hal 33. New Rochelle : Department of Chemistry College of New Rochelle

Berdasarkan teori, setiap foton yang mungkin diradiasi akan bergantung pada transisi yang mungkin terjadi. Pada awalnya, setiap molekul yang diradiasi akan berada pada tingkat dasar. Adanya proses pengabsorpsian foton akan mengakibatkan terjadinya perpindahan molekul menuju tingkat energi yang lebih tinggi, yaitu menuju tingkat eksitasi pertama. Sehingga absorpsi radiasi elektromagnetik yang paling kuat akan terjadi pada energi yang sesuai dengan transisi molekul dari tingkat dasar menuju tingkat eksitasi pertama.

Dari seluruh uraian tersebut, terlihat bahwa spektrum absorpsi akan memberikan dua informasi yang diperlukan untuk melakukan analisa struktural molekular. Yang pertama adalah panjang gelombang absorpsi atau frekuensi yang dapat dihubungkan dengan gugus fungsional molekular yang bersangkutan. Sedangkan yang kedua adalah intensitas absorpsi yang merefleksikan penurunan transisi dan konsentrasi molekular tersebut.

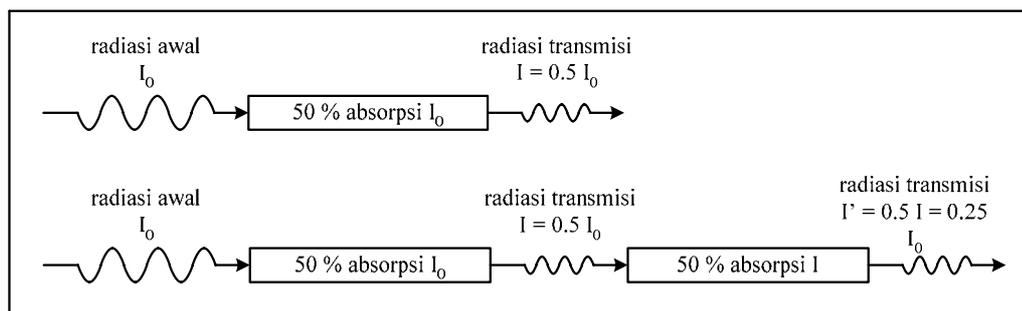
2. Intensitas Absorpsi

Intensitas absorpsi radiasi elektromagnetik dipengaruhi tiga faktor. Yang pertama adalah peluang transisi, yaitu pengukuran kemungkinan berlangsungnya beberapa transisi spesifik, dan biasa disederhanakan menjadi transisi yang diijinkan dan terlarang. Dua faktor lainnya merefleksikan kuantitas jenis pengabsorpsi.

Pada tingkat submolekular, jika terdapat dua transisi yang mungkin dengan peluang yang sama, maka jenis dengan populasi terbesar akan memberikan kenaikan pada absorpsi yang paling kuat. Sedangkan pada level supramolekular, intensitas absorpsi akan bergantung pada jumlah molekular yang dilewati radiasi. Hal ini berhubungan dengan konsentrasi dan lebar sampel.

Uraian tersebut mengesankan bahwa jika konsentrasi atau lebar sampel digandakan akan mengakibatkan terjadinya penggandaan intensitas absorpsi. Namun, yang terjadi tidaklah demikian. Jika suatu sampel mengabsorpsi 50 % radiasi awal dan lebar sampel digandakan, maka sampel tambahan akan mengabsorpsi 50 % radiasi sisa yang sampai pada

sampel tersebut, yaitu 25 % dari radiasi awal. Hal serupa juga terjadi pada penggandaan konsentrasi sampel.



Gambar 1.3 Skema ilustrasi pengaruh penggandaan lebar sampel terhadap intensitas absorpsi

Sumber : Laurence M. Harwood, Timothy D.W. Claridge. 1997. *Introduction to Organic Spectroscopy* hal 5. New York : Oxford University Press.

Namun, situasi ini hanya berlaku jika larutan cukup encer dan tidak ada molekul yang berada dalam bayangan molekul lain. Hubungan antara konsentrasi, lebar sampel, dan absorpsi diberikan oleh hukum Beer-Lambert :

$$\log \left(\frac{I_0}{I} \right) = \epsilon c l \quad (1.4)$$

dengan : I = radiasi transmisi
 I_0 = radiasi awal
 ϵ = koefisien redaman
 c = konsentrasi sampel
 l = lebar sampel

Koefisien redaman (ϵ) merupakan refleksi numerik peluang transisi dan nilainya selalu konstan untuk setiap transisi yang diberikan. Jika transisi diijinkan, koefisien redaman absorpsi akan besar dan sebaliknya.

Rekomendasi Untuk Mahasiswa

Berdasarkan interaksi antara gelombang EM dengan bimolekul yang menggunakan prinsip *absorpsi*, *emisi* dan *hamburan* radiasi elektromagnetik maka pada kuliah ini akan dibahas beberapa jenis Spektroskopi yaitu:

1. Spektroskopi UVVis
2. Spektroskopi IR
3. Fluoresensi dan Phosphoresensi
4. Spektroskopi Resonansi Spin
5. Spektroskopi hamburan Sinar X
6. Spektroskopi difraksi Sinar X

Untuk seluruh jenis spektroskopi tersebut di atas yang akan menjadi bahan kajiannya adalah: prinsip fisika *interaksi EM-Biomolekul*, *Instrumentasi* dan *prinsip operasinya*, dan *contoh aplikasinya*.

Agar Anda bisa mengikuti kuliah ini dengan baik, Anda diharapkan mulai saat ini mempelajari terlebih dahulu pengertian dan prinsip dasar absorpsi, emisi dan hamburan.

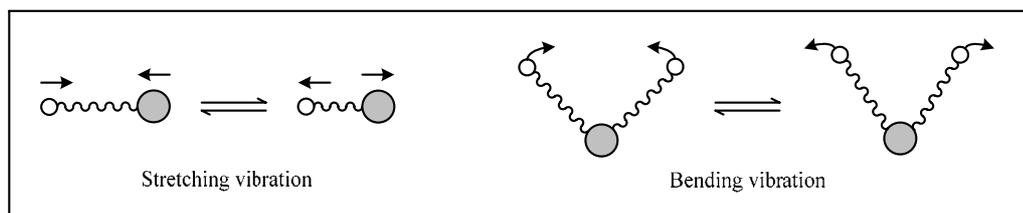
BAB 2

SPEKTROSKOPI INFRAMERAH (IR)

2.1. Spektroskopi Inframerah

Pada dasarnya, spektroskopi inframerah memiliki prinsip yang hampir sama dengan spektroskopi ultraviolet-sinar tampak. Perbedaannya hanya terletak pada interval energi daerah inframerah yang sesuai dengan besarnya energi yang diperlukan untuk eksitasi vibrasi ikatan-ikatan dalam molekul. Jenis eksitasi ikatan yang dapat terjadi adalah peregangan (*stretching*) yang memerlukan energi tinggi, dan pembengkokan (*bending*) dengan energi yang lebih rendah.

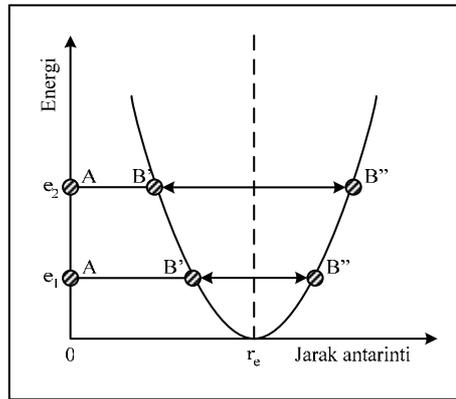
Pada umumnya, absorpsi panjang gelombang radiasi inframerah yang tepat dapat dihubungkan dengan tipe ikatan spesifik peregangan (*stretching*) atau pembengkokan (*bending*) dalam suatu molekul. Namun harus diingat, bahwa setiap eksitasi vibrasi tunggal tidak dapat dianggap sebagai proses yang terisolasi dari bagian molekul lainnya. Spektrum inframerah molekul organik biasanya sangat kompleks akibat osilasi ikatan pada seluruh bagian molekul yang mempengaruhi pengabsorpsian radiasi awal dan memberikan kenaikan terhadap osilasi harmonis dan nada tambahan (*overtone*). Sehingga disamping untuk mengamati absorpsi akibat eksitasi vibrasi ikatan tunggal, eksitasi vibrasi molekular juga dapat teramati.



Gambar 2.1 Skema pergerakan vibrasi dalam molekul

Sumber : Laurence M. Harwood, Timothy D.W. Claridge. 1997. *Introduction to Organic Spectroscopy* hal 22. New York : Oxford University Press.

Pencatatan spektrum dalam larutan atau sebagai zat murni, contohnya dalam cairan tipis, juga menampilkan kerumitan lebih lanjut akibat ikatan hidrogen dengan pelarut atau kehadiran jenis asosiasi dimerik atau polimerik. Spektrum fase gas yang hanya ditampilkan dalam jenis monomerik, memberikan interpretasi spektrum yang lebih mudah. Sedangkan molekul sederhana seperti diatomik, dapat dianalisa secara keseluruhan, termasuk absorptivitas molar puncak yang dimilikinya. Namun, bobot utama spektroskopi inframerah dalam kimia organik terletak pada penggunaannya sebagai teknik empiris, yaitu membandingkan absorpsi suatu senyawa yang tidak dikenal dan mengidentifikasi gugus fungsional dengan menggunakan analogi. Untuk membantu memahami proses yang meliputinya, sangat baik untuk mempertimbangkan energi rata-rata yang dibutuhkan untuk eksitasi vibrasi ikatan dalam suatu molekul organik.



Gambar 2.2. Kurva energi potensial

Sumber : R. Murugesan.1997. *Optics and Spectroscopy* hal 318. New Delhi : S. Chand & Company Ltd.

Diasumsikan bahwa molekul yang diuji merupakan suatu molekul diatomik yang terdiri dari dua buah atom, yaitu atom A dan atom B, yang terpisah oleh jarak keseimbangan r_e . Gambar 2.5 di atas menampilkan variasi energi potensial molekul diatomik dengan jarak antarinti r . Nilai minimum kurva tersebut sesuai dengan konfigurasi normal suatu molekul. Nilai nol pada kurva terjadi pada saat $r = r_e$. Setiap energi yang terdapat pada kurva tersebut, misalnya ϵ_1 , akan bertambah dengan adanya perpanjangan atau perpendekan ikatan. Jika satu atom (A) dianggap stasioner pada sumbu $r = 0$, maka atom lainnya akan berosilasi antara B' dan B''. Jika energi naik hingga mencapai ϵ_2 , maka osilasi akan menjadi lebih cepat.

Jika ikatan dianggap terdistorsi dari r_e menuju r , maka ikatan akan bersifat seperti pegas, sehingga pada sistem tersebut akan berlaku hukum Hooke.

$$f = -k(r - r_e) \quad (2.1)$$

dengan : f = gaya pemulih
 k = konstanta gaya
 r = jarak antarinti

Pada kasus ini, kurva energi berbentuk parabolik, dengan persamaan :

$$E = \frac{1}{2} k (r - r_e)^2 \quad (2.2)$$

Model vibrasi molekul diatomik ini dikenal sebagai model 'osilator harmonik sederhana'.

Dengan menggunakan model ini, gaya pemulih masing-masing atom dalam sebuah molekul diatomik adalah :

$$m_1 \frac{d^2 r_1}{dt^2} = -k(r - r_e) \quad (2.3)$$

$$m_2 \frac{d^2 r_2}{dt^2} = -k(r - r_e) \quad (2.4)$$

dengan : r_1 = posisi atom 1 relatif terhadap pusat massa molekul
 r_2 = posisi atom 2 relatif terhadap pusat massa molekul

Sebagai sistem yang berada dalam kesetimbangan pusat massa, akan berlaku :

$$m_1 r_1 = m_2 r_2 \quad (2.5)$$

Sehingga akan berlaku persamaan :

$$r_1 = \frac{m_2 r}{m_1 + m_2} \quad (2.6)$$

$$r_2 = \frac{m_1 r}{m_1 + m_2} \quad (2.7)$$

Dengan mensubstitusikan persamaan (2.7) dan persamaan (2.4), akan diperoleh :

$$\frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2} \frac{d^2 r}{dt^2} = -k (r - r_e) \quad (2.8)$$

Karena r_e konstan, maka :

$$\frac{d^2 r}{dt^2} = \frac{d^2 (r - r_e)}{dt^2} \quad (2.9)$$

$$\frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2} \frac{d^2 (r - r_e)}{dt^2} = -k (r - r_e) \quad (2.10)$$

Dengan mensubstitusikan

$$r - r_e = x \quad (2.11)$$

$$\frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2} = m' \quad (2.12)$$

dengan : x = pergerakan panjang ikatan dari posisi kesetimbangan
maka persamaan (2.6) menjadi :

$$m' \frac{d^2 x}{dt^2} = -kx$$

$$\frac{d^2 x}{dt^2} + \frac{k}{m'} x = 0 \quad (2.13)$$

$$\frac{d^2 x}{dt^2} + \omega x = 0$$

dengan : $\omega^2 = k/m'$

Persamaan tersebut merupakan persamaan gerak harmonik sederhana dengan frekuensi vibrasi :

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{m'}} = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2}}} \quad (2.14)$$

dengan : ν = frekuensi vibrasi (Hz)
 k = konstanta gaya ikatan (resistensi vibrasi ikatan dan refleksi kekuatan ikatan) (Nm^{-1})
 m_1, m_2 = massa dua atom unsur (Kg)
 $\frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2} = m'$ = pengurangan massa sistem

Mengingat kimia organik menggunakan analisis spektroskopi inframerah dalam bentuk yang sangat empiris, maka kita tidak perlu melakukan perhitungan yang sangat membosankan. Malahan, bekerja dengan menggunakan hubungan tersebut, hanya mengharuskan kita untuk mengingat garis pedoman kualitatif, bahwa frekuensi vibrasi suatu ikatan harus bertambah ketika kekuatan ikatan bertambah dan pengurangan massa sistem menurun. Dari uraian tersebut, dapat kita simpulkan bahwa :

1. Peregangan (*stretching*) memerlukan energi yang lebih besar dibandingkan dengan pembengkokan (*bending*) ikatan, sehingga absorpsi peregangan (*stretching*) ikatan akan memerlukan frekuensi radiasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan absorpsi pembengkokan (*bending*) ikatan.

2. Sistem ikatan ganda dan ikatan rangkap tiga memerlukan energi yang lebih tinggi untuk eksitasi vibrasi. Sehingga, baik pada mode peregangan (*stretching*) ikatan maupun pembengkokan (*bending*), $C\equiv C$ mengabsorpsi frekuensi radiasi yang lebih tinggi dibandingkan $C=C$, dan pada gilirannya, juga akan mengabsorpsi frekuensi yang lebih tinggi dibandingkan $C-C$.
3. Semakin kecil pengurangan massa sistem, semakin besar energi yang dibutuhkan untuk eksitasi vibrasi dan semakin tinggi frekuensi radiasi yang dibutuhkan. Sehingga peregangan (*stretching*) $O-H$ dan $C-H$ terjadi pada frekuensi yang lebih tinggi dibandingkan $C-O > C-C$. Demikian halnya dengan peregangan (*stretching*) $O-H$ yang terjadi pada frekuensi yang lebih tinggi dibandingkan peregangan (*stretching*) $O-D$.

Namun, terkadang hal ini merupakan penyederhanaan yang berlebihan karena keelektronegatifan relatif dua atom (polarisasi ikatan) juga berpengaruh terhadap penentuan seluruh frekuensi absorpsi. Sebagai contoh, peregangan (*stretching*) $C-H$ seharusnya terjadi pada frekuensi yang lebih tinggi dari pada peregangan (*stretching*) $O-H$ pada suatu basis pengurangan massa, tapi faktanya bertolak belakang, polarisasi ikatan $O-H$ yang lebih besar dibandingkan dengan ikatan $C-H$ menghasilkan konstanta gaya ikatan yang lebih besar.

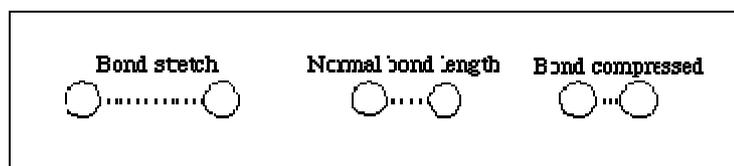
2.1.1 Tipe-tipe Eksitasi Vibrasi

Molekul dengan array nonlinier n atom konstituen memiliki $(3n - 6)$ mode vibrasi dasar. Namun, beberapa mode vibrasi tersebut dapat berdegenerasi, memiliki energi yang sama, sehingga mengabsorpsi frekuensi radiasi yang sama. Sebagai tambahan, absorpsi inframerah hanya teramati jika vibrasi menyebabkan terjadinya fluktuasi dipol, sehingga mode vibrasi simetris tidak teramati dalam spektrum inframerah walaupun secara teoritis perubahan bentuk simetris masih dapat teramati sebagai absorpsi lemah akibat deformasi molekular.

Disamping frekuensi dasar tersebut, modulasi absorpsi oleh sisa molekul bisa teramati. Pita *overtone* dapat diamati pada berbagai vibrasi dasar (terutama yang kuat) dan dua frekuensi dasar dapat bergabung dengan cara penjumlahan atau pengurangan untuk memberikan tempo yang terjadi pada kombinasi atau perbedaan frekuensi.

Atom di dalam molekul berosilasi secara konstan di sekitar posisi kesetimbangan. Sehingga panjang ikatan dan sudut ikatan senantiasa berubah akibat vibrasi tersebut. Ketika vibrasi atom dalam molekul menghasilkan sebuah osilasi medan listrik, molekul tersebut akan mengabsorpsi radiasi inframerah dengan frekuensi yang sama dengan frekuensi cahaya inframerah awal.

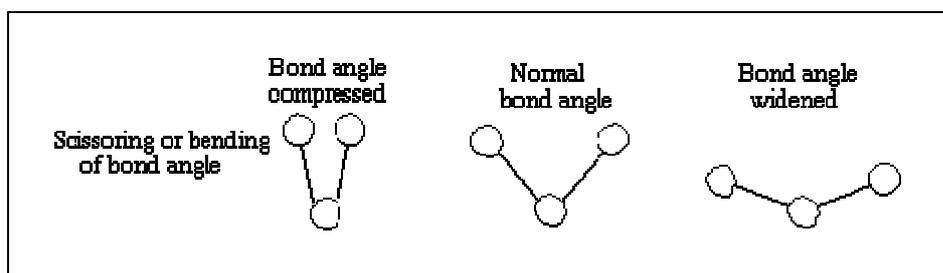
Seluruh pergerakan molekul dapat dideskripsikan dalam dua tipe vibrasi molekul. Tipe vibrasi pertama adalah peregangan (*stretching*) yang menghasilkan perbedaan panjang ikatan. Peregangan adalah sebuah pergerakan ritmik di sekitar garis antar atom, sehingga jarak antar atom bertambah dan berkurang.



Gambar 2.3 Tipe vibrasi meregang (*stretching*)

Sumber : Dr. Walt Volland. 1999. *Organic Compound Identification Using Infrared Spectroscopy*. Washington : Bellevue Community College.

Tipe vibrasi kedua adalah pembengkokan (*bending*), yang menghasilkan perubahan sudut ikatan. Tipe ini juga dikenal sebagai pergerakan menggunting (*scissoring*), mengayun (*rocking*) atau pergerakan ‘wig-wag’.

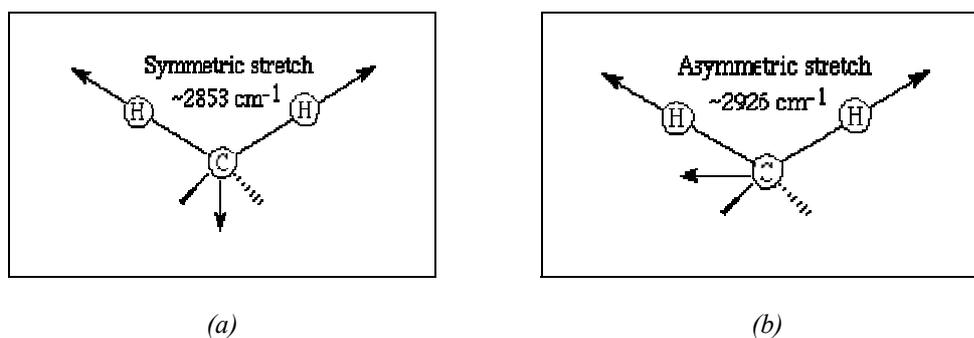


Gambar 2.4. Tipe vibrasi pembengkokan (*bending*)

Sumber : Dr. Walt Volland. 1999. *Organic Compound Identification Using Infrared Spectroscopy*. Washington : Bellevue Community College.

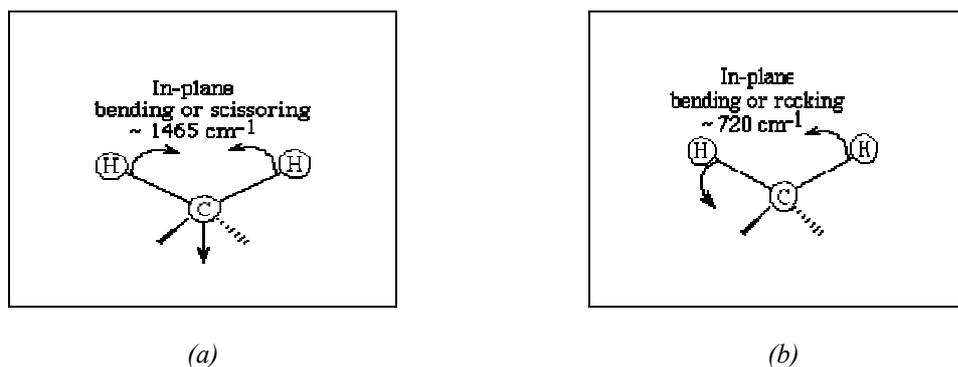
Setiap tipe vibrasi tersebut memiliki beberapa variasi. Peregangan dapat berupa ikatan simetrik atau antisimetrik, sedangkan pembengkokan dapat terjadi di dalam bidang molekul atau di luar bidang, yang bisa berupa pengguntingan, seperti sepasang mata pisau gunting, atau pengayunan, yaitu ketika dua atom bergerak pada arah yang sama.

Perbedaan antara vibrasi peregangan dan pembengkokan dapat divisualisasikan dengan memperhatikan gugus CH₂ dalam hidrokarbon. Panah pada gambar tersebut mengindikasikan arah pergerakan. Pergerakan meregang memerlukan energi yang lebih besar dibandingkan vibrasi pembengkokan. Untuk memperoleh gerakan pada vibrasi peregangan tersebut, diperlukan frekuensi tinggi (energi tinggi). Gerakan membengkok terkadang digambarkan sebagai pergerakan menggibas (*wagging*) atau menggunting (*scissoring*). Dari gambar tersebut terlihat bahwa nomor gelombang sebanding dengan energi yang lebih rendah untuk menimbulkan vibrasi.



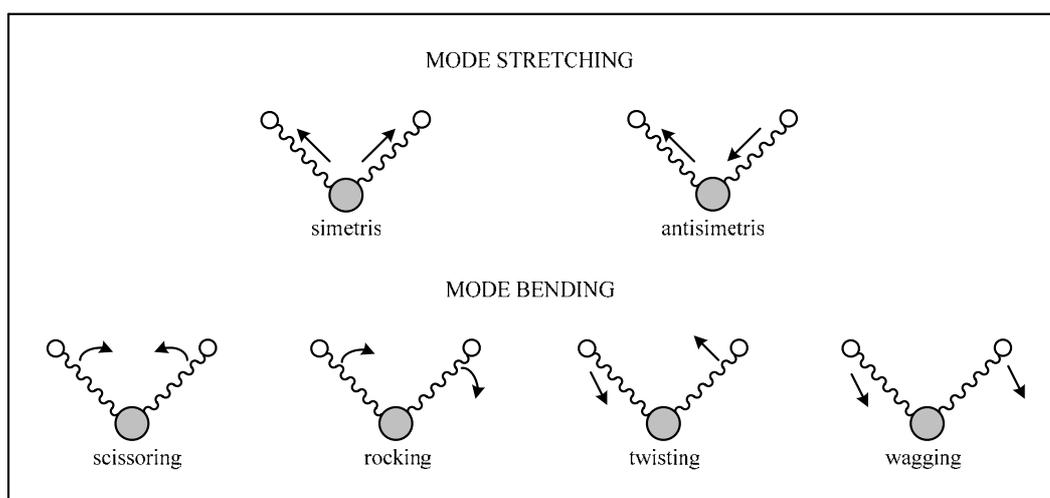
Gambar 2.5 Peregangan simetris dan asimetris

Sumber : Dr. Walt Volland. 1999. *Organic Compound Identification Using Infrared Spectroscopy*. Washington : Bellevue Community College.



Gambar 2.6. Beberapa tipe vibrasi yang membengkok
 Sumber : Dr. Walt Volland. 1999. *Organic Compound Identification Using Infrared Spectroscopy*. Washington : Bellevue Community College.

Sehingga jelas, bahwa molekul ukuran sedang pun memiliki mode vibrasi dalam jumlah besar. Hal ini memberikan kontribusi terhadap kerumitan besar spektrum inframerah. Untuk unit XY_2 (misalnya CH_2 , NH_2), mode peregangan (*stretching*) dapat berupa simetris atau antisimetris dan mode pembengkokan (*bending*) dapat berupa penggungtingan (*scissoring*), pengayunan (*rocking*), pemutaran (*twisting*) dan pengibasan (*wagging*). Sehingga mode vibrasi simetris seperti peregangan (*stretching*) simetrik dan penggungtingan (*scissoring*) hanya akan memberikan kenaikan terhadap absorpsi inframerah yang lemah.



Gambar 2.7. Mode vibrasi XY_2
 Sumber : Laurence M. Harwood, Timothy D.W. Claridge. 1997. *Introduction to Organic Spectroscopy* hal 24. New York : Oxford University Press.

2.1.2 Unit Pengukuran

Posisi absorpsi dalam penggunaan spektroskopi inframerah direkam sebagai panjang gelombang λ μm dan skala panjang gelombang masih selalu ditampilkan dalam seluruh spektrum inframerah. Namun, berdasarkan perjanjian, saat ini, spektrum inframerah dikutif sebagai nomor gelombang $\bar{\nu}$, yang sama dengan jumlah panjang gelombang per cm (berbanding terbalik dengan panjang gelombang) dan dihubungkan dengan persamaan :

$$\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda} \quad (2.15)$$

dengan : $\bar{\nu}$ = nomor gelombang (cm^{-1})

Radiasi inframerah memiliki memiliki panjang gelombang antara 0.78 – 1000 μm . Daerah panjang gelombang ini dibagi menjadi 3 bagian, yaitu :

Tabel 2.1 Pembagian panjang gelombang daerah inframerah
Sumber : *Infrared Absorption Spectroscopy Theoretical Principles*

Daerah	Panjang gelombang (μm)	Nomor gelombang (cm^{-1})
<i>near</i> (dekat)	0.78 – 2.5	12800 – 4000
<i>middle</i> (menengah)	2.5 – 50	4000 – 200
<i>far</i> (jauh)	50 – 1000	200 – 10

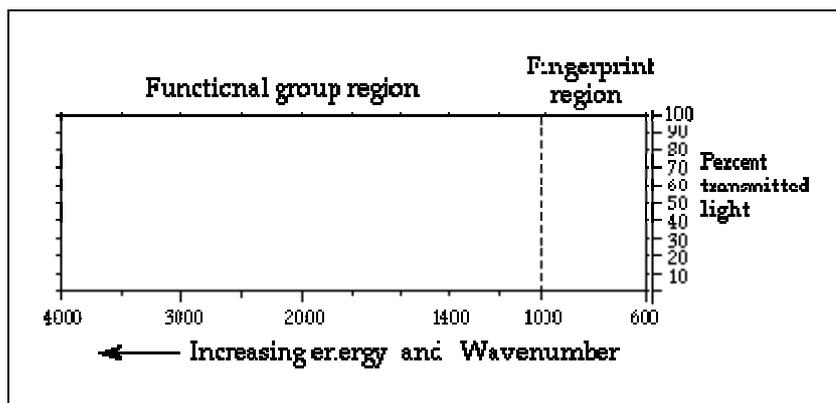
2.1.3 Analisis Spektrum

Molekul akan mengabsorpsi frekuensi radiasi inframerah tertentu, yang berbanding lurus dengan besarnya energi yang diperlukan untuk transisi elektron dan sesuai dengan mode vibrasi alamiah molekul, sehingga spektrum inframerah dapat dianalogikan dengan sidik jari manusia. Setiap molekul hanya akan mengabsorpsi frekuensi inframerah yang sesuai dengan vibrasi yang menyebabkan terjadinya perubahan momen dipol molekul. Ikatan simetris dalam molekul N_2 dan H_2 tidak mengabsorpsi inframerah karena peregangan (*stretching*) tidak merubah momen dipol, dan pembengkokan (*bending*) tidak dapat terjadi dengan hanya dua atom dalam molekul. Sehingga, setiap individu ikatan dalam suatu molekul organik dengan struktur simetris dan gugus indentik pada tiap akhir ikatan tidak akan mengabsorpsi interval frekuensi inframerah. Sebagai contoh, dalam etana, ikatan antar atom C tidak mengabsorpsi inframerah karena terdapat kelompok metil pada tiap akhir ikatan.

Dalam molekul yang kompleks, terdapat banyak vibrasi dasar yang mungkin terjadi, tapi tidak semua dapat teramati. Beberapa pergerakan tidak merubah momen dipol molekul, dan beberapa ikatan lainnya sangat mirip akibat adanya koalisi antar ikatan tersebut untuk membentuk satu ikatan. Walaupun spektrum inframerah dikarakterisasi dari seluruh molekul, namun dalam molekul terdapat suatu gugus yang tepat yang dapat memberikan kenaikan terhadap pita absorpsi pada atau mendekati nomor gelombang $\bar{\nu}$ (frekuensi) yang sama, tanpa memperhatikan letak struktur molekul.

Spektrum inframerah untuk suatu molekul ditampilkan dalam bentuk grafik yang menampilkan frekuensi absorpsi radiasi inframerah dan persentase cahaya awal yang melewati molekul tanpa diabsorpsi. Spektrum dibagi menjadi dua daerah, yaitu daerah sidik jari yang spesifik untuk tiap molekul dan daerah gugus fungsional yang serupa untuk seluruh molekul yang memiliki gugus fungsional yang sama.

Sumbu horizontal nonlinier memiliki unit nomor gelombang. Masing-masing nomor gelombang sesuai dengan frekuensi radiasi inframerah tertentu. Sedangkan sumbu vertikal menampilkan persentase cahaya yang ditransmisikan. Pada masing-masing frekuensi, persentase cahaya transmisi 100 % mewakili cahaya yang melewati molekul tanpa adanya interaksi, dan persentase cahaya yang memiliki nilai rendah ($< 100\%$) mewakili radiasi inframerah berinteraksi dengan materi, sehingga terjadi eksitasi vibrasi dalam molekul.



Gambar 2.8 Skema daerah spektrum gugus fungsional dan sidik jari
 Sumber : Dr. Walt Volland. 1999. *Organic Compound Identification Using Infrared Spectroscopy*. Washington : Bellevue Community College.

Posisi spektrum dimana persentase transmisi turun sampai nilai yang rendah lalu naik lagi mendekati 100 % disebut sebagai 'pita'. Suatu pita berasosiasi dengan vibrasi tertentu dalam molekul. Lebar pita dideskripsikan sebagai lebar atau sempit tergantung interval frekuensi yang meliputinya. Efisiensi perbedaan vibrasi mendefinisikan intensitas atau kuat pita absorpsi. Pita dideskripsikan sebagai kuat, menengah atau lemah tergantung kedalamannya.

Spektrum inframerah dapat digunakan untuk mengidentifikasi molekul dengan merekam spektrum yang tidak dikenal dan membandingkannya dengan data base spektrum campuran yang dikenal. Komputerisasi spektrum data base dan digitalisasi spektrum dilakukan secara rutin dengan menggunakan teknik ini dalam penelitian, kedokteran, kriminologi, dan sejumlah bidang lainnya.

Sebelum melakukan analisa terhadap spektrum, ada beberapa pola umum yang harus diperhatikan dengan baik, yaitu :

1. Memeriksa spektrum yang dimulai pada nomor gelombang tinggi
2. Mencatat absorpsi yang paling kuat dan mengkorelasikannya dengan tabel
3. Mencatat ketidakhadiran puncak pada daerah penting
4. Tidak mengkorelasikan seluruh puncak, terutama pada daerah sidik jari.

Langkah Pengujian Spektrum Organik

1. Pertama lihat pita karbonil C=O di sekitar 1820 – 1660 cm⁻¹. Biasanya pita ini merupakan pita absorpsi yang paling kuat dalam spektrum dan memiliki lebar medium. Jika terlihat pita karbonil, lihat pita lain yang berhubungan dengan gugus fungsional yang dikandung karbonil dengan melanjutkan pada langkah kedua. Jika tidak terlihat adanya pita C=O, cek alkohol dan melanjutkan menuju langkah ketiga.
2. Jika terdapat C=O, cek apakah termasuk asam, ester, aldehid atau keton.

Asam	Untuk indikasi, lihat juga kehadiran O–H di sekitar 3300 – 2500 cm ⁻¹ yang biasanya bertumpuk dengan <i>stretch</i> C–H. Selain itu, juga terdapat pita ikatan tunggal C–O di sekitar 1100 – 1300 cm ⁻¹ dan lihat juga pita karbonil di sekitar 1725 – 1700 cm ⁻¹ .
Ester	Lihat absorpsi C–O dengan intensitas medium di sekitar 1300 – 1000 cm ⁻¹ . Pada spektrum ini tidak akan ditemui pita O–H.
Aldehid	Lihat tipe pita absorpsi C–H aldehid yang merupakan dua buah absorpsi lemah di sebelah kanan <i>stretch</i> C–H sekitar 2850 cm ⁻¹

- dan 2750 cm^{-1} yang disebabkan oleh ikatan C–H yang merupakan bagian gugus fungsional aldehyd CHO. Lihat juga pita karbonil di sekitar $1740 - 1720\text{ cm}^{-1}$.
- Keton Tidak ditemui pita absorpsi aldehyd CH lemah. Lihat pita karbonil CO di sekitar $1725 - 1705\text{ cm}^{-1}$.
- Jika pada spektrum tidak ditemukan keberadaan pita karbonil, lihat pita alkohol O–H.
Alkohol Lihat pita lebar di sekitar $3600 - 3300\text{ cm}^{-1}$ dan pita absorpsi C–O di sekitar $1300 - 1100\text{ cm}^{-1}$.
 - Jika pada spektrum tidak ditemukan keberadaan pita karbonil dan pita O–H, cek keberadaan ikatan ganda C=C untuk aromatik atau alkena.
Alkena Lihat absorpsi lemah ikatan ganda di sekitar 1650 cm^{-1} dan pita *stretch* CH di sekitar 3000 cm^{-1} .
Aromatik Untuk benzena, lihat ikatan ganda C=C yang tampak sebagai absorpsi medium menuju kuat di daerah $1650 - 1450\text{ cm}^{-1}$. *Stretch* ikatan CH lebih lemah dibandingkan dalam alkena.
 - Jika tidak teridentifikasi sebagai salah satu gugus tersebut, mungkin spektrum tersebut merupakan spektrum alkana.
Alkana Absorpsi utama adalah *stretch* C–H di sekitar 3000 cm^{-1} . Spektrum akan menjadi sederhana tanpa kehadiran pita di sekitar 1450 cm^{-1} .
 - Jika spektrum masih belum dapat diidentifikasi, mungkin spektrum tersebut merupakan spektrum alkil bromida.
Alkil Lihat *stretch* C–H dan spektrum yang relatif sederhana dengan bromida absorpsi di sebelah kanan 667 cm^{-1} .

Tabel Korelasi Spektrum

Tabel 2.2 Ikatan regangan (*stretching*); Sumber : *Fundamental Infrared Spectroscopy*

Ikatan	Nomor gelombang (cm^{-1})	Ikatan	Nomor gelombang (cm^{-1})
$\equiv\text{C}-\text{H}$	3300	$\text{C}\equiv\text{N}$	2100
$=\text{C}-\text{H}$	3020	$\text{C}-\text{F}$	1100
$\text{O}=\text{C}-\text{H}$	2800	$\text{C}-\text{Cl}$	650
$\text{C}-\text{H}$	2960	$\text{C}-\text{Br}$	560
$\text{C}\equiv\text{C}$	2050	$\text{C}-\text{I}$	500
$\text{C}=\text{C}$	1650	$\text{O}-\text{H}$	3600
$\text{C}-\text{C}$	900	$\text{N}-\text{H}$	3350
$\text{Si}-\text{Si}$	430	$\text{P}=\text{O}$	1295
$\text{C}=\text{O}$	1700	$\text{S}=\text{O}$	1310
$\text{S}-\text{H}$	2570	$\text{N}-\text{H}$	3350

Tabel 2.3 Ikatan *bending*; Sumber : *Fundamental Infrared Spectroscopy*

Ikatan	Nomor gelombang (cm ⁻¹)	Ikatan	Nomor gelombang (cm ⁻¹)
$\equiv C-H$	700	$\equiv C-H$	300
$=C<H$	1100	$-C\leq H$	1000
$>C<H$	1450	$C \begin{matrix} H \\ \diagdown \\ H \\ \diagup \\ H \end{matrix}$	1450

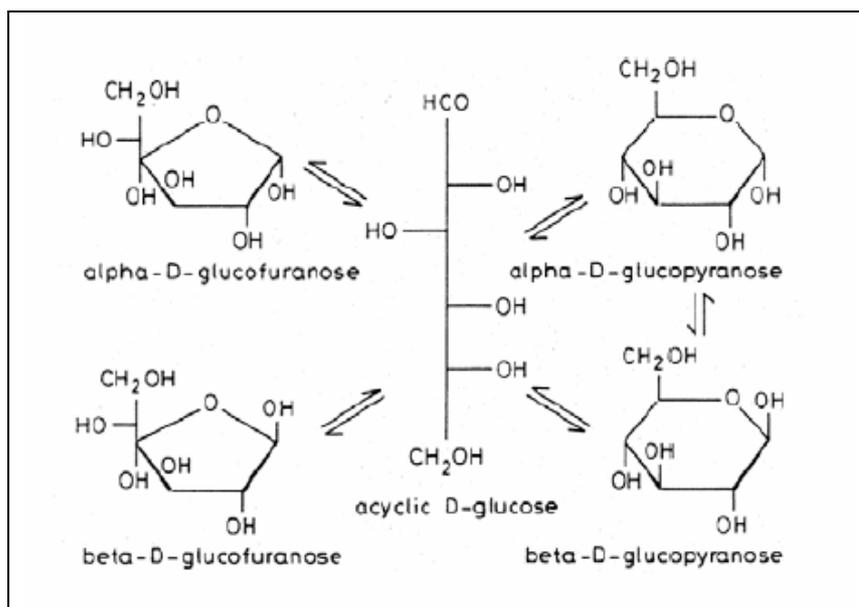
2.2. Contoh Aplikasi Spektroskopi Untuk Analisa Glukosa

2.2.1 Struktur dan Fisiologis Konsentrasi Glukosa

Glukosa merupakan bahan penyusun dari struktur gula yang paling mendasar dan memiliki rumus molekul C₆H₁₂O₆, dengan massa molekul 180.157. Di alam glukosa dapat ditemui dalam keadaan bebas maupun dalam bentuk kombinasi. Tumbuhan memproduksi glukosa dari karbon dan air melalui proses fotosintesis, yang kemudian ditransformasikan dalam tubuh tumbuhan dan binatang menjadi jenis karbohidrat yang berbeda, yang meliputi monosakarida, disakarida dan polisakarida.

D-glukosa dikenal memiliki dua struktur siklik yang berbeda, yaitu α-D-glukosa dan β-D-glukosa. Sebagai molekul hidrofilik, glukosa selalu muncul sebagai larutan dalam air. Gambar 2.12 menampilkan larutan monosakarida yang mengandung lima bentuk anomerik D-glukosa, yaitu β-D-piranos-glukosa (62.6%), α-D-piranos glukosa (37.3%) dan β-D-furanosa-glukosa (0.1%), sebagai tambahan adalah konsentrasi α-D-furanosa-glukosa dan D-glukosa asiklik. Sehingga, jika sebuah anomer glukosa murni dilarutkan dalam air, maka akan terjadi mutarotasi hingga tercapai keadaan kesetimbangan antar anomer.

Dalam tubuh manusia, makanan dirubah menjadi gula dan memberikan energi pada seluruh jaringan dan organ melalui peredaran darah. Dalam bentuk komposisi kimianya, gula darah manusia mengandung D-glukosa yang sebagian besar berada dalam air yang merupakan penyusun dasar plasma darah. Dalam darah, konsentrasi fisiologis glukosa berada pada interval 18 – 450 mg/dl. Darah arteri dan kapiler diperoleh dari ujung jari yang memiliki kandungan glukosa yang identik, dengan level glukosa darah pada vena yang lebih rendah dibandingkan pada arteri (1 ~ 17 mg/dl pada subjek sehat dan lebih dari 30 mg/dl pada pasien diabetes). Selain darah, glukosa juga terdapat pada fluida biologis lainnya, seperti fluida intrasel, fluida interstitial, air ludah keringat dan urine. Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh bahwa level glukosa pada fluida intrasel dan interstitial identik dengan konsentrasi glukosa dalam darah, namun tidak untuk *saliva* (air liur), keringat dan urine.



Gambar 2.9 Anomer D-glukosa pada larutan encer
 Sumber : Zuomin Zhao. 2002. *Pulsed Photoacoustic Techniques and Glucose Determination in Human Blood and Tissue*. Oulu : Departemen of Electrical Engineering and Infotech Oulu.

2.2.2. Absorpsi Glukosa pada Daerah *Near-Inframerah* dalam Media Cair

Air yang merupakan komponen utama penyusun jaringan tubuh, memiliki spektrum inframerah sederhana dan kombinasi yang kaya serta spektrum tambahan meluas sampai ke daerah *near-inframerah*. Intensitas pita absorpsi air pada daerah *near-inframerah* sangat sensitif terhadap konsentrasi larutan dan temperatur. Intensitasnya akan turun seiring dengan naiknya konsentrasi larutan, akibat perubahan rasio molar air. Hal ini dikenal sebagai pergerakan air.

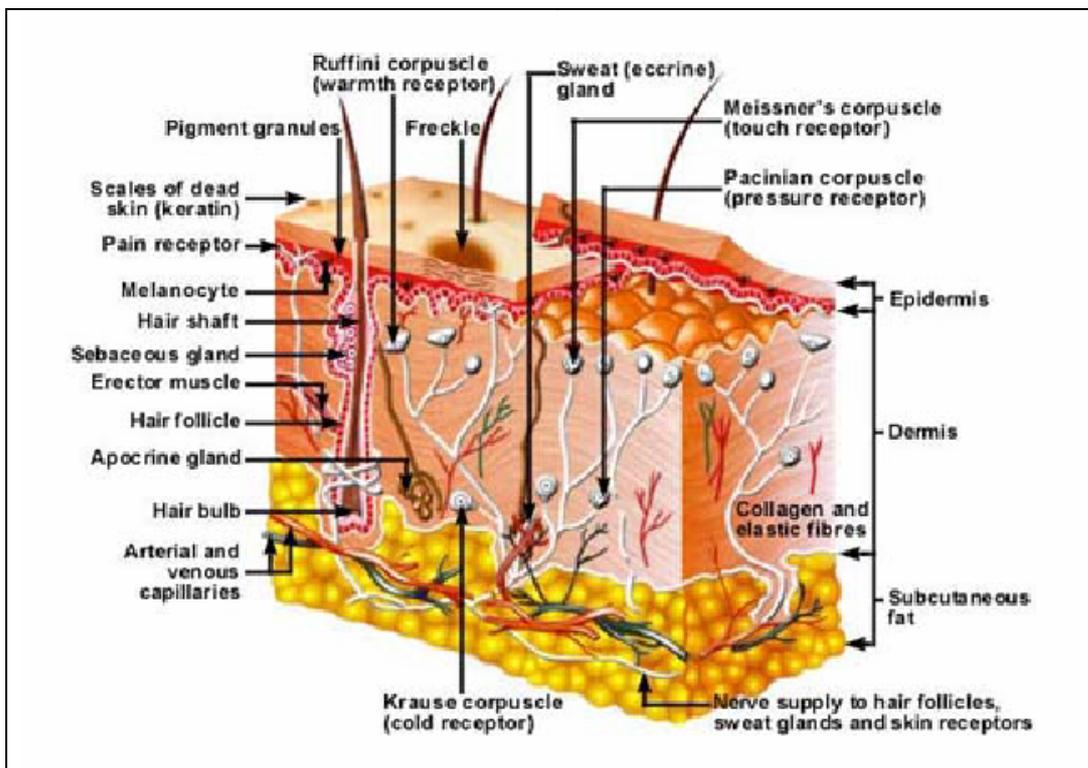
Pita absorpsi inframerah yang paling mendasar dapat diperoleh dalam bentuk padatan pil dan dalam larutan. Pita paling kuat yang menyusun intensitas kombinasi dan tambahan adalah *stretch* OH yang lebar pada 3550 cm^{-1} dan *stretch* vibrasi CH pada 2961 dan 2947 cm^{-1} . Pita kombinasi yang mungkin adalah pita *overtone* kedua pada 939 nm ($3\nu\text{OH}$) dan pita *overtone* harmonik CH pada 1126 nm ($3\nu\text{CH}$). Pita *overtone* OH pertama dapat diperoleh pada 1408 nm ($2\nu\text{OH}$). Pita pada 1536 nm dapat dikenali sebagai pita kombinasi OH dan CH ($\nu\text{OH} + \nu\text{CH}$). Pita pada 1688 nm dikenali sebagai pita *overtone* ($2\nu\text{CH}$). Pita lain yang terletak pada panjang gelombang di atas 2000 nm kemungkinan merupakan kombinasi antara *stretch* CH dan CCH, OCH deformasi pada 2261 nm ($\nu\text{CH} + \nu\text{CCH}$, OCH) dan 2326 nm ($\nu\text{CH} + \nu\text{CCH}$, OCH). Kehadiran CCH dan komponen cincin deformasi OCH meliputi beberapa spesifikasi glukosa pada pitanya. Perhitungan spektrum *overtone* dan kombinasi glukosa bertumpuk dengan beberapa spektrum kombinasi dan pita *overtone* air, lemak, dan pita absorpsi elektronik hemoglobin.

Jaringan Kulit

Komposisi dan Struktur Kulit

Struktur dan karakterisasi kulit sangat berbeda pada bagian tubuh yang berbeda. Kulit pada umumnya dibagi menjadi tiga lapisan, yaitu *dermis*, *epidermis* dan lapisan lemak kulit, dengan sublapisan tersendiri. Bagian kulit yang terluar adalah *epidermis* yang disusun oleh lapisan yang relatif tipis dan relatif kasar, dilindungi oleh sel kulit kering dan mati, yang dikenal sebagai *stratum corneum*. Disamping itu, juga disusun oleh lapisan *stratum lucidum*, *stratum granulosum* dan *stratum spinosum*, yang terdiri dari sel-sel yang dikenal dengan nama *keratinosit* atau *melanosit*, yang merupakan sel pigmentasi kulit. Ketebalan epidermis bervariasi dari 0.1 mm pada kelopak mata sampai mendekati 1 mm pada telapak tangan dan telapak kaki.

Lapisan selanjutnya adalah lapisan *dermis* yang terdiri dari berbagai macam sel, serat, substansi dasar tanpa bentuk, jaringan syaraf, kelenjar lemak, kelenjar keringat, pembuluh darah dan akar rambut. Bagian paling atas dari lapisan ini dikenal dengan nama *papillary dermis* yang mengandung jaringan pembuluh darah dan syaraf sensorik, sedangkan *reticular dermis*, yang mengandung struktur penghubung utama dan struktur *epithel* seperti kelenjar dan folikel. Kedalamannya bervariasi dari 0.3 mm pada kelopak mata sampai sekitar 3 mm pada telapak tangan dan telapak kaki. Sedangkan lapisan terakhir, yaitu lemak tersusun atas sel-sel lipid, yang membentuk bantalan antara jaringan kulit dan jaringan otot yang lebih dalam dan memiliki kandungan darah yang melimpah.



Gambar 2.10 Struktur kulit manusia

Sumber : Zuomin Zhao. 2002. *Pulsed Photoacoustic Techniques and Glucose Determination in Human Blood and Tissue*. Oulu : Departemen of Electrical Engineering and Infotech Oulu.

Tabel 2.4 Komposisi rata-rata elemen penyusun kulit, dalam persen massa

Sumber : Zuomin Zhao. 2002. *Pulsed Photoacoustic Techniques and Glucose Determination in Human Blood and Tissue*. Oulu : Departemen of Electrical Engineering and Infotech Oulu.

O	C	H	N	Na	Mg	P	Cl	K
59.4 ~ 69.5	25 ~ 15.8	10 ~ 10.1	4.6 ~ 3.7	0.2	0.1	0.2	0.3	0.1

Tabel 2.5 Persentase materi penyusun kulit manusia dewasa

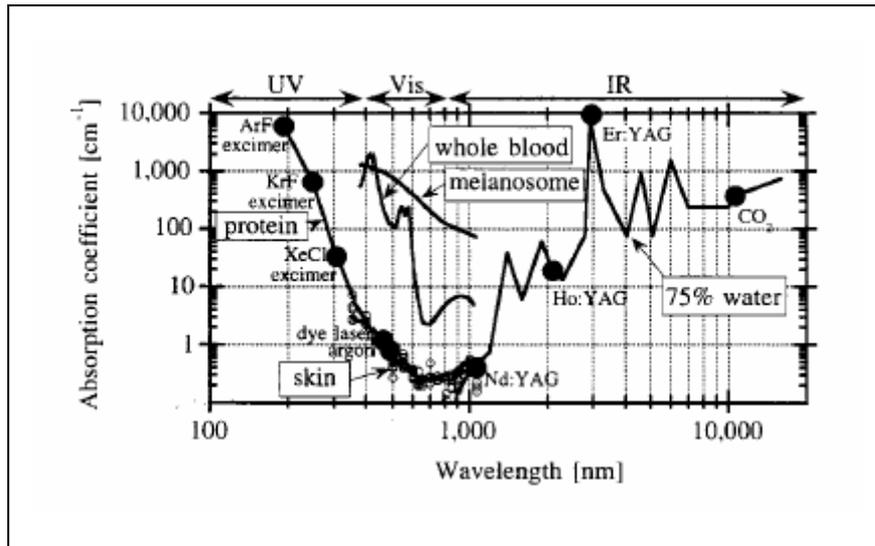
Sumber : Zuomin Zhao. 2002. *Pulsed Photoacoustic Techniques and Glucose Determination in Human Blood and Tissue*. Oulu : Departemen of Electrical Engineering and Infotech Oulu.

Air	Protein	Lipid	Partikel
58.6 ~ 72.1	22 ~ 27.2	5.2 ~ 13.5	0.7

Karakteristik Optik Kulit

Karakteristik absorpsi optik kulit sangat dipengaruhi oleh struktur penyusunnya, yaitu air, protein dan lemak. Air mengabsorpsi foton pada panjang gelombang yang lebih panjang dari interval jangkauan menengah inframerah, sedangkan protein memiliki absorpsi yang sangat kuat pada daerah ultraviolet. Pada daerah inframerah jangkauan pendek, air, protein dan lemak memiliki kapasitas absorpsi yang relatif kecil, sehingga daerah interval 600 nm sampai 3200 nm sering disebut sebagai 'jendela optik jaringan', dengan kemampuan penetrasi cahaya ke dalam kulit dari beberapa mikrometer sampai beberapa milimeter. Sehingga, daerah ini sangat tepat digunakan untuk melakukan diagnosa penyakit, imaging dan terapi.

Pada panjang gelombang 600 nm sampai 1100 nm, kromofor pengabsorpsi foton yang paling penting adalah darah dan melanin. Air menjadi dominan pada gelombang datang yang lebih besar dari 1150 nm. *Epidermis* tidak memiliki kandungan darah dan kandungan airnya juga lebih kecil dari *dermis*. Sedangkan *stratum granulosum* dan *stratum spinosum* terdiri dari beberapa *melanosit*, termasuk melanin, yang merupakan bagian dari pigmen kulit. Melanin merupakan sumber absorpsi dominan dalam *epidermis* pada panjang gelombang near-inframerah karena kapasitas absorpsinya yang lebih besar dari darah dan air. Fraksi volume *melanosom* pada *dermis* bervariasi dari 1.3 ~ 6.3 % untuk kulit putih dewasa, 11 ~ 16 % untuk warna kulit hangat, dan 18 ~ 43 % untuk kulit gelap orang Afrika. *Dermis* mengandung 0.2 ~ 5 % darah, yang menggambarkan sumber absorpsi pada panjang gelombang yang lebih kecil dari 1100 nm. Jika panjang gelombang optik berada pada interval inframerah jangkauan pendek, kandungan air menjadi pertimbangan penting dalam pola absorpsi optik.



Gambar 2.11 Spektrum absorpsi jaringan

Sumber : Zuomin Zhao. 2002. *Pulsed Photoacoustic Techniques and Glucose Determination in Human Blood and Tissue*. Oulu : Departemen of Electrical Engineering and Infotech Oulu.

Tabel 2.6 Karakteristik optik penyusun jaringan kulit

Sumber : Zuomin Zhao. 2002. *Pulsed Photoacoustic Techniques and Glucose Determination in Human Blood and Tissue*. Oulu : Departemen of Electrical Engineering and Infotech Oulu.

Bagian jaringan	Diameter (μm)	Kerapatan (cm^{-3})	Fraksi volume (%)	Indeks bias
Serat kolagen	2.8	3×10^6	21	1.38
Struktur membran /lipid	0.1 ~ 10		10	1.43 ~ 1.49
Partikel	0.01			

Tabel 2.7 Parameter fisis jaringan

Sumber : Zuomin Zhao. 2002. *Pulsed Photoacoustic Techniques and Glucose Determination in Human Blood and Tissue*. Oulu : Departemen of Electrical Engineering and Infotech Oulu.

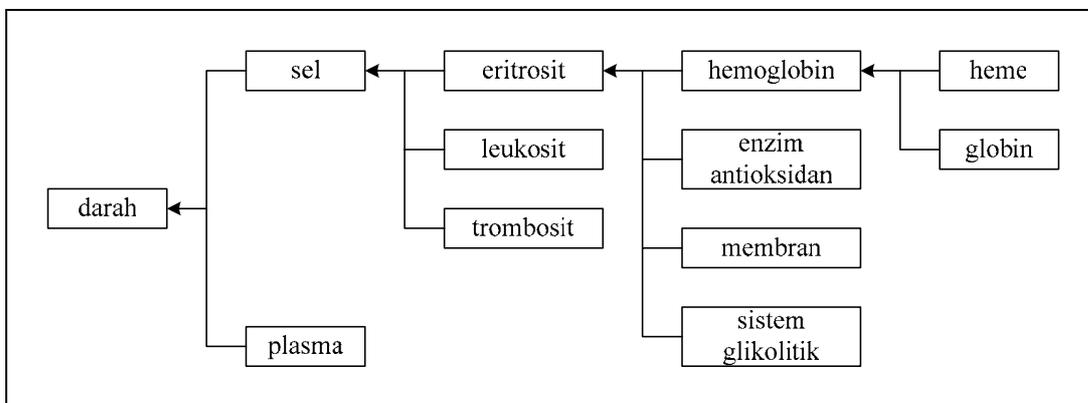
Jaringan	Kerapatan (kgm^{-3})	Impedansi ($10^{-6} \text{kgm}^{-2}\text{s}^{-1}$)	Atenuasi akustik (dB/cm/MHz)
Kulit	1012 ~ 1065	1.51 ~ 1.84	3.7
Otot	1070	1.69	1.5
Lemak	950	1.38	
Darah	1052 ~ 1064	1.62	0.15
Air	993	1.516	0.0022

Disamping absorpsi, pada kulit juga terjadi hamburan optik akibat adanya fluktuasi indeks bias medium. Berdasarkan hasil pengukuran, indeks bias kulit berada pada interval 1.33 ~ 1.55. Hamburan optik pada kulit terjadi akibat adanya tiga kontribusi, yaitu serat kolagen dermis, ultrastruktur membran sel, dan hamburan skala kecil partikel.

Darah

Komposisi darah

Komposisi seluruh darah ditampilkan pada Gambar 2.12 berikut. Darah terdiri atas plasma dan sel darah. Sel darah memiliki fraksi volume sekitar $47\% \pm 5\%$ untuk pria dan $42\% \pm 5\%$ untuk wanita, dengan 99 % volume adalah eritrosit (darah merah), dengan 30 % kandungan haemoglobin. Parameter morfologis sel-sel darah ditampilkan pada Tabel 2.7.



Gambar 2.12 Struktur darah

Sumber : Zuomin Zhao. 2002. *Pulsed Photoacoustic Techniques and Glucose Determination in Human Blood and Tissue*. Oulu : Departemen of Electrical Engineering and Infotech Oulu.

Tabel 2.8 Parameter morfologi sel darah

Sumber : Zuomin Zhao. 2002. *Pulsed Photoacoustic Techniques and Glucose Determination in Human Blood and Tissue*. Oulu : Departemen of Electrical Engineering and Infotech Oulu.

Sel darah	Konsentrasi volumetrik (%)	Konsentrasi (mm^{-3})	Bentuk	Ukuran karakteristik (μm)	Volume (μm^3)
Eritrosit	46	$(4.2 \sim 8.6) 10^6$	Bikonkav Diskoidal	7.1 ~ 9.2 1.7 ~ 2.4	70 ~ 100
Leukosit	1.2	$(4 \sim 8) 10^3$	Sferis	8 ~ 22	
Trombosit	0.3	$(2.5 \sim 5) 10^5$	Diskoidal	2 ~ 4	6

Karakteristik Optik Darah

Karakteristik optik darah sangat dipengaruhi oleh karakteristik eritrosit, yang memiliki indeks bias sekitar 1.402. Sedangkan indeks bias plasma adalah 1.334, sehingga indeks bias seluruh darah (42 % Hct) adalah 1.362. Berdasarkan konsentrasi, bentuk, kecepatan pergerakan, kumpulan dan sedimentasinya, maka eritrosit memiliki pengaruh yang sangat kuat terhadap karakteristik optik darah. Dalam kondisi normal, eritrosit memiliki bentuk keping bikonkav dengan diameter 7 ~ 9 μm . Elastisitas membran eritrosit yang tinggi mengakibatkan cahaya mampu menembus pembuluh kapiler dengan lumina yang lebih kecil dibandingkan diameter eritrosit. Osmolali membran eritrosit merubah bentuk sel dan kandungan rasio, yang akan mempengaruhi parameter optiknya.

BAB 3

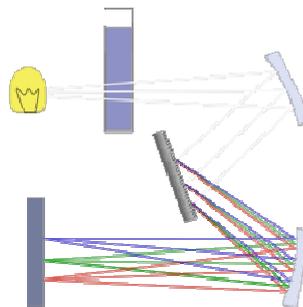
SPEKTROSKOPI UV-Vis

3.1. Pendahuluan

Ultraviolet-visible spectroscopy atau *ultraviolet-visible spectrophotometry* (UV/ VIS) menggunakan cahaya tampak dalam rentang ultraviolet(UV) dan infrared(NIR). Akibat pemberian cahaya ini, molekul mengalami transisi elektronik. Instrument yang digunakan dalam spektroskopi ultraviolet-visible dinamakan UV/vis spectrophotometer. Ada dua macam UV/vis spectrophotometer, yaitu *single beam* dan *double beam*. Pemanfaatan UVvis untuk berbagai macam penelitian umumnya untuk analisis kuantitatif seperti optimasi, menentukan kadar kafein dalam campuran parasetamol, penetapan kadar triprolidina hidroklorida dalam tablet anti influenza, dan lain sebagainya. Dalam sifat optik van UV-Vis Spect. Digunakan untuk mengetahui tingkat absorpsi bahan dan dengan memodifikasi sistem menjadi integrating sphere UV-Vis dapat juga digunakan untuk mengetahui dispersi bahan. Sifat dispersi bahan yaitu sifat bahan yang mempunyai nilai indeks bias (n) bergantung pada panjang gelombang yang diberikan.

3.2. Konsep Spektroskopi UV-Vis dan Instrumen

U-Vis Spect. mempunyai rentang panjang gelombang $10^{-6} - 10^{-7}$ nm dengan peristiwa absorpsi yang mengakibatkan adanya transisi electron. Terdapat dua jenis UV/vis spectrophotometer, yaitu *single beam* dan *double beam*.



Gambar 3.1. UV-VIs Spect. Berkas Tunnggal

Jika kita melewatkan sinar putih pada media yang berwarna, sebagian warna akan terserap. Larutan yang mengandung ion tembaga(II) terhidrat, sebagai contoh, kelihatan biru pucat karena larutan menyerap sinar dari spektrum merah. Panjang gelombang yang tersisa akan berkombinasi di dalam mata dan otak untuk memunculkan warna sian (biru pucat).

Beberapa media yang takberwarna juga menyerap sinar - tetapi dalam daerah ultra-ungu (UV). Karena kita tak mampu melihat sinar UV, maka kita tak dapat mengamati penyerapannya.

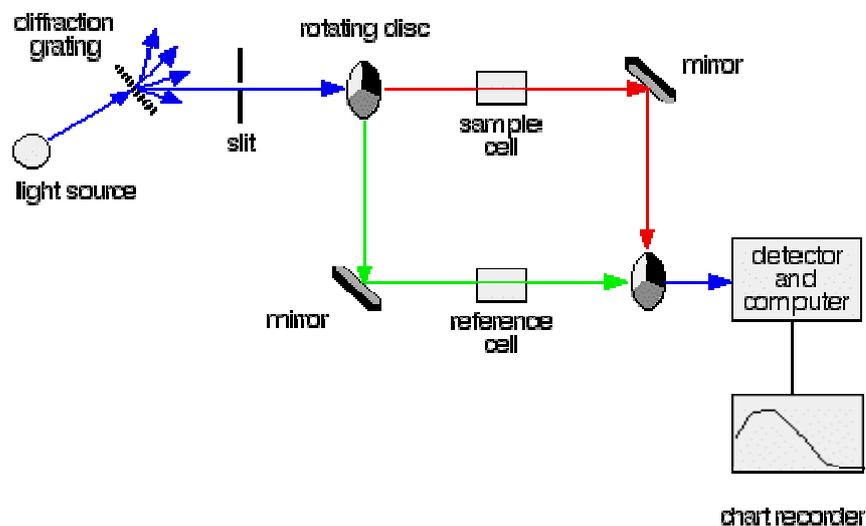
Media yang berbeda akan menyerap sinar dengan panjang gelombang yang berbeda, dan ini dapat dipakai untuk mengidentifikasi suatu materi - keberadaan ion logam, sebagai contoh, atau gugus fungsi dalam senyawa-senyawa organik.

Besarnya penyerapan juga tergantung pada konsentrasi materi, jika berupa larutan. Perhitungan banyaknya penyerapan dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi larutan yang sangat encer.

Suatu spektrometer serapan menghitung banyaknya sinar yang diserap oleh berbagai senyawa yang dilewati spektrum UV dan tampak.

Spektrometer berkas ganda yang sederhana

Kita akan memulai dengan diagram lengkap, kemudian menerangkan apakah yang terjadi pada setiap bagian.



Gambar 3.2. Instrumen UV-Vis Berkas Ganda sederhana

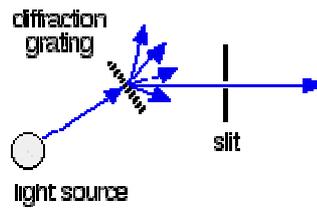
Kita memerlukan sumber sinar yang menyediakan seluruh spektrum tampak dan ultra-ungu dekat sehingga kita mendapatkan spektrum pada daerah 200 nm - 800 nm. (sedikit melebar ke infra-merah dekat). Kita tidak akan mendapatkan daerah panjang gelombang tersebut dari lampu tunggal, dan juga kombinasi dari dua lampu - lampu deuterium untuk mendapatkan spektrum UV dan lampu tungsten/halogen untuk mendapatkan spektrum tampak.

Catatan: lampu deuterium mengandung gas deuterium pada kondisi tekanan rendah dan dihubungkan dengan tegangan tinggi. Ini menghasilkan suatu spektrum kontinu yang merupakan spektrum UV.

Hasil kombinasi kedua lampu tersebut difokuskan pada kisi difraksi.

Kisi difraksi dan celah

Kita mungkin sudah terbiasa dengan percobaan prisma yang dapat memisahkan sinar menjadi komponen-komponen warnanya. Suatu kisi difraksi mempunyai fungsi yang sama, tetapi lebih efisien.

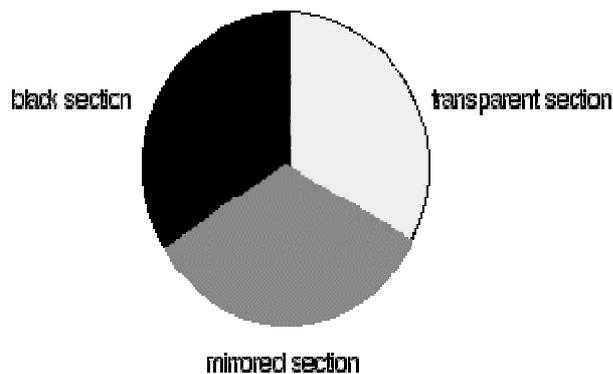


Tanda panah biru menunjukkan jalur berbagai panjang gelombang sinar diteruskan dengan arah yang berbeda. Celah (slit) hanya menerima sinar pada daerah panjang gelombang yang sangat sempit untuk diteruskan ke spektrometer.

Dengan memutar kisi difraksi secara perlahan, anda akan mendapatkan sinar dari seluruh spektrum (sebagian kecil daerah panjang gelombang pada suatu waktu) yang selanjutnya diteruskan ke dalam instrumen.

Lempeng putar

Ini agak cerdas! Tiap lempeng dibuat dari beberapa bagian yang berbeda. Kita menggambarkannya dengan tiga bagian berbeda - desain lain mungkin jumlahnya berbeda.

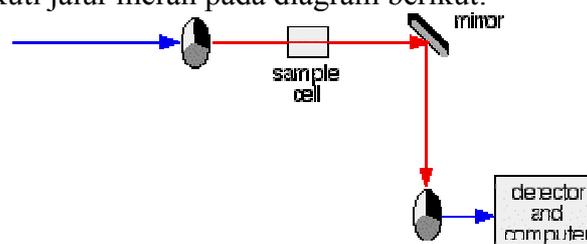


Sinar datang dari kisi difraksi dan celah akan mengenai lempeng putar dan satu dari tiga hal berikut dapat terjadi.

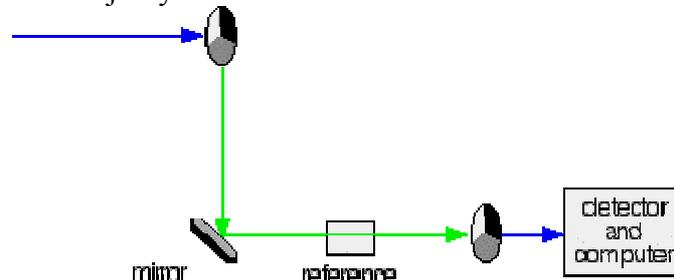
1. Jika sinar mengenai bagian transparan, sinar akan mengarah langsung dan melewati sel yang mengandung sampel. Kemudian dipantulkan oleh cermin ke lempeng putar kedua.

Lempeng ini berputar ketika sinar datang dari lempeng yang pertama, sinar akan mengenai bagian cermin lempeng kedua. Yang kemudian memantulkannya ke detektor.

Selanjutnya mengikuti jalur merah pada diagram berikut:



2. Jika berkas asli sinar dari celah mengenai bagian cermin lempeng putar pertama, berkas akan dipantulkan sepanjang jalur hijau. Setelah cermin, sinar melewati sel referens (akan diterangkan nanti). Akhirnya sinar mencapai lempeng kedua yang berputar, sehingga sinar mengenai bagian transparan. Selanjutnya akan melewati detektor.



3. jika sinar mengenai bagian hitam lempeng pertama, sinar akan dihalangi - dan untuk sesaat tidak ada sinar yang melewati spektrometer. Komputer akan memroses arus yang dihasilkan oleh detektor karena tidak ada sinar yang masuk.

Sel sampel dan referens

Keduanya adalah berupa wadah gelas atau kuarsa kecil, sering juga dibuat sedemikian rupa sehingga jarak yang dilalui berkas sinar adalah 1 cm. Sel sampel berisi larutan materi yang akan diuji - biasanya sangat encer. Pelarut dipilih yang tidak menyerap sinar secara signifikan pada daerah panjang gelombang yang digunakan (200 - 800 nm). Sel referens hanya berisi pelarut murni.

Detektor dan computer

Detektor mengubah sinar yang masuk menjadi arus listrik. Arus lebih tinggi jika intensitas sinarnya lebih tinggi. Untuk tiap panjang gelombang sinar yang melewati spektrometer, intensitas sinar yang melewati sel referens dihitung. Biasanya disimbolkan sebagai I_0 - dengan I adalah intensitas. Intensitas sinar yang melewati sel sampel juga dihitung untuk panjang gelombang tersebut - disimbolkan, I . Jika I lebih kecil dari I_0 , berarti sampel menyerap sejumlah sinar. Kemudian suatu matematika sederhana dikerjakan oleh komputer untuk mengubahnya menjadi apa yang dinamakan absorbansi sampel - disimbolkan, A .

Agar lebih jelas ketika kita membahas teori pada bagian lain, hubungan antara A dan dua intensitas adalah:

$$A = \log_{10} \frac{I_0}{I}$$

Pada diagram anda akan mendapatkan absorbansi berkisar dari 0 sampai 1, tetapi dapat lebih tinggi dari itu.

Absorbansi 0 pada suatu panjang gelombang artinya bahwa tidak ada sinar yang diserap pada panjang gelombang tersebut. Intensitas berkas sampel dan referens sama, sehingga perbandingan I_0/I adalah 1. \log_{10} dari 1 adalah nol.

Absorbansi 1 terjadi jika 90% sinar pada panjang gelombang yang ada diserap - berarti 10% sinar tidak diserap.

Pada kasus ini, I_0/I adalah $100/10$ ($=10$) dan \log_{10} dari 10 adalah 1 .



UV-Visible spektrometer



UV/VIS Spektrometer



Pengkalan Data UV/VIS

Gambar 3.3. Contoh Instrumen UV-vis Spektrophotometer

3.3. Aplikasi UV-Vis Spect.

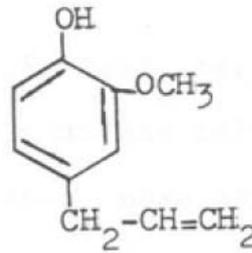
Sebagai contoh, UV-vis dapat dimanfaatkan untuk menentukan kadar eugenol dalam minyak daun cengkeh. Dimana eugenol itu sendiri merupakan cairan tidak berwarna atau berwarna kuning-pucat yang dapat dimanfaatkan dalam pembuatan minyak wangi dan dapat diproses menjadi vanilin.

3.3.1. Menghitung kadar Eugenol dalam minyak daun cengkeh

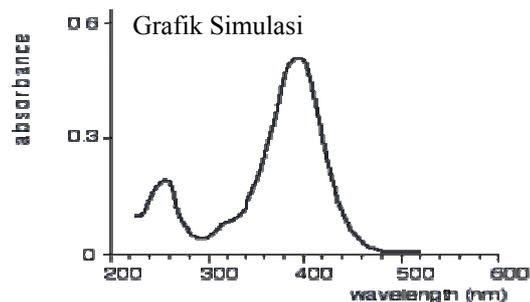
Minyak daun cengkeh dihasilkan dari daun-daun cengkeh yang telah jatuh dengan destilasi uap. Disamping mengandung dua komponen utama yaitu eugenol dan karyofillen, minyak itu mengandung beberapa senyawa dalam jumlah kecil. Eugenol dapat dengan mudah dipisahkan dari senyawa-senyawa bukan fenolat dengan mengekstraksi minyak daun cengkeh dengan larutan natrium hidroksida. Pengasaman larutan alkali menghasilkan kembali eugenol yang kemudian dimurnikan dengan destilasi bertingkat dengan pengurangan tekanan.

Minyak yang diperoleh dari daun cengkeh disebut minyak cengkeh (Clove Leaf Oil) dengan cara destilasi uap dari daun cengkeh yang sudah tua atau yang telah gugur. Kadar minyak cengkeh tergantung kepada jenis, umur dan tempat tumbuh tanaman cengkeh yaitu sekitar 5-6 %. Eugenol merupakan cairan tidak berwarna atau berwarna kuning-pucat, dapat

larut dalam alkohol, eter dan kloroform. Mempunyai rumus molekul $C_{10}H_{12}O_2$. Rumus Bangunnya adalah :



Perhitungan Panjang Gelombang	
Parent Chromophore-OH	: 246
Alkyl Residu	: 3
Methoxy-residu	: 7
<hr/>	<hr/>
Total	: 248 nm
Observed value \pm 9	



Dengan menghitung tinggi dan lebar. ~~selanjutnya akan dihitung masing-masing puncak, diperoleh~~ luas dari masing-masing komponen. $L = H \times \frac{1}{2} W$. Kemudian persentase masing-masing komponen dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ komponen X} = \frac{\text{luas komponen X}}{\text{luas total}} \times 100$$

akan diperoleh

$$\% \text{ Eugenol} = \frac{20}{20+160} \times 100 = 11,1 \%$$

Kadar eugenol yang terdapat dalam minyak daun cengkeh ini sekitar 11,1%.

3.3.2 Analisis Spektroskopi UV-Vis pada Paracetamol

Akan dibahas contoh lain yaitu cara menganalisis spektrofotometri UV-Vis pada obat sakit kepala atau influenza pada paracetamol. Proses penyelesaiannya menggunakan aplikasi sistem persamaan linier sebagai hasil pemodelan dari bentuk hukum Lambert-Beers. Dari penggunaan aplikasi spektroskopi UV-Vis ini membantu perhitungan analisis secara kuantitatif dan kualitatif agar dapat dijadikan standar quality control dari bahan obat paracetamol.

Ada berbagai macam metode penetapan kadar / kandungan bahan aktif dalam sediaan obat, mulai dari metode konvensional menggunakan titrasi volumetri sampai menggunakan instrumen elektronik seperti spektrofotometri UV-Vis. Penggunaan spektrofotometri UV-Vis untuk analisa kualitatif sediaan obat mempunyai beberapa keuntungan, yaitu : sensitif, selektif, akurat, teliti, dan cepat bila dibandingkan metode konvensional lainnya seperti titrimetri dan gravimetri yang digunakan untuk Quality Control.

Pengukuran menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis ini didasarkan pada hubungan antara berkas radiasi elektromagnetik yang ditransmisikan (diteruskan) atau yang diabsorpsi dengan tebalnya cuplikan dan konsentrasi dari komponen penyerap. Berdasarkan hal inilah maka untuk dapat mengetahui konsentrasi sampel berdasarkan data serapan (A) sampel, perlu dibuat suatu kurva kalibrasi yang menyatakan hubungan antara berkas radiasi yang diabsorpsi (A) dengan konsentrasi (C) dari serangkaian zat standar yang telah diketahui. Adapun penghitungannya dilakukan dengan menggunakan aplikasi sistem persamaan linier yang merupakan pemodelan atau adaptasi hukum Lambert-Beers. [1]

Spektrum absorpsi daerah ini adalah sekitar 220 nm sampai 800 nm dan dinyatakan sebagai spektrum elektron. Suatu spektrum ultraviolet meliputi daerah bagian ultraviolet (190-380 nm), spektrum Vis (Vis = Visibel) bagian sinar tampak (380-780 nm). Spektrofotometer UV-Vis digunakan terutama untuk analisa kuantitatif, tetapi dapat juga untuk analisa kualitatif. Penggunaan untuk analisa kuantitatif didasarkan pada hukum Lambert-Beers yang menyatakan hubungan empirik antara intensitas cahaya yang ditransmisikan dengan tebalnya larutan (Hukum Lambert / Bouguer), dan hubungan antara intensitas tadi dengan konsentrasi zat (Hukum Beers).

Hukum Lambert-Beers

$$A = \log I_0/I_t = \epsilon \cdot b \cdot c = a \cdot b \cdot c \dots (1)$$

dengan :

A = serapan

I_0 = intensitas sinar yang datang

I_t = intensitas sinar yang diteruskan (ditransmisikan)

ϵ = absorbtivitas molekuler / konstanta ekstingsi ($L.mol^{-1}.cm^{-1}$).

a = daya serap ($L.g^{-1}.cm^{-1}$).

b = tebal larutan / kuvet (cm).

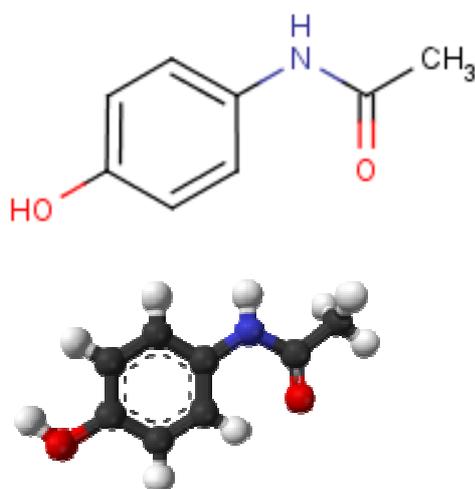
c = konsentrasi ($g.L^{-1}, mg.mL^{-1}$).

Panjang gelombang yang digunakan untuk melakukan analisis kuantitatif suatu zat biasanya merupakan panjang gelombang dimana zat yang bersangkutan memberikan serapan yang maksimum (λ maks), sebab keakuratan pengukurannya akan lebih besar. Hal tersebut dapat terjadi karena pada panjang gelombang maksimum (λ maks) bentuk serapan pada umumnya landai sehingga perubahan yang tidak terlalu besar pada kurva serapan tidak akan menyebabkan kesalahan pembacaan yang terlalu besar pula (dapat diabaikan).

Serapan yang optimum untuk pengukuran dengan spektrofotometri UV-Vis ini berkisar antara 0,2 – 0,8. Namun menurut literatur lain, serapan sebesar 2 – 3 relatif masih memberikan hasil perhitungan yang cukup baik (untuk campuran), walaupun disarankan agar serapan berada di bawah 2 untuk hasil yang lebih baik, dengan cara mengencerkan larutan zat yang akan diukur.[1]

Paracetamol

Paracetamol atau parasetamol yang kita ketahui sebagai obat migren, sakit kepala, dan influenza mempunyai struktur sebagai berikut :



Nama kimianya *N*-(4-hydroxyphenyl) acetamide

Formulanya : (C₈ H₉ N O₂)

Dengan massa Mol 151.17 g/mol

Densitas 1.263 g/cm³

Titik lebur 169 °C (336 °F)

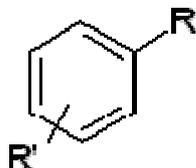
Daya larut dalam air 0.1-0.5 g/100 mL at 22 C mg/mL (20 °C)

Nilai panjang gelombang dari struktur paracetamol :

Parasetamol terdiri dari benzene ring core, satu grup hydroxyl dan atom nitrogen dari grup amide *para* (1,4) pattern. Ini dari sistem konjugasi yang luas, seperti satu pasang hydroxyl oxygen, benzene pi cloud, satu pasang nitrogen, p orbital dalam karbon carbonyl, dan satu pasang carbonyl oxygen yang berkonjugasi. Kehadiran dari dua grup aktivasi juga

membuat benzene ring sangat reaktif terhadap substitusi electrophilic aromatic. Seperti substitusi ortho, para-langsung dan para dengan respect pada yang lainnya, semua posisi dalam ring lebih kurang sama-sama beraktivasi.[2]

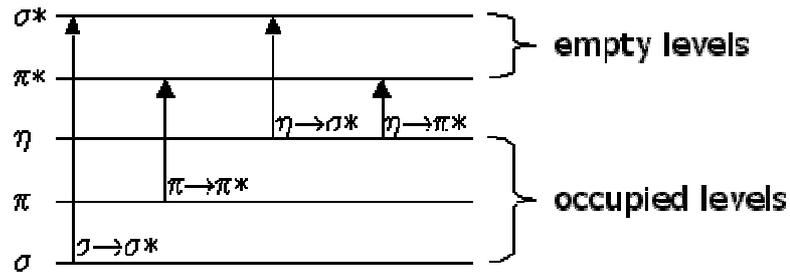
Absorption for Di-Substituted Benzene Derivatives



R	R'	Orientation	K		B	
			λ_{\max}	ϵ_{\max}	λ_{\max}	ϵ_{\max}
-OH	-OH	ortho	214	6000	278	2630
-OR	-CHO	ortho	253	11000	319	4000
-NH ₂	-NO ₂	ortho	229	16000	275	5000
-OH	-OH	meta	277	2200		
-OR	-CHO	meta	252	8300	314	2800
-NH ₂	-NO ₂	meta	235	16000	373	1500
-OH	-OH	para	225	5100	293	2700
-OR	-CHO	para	277	14800		
-NH ₂	-NO ₂	para	229	5000	375	16000
-Ph	-Ph	meta	251	44000		
-Ph	-Ph	para	280	25000		

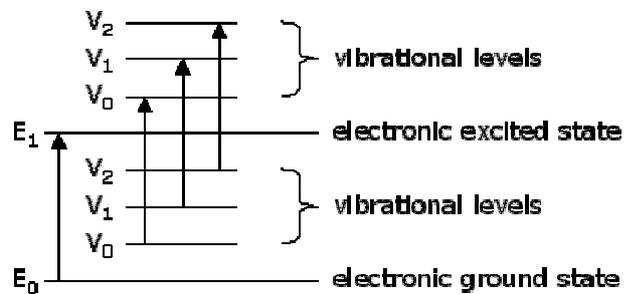
Tipe Transisi

- σ to σ^* (alkanes)
- σ to π^* (carbonyl compounds)
- π to π^* (alkenes, carbonyl compounds, alkynes, azo compounds)
- n to σ^* (oxygen, nitrogen, sulfur, and halogen compounds)
- n to π^* (carbonyl compounds)



Gambar 3.4. Tipe transisi elektron

Transisi dari yang tinggi molecular orbital (HOMO) sampai terendah molecular orbital (LUMO) memerlukan jumlah paling sedikit energi. [2]



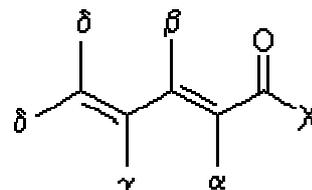
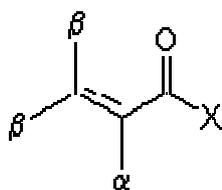
Gambar 3.5. Peak broadening

Tabel 3.1. Panjang gelombang max transisi dengan Paracetamol merupakan amide para:

Chromophore	Transition	λ_{\max}	$\log(\epsilon)$
nitrile	η to π^*	160	<1.0
alkyne	π to π^*	170	3.0
alkene	π to π^*	175	3.0
alcohol	η to σ^*	180	2.5
ether	η to σ^*	180	3.5
ketone	π to π^*	180	3.0
	η to π^*	280	1.5
aldehyde	π to π^*	190	2.0
	η to π^*	290	1.0
amine	η to σ^*	190	3.5
acid	η to π^*	205	1.5

ester	η to π^*	205	1.5
amide	η to π^*	210	1.5
thiol	η to σ^*	210	3.0
nitro	η to π^*	271	<1.0
azo	η to π^*	340	<1.0

Woodward's Rules for Conjugated Carbonyl Compounds



Base values:

X = R

Six-membered ring or acyclic parent enone

$\lambda=215$ nm

Five-membered ring parent enone

$\lambda=202$ nm

X = H

$\lambda=208$ nm

X = OH, OR

$\lambda=195$ nm

Increments for:

Double bond extending conjugation

30

Exocyclic double bond

5

Endocyclic double bond in a 5- or 7-membered ring for X = OH, OR

5

Homocyclic diene component

39

Alkyl substituent or ring residue

α

10

β

12

γ or higher

18

Polar groupings:

-OH

α

35

β

30

δ

50

-OC(O)CH₃

$\alpha, \beta, \gamma, \delta$

6

-OCH₃

α

35

β

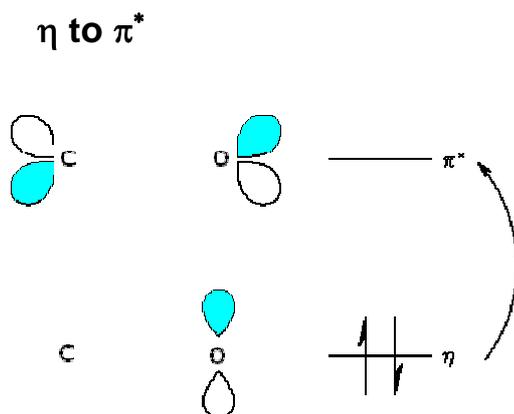
30

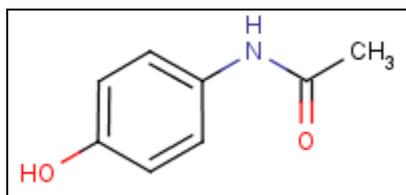
	γ	17
	δ	31
-Cl	α	15
	β, γ, δ	12
-Br	β	30
	α, γ, δ	25
-NR ₂	β	95
Solvent correction* :		<u>variable</u>
	λ_{\max} (calc'd)	total

Tabel 2. Variasi Jenis Pelarut

Solvent (Pelarut)	λ_{\max} shift (nm)
water	+ 8
chloroform	- 1
ether	- 7
cyclohexane	- 11
dioxane	- 5
hexane	- 11

Maka transisi yang terjadi pada struktur carbonyls dari paracetamol :





Parent Chromophore:	285 nm
<i>p</i> -NHCH ₃	73 nm
<i>p</i> -OH:	25 nm
<i>m</i> -OH:	<u>14 nm</u>
Calculated:	397 nm

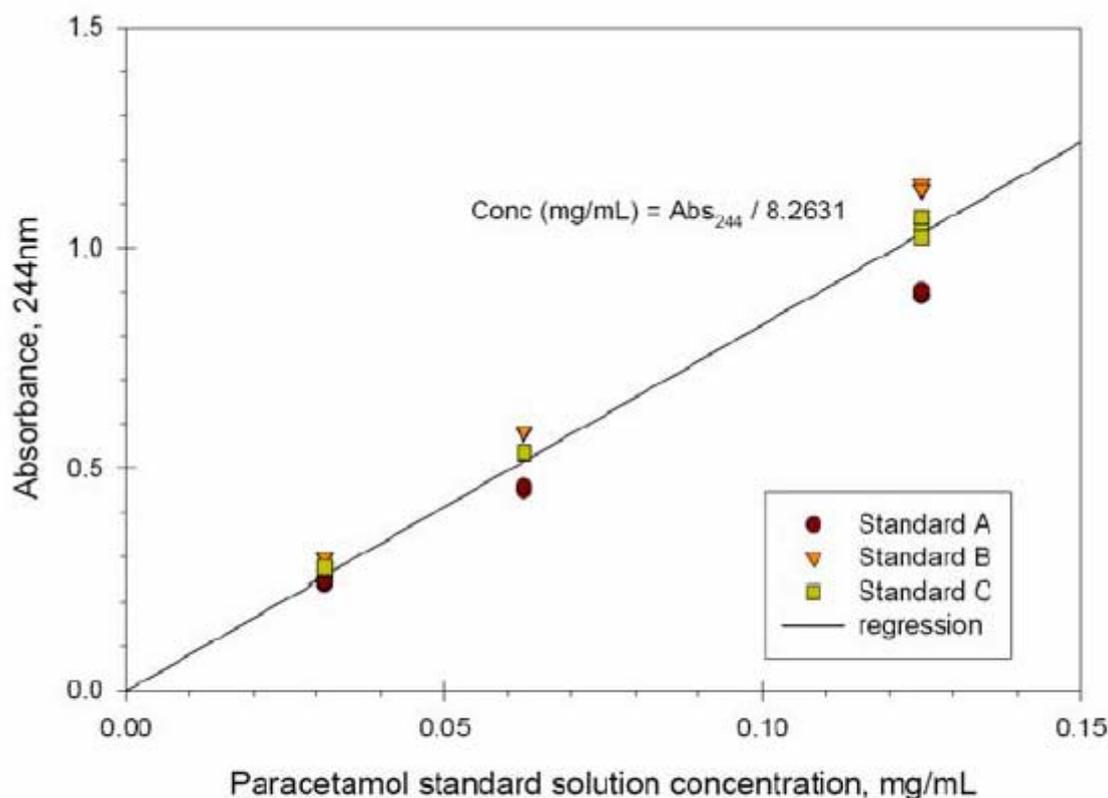
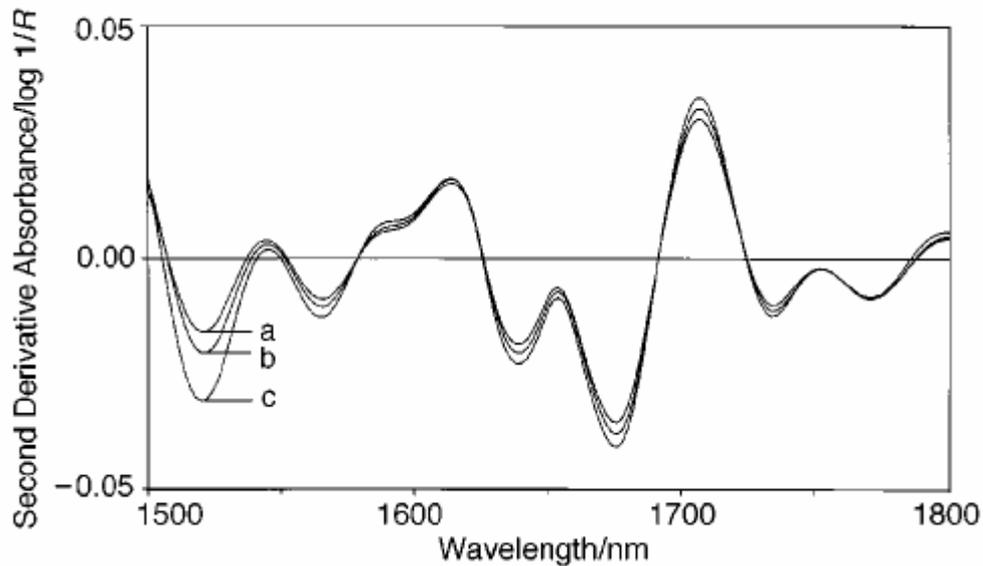


Figure 1: Standard curve for paracetamol in water for absorbance measured at 244 nm.

Table 1: Absorbance (244 nm) data for paracetamol filtrate samples after overnight equilibration. Standard deviations are given for measurements on same drop (triplicates) and for means from separate drops.

Temperature	Sample code	Dilution factor	Triplicate Nanodrop measurements (same drop)			std dev (same drop)	std dev (different drops)
			A_{244}	A_{244}	A_{244}		
5°C	P-5A	161.0	0.322	0.322	0.322	0.000	0.013
	P-5B	161.0	0.311	0.312	0.308	0.002	
	P-5C	161.0	0.334	0.337	0.338	0.002	
20°C	P-20A	161.0	0.497	0.496	0.497	0.001	0.013
	P-20B	161.0	0.503	0.504	0.498	0.003	
	P-20C	161.0	0.502	0.560	0.502	0.033	
40°C	P-40A	161.0	0.765	0.787	0.785	0.011	0.015
	P-40B	161.0	0.792	0.793	0.790	0.002	
	P-40C	161.0	0.766	0.761	0.763	0.003	
60°C	P-60A	322.0	0.935	0.946	0.953	0.009	0.034
	P-60B	322.0	0.950	0.957	0.964	0.007	
	P-60C	322.0	0.894	0.896	0.891	0.003	



Gambar analisa paracetamol spectra antara panjang gelombang dengan nilai absorpbansinya.

Bahwa parasetamol terdiri dari struktur kimia carbonyl yang merupakan grup amide ditambah konjugasi ikatan OH,NHCH₃ dari ikatan kimia, maka setelah diketahui struktur ikatan molekulnya, kita dapatkan nilai panjang gelombang dalam menentukan adsorbansi dengan patokan data literatur carbonyl. Dari hal ini idealnya dilakukan pengecekan dengan UV/Vis Spectra untuk dibandingkan antara hasil perhitungan literatur dengan hasil praktikum. Sehingga dapat dimanfaatkan dalam Quality Control dari obat paracetamol.

Daftar Pustaka

- [1.] C.Neil Glagovich 2008, Created and maintained by [Neil Glagovich](#)
- [2.] British Pharmacopoeia 1993, H.M. Stationery Office, London, 1993, vol. II, p. 1043.
- [3.] Harwood, Laurence M. 1997. *INTRODUCTION TO ORGANIC SPECTROSCOPY*. Oxford University Press.
- [4.] www.wikipedia/Ultraviolet-visible_spectroscopy.htm
- [5.] www.chem-is-try.org

BAB 4

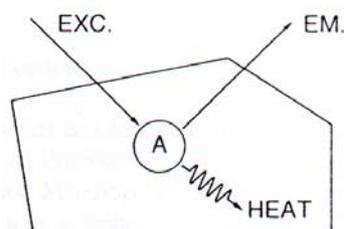
PHOTOLUMINESENCE SPEKTROSKOPI

4.1. Bahan *Luminescent* (*Phospor*)

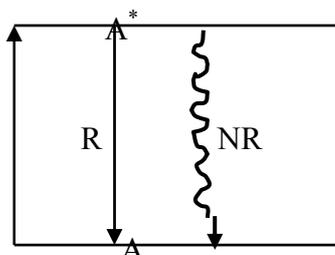
Bahan *Luminescent* yang lebih dikenal dengan istilah *phospor* adalah zat padat yang dapat mengkonversi tipe energi tertentu menjadi radiasi elektromagnetik dibawah dan diatas radiasi termalnya. Radiasi elektromagnetik yang dipancarkan oleh *phospor* biasanya berada dalam daerah cahaya tampak, namun selain itu bisa juga dalam daerah ultraviolet ataupun infra merah.

Phospor merupakan material penting yang banyak digunakan dalam lampu *fluorescent*, plasma display panel, display elektroluminisensi, *field emission display* (FED), dan *white light emitting diode* (*white LED*) [4].

Secara umum *phospor* terdiri dari *host* (matrix) dan *luminescent center* (aktivator). *Host* adalah tempat aktivator berada. Aktivator merupakan impuritas atom dalam jumlah kecil yang terdistribusi di dalam *host*. Interaksi antara *host* dan aktivator dalam menghasilkan luminesensi tidaklah sederhana, namun secara sederhana proses luminesensi dapat dijelaskan oleh Gambar 4.1 dan Gambar 4.2.



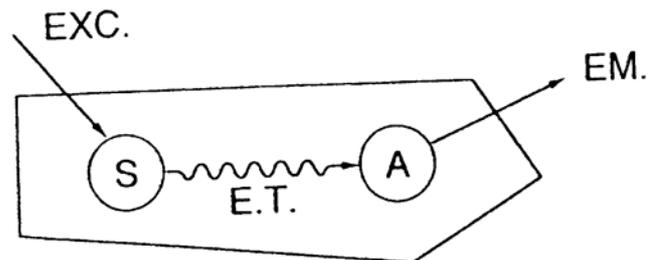
Gambar 4.1 Ion luminisensi A dalam kisi *host*-nya. EXC:eksitasi; EM:emisi (*radiative return* kekeadaan dasar (*ground state*)); HEAT:*non radiative return* ke *ground state* [].



Gambar 2.2. Skema tingkatan energi ion luminisensi A dari Gambar 2.1. R adalah *radiative return* dan NR perpindahan *non radiative* ke *ground state*; Tanda * menyatakan keadaan tereksitasi [].

Pada Gambar 4.1 terlihat sebuah sistem luminisensi yang terdiri dari *host lattice* dan aktivator. *Exciting radiation* yang diabsorpsi oleh aktivator, mengakibatkan aktivator tersebut tereksitasi. Dari keadaan tereksitasi tersebut aktivator akan kembali ke *ground state* dengan mengemisikan cahaya (radiatif) dan panas (non radiatif). Jika proses non radiatif tidak terjadi, maka rasio jumlah foton yang diemisikan dan foton yang diabsorpsi (efisiensi kuantum) adalah satu. Emisi tidak akan terjadi jika proses non radiatif mendominasi. Oleh karena itu untuk menghasilkan bahan luminisensi yang efektif, proses non radiative ini perlu ditekan.

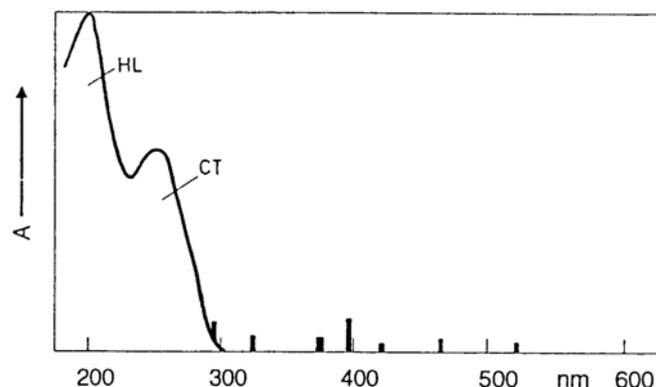
Pada bahan luminisensi yang lebih kompleks, energi tidak diabsorpsi oleh aktivator, tetapi oleh ion lain yang berada dalam *host lattice*. Setelah mengabsorpsi energi, ion tersebut akan mentransfer energi tersebut ke ion lain yang berada dalam *host lattice* disebut *sensitizer*. Proses luminisensi yang lebih kompleks tersebut dapat dilihat pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Transfer energi dari sensitizer S ke sebuah activator A. Energi transfer diindikasikan oleh *E.T* [].

4.1.1 Proses Absorpsi Energi Eksitasi oleh *Phosphor*

Bahan luminisensi hanya akan memancarkan radiasi elektromagnetik bila energi eksitasi yang diberikan diabsorpsi oleh aktivator atau *host lattice*. Absorpsi terjadi pada pita optik yang lebar. Pada proses absorpsi, ion aktivator berpindah dulu ke tingkat energi vibrasional yang tinggi (keadaan tereksitasi), setelah itu ion aktivator akan pindah ke tingkat energi vibrasional yang paling rendah dari keadaan tereksitasi, kemudian memberikan kelebihan energi yang dimilikinya ke sekitarnya. Cara lain untuk menggambarkan proses radiasi elektromagnetik ini adalah dengan menganggap ion aktivator mengatur posisinya ke keadaan yang baru (eksitasi), sehingga jarak antar atomnya sebanding dengan jarak kesetimbangan pada keadaan eksitasi. Proses ini disebut relaksasi [5].



Gambar 4.4 Spektrum Absorpsi $Y_2O_3 : Eu^{3+}$

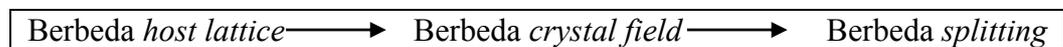
Untuk memahami proses absorpsi, contoh berikut dapat dijadikan pedoman. Gambar 2.4 memperlihatkan spektrum absorpsi optik bahan luminisensi $Y_2O_3:Eu^{3+}$. Sebagian daerah absorpsi memiliki spektral yang sempit dengan intensitas tinggi dan sebagian lainnya memiliki spektral yang lebar dengan intensitas yang lebih rendah. Hal ini berarti keadaan eksitasi sangat berbeda dengan *ground state*. Transisi optik terendah Y_2O_3 dihasilkan dari perubahan ikatan kimia.

4.1.2. Pengaruh Host Lattice

Penempatan aktivator didalam *host lattice* yang berbeda akan memberikan sifat optikal *center* yang berbeda pula. Hal tersebut dikarenakan lingkungan disekeliling *luminescent center* berbeda pula.

Faktor utama yang mempengaruhi sifat spektral yang berbeda pada pemberian ion yang berbeda adalah kovalensi dan *crystal field*. Kovalensi adalah keadaan dimana elektron membagi sepasang elektronnya dengan atom yang lain. Untuk meningkatkan kovalensi, interaksi antara elektron-elektron harus dikurangi, sehingga transisi elektronik antara tingkat energi dengan perbedaan energi yang diperoleh melalui interaksi elektron, berpindah ke energi yang lebih rendah. Hal ini dikenal sebagai "*nephelauxetic effect*". Kovalensi yang lebih tinggi menunjukkan keelektronegatifan *constituting* ion berkurang, sehingga transisi transfer muatan antara ion – ion berpindah ke energi yang lebih rendah.

Crystal Field merupakan medan listrik pada sisi ion dibawah pengaruh medan sekelilingnya. *Crystal field* bertanggung jawab terhadap terjadinya *splitting* optikal transisi tertentu. Hubungan antara *host lattice*, *crystal field*, dan *splitting* ditunjukkan oleh bagan berikut :



Dalam kasus ini optikal *center* berperan sebagai probe dari sekelilingnya. Untuk ion tanah jarang transisi optik yang diizinkan terdiri dari dua tipe :

1. transisi transfer muatan ($4f^n \rightarrow 4f^{n+1} L^{-1}$, dimana L adalah ligand)
2. transisi $4f \rightarrow 4f^{n-1} 5d$

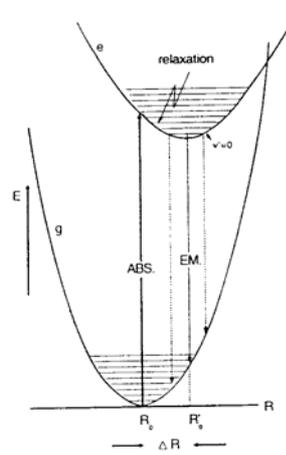
Keduanya tipe transisi optik tersebut memiliki $\Delta R \neq 0$ dan muncul dalam spektra sebagai pita absorpsi yang lebar. Transisi transfer muatan ditemukan untuk ion tanah jarang yang cenderung berkurang. Transisi 4f-5d untuk ion yang cenderung teroksidasi. Ion tanah jarang tetravalen (Ce^{+4} , Pr^{+4} , Tb^{+4}) memperlihatkan pita absorpsi transfer muatan. *Divalent* ion tanah jarang (Sm^{+2} , Eu^{+2} , Yb^{+2}), memperlihatkan transisi dari $4f \rightarrow 5d$.

Trivalen ion tanah jarang memiliki kecenderungan untuk :

1. menjadi divalent (Sm^{+3} , Eu^{+3} , Yb^{+3}) memperlihatkan pita absorpsi transfer muatan dalam daerah ultraviolet.
2. menjadi tetravalent (Ce^{+4} , Pr^{3+} , Tb^{3+}) memperlihatkan pita absorpsi $4f \rightarrow 5d$ dalam daerah ultraviolet.

4.1.3 EMISI

Emisi adalah perpindahan secara spontan sistem yang memancarkan radiasi dari tingkat vibrasi terendah keadaan tereksitasi, ke *ground state* yang memiliki tingkat vibrasi tertinggi. Agar emisi dapat terjadi *life time* keadaan tereksitasi harus pendek 10^{-7} - 10^{-8} s. Tingkat energi emisi lebih rendah daripada absorpsi, hal ini dikarenakan adanya proses relaksasi, proses seperti ini dapat dilihat pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Diagram koordinat konfigurasional.

Perbedaan energi antara pita eksitasi terendah dan pita emisi disebut Stokes *shift*. Semakin besar ΔR maka Stokes *shift* semakin besar pula sehingga akan menyebabkan pita optik akan lebih lebar.

Populasi keadaan tereksitasi menurun menurut persamaan berikut :

$$dN_e/dt = - N_e P_{eg} \quad \dots \dots \dots (3)$$

dengan : N_e = jumlah *luminescent* ion pada keadaan eksitasi setelah pulsa eksitasi.

t = waktu

P_{eg} = probabilitas emisi spontan dari keadaan eksitasi ke *ground state*

Bentuk integrasi dari persamaan (3) dapat ditulis menjadi :

$$N_e(t) = N_e(0)e^{-P_{eg}t} \quad \dots \dots \dots (4)$$

Yang juga dapat ditulis sebagai berikut :

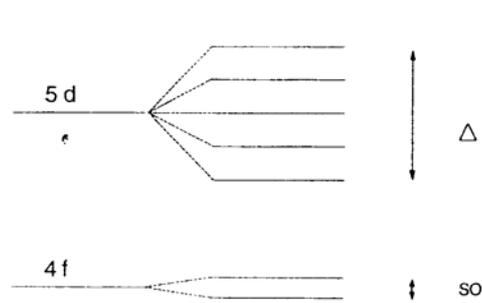
$$N_e(t) = N_e(0)e^{-t/\tau_R} \quad \dots \dots \dots (5)$$

Dengan $\tau_R (= P_{eg}^{-1})$ adalah waktu peluruhan radiatif.

4.2 Aplikasi PL untuk menentukan Spektrum PL Yttrium Aluminum Garnet (YAG) dan Cerium (Ce^{3+})

YAG adalah bahan *host* berstruktur garnet. YAG memiliki sifat optik bagus dan konduktivitas termal yang besar, sehingga dapat digunakan sebagai bahan *host* pada sistem luminesensi. YAG yang didoping dengan Ce^{3+} adalah *phospor* yang banyak digunakan dalam berbagai aplikasi. Ce^{3+} berperan sebagai *dopant* atau aktivator yang dapat menghasilkan luminesensi berwarna kuning. *Dopant* Ce^{3+} merupakan ion trivalen yang termasuk golongan tanah jarang (*rare-earth*) dengan konfigurasi eksitasinya $5d^1$.

Pita emisi Ce^{3+} lebar dan merupakan tipe pita emisi ganda seperti terlihat pada Gambar 4.6.



Gambar 4.6 Tingkat Energi ion Ce^{3+}

Transisi emisi elektron berpindah dari orbital $5d$ ke orbital $4f$. Emisi terjadi dari komponen *crystal field* terendah $5d^1$ ke *ground state* dua level. Waktu peluruhan Ce^{3+} pendek, hanya beberapa puluh ns. Waktu peluruhan akan lebih panjang jika emisi terjadi pada panjang gelombang yang lebih panjang, misalnya untuk $Y_3Al_5O_{12} : Ce^{3+}$ ($YAG:Ce^{3+}$) waktu peluruhannya 70 ns untuk emisi 550 nm. Untuk menghasilkan transisi, waktu peluruhan (τ) harus sebanding dengan kuadrat emisi panjang gelombang $\tau \sim \lambda^2$ [5].

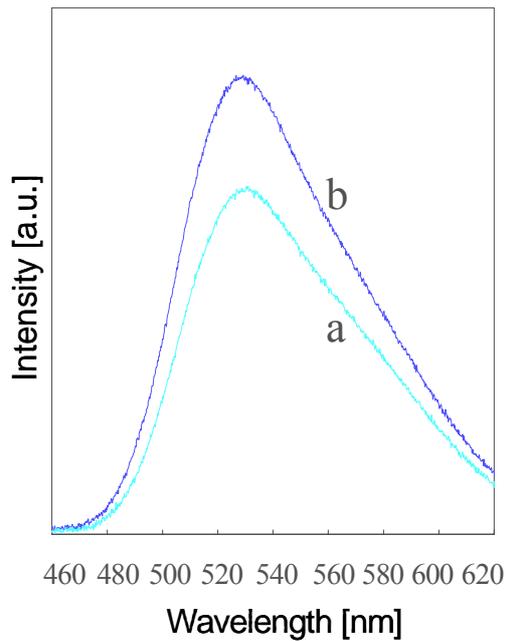
Stokes *shift* untuk emisi Ce^{3+} tidak pernah besar dan bervariasi dari seribu sampai beberapa ribu panjang gelombang. Posisi spektral dari pita emisi bergantung pada tiga faktor :

1. *Covalency* (efek nephelauctetic) yang akan mengurangi perbedaan energi antara konfigurasi $4f^1$ dan $5d^1$.
2. Pecahnya *crystal field* konfigurasi $5d^1$: *crystal field* yang besar dan sedikit simetri akan memperendah komponen *crystal field* yang terendah dimana emisi berasal.
3. *Stokes shift*.

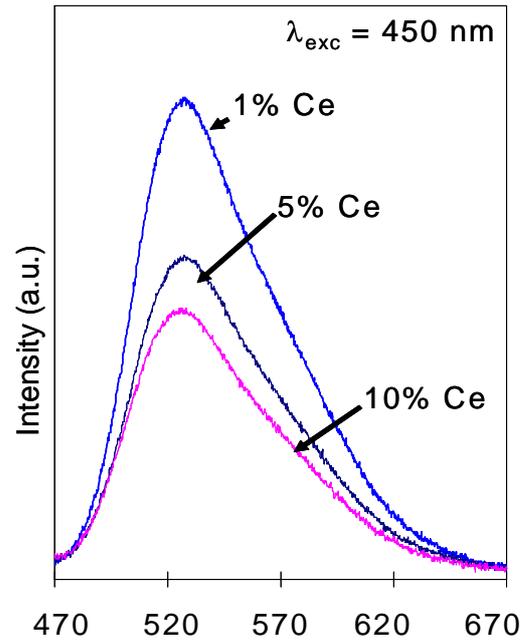
Umumnya emisi Ce^{3+} berada pada daerah spektral ultraviolet atau biru, tetapi dalam $Y_3Al_5O_{12}$ berwarna hijau dan merah (efek *crystal field*). Trivalent ion Ce^{3+} ini memiliki kecenderungan menjadi tetravalent dan memperlihatkan pita abspsi $4f \longrightarrow 5d$ dalam daerah ultraviolet.

4.2.1. Metode Sol Gel dan hasil Spektrum PL

Metode sol gel adalah pendekatan sintesis "*wet chemical*" yang dapat digunakan untuk menghasilkan nanopartikel melalui *gelation*, *precipitation*, dan hidrotetal (Kung and Ko 1996). Secara umum, proses sol-gel meliputi transisi sistem dari fase cair "sol" (kebanyakan koloidal) menjadi solid "gel"[4]. Diantara proses yang memungkinkan untuk mensintesis nanomaterial, sol gel merupakan proses sintesis yang sederhana dan biaya produksi rendah. Metode sol-gel dapat digunakan untuk memproduksi material dalam berbagai bentuk seperti monolith, films, *fibers*, *unagglomerate* dan *monodisperse nanocrystallin oxide powders*. [8]



Gambar 6. Contoh Spektrum PL YAG yang diproses dengan metode sol-gel pada perlakuan suhu yang berbeda, (a) pemanasan satu step dan (b) pemanasan dua step



Gambar 7. Spektrum PL YAG pada berbagai konsentrasi Ce^{3+} wt% dari Y yang berbeda

References

1. Yuexiao Pan, Mingmei Wu, Qiang Su, Comparative investigation on synthesis and photoluminescence of YAG:Ce phosphor, *Mater. Sci. Eng. B* 106 (2004) 251–256.
2. S. W. Allison, G. T. Gillies, A. J. Rondinone and M. R. Cates, Nanoscale thermometry via the fluorescence of YAG:Ce phosphor particles: measurements from 7 to 77 °C, *Nanotechnol.* 14 (2003) 859–863 PII: S0957-4484(03)58006-0
3. F. Yuan, H. Ryu, Ce-doped YAG phosphor powders prepared by co-precipitation and heterogeneous precipitation, *Mater. Sci. Eng. B* 107 (2004) 14–18
4. J. G. Li, T. Ikegami, J. H. Lee, T. Mori, Y. Yajima, Co-precipitation synthesis and sintering of yttrium aluminum garnet, (YAG) powders: the effect of precipitant, *J. Euro. Ceram. Soc.* 20 (2000) 2395±2405
5. I. Mulioliene, S. Mathur, D. Jasaitis, H. Shen, V. Sivakov, R. Rapalaviciute, A. Beganskiene, A. Kareiva, Evidence of the formation of mixed-metal garnets via sol-gel synthesis, *Opt. Mater.* 22 (2003) 241–250
6. S.-M. Sim, K. A. Keller, T.-I. Mah, Phase formation in yttrium aluminum garnet powders synthesized by chemical methods, *J. Mater. Sci.* 35 (2000) 713–717
7. A. Leleckaite, A. Kareiva, Synthesis of garnet structure compounds using aqueous sol-gel processing, *Opt. Mater.* 26 (2004) 123–128
8. S. Roy, L. Wang, W. Sigmund, F. Aldinger, Synthesis of YAG phase by a citrate-nitrate combustion technique, *Mater. Lett.* 39 1999 138–141
9. **C. Panatarani**, I. W. Lenggoro, N. Itoh, H. Yoden and K. Okuyama, Polymer supported solution synthesis of blue luminescent $\text{BaMgAl}_{10}\text{O}_{17}:\text{Eu}^{2+}$, *Mater. Sci. Eng. B* 122 (2005), 188-195.
10. L. Yusastri, **I. M. Joni** and **C. Panatarani**, Synthesis of Nano-sized YAG:Ce³⁺ by Sol

- Gel Method, 1st International Conference on Advance Material and Practical Nanotechnology, September 2006.
11. E. F. Joland, **I. M. Joni** and **C. Panatarani**, The effect of Ce³⁺ on the Crystallinity of Nano-Sized Yttrium Aluminum Garnet, 1st International Conference on Advance Material and Practical Nanotechnology, September 2006.
 12. L. Yusastri, **I. M. Joni** and **C. Panatarani**, Sintesis YAG:Ce³⁺ dengan Metode Sol Gel, Proceeding Simposium Fisika Nasional XXI, Makassar, September 2006.
 13. E. F. Joland, **I. M. Joni** and **C. Panatarani**, Pengaruh Konsentrasi Ce³⁺ terhadap Kristalinitas Yttrium Aluminum Garnet, Proceeding Simposium Fisika Nasional XXI, Makassar, September 2006.