

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Senyawa Kompleks

Senyawa kompleks atau senyawa koordinasi merupakan senyawa yang tersusun atas atom logam pusat yang terikat pada ligan-ligan di sekelilingnya dalam bentuk geometri tertentu (Saputro, 2015). Atom pusat biasanya berupa atom-atom atau ion-ion dari logam transisi atau logam-logam lainnya. Ligan dapat berupa atom, ion negatif (anion), atau molekul netral. Jenis-jenis ligan yaitu ligan monodentat, polidentat (bidentat, tridentat, tetradentat atau kuadridentat, pentadentat, heksadentat), tripod, makrosiklik dan pengapsul. Ikatan antara logam dengan ligan yang membentuk kompleks ini merupakan ikatan kovalen koordinasi (Nuryono, 2019). Ikatan kovalen koordinasi merupakan suatu ikatan kovalen dimana kedua elektron yang digunakan untuk berikatan berasal dari salah satu atom yang terikat melalui ikatan  $\pi$ . Senyawa kompleks dapat berupa molekul negatif, positif dan netral (Saputro, 2015).

Geometri dari senyawa kompleks umumnya berupa linear, tetrahedral, segi empat planar, dan oktahedral (Chang, 2003). Geometri senyawa kompleks mempunyai hubungan dengan bilangan koordinasi atom pusat yang merupakan istilah penting dalam kajian senyawa kompleks. Bilangan koordinasi (*coordination number*) adalah bilangan yang menyatakan jumlah ligan yang mengelilingi atom pusat dalam struktur senyawa kompleks (*complex compound*). Selain bilangan koordinasi juga terdapat istilah penting lainnya dalam kajian senyawa kompleks yaitu daerah koordinasi (*coordination sphere*). Daerah koordinasi adalah daerah di sekitar atom pusat dimana terdapat ligan yang terikat langsung dengan atom pusat (Saputro, 2015).

Beberapa metode untuk memverifikasi keberadaan ion kompleks termasuk mempelajari perilaku kimianya. Hal ini dapat dicapai dengan mengamati warna senyawa, kelarutan, spektrum serapan, sifat magnetik dan lain sebagainya. Sifat senyawa kompleks berbeda dari sifat atom individu, dengan membentuk senyawa kompleks sifat-sifat logam dan ligan diubah. Ikatan logam-ligan biasanya dianggap

sebagai interaksi asam-basa Lewis. Atom logam bertindak sebagai penerima pasangan elektron (asam Lewis), sedangkan ligan bertindak sebagai donor pasangan elektron (basa Lewis). Sifat ikatan antara logam dan ligan lebih kuat daripada gaya antarmolekul karena mereka membentuk ikatan searah antara ion logam dan ligan, tetapi lebih lemah daripada ikatan kovalen dan ikatan ion (Toma *et al.*, 2000).

## 2.2 Neodimium (Nd)

Neodimium adalah salah satu logam tanah jarang dengan nomor atom 60 dan dilambangkan dengan Nd. Neodimium hadir dalam jumlah yang signifikan di alam dalam mineral zirkon, monasit dan bastnasit (Poernomo & Trisnawati, 2017). Deposit logam tanah jarang ditemukan di banyak tempat di seluruh dunia, dengan beberapa elemen dalam kelimpahan yang sama di kerak bumi seperti tembaga atau timah. Indonesia memiliki sebaran mineral logam tanah jarang yang sangat luas yang dapat diolah dan dikembangkan, namun belum digali secara optimal. Sebaran mineral logam tanah jarang di Indonesia terdapat di Pulau Sumatera, Jawa, Sulawesi dan Kalimantan (KESDM, 2019).

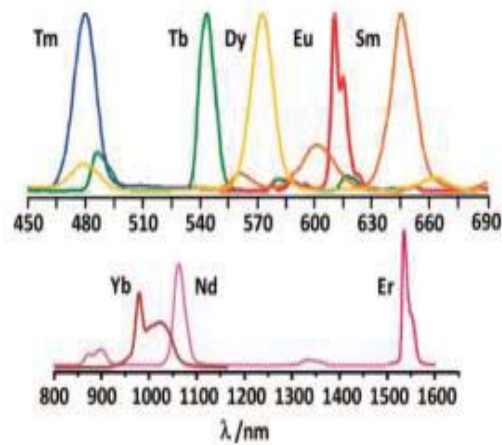
Logam tanah jarang tidak pernah ditemukan dalam konsentrasi yang sangat tinggi dan biasanya ditemukan masih bercampur dengan jenis logam tanah jarang satu dengan jenis lainnya atau dengan unsur radioaktif, seperti uranium dan thorium. Kesamaan sifat kimia dari unsur-unsur logam tanah jarang membuat mereka sulit untuk dipisahkan dari satu sama lain dan dari bahan sekitarnya karena konfigurasi elektron yang sangat mirip. Sehingga, hal ini juga membuat mereka sulit untuk dimurnikan. Metode produksi logam tanah jarang saat ini membutuhkan banyak bijih dan menghasilkan banyak limbah berbahaya untuk mengekstrak hanya sejumlah kecil logam tanah jarang. Limbah dari metode pengolahan termasuk udara radioaktif, fluor dan asam beracun (Gupta & Krishnamurthy, 2005).

Pembentukan spesies kompleks merupakan bagian penting dari ion tripolitik tanah jarang ( $\text{Ln}^{3+}$ ). Setiap orbital f hibrid dari ion akan mengambil bagian dalam ikatan kovalen, dan ukuran dari ion  $\text{Ln}^{3+}$  yang besar mengakibatkan hanya jenis kompleks tertentu yang terbentuk (Moeller, 1961). Dengan demikian, jumlah

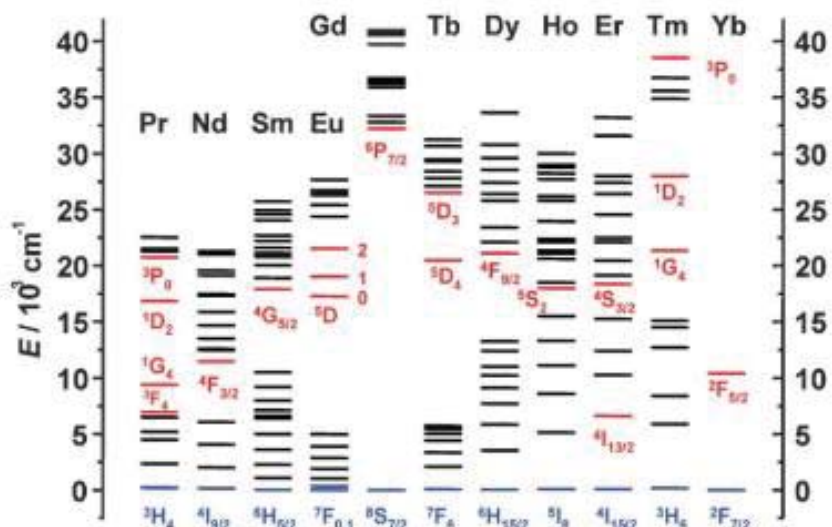
kompleks logam tanah jarang sangat terbatas. Sifat-sifat yang muncul pada elektron 4f tidak dipengaruhi oleh proses kompleksasi. Senyawa yang dapat membentuk kompleks dengan  $\text{Ln}^{3+}$  yaitu asam sitrat, etilen diamina tetraasetat (EDTA), dan asam hidroksi etilen diamina triasetat (HEDTA). Senyawa pengkelat atau ligan yang dapat mengkompleks logam tanah jarang dapat berupa spesies yang berasal dari berbagai asam poliamina dan polikarboksilat. Kompleks ini larut dalam air, namun, stabilitas spesies dalam larutan sangat penting karena perbedaan stabilitas kompleks mempengaruhi pemisahan tanah jarang dari satu lain (Gupta & Krishnamurthy, 2005).

Pembentukan kompleks bergantung pada pH dan stabilitas khelat terkait dengan jari-jari ionik ion tanah jarang. Stabilitas dari spesies kompleks selalu meningkat dari  $\text{La}^{3+}$  ke  $\text{Eu}^{3+}$  atau  $\text{Gd}^{3+}$  (Moeller, 1967). Sehingga dapat diketahui bahwa identifikasi logam tanah jarang satu dengan jenis lainnya dapat dilakukan dengan mengkompleks logam tanah jarang dengan ligan pengkelat. Namun, tidak semua jenis ligan dapat mengkompleks logam tanah jarang. Kompleks antara ligan dan logam tanah jarang dapat dideteksi dengan melihat sifat luminesensi dari kompleks tersebut (Moeller, 1961).

Neodimium memiliki sifat luminesensi yaitu berhubungan dengan kemampuan logam ini untuk menghasilkan cahaya. Luminesensi dapat terjadi apabila adanya transisi elektron dari tingkat energi tereksitasi ke keadaan dasar dengan melepaskan energi foton yang disebut dengan emisi (Lakowicz, 1999). Spektra emisi setiap logam tanah jarang memiliki karakteristik tertentu dan berbeda-beda untuk setiap jenis logam tanah jarang. Neodimium dan beberapa logam tanah jarang lain memiliki ciri khas bentuk spektra yang tajam yang dapat dilihat pada Gambar 2.1. Neodimium memiliki spektra emisi dengan tiga puncak utama pada daerah panjang gelombang 913, 1060 (puncak dengan intensitas tertinggi) dan 1341 nm masing masing untuk transisi dari  ${}^4\text{F}_{3/2}$  ke  ${}^4\text{I}_{9/2}$ ,  ${}^4\text{I}_{11/2}$ ,  ${}^4\text{I}_{13/2}$  dan memiliki tingkat energi sebesar  $11365 \text{ cm}^{-1}$  (Bünzli & Piguet, 2005). Diagram energi ion-ion lantanida dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.1 Spektra emisi lantanida (Bünzli & Piguet, 2005)



Gambar 2.2 Diagram energi ion lantanida (Bünzli & Piguet, 2005)

### 2.3 Klorofil Daun Katuk

Katuk (*Sauropus androgynus* (L) Merr.) adalah jenis tumbuhan dari famili Euphorbiaceae yang merupakan sayuran asli Asia Tenggara. Tumbuhan katuk di Indonesia dibudidayakan secara luas sehingga mudah untuk didapatkan (Hayati *et al.*, 2014). Daun katuk memiliki kandungan klorofil tinggi yaitu tertinggi ketiga setelah daun singkong dan daun suji (Alsuhendra, 2004). Daun katuk memiliki kandungan klorofil a sebanyak 1136,6 mg/kg, klorofil b sebanyak 372,5 mg/kg, dan

total kandungan klorofilnya sebanyak 1509,1 mg/kg (Nurdin *et al.*, 2009). Daun katuk dapat dilihat pada Gambar 2. 3.



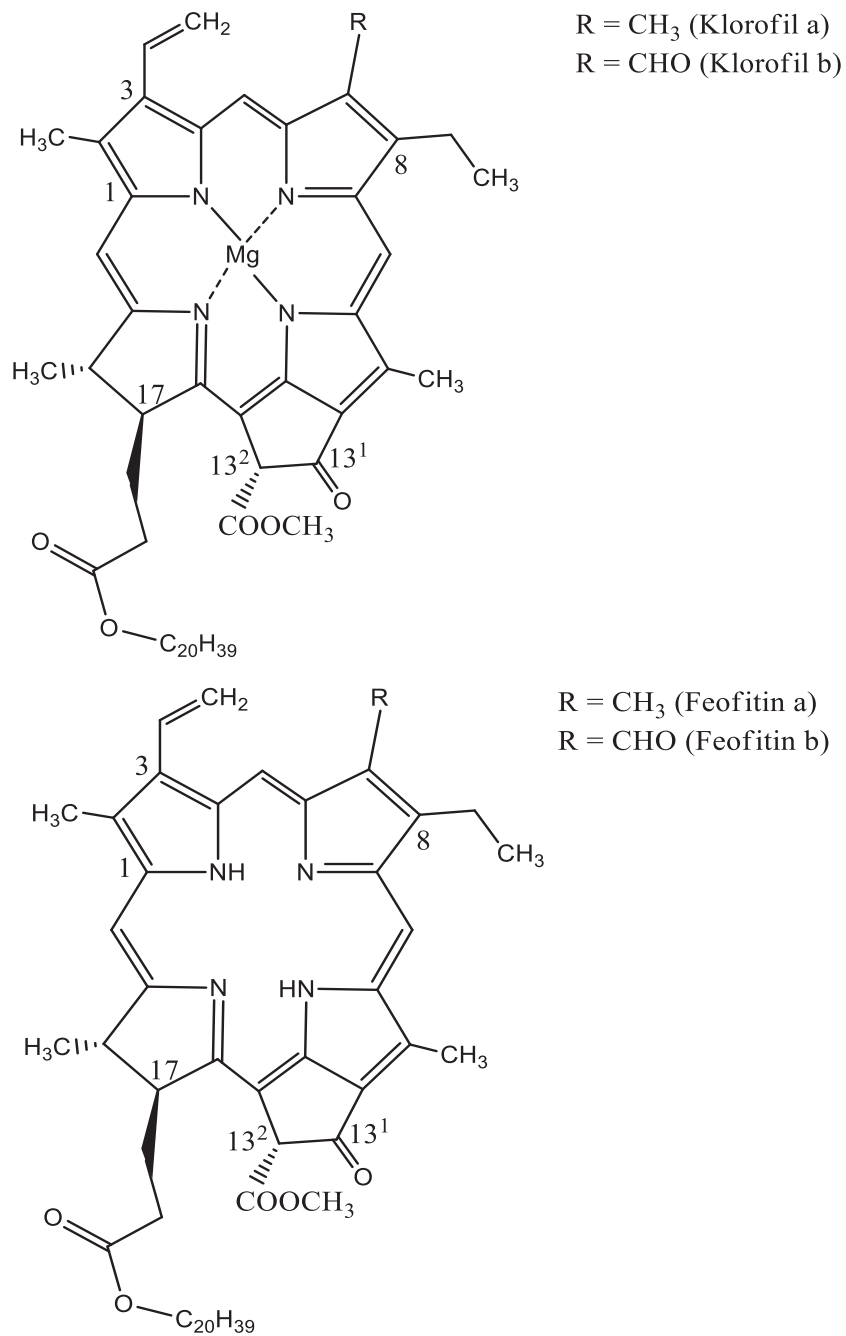
Gambar 2.3 Daun katuk

Klorofil adalah zat hijau daun dan merupakan pigmen fotosintesis yang berperan penting dalam menyerap energi matahari. Klorofil pada tanaman selalu bergabung dengan karotenoid dan santofil, dan ditemukan di dalam membran sel yang mengandung karbohidrat dan protein (Walfford, 1980). Klorofil memiliki sifat tidak larut dalam air, tetapi larut dalam pelarut organik seperti etanol, metanol, aseton dan kloroform (Arfandi *et al.*, 2013).

Struktur klorofil adalah porfirin, dimana kerangka dasar porfirinnya adalah cincin tetrapirrol yang diperoleh dengan bergabungnya empat residu pirol dengan gugus metin ( $—C=$ ). Empat atom nitrogen dalam klorofil a dikoordinasikan dengan ion  $Mg^{2+}$ . Klorofil memiliki cincin tambahan antara  $C_{13}$  dan  $C_{15}$  yang merupakan cincin isosiklik, pada  $C_{17}$  terdapat rantai panjang yang bersifat hidrofobik berasal dari fitol ( $C_{20}H_{39}OH$ ) yang diesterifikasi menjadi asam propionat, sedangkan molekul lainnya bersifat hidrofilik. Perbedaan klorofil b dari klorofil a hanya karena klorofil b memiliki gugus aldehida ( $—CHO$ ) sebagai pengganti gugus metil ( $—CH_3$ ) pada posisi  $C_7$  (Gross, 1987).

Klorofil a kurang polar atau bahkan sering digolongkan sebagai senyawa non polar, sedangkan klorofil b bersifat lebih polar. Sifat kimia dari klorofil dipengaruhi oleh  $C_{17}$  yang mengandung residu propionat dan teresterifikasi dengan fitol (Kirk & Othmer, 1993). Lepasnya atom  $Mg^{2+}$  dari struktur senyawa klorofil membentuk suatu persenyawaan yang disebut feofitin yang memiliki empat atom nitrogen dengan pasangan elektron bebas (Kusmita *et al.*, 2015). Terlepasnya atom  $Mg^{2+}$

membuat klorofil memiliki sifat sebagai senyawa ligan yang dapat mengikat logam lainnya atau biasa disebut pendonor pasangan elektron (Darmokoesoemo *et al.*, 2017). Struktur klorofil dan feofitin dapat dilihat pada Gambar 2. 4.



Gambar 2.4 Struktur klorofil dan feofitin (Tanaka & Tanaka, 2011)

Pigmen klorofil daun yang berwarna hijau mempunyai sifat tidak stabil dan merupakan senyawa yang mudah terdegradasi karena sangat peka terhadap perubahan cahaya, temperatur, pH, dan oksigen. Pada pH asam (3 - 5) dan pH basa (11 - 12) klorofil mengalami reaksi dan menghasilkan berbagai senyawa turunan klorofil (Kirk & Othmer, 1993). Struktur Klorofil terdegradasi menjadi senyawa klorofilid jika kehilangan gugus fitol ( $C_{20}H_{39}$ ), menjadi senyawa feoforbid jika kehilangan ion pusat  $Mg^{2+}$  dan gugus fitol ( $C_{20}H_{39}$ ), menjadi senyawa pirofeofitin jika kehilangan ion pusat  $Mg^{2+}$  dan gugus  $CH_2CH_3$ , menjadi senyawa pirofeoforbid jika kehilangan dan atom  $Mg^{2+}$ , gugus  $CH_2CH_3$  dan gugus fitol ( $C_{20}H_{39}$ ) (Nurdin *et al.*, 2009).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh LaBorde & Elbe (1994), melaporkan bahwa ion logam tidak dapat bereaksi dengan senyawa klorofil alami tetapi dapat bereaksi dengan senyawa turunan klorofil yaitu feofitin, feoforbid dan pirofeofitin. Pirofeofitin bereaksi dengan logam Zn membentuk kompleks Zn-pirofeofitin melalui dekarbometoksilasi Zn-feofitin yang dipanaskan selama 170 menit pada suhu  $121^{\circ}C$ . Feofitin terdegradasi menjadi senyawa pirofeofitin disebabkan oleh suhu yang tinggi sehingga terbentuk kompleks Zn-pirofeofitin. Berdasarkan hasil penelitian Arfandi *et al.* (2013), suhu yang paling baik dalam pemanasan untuk mendegradasi klorofil sehingga membentuk senyawa feofitin yaitu pada suhu  $90^{\circ}C$ . Hasil penelitian Silalahi *et al.* (2020), telah melaporkan bahwa perubahan nilai Rf dan warna larutan dari hijau gelap menjadi hijau terang pada hasil reaksi kompleks  $Cu^{2+}$  dengan ligan turunan klorofil dapat menjadi penanda keberhasilan terbentuknya senyawa kompleks Cu-turunan klorofil.

Porfirin menunjukkan pita solet yang kuat pada panjang gelombang 400-450 nm dan pita q sedang pada 500-700 nm. Dua pasang pita serapan di daerah spektral biru dan merah pada klorofil masing-masing disebut pita B (atau pita Soret) dan pita Q yang muncul dari transisi  $\pi \rightarrow \pi^*$  dari empat orbital perbatasan pada porfirin (cincin tetrapirrol) (Grimmet *et al.*, 2006; Weiss, 1978; Kadish *et al.*, 2012). Penelitian tentang identifikasi spektra serapan daun dalam metanol pernah dilakukan oleh Lopes *et al.* (2019), yang melaporkan bahwa hasil identifikasi pita solet dari feofitin a, klorofil a dan klorofil b masing-masing pada 412, 437, dan 469

nm. Serapan pada pita Q dari feofitin a berada pada panjang gelombang 507, 536, 610 dan 665 nm, transisi di pita Q dari klorofil a dan feofitin a tumpang tindih antara satu sama lain dalam interval 600-750 nm, sedangkan serapan dari klorofil b berada pada panjang gelombang 649 nm. Daerah putus-putus di bawah panjang gelombang 400 nm menunjukkan wilayah yang terkait dengan senyawa fenolik

Struktur klorofil dan feofitin merupakan senyawa organik yang diketahui mampu berfluoresensi dimana senyawa ini akan menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu dan cahaya yang diteruskannya akan berada pada spektrum yang berbeda (Aulsebrook *et al.*, 2017). Senyawa klorofil a, klorofil b, dan feofitin b pada sampel dalam metanol yang tereksitasi pada panjang gelombang 473 nm masing-masing memiliki spektra emisi pada panjang gelombang 673, 653 dan 683 nm. Emisi dari senyawa feofitin a pada panjang gelombang 745 nm. Spektra emisi yang muncul di sekitar 515 dan 562 nm merupakan spektra emisi dari karotenoid (Lopes, *et al.*, 2019)

#### **2.4 Spektrofotometer Sinar Tampak Ultra Ungu (UV-Vis)**

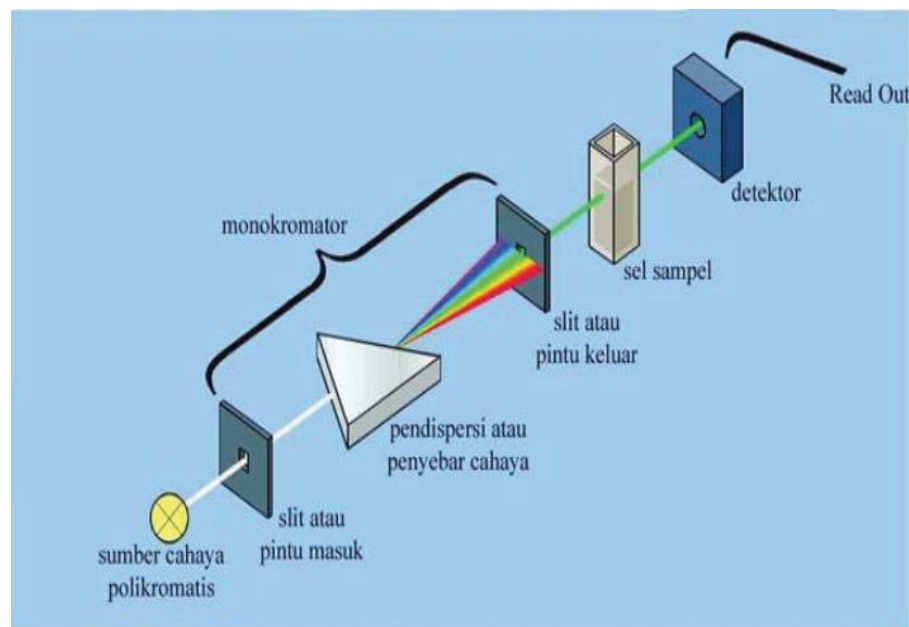
Spektrofotometer UV-Vis adalah suatu instrumen yang digunakan untuk mengukur absorban suatu sampel pada panjang gelombang tertentu. Syarat-syarat untuk sampel yang akan diukur pada spektrofotometer UV-Vis yaitu harus larut dengan sempurna. Pelarut yang dipakai tidak mengandung ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur molekulnya, tidak berwarna sehingga tidak mengabsorpsi sinar yang dipakai oleh sampel, tidak terjadi interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis, dan kemurniannya harus tinggi. Pelarut yang sering digunakan adalah air, etanol, metanol dan n-heksana karena pelarut ini transparan pada daerah UV (Suhartati, 2013).

Prinsip kerja spektrofotometer adalah berdasarkan hukum Lambert-Beer, yaitu seberkas sinar dilewatkan suatu larutan pada panjang gelombang tertentu, sehingga sinar tersebut sebagian ada yang diteruskan dan sebagian lainnya diserap oleh larutan. Besarnya sinar ( $A$ ) berbanding lurus dengan konsentrasi zat penyerap ( $C$ ) dan jarak yang ditempuh sinar ( $a$ ) dalam larutan (tebal larutan,  $b$ ) (Warono & Syamsudin, 2013). Secara umum sistem spektrofotometer terdiri atas sumber



radiasi, monokromator, sel, foto sel, detektor, dan tampilan (display) (Suhartati, 2013).

Sumber radiasi berfungsi memberikan energi radiasi pada daerah panjang gelombang yang tepat untuk pengukuran dan mempertahankan intensitas sinar yang tetap pada pengukuran. Sumber radiasi untuk spektrofotometer UV-Vis adalah lampu hidrogen atau deuterium dan lampu filamen. Lampu hidrogen digunakan untuk mendapatkan radiasi di daerah ultraviolet sampai 350 nm. Monokromator berfungsi menghasilkan radiasi monokromatis yang diperoleh dilewatkan melalui kuvet yang berisi sampel dan blanko secara bersamaan dengan bantuan cermin berputar. Sel atau kuvet adalah tempat bahan yang akan diukur serapannya. Fotosel berfungsi menangkap cahaya yang diteruskan zat dan kemudian mengubahnya menjadi energi listrik yang kemudian akan disampaikan ke detektor. Detektor adalah material yang dapat menyerap energi dari foton dan mengubahnya dalam bentuk lain, yaitu energi listrik. Display atau tampilan mengubah sinar listrik dari detektor menjadi pembacaan yang berupa meter atau angka yang sesuai dengan hasil yang dianalisis (Warono & Syamsudin, 2013). Diagram alat spektrofotometer UV-Vis dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Diagram alat spektrometer UV-Vis (Suhartati, 2013)

Sinar UV dan sinar tampak merupakan energi yang bila mengenai elektron-elektron dapat menyebabkan transisi elektronik, maka elektron akan tereksitasi dari keadaan dasar (*ground state*) ke tingkat energi yang lebih tinggi (*excited state*). Eksitasi elektron-elektron ini direkam dalam bentuk spektrum yang dinyatakan sebagai panjang gelombang dan absorbansi, sesuai dengan jenis elektron-elektron yang terdapat dalam molekul yang dianalisis. Makin mudah elektron-elektron bereksitasi makin besar panjang gelombang yang diabsorpsi, makin banyak elektron yang bereksitasi makin tinggi absorban (Suhartati, 2013). Pergeseran panjang gelombang ke arah panjang gelombang yang lebih kecil disebut pergeseran biru (hipsokromik), sedangkan pergeseran ke arah panjang gelombang yang lebih panjang/frekuensi rendah disebut pergeseran merah (batokromik) (Yadav, 2013). Satuan panjang gelombang yang digunakan yaitu nanometer (nm) ( $1 \text{ nm} = 10^9 \text{ m}$ ). Spektrum tampak berada pada rentang 400 nm (ungu) – 750 nm (merah), sedangkan ultra ungu pada rentang 200 nm-400 nm (Effendy, 2007).

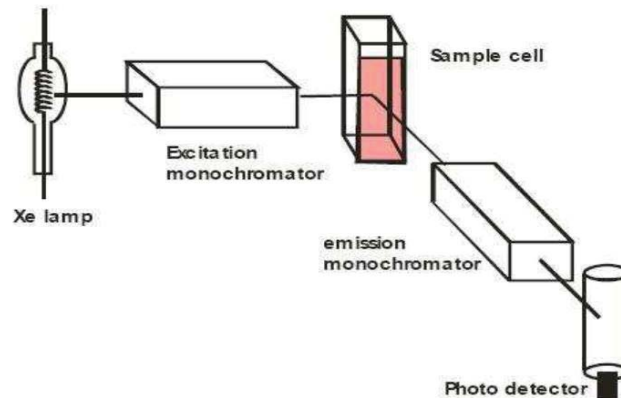
Transisi elektronik yang terjadi merupakan perpindahan elektron dari orbital ikatan baik ikatan sigma ( $\sigma$ ) dan phi ( $\pi$ ) maupun non ikatan (n) ke tingkat orbital anti ikatan yaitu  $\sigma^*$  dan  $\pi^*$ . Transisi  $\sigma \rightarrow \sigma^*$  memerlukan energi yang besar, panjang gelombang rendah, dan serapan yang dihasilkan tidak dapat diamati pada daerah ultraviolet. Transisi  $n \rightarrow \sigma^*$  memerlukan energi yang lebih kecil dari pada transisi  $\sigma \rightarrow \sigma^*$  dan serapannya berada pada daerah panjang gelombang 150-250 nm, mempunyai absorbtivitas  $300\text{-}1000 \text{ L cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ , dan serapan maksimum bergeser ke arah panjang gelombang yang lebih pendek dengan pelarut polar. Senyawa yang mampu mengadakan transisi ini yaitu senyawa-senyawa jenuh yang mengandung atom-atom dengan pasangan elektron bebas. Transisi  $\pi \rightarrow \pi^*$  terjadi pada daerah 200-700 nm, memiliki absorbtivitas  $100\text{-}1000 \text{ L cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ , dan serapannya bergeser ke arah panjang gelombang yang lebih panjang dengan meningkatnya kepolaran pelarut. Transisi  $n \rightarrow \pi^*$  juga terjadi pada daerah panjang gelombang 200-700 nm, memiliki absorbtivitas yang lebih rendah yaitu antara  $10\text{-}100 \text{ L cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ , dan serapannya bergeser ke arah panjang gelombang yang lebih pendek dengan meningkatnya kepolaran pelarut. Transisi  $\pi \rightarrow \pi^*$  dan  $n \rightarrow \pi^*$  memerlukan adanya gugus fungsional tak jenuh yang dapat menyediakan orbital  $\pi$  (Suhartati, 2013).

## 2.5 Spektroskopi Fluoresensi (*Flourescence Spectroscopy*)

Instrumen spektroskopi fluoresensi (spektrofluorometer) adalah instrumen yang memberikan informasi mengenai sifat fluoresensi dengan menyajikan spektra eksitasi, emisi, dan *lifetime* dari sampel. Spektra eksitasi dan emisi pada spektrofluorometer dapat terekam keduanya karena memiliki dua detektor. Spektra eksitasi dan emisi yang diberikan oleh cahaya energi dapat disajikan pada skala panjang gelombang atau skala *wavenumber* (Lakowicz, 1999).

Lampu pancar xenon (150 W) dengan panjang gelombang 200-800 nm digunakan sebagai sumber cahaya dengan intensitas yang tinggi dan menghasilkan energi kontinyu dari ultraviolet sampai inframerah. Ukuran spesimen uji pada sel spesimen yang sesuai adalah 2 mL sampai 3 mL. Sampel spesimen yang diuji pada spektrofluorometri dapat dalam level sangat rendah yaitu ppb (*parts per billion*) sehingga konsentrasi sampel yang akan diukur harus rendah. Detektor yang biasa digunakan yaitu *fotomultiplier tube* atau *thermocouple*. Detektor ditempatkan di atas sebuah poros dengan sudut 90° terhadap berkas eksitasinya. Geometri sudut siku ini dapat membuat radiasi eksitasi dapat menembus ke spesimen uji tanpa mengkontaminasi sinyal luaran yang diterima oleh detektor fluoresensi (Mulja & Suharman, 1995).

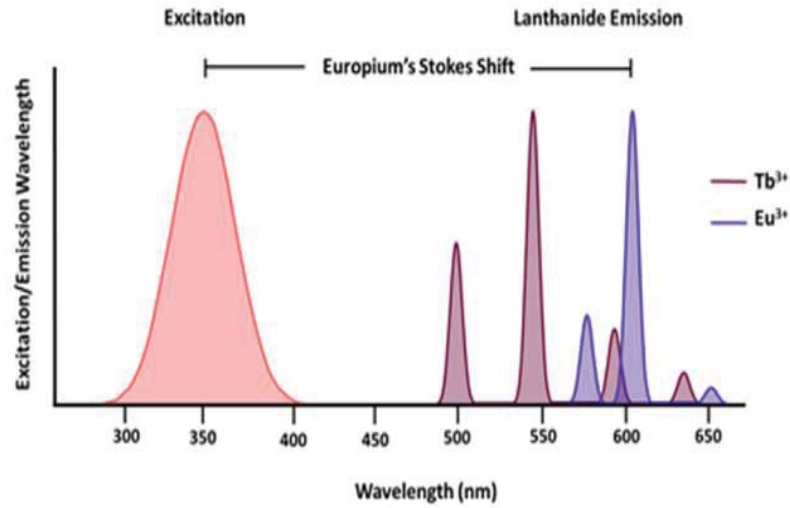
Terdapat dua filter pada spektrofluorometer yaitu untuk menyeleksi panjang gelombang dari eksitasi dan menyeleksi panjang gelombang dari emisi. Fluorometer filter pertama hanya meneruskan cahaya ultraviolet dari sumber cahaya yaitu radiasi dengan panjang gelombang yang cocok untuk eksitasi spesimen uji, filter kedua meloloskan hanya panjang gelombang yang sesuai dengan fluoresensi maksimum dari zat yang diperiksa dan menahan setiap cahaya eksitasi yang terhambur. Filter fluorometer sangat sensitif sehingga sangat cocok untuk penelitian ilmiah yang tepat (Lakowicz, 1999). Sepasang monokromator digunakan untuk menyeleksi radiasi eksitasi dan emisi yang lebih akurat, monokromator pertama mendispersikan cahaya dari sumber cahaya sehingga menghasilkan radiasi eksitasi yang monokromatis. Sampel yang tereksitasi kemudian berfluoresensi sehingga merupakan sumber cahaya bagi monokromator kedua (Mulja & Suharman, 1995). Instrumen fluorometer dapat dilihat pada Gambar 2. 6.



Gambar 2.6 Instrumen spektrofluorometer (Mulja & Suharman, 1995).

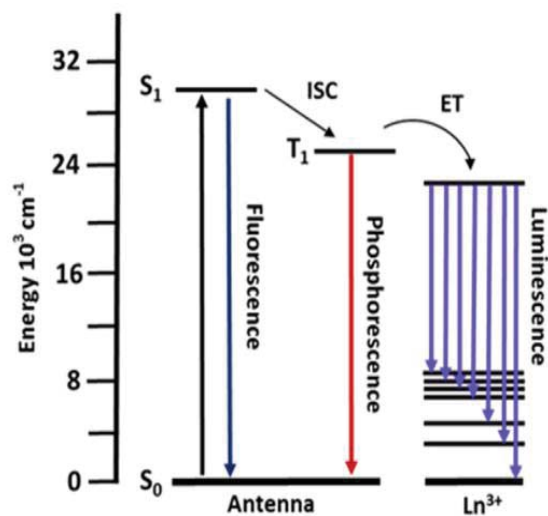
Prosedur analisis yaitu mula-mula membuat kurva kalibrasi dengan berdasarkan grafik hubungan fluoresensi dengan konsentrasi, mengukur intensitas fluoresensi dari senyawa yang diuji, lalu membaca konsentrasi dari kurva kalibrasi tersebut. Selama pengukuran, kondisi percobaan harus dijaga agar tetap konstan. Jika ada pengotor maka dapat menurunkan efisiensi dari fluoresensi. Hal-hal yang harus diperhatikan dalam analisis kuantitatif spektrofluorometri yaitu konsentrasi larutan harus 10-100 kali lebih encer daripada analisis spektrometri dan radiasi eksitasi memerlukan cahaya monokromatik yang esensial karena intensitas berubah-ubah sesuai dengan panjang gelombang (Mulja & Suharman, 1995).

Fluoresensi merupakan salah satu kategori dari luminesensi yang didasari oleh sifat keadaan eksitasi. Luminesensi adalah emisi cahaya dari zat apa pun dan terjadi dari keadaan yang tereksitasi secara elektronik. Fluoresensi terjadi ketika cahaya diinduksikan ke material uji atau sampel, energi foton digunakan untuk mengeksitasi atom-atom atau molekul dari material uji ke tingkat energi yang lebih tinggi yaitu dari *ground state* ( $S_0$ ) ke *excitate state* ( $S_1$ ) dan kemudian akan mengalami vibrasi relaksasi dari  $S_1$  ke  $S_2$ , kemudian elektron akan kembali lagi ke keadaan dasar dan melepaskan energi sehingga membentuk pola spektrum absorpsi dengan spektrum fluoresensi seperti bayangan cermin yang memiliki pola yang sama, namun pada panjang gelombang yang tidak sama (Pohan *et al.*, 2018). Spektra eksitasi dan emisi lantanida dapat dilihat pada Gambar 2.7.



Gambar 2.7 Spektra eksitasi dan emisi lantanida (Aulsebrook *et al.*, 2017)

Fluoresensi memiliki *lifetime* yang singkat biasanya mendekati  $10\text{ ns}$  ( $10 \times 10^{-9}$ ), fluoresensi dihentikan apabila cahaya fluoresensi dipadamkan. Diagram Jablonski sering digunakan sebagai titik awal untuk membahas penyerapan dan emisi cahaya. Proses yang terjadi pada spektrofluorometer bersifat sejalan, sehingga terdapat *quantum yield fluoresensi* yang merupakan ukuran keefektifan senyawa yang diuji untuk menghasilkan fluoresensi (Lakowicz, 1999). Diagram Jablonski dilihat pada Gambar 2.8.



Gambar 2.8 Diagram Jablonski (Aulsebrook *et al.*, 2017)